

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21249

研究課題名（和文）乳酸によるミトコンドリアおよび全身性の代謝適応の解明

研究課題名（英文）Lactate-induced mitochondrial and metabolic adaptations

研究代表者

高橋 謙也（Takahashi, Kenya）

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：40909917

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：高強度運動時に産生される代表的な代謝産物である乳酸は、骨格筋ミトコンドリアの量を増加させる可能性が示されつつある。近年の研究では、高強度運動が骨格筋ミトコンドリア量だけでなく機能をこうお嬢させることが報告されている。本研究では、高強度運動が骨格筋ミトコンドリアの機能を向上させる要因として、乳酸が関与しているのではないかと仮説を立て、乳酸投与が骨格筋ミトコンドリアの機能に与える影響について検討した。その結果、乳酸投与によって、ミトコンドリアの一部の構成タンパク質量や呼吸鎖複合体酵素活性、さらにはミトコンドリア酸素消費速度が変化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動は、骨格筋ミトコンドリア量だけでなく機能も向上させることで、運動パフォーマンスの改善や健康の保持増進に貢献することが示されつつある。しかしながら、どのような因子が運動による骨格筋ミトコンドリアの機能向上に貢献しているのかについては不明な点が多い。本研究では、乳酸がミトコンドリアの機能を向上させる可能性が示された。したがって、乳酸のデータを活用することで、ミトコンドリア機能向上という観点から、より効果的な運動トレーニングを行うことが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Lactate production increases during high-intensity exercise, which is recently recognized as a key factor for inducing physiological adaptation, such as mitochondrial biogenesis. Recently, it was reported that high-intensity exercise training increased not only mitochondrial content, but also mitochondrial respiratory function, raising the possibility that lactate may be relevant to adaptation of mitochondrial respiratory function induced by high-intensity exercise training. A hypothesis of this study was therefore that lactate administration would enhance mitochondrial function in skeletal muscle. This study showed that lactate administration altered mitochondrial protein content, enzyme activity, and mitochondrial respiratory function.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：乳酸 ミトコンドリア 骨格筋

### 1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは、糖や脂肪を利用してエネルギー産生を行う細胞内小器官である。骨格筋のミトコンドリア量・機能の向上は、運動パフォーマンスの向上に貢献する。一方で、骨格筋ミトコンドリア量・機能の低下は、糖尿病や肥満などの代謝異常症の原因となり、生活の質を著しく低下させる。近年では、従来の持久的トレーニングと比較して、乳酸産生が高まる高強度トレーニングが、効果的に骨格筋ミトコンドリアの量・機能を向上させることや代謝疾患に対して有効であることが報告されている。また、筋培養細胞を対象とした研究では、乳酸によってミトコンドリア量が増加したことを報告している。そこで、高強度運動時に産生される「乳酸」がトレーニングの有用性をもたらす因子ではないかと仮説を立てた (図 1)。

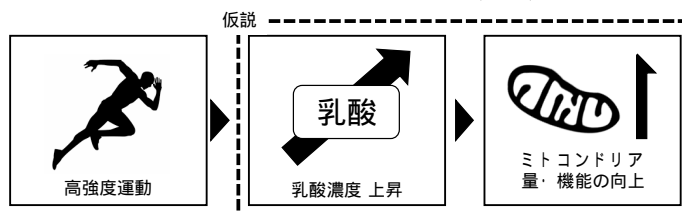


図 1 本研究の背景および仮説

### 2. 研究の目的

われわれはこれまでに、マウスを対象として乳酸投与を行うことで、骨格筋のミトコンドリア酵素活性 (ミトコンドリアの量的な指標) が上昇することを明らかにしてきた。運動トレーニングは、骨格筋ミトコンドリアの量だけではなく、機能も向上させることが報告されている。したがって、乳酸がトレーニング効果をもたらす因子であるならば、乳酸投与はミトコンドリアの機能も向上させる可能性が考えられる。そこで本研究では、乳酸投与による骨格筋ミトコンドリアの機能的な変化について検討し、乳酸が運動トレーニングに伴う骨格筋ミトコンドリアの適応に関与するかについて明らかにすることを目的として実験を行った。

### 3. 研究の方法

雄性 ICR マウスを対照群と乳酸群の 2 群に分けた。対照群には、リン酸緩衝生理食塩水、乳酸群のマウスには、乳酸ナトリウム (1 g/kg 体重) を週 5 日の頻度で 4 週間、腹腔内投与した。最終投与から 24 時間後に骨格筋を摘出し、分画遠心分離法によりミトコンドリアを単離した。単離ミトコンドリアは、酸素濃度測定が可能なマイクロプレート内で、呼吸基質 (ピルビン酸 + リンゴ酸, グルタミン酸 + リンゴ酸, コハク酸 + ロテノン, オクタン酸 + リンゴ酸) と混合し、ATP 産生に共役した最大呼吸 (ステート 3) およびプロトンリークを伴う基底状態の呼吸 (ステート 4) について測定した。また、単離したミトコンドリアを対象として、呼吸鎖複合体酵素活性や複合体構成タンパク質量、超複合体についても評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 単離ミトコンドリアの酸素消費速度 (図 2)

ピルビン酸 + リンゴ酸およびグルタミン酸 + リンゴ酸を基質としたステート 3 酸素消費速度は、対照群と比較して、乳酸群で有意に高い値を示した。一方で、コハク酸 + ロテノンを基質としたステート 3 およびステート 4 酸素消費速度は、対照群と比較して、乳酸群で有意に低い値を示した。オクタン酸 + リンゴ酸を基質としたステート 3 およびステート 4 酸素消費速度に有意な差は認められなかった。

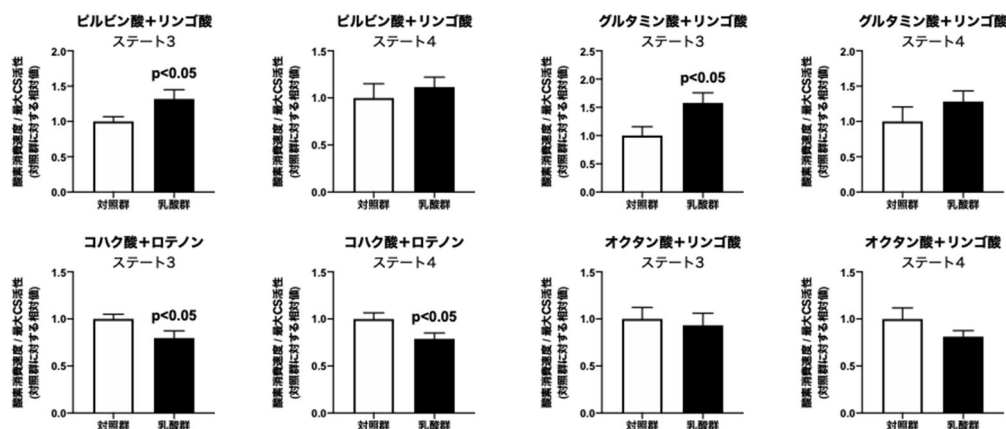


図 2 単離ミトコンドリアの酸素消費速度

(2) 単離ミトコンドリア呼吸鎖複合体酵素活性 (図3)

乳酸投与によって基質依存的なミトコンドリア酸素消費速度が変化したことから、次にメカニズム解明のために、呼吸鎖複合体の酵素活性について検討を行った。複合体 I 酵素活性は、対照群と比較して、乳酸群で高い傾向を示した。複合体 I + および複合体 II 酵素活性は対照群と比較して、乳酸群で有意に高い値を示した。複合体 I および複合体 II + 酵素活性に有意な差は認められなかった。

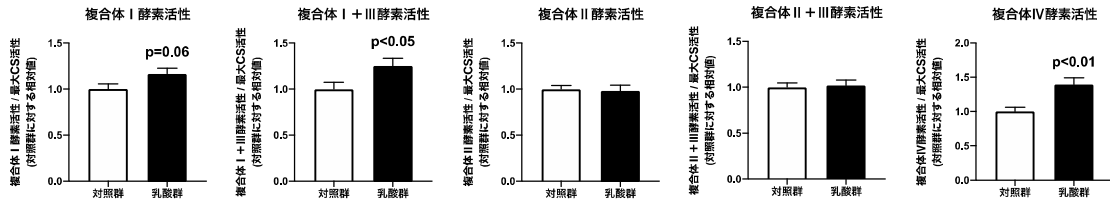


図3 単離ミトコンドリア呼吸鎖複合体酵素活性

ピルビン酸+リンゴ酸およびグルタミン酸+リンゴ酸を基質とした酸素消費は、複合体 I を介して行われる。また、コハク酸+ロテノンを経由した酸素消費は、複合体 II を介して行われる。そこで、それぞれの基質を加えたときのステート3酸素消費速度と複合体 I あるいは複合体 II 酵素活性の相関関係について検討したところ、ピルビン酸+リンゴ酸およびグルタミン酸+リンゴ酸を基質としたステート3酸素消費速度は、複合体 I 酵素活性と有意な正の相関を示した。一方で、コハク酸+ロテノンを基質としたステート3酸素消費速度と複合体 II 酵素活性の間に相関関係は認められなかった (図4)。

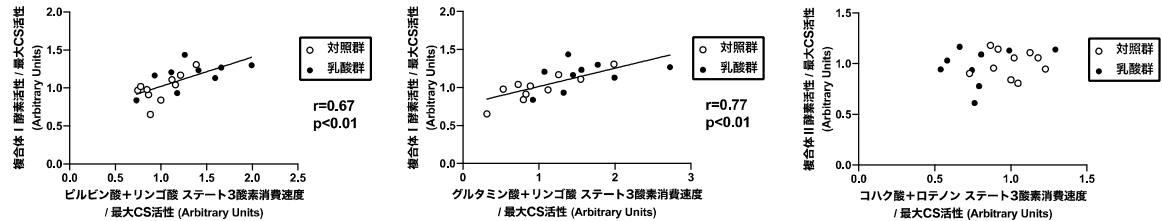


図4 ステート3酸素消費速度と呼吸鎖複合体酵素活性の相関

(3) 単離ミトコンドリア呼吸鎖複合体構成タンパク質量および超複合体 (図5)

次に、複合体を構成するタンパク質量についてウエスタンブロット法により評価した。複合体 I を構成するタンパク質である NDFS4 タンパク質量は、対照群と比較して乳酸群で有意に高い値を示した。本実験で測定を行ったその他の複合体構成タンパク質の量に有意差は認められなかった。また、ミトコンドリアの超複合体について二次元泳動により評価したが、有意な変化はみられなかった。

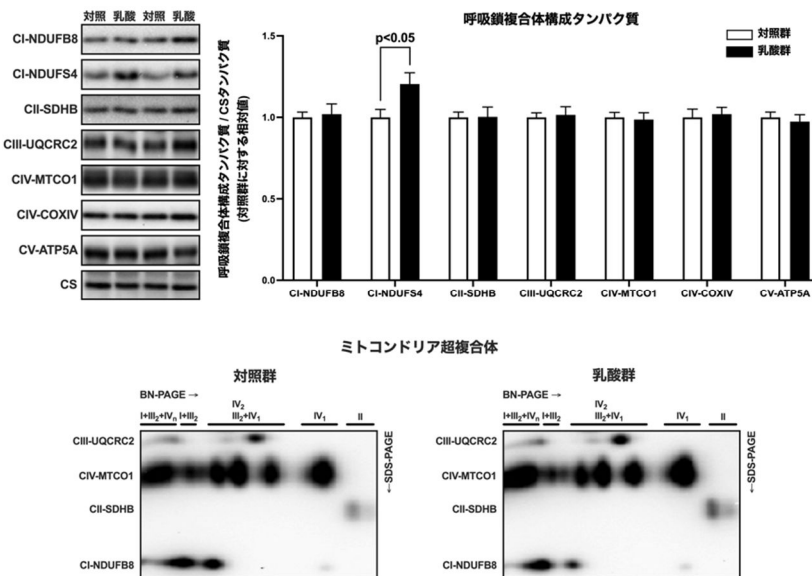


図5 単離ミトコンドリア呼吸鎖複合体構成タンパク質量および超複合体

以上の研究結果から、乳酸は骨格筋ミトコンドリアの機能を変化させる可能性が示された。また、高強度トレーニングが骨格筋ミトコンドリアの機能を変化させる因子として、乳酸が関与している可能性が考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takahashi Kenya, Kitaoka Yu, Matsunaga Yutaka, Hatta Hideo	4. 巻 11
2. 論文標題 Lactate administration does not affect denervation induced loss of mitochondrial content and muscle mass in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 2836 ~ 2844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13293	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi Kenya, Tamura Yuki, Kitaoka Yu, Matsunaga Yutaka, Hatta Hideo	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of Lactate Administration on Mitochondrial Respiratory Function in Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.920034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi Kenya, Kitaoka Yu, Hatta Hideo	4. 巻 72
2. 論文標題 Effects of endurance training on metabolic enzyme activity and transporter protein levels in the skeletal muscles of orchietomized mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-022-00839-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 TAKAHASHI KENYA, KITAOKA YU, MATSUNAGA YUTAKA, HATTA HIDEO	4. 巻 55
2. 論文標題 Effects of Endurance Training on Metabolic Enzyme Activity and Transporter Proteins in Skeletal Muscle of Ovariectomized Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medicine & Science in Sports & Exercise	6. 最初と最後の頁 186 ~ 198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1249/mss.0000000000003045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Kenya, Kitaoka Yu, Hatta Hideo	4. 巻 48
2. 論文標題 Sex-specific differences in the metabolic enzyme activity and transporter levels in mouse skeletal muscle during postnatal development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism	6. 最初と最後の頁 361 ~ 378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/apnm-2022-0462	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 高橋謙也、田村優樹、北岡祐、松永裕、八田秀雄
2. 発表標題 乳酸投与が骨格筋ミトコンドリアの呼吸機能に与える影響
3. 学会等名 第29回運動生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takahashi K, Tamura Y, Kitaoka Y, Matsunaga Y, Hatta H
2. 発表標題 Effect of lactate administration on mitochondrial respiratory function in mouse skeletal muscle
3. 学会等名 18th International Biochemistry of Exercise Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋謙也、北岡祐、八田秀雄
2. 発表標題 マウスの成長に伴う骨格筋エネルギー代謝酵素の変化および性差
3. 学会等名 第30回運動生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋謙也, 北岡祐, 松永裕, 八田秀雄
2. 発表標題 持久的トレーニングが卵巣摘出マウスにおける全身性代謝および骨格筋代謝酵素に与える影響
3. 学会等名 第77回体力医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takahashi K. Kitaoka Y. Hatta H
2. 発表標題 Effects of endurance training on exercise performance and muscle metabolic enzyme activity in orchietomized mice
3. 学会等名 The 100th Anniversary Annual Meeting of The Physiological Society of Japan
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関