

博士論文 (要約)

乳酸投与に対する骨格筋ミトコンドリアの適応

Lactate administration-induced mitochondrial adaptations in skeletal muscle

令和2年度

東京大学 大学院総合文化研究科

広域科学専攻 生命環境科学系 身体運動科学

31-187706

高橋 謙也

## 【背景・目的】

乳酸は長い間、疲労物質あるいは老廃物だと考えられてきた。しかしながら、乳酸はミトコンドリアで酸化される糖の代謝産物であることから、解糖系と酸化系という主要なエネルギー産生経路をつなぐ重要な中間代謝産物だと考えられている。そして、乳酸は全身を循環することで、少なくとも①酸化基質、②糖の前駆体、③シグナル分子、として機能することが明らかとなりつつある。

近年では、特に「シグナル分子」としての乳酸に注目が集まっている。先行研究において、筋培養細胞を乳酸溶液で培養することによって、ミトコンドリア量が増加したことが報告されている。また、マウスを対象とした研究では、単回の乳酸投与によって、ミトコンドリア適応のマスターレギュレーターと呼ばれている PGC-1 $\alpha$  の遺伝子発現が上昇したことが報告されている。しかしながら、乳酸投与を繰り返すことで、骨格筋ミトコンドリアの適応が引き起こされるかについては明らかとなっていない。

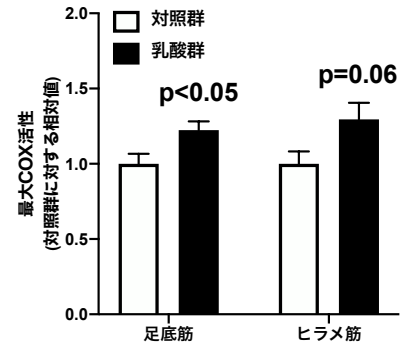
これまでの研究によって、乳酸は生体の代謝状況を反映している中間代謝産物であることが示され、血中乳酸濃度の測定は生体内のコンディションを把握する手段の一つとして、スポーツなどの現場で用いられてきた。生体における「シグナル分子」としての乳酸の役割を正確に理解し、乳酸のデータを応用することができれば、血中乳酸濃度に着目した効果的な運動処方、さらにはトレーニング効果をもたらすサプリメントとしての乳酸摂取方法を提案できると考えられる。そこで、本論文では「シグナル分子」としての乳酸に着目し、乳酸投与によって引き起こされる骨格筋ミトコンドリアの変化について明らかにすることを目的とした。

## 【研究 1】 乳酸投与が骨格筋ミトコンドリア酵素活性に与える影響

### 安静実験

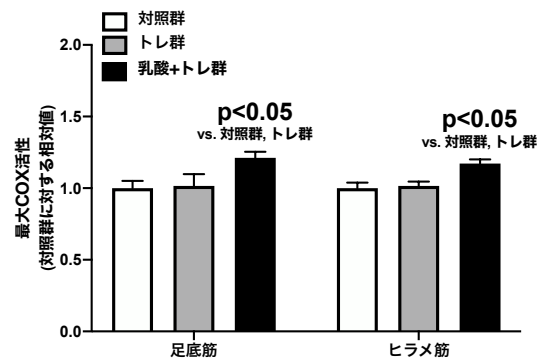
本研究では、マウスを対象として乳酸の腹腔内投与が骨格筋ミトコンドリア酵素活性に与える影響について検討した。8週齢の ICR マウスを対照群と乳酸群に分類し、生理食塩水または乳酸ナトリウム (1 mg/g 体重) を 1 日 1 回の頻度で腹腔内に 3 週間投与した。最終投与から 24 時間後に骨格筋を摘出し分析を行った。乳酸群の血中乳酸濃度

は、投与から 15 分後に最大値 ( $12.7 \pm 1.3$  mM) を示した。実験期間終了後、速筋線維優位な足底筋における最大 CS、 $\beta$ -HAD、COX 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。遅筋線維優位なヒラメ筋における最大 COX 活性は、対照群と比較して乳酸群で高い傾向を示した。本研究結果から、乳酸は骨格筋のミトコンドリア量を増加させる可能性が考えられる。



### トレーニング実験

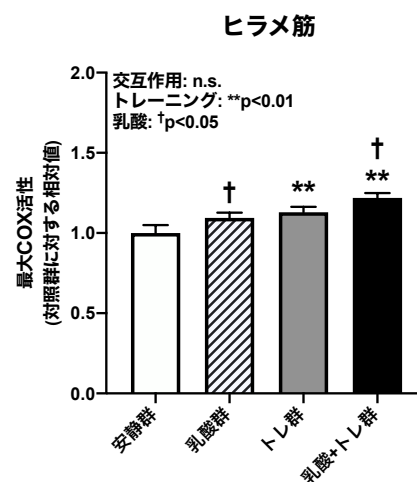
近年では、血中乳酸濃度の上昇を伴うような高強度トレーニングが、従来の持久的トレーニングと比較して、効率的に骨格筋ミトコンドリア量を増加させることで注目を集めている。そこで、本研究では血中乳酸濃度の上昇が、トレーニング効果を高めるかについて検討した。マウスを安静群、トレーニング(トレ)群、乳酸+トレーニング(乳酸+トレ)群の3群に分類した。安静群およびトレ群には生理食塩水、乳酸+トレ群には乳酸ナトリウム (1 mg/g 体重) を 1 日 1 回の頻度で、腹腔内に 3 週間投与した。トレ群および乳酸+トレ群は投与直後にトレッドミルを用いた持久的トレーニング (20 m/min, 60 min) を行った。最終投与から 48 時間後に骨格筋を摘出し、分析を行った。持久的トレーニング時における血中乳酸濃度の最大値は、トレ群と比較して乳酸+トレ群で有意に高い値を示した ( $4.1 \pm 0.6$  mM vs  $14.3 \pm 2.0$  mM)。トレーニング期間終了後、ヒラメ筋の最大 CS および COX 活性、足底筋の最大 COX 活性は、安静群およびトレ群と比較して乳酸+トレ群で有意に高い値を示した。本研究の結果から、高強度トレーニングが効率的に骨格筋ミトコンドリア量を増加させる要因として、血中乳酸濃度の上昇が関与している可能性が考えられる。



## 【研究 2】 持久的トレーニング前の乳酸経口投与が

### 骨格筋ミトコンドリア酵素活性に与える影響

本研究では、サプリメントとしての乳酸の可能性に着目し、乳酸の経口投与が骨格筋ミトコンドリア酵素活性に与える影響について検討した。マウスを対照群、乳酸群、トレーニング(トレ)群、乳酸+トレーニング(乳酸+トレ)群の4群に分類した。対照群およびトレ群には生理食塩水、乳酸群および乳酸+トレ群には乳酸ナトリウム(5 mg/g 体重)を週5日の頻度で経口投与した。トレ群および乳酸+トレ群は、投与から30分後にトレッドミルを用いた持久的トレーニング(20 m/min, 30 min)を行った。最終トレーニングから24時間後に組織を摘出し分析を行った。速筋線維優位な足底筋における最大CSおよびCOX活性は、トレーニングによって有意に上昇したものの、乳酸経口投与の効果は認められなかった。一方で、遅筋線維優位なヒラメ筋の最大COX活性においては、トレーニングの効果に加えて乳酸経口投与の効果が認められ、相加的に上昇した。また、乳酸経口投与は、遅筋線維と類似した心筋の最大COX活性を有意に上昇させた。本研究結果から、乳酸の経口投与は遅筋線維優位な骨格筋ミトコンドリア酵素活性を上昇させる可能性が示唆される。本研究における乳酸経口投与後の最大血中乳酸濃度は、研究1における乳酸腹腔内投与と比較して低かった(5.8 ± 0.4 mM vs. 12.7 ± 1.3 mM)。したがって、足底筋のような速筋線維優位な骨格筋のミトコンドリア酵素活性を上昇させるためには、血中乳酸濃度を大きく上昇させる必要がある可能性が考えられる。



## 【研究 3】 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

運動トレーニングは、骨格筋ミトコンドリア酵素活性の上昇だけではなく、酸素消費速度の上昇といったミトコンドリア自体の呼吸機能を上昇させることが明らかとなって

いる。本研究では、乳酸が骨格筋ミトコンドリアの呼吸機能を上昇させるかについて単離ミトコンドリアを用いて検討した。マウスを対照群または乳酸群に分類し、生理食塩水または乳酸ナトリウム (1 mg/g 体重) を週 5 日の頻度で 4 週間腹腔内に投与した。最終投与から 24 時間後、腓腹筋からミトコンドリアを単離し、分析を行った。呼吸鎖複合体 I の基質となるピルビン酸+リンゴ酸、およびグルタミン酸+リンゴ酸によるステート 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+ロテノンによる呼吸鎖複合体 II と関連したステート 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。また、対照群と比較して乳酸群における呼吸鎖複合体 I 酵素活性は高い傾向を示し、呼吸鎖複合体 I+III および IV 酵素活性は有意に高い値を示した。本研究の結果から、乳酸は骨格筋ミトコンドリア酵素活性だけでなく、呼吸機能を上昇させる可能性が示唆される。

## 【まとめ】

本論文では、「シグナル分子」としての乳酸に着目し、乳酸投与が骨格筋ミトコンドリアの適応に与える影響について検討した。研究 1 において、乳酸の腹腔内投与は、骨格筋ミトコンドリア酵素活性の一部を上昇させた。研究 2 において、乳酸の経口投与は、遅筋線維優位な骨格筋のミトコンドリア酵素活性の一部を有意に上昇させた。そして、研究 3 において、乳酸の腹腔内投与はミトコンドリア呼吸機能の一部を上昇させた。以上の結果から、乳酸は骨格筋ミトコンドリアの量および機能を向上させる因子であることが示唆される。

