

論文の内容の要旨

論文題目 マウスの走トレーニングがモノカルボン酸輸送担体及び乳酸の代謝に及ぼす影響

Effects of running training on MCT protein and lactate metabolism in mice

氏名 吉田 祐子

第1章 序論

近年、乳酸は老廃物ではなく、代謝過程で産生される酸化基質の1つであることが明らかになってきている。そこで、運動時やトレーニング効果の評価に使われている血中乳酸濃度の変化は、産生された乳酸の量の変化だけを意味するのではなく、酸化された乳酸の量も考慮することが妥当であると考えられる。乳酸の産生量や酸化量には、筋肉中から血液中への放出量、血液中から筋肉中への取り込み量が関係し、その放出や取り込みにおける細胞膜の通過は、モノカルボン酸輸送担体 (Monocarboxylate transporter ; MCT) を介して行われる。現在までに MCT には、14 種類のアイソフォームがあると報告されているが、その中でも特に、MCT1 と MCT4 が骨格筋に多く含まれ、乳酸の代謝に重要な役割を果たしている。また MCT1 と MCT4 のタンパク質量は、運動トレーニングで増加し、一方、除神経などの筋活動の低下によって減少することが今までに報告されている。このように、運動強度は MCT1 と MCT4 の変化の程度を調節する1つの因子と考えられるが、異なるトレーニング強度やトレーニング期間によって、MCT タンパク質量や乳酸の代謝の適応が異なることを比較検討した研究は今までにない。

そこで本研究では、トレーニングによる MCT タンパク質量と乳酸の代謝との関係を解明することを目的とし、特にトレーニング形態及び期間の違いに注目して検討を行った。本研究では、運動を行わせやすい ICR マウスを用いて実験を行った。

第2章 自発的な走運動時の運動量が MCT に及ぼす影響

本研究では、運動量に注目し、運動量の違いが MCT1 及び MCT4 のタンパク質発現に及ぼす影響について検討した。5 週齢のマウスに、自発的に走運動ができる回転ケージ自由運動（以下、自由運動）を、それぞれ 1、3、6 週間行わせた。各トレーニング期間終了時に、高強度運動テスト（40 m/min×2 min）を実施し、運動直後の血中乳酸濃度及び MCT タンパク質量を測定した。その結果、1 週間及び 3 週間自由運動を実施したマウスで、高強度運動テスト直後の血中乳酸濃度と運動量との間に、有意な負の相関関係が認められた。また、運動量と MCT1 との間には、トレーニング期間によって総走行距離と異なる関係が認められた。自由運動 1 日では、どのマウスでもほぼ同程度の MCT タンパク質量で、運動量との間に相関関係は認められなかった。しかしトレーニング期間が 1 週間になると、MCT1 と総運動量との間に負の相関が認められ、3 週間では有意な正の相関が認められた。また 6 週間実施したマウスでは、コントロール群と比較して MCT1 が有意に増加するものの、運動量との間には相関関係は認められなかった。これらのことから、自由運動 3 週間と 6 週間の間で運動による MCT1 の増加がプラトーになる総走行距離があると考えられ、それを超えると、総走行距離が増加しても MCT1 タンパク質量にそれ以上の変化は起こらないことが明らかとなった。

第3章 トレーニング形態及び期間の違いが MCT に及ぼす影響

本研究では、トレッドミルを用いて、異なるトレーニング強度やトレーニング期間が、MCT1 及び MCT4 タンパク質量に及ぼす影響について比較検討を行った。マウス（5 週齢）を用いてそれぞれ異なるトレーニング形態で、1、3、6 週間のトレーニングを実施した。トレーニング形態には、強度が低い自由運動トレーニング（前章と同様）、中強度の持続的トレーニング（25 m/min×60 min）、強度が高いスプリントトレーニング（50 m/min×10 sec×5 セット）を設定した。各トレーニング終了後に、高強度運動テスト（前章と同様）または持久運動テスト（3 週間のみ；25 m/min×60 min）を行った。その結果、血中乳酸濃度は全てのトレーニング期間で、3 つのトレーニング群はコントロール群と比べて低い傾向にあった。特に、1、6 週間の自由運動群と、3、6 週間のスプリントトレーニング群、全ての期間の持続的トレーニング群で、それぞれコントロール群と比べて有意な低下が認められた。一方、持続的トレーニング群における MCT1 は、トレーニング 1 週目から増加傾向にあり、トレーニング 3、6 週間ではコントロール群と比べて有意に増加した。スプリントトレーニング群では、トレーニング 3 週間で MCT1 及び MCT4 が共にコントロール群と比べて有意な増加を示した。さらに、自由運動群ではトレーニング 6 週間で MCT1 がコントロール群と比較して、有意な増加が認められた。以上のことから、それぞれのトレーニング形態によりトレーニング効果が現れる時期が異なることが示唆され、血中乳酸濃度はトレーニング 1 週間からトレーニング効果が現れる一方で、MCT タンパク質量の適応には 3 週間以上の期間を必要とすることが示唆された。しかし GLUT4 タンパク質量は、トレーニング 1 週

間から増加が認められ、MCTよりも早く適応が生じることが明らかとなった。さらに、MCT1の増加にはトレーニング強度よりもトレーニング時の運動量が、MCT4 タンパク質量の増加にはトレーニング時の運動量よりもトレーニング強度が、それぞれ重要な因子の1つになっていることが示された。

第4章 MCT とその他の代謝因子との関係

本研究では、運動トレーニング時の代謝に関わる MCT や乳酸以外の因子の変化にも注目し、それらの自由運動時の適応変化と自由運動量や MCT1 タンパク質量の変化との関係について検討した。特に、様々なエネルギー基質の酸化を行っているミトコンドリアに着目し、ミトコンドリアの MCT1 及びチトクローム *c* 酸化酵素 (Cytochrome oxidase ; COx) タンパク質量、クエン酸合成酵素 (Citrate Synthase ; CS) 活性についても検討した。前章までと同様に、5 週齢のマウスを用いて自由運動を 1、3、6 週間実施した。各トレーニング期間終了時に高強度運動テストを実施した。さらに、脂質代謝が高まり持久能力を亢進させるといわれているカフェイン (5 mg/mL) を自由運動時に 4 時間、自由摂取させた実験群についても、MCT タンパク質量及び乳酸の代謝の適応変化を比較検討した。その結果、MCT1 が増加している条件下では、乳酸の酸化に重要なミトコンドリアの MCT1 や COx タンパク質量、CS 活性も増加していることが明らかとなった。一方、トレーニング 1 週間と 6 週間の CS 活性やトレーニング 1 週間と 3 週間の GLUT4 タンパク質量と自由運動量との間に有意な正の相関関係があることが示された。このことから、運動量が多いマウスほど、糖代謝が高く、さらにミトコンドリアでの酸化能も高いことが明らかとなった。

さらに自由運動時のカフェイン摂取によって、自由運動における MCT1 タンパク質量の増加が抑えられ、MCT4 タンパク質量はコントロール群と比べて有意な減少が認められた。一方、GLUT4 タンパク質量では、自由運動群はカフェイン摂取の有無に関わらず、コントロール群と比べて GLUT4 が有意に増加したが、走行距離の増加に伴う GLUT4 の増加率はカフェイン摂取群で水摂取群よりも低下した。また、走行距離と高強度運動テスト直後の血漿遊離脂肪酸濃度との間に有意な負の相関関係が認められ、MCT4 タンパク質量との間には負の相関関係が認められた。以上のことから、自由運動時のカフェイン摂取により、運動量が多いほど糖代謝が抑えられ、そのことが MCT4 タンパク質量を減少させた可能性が考えられる。

第5章 総合論議

本研究によって、トレーニング形態やトレーニング期間の違いによって MCT1 及び MCT4 タンパク質量の増加の程度が異なることが明らかとなった。さらに、本研究のスプリントトレーニングによって MCT1 だけでなく、MCT4 タンパク質量も増加したことは、新しい結果であった。MCT1 の増加にはトレーニング時の運動量が密接な関係を示し、MCT4 の増加にはトレーニング強度が重要であることが示された。さらにこれら MCT の増加が、運動

後の血中乳酸濃度を低下させる 1 つの要因であることが示唆された。また、タンパク質量の増加だけでなく、乳酸輸送能の亢進が血中乳酸濃度の低下に関与していると考えられ、特にトレーニング初期において、MCT の増加よりも早く乳酸輸送能の亢進が生じる可能性が示唆された。また、GLUT4 タンパク質量の検討から、様々なトレーニングの実施が、まずトレーニング時の糖代謝に変化を及ぼし、そのことが MCT と乳酸の代謝に影響を及ぼす可能性が考えられた。さらに本研究において、ミトコンドリアに MCT1 が存在することを示し、“Intracellular lactate shuttle” の存在を支持した。このことより、産生された乳酸を速やかにミトコンドリアに取り込むことが可能であり、エネルギー基質として乳酸を効果的に利用できると思われる。したがって本研究より、乳酸が運動時に代謝され、糖や脂質と同様にエネルギー供給に非常に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

以上のことから、本研究で用いたトレーニング形態（自由運動・持久的トレーニング・スプリントトレーニング）やトレーニング期間の違い、さらにトレーニング時の運動量によって、MCT タンパク質量の適応が異なることが明らかとなった。