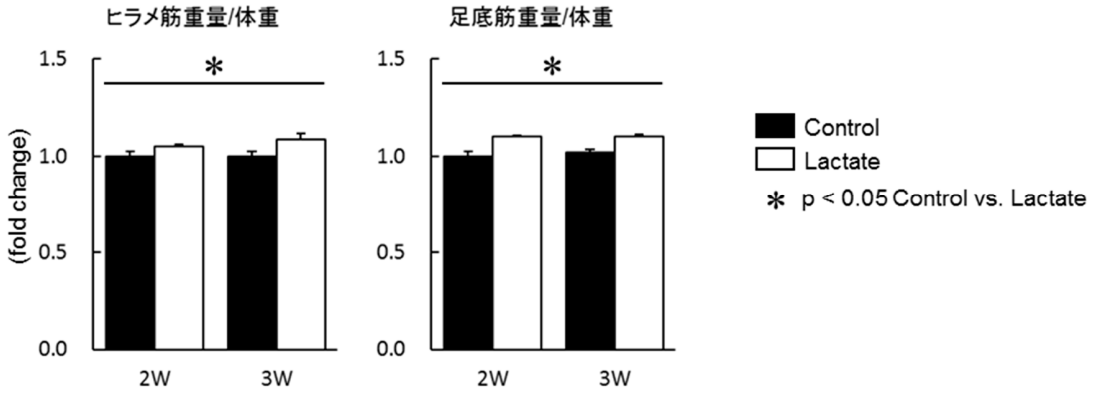
99　乳酸受容体を介した骨格筋肥大メカニズムの解明	大野　善隆

【目的】運動は骨格筋機能の向上をもたらす筋量増加を引き起こす。一方、運動に伴い、骨格筋から乳酸を含む様々な生理活性物質が分泌される。骨格筋には乳酸受容体が存在するため、骨格筋から分泌される乳酸が骨格筋自身に作用すると考えられる。しかしながら、骨格筋における乳酸受容体の役割には不明な点が多い。そこで本研究では骨格筋における乳酸受容体の存在に着目し、乳酸受容体刺激が骨格筋量の増加に及ぼす影響について検討した。

【方法】乳酸ナトリウムまたは乳酸受容体アゴニストをマウスへ経口投与した後、骨格筋重量を測定した。また、骨格筋細胞の培養培地に乳酸受容体刺激を負荷した後、筋核数を測定した。

【結果】マウスへの乳酸ナトリウムの経口投与により、骨格筋重量の増加が認められた。乳酸受容体アゴニストの経口投与も筋重量を増加させた。これらの結果から、乳酸受容体刺激は骨格筋量の増加を引き起こすことが示唆された。また、骨格筋細胞に対する乳酸受容体刺激が筋核数に及ぼす影響について検討した結果、乳酸ナトリウムおよび乳酸受容体アゴニストによる筋管細胞の核数の増加が認められた。したがって、乳酸受容体は筋芽細胞の融合、筋管細胞の形成に関与することが示唆された。

乳酸ナトリウムが筋重量に及ぼす影響



99. 乳酸受容体を介した骨格筋肥大メカニズムの解明

大野　善隆

豊橋創造大学 保健医療学部 理学療法学科

Key words：骨格筋，乳酸受容体，筋肥大

緒　言

超高齢社会に突入した我が国において、ロコモティブシンドロームの患者数は増加している。健康寿命の延伸のために骨格筋をはじめとする運動器機能の維持および向上が奨励されている。その方策の一つとして運動による骨格筋機能の向上がある。しかし、運動の実施が困難な高齢者や患者が存在するため、新たな筋機能の向上方法の確立が早急に望まれる。

運動は骨格筋機能の向上をもたらす筋量増加（筋肥大）を引き起こす。一方、運動に伴い、骨格筋から乳酸を含む様々な生理活性物質が分泌される。骨格筋には乳酸受容体 HCA1（Hydroxy-carboxylic acid receptor 1）[1] が存在するため、骨格筋から分泌される乳酸が骨格筋自身に作用すると考えられる。しかしながら、骨格筋における乳酸受容体 HCA1 の役割には不明な点が多い。

筋量増加の一因として筋衛星細胞由来の筋芽細胞の分化・融合による筋核数の増加が考えられている。また、乳酸が筋衛星細胞や筋分化の調節因子を増加させることが報告された [2]。しかし、乳酸が筋量増加に及ぼす影響ならびにそのメカニズムは明らかではない。

そこで本研究では骨格筋における乳酸受容体 HCA1 の存在に着目し、乳酸受容体刺激が骨格筋量の増加に及ぼす影響について検討した。マウスへの乳酸ナトリウムおよび乳酸受容体アゴニストの経口投与により骨格筋重量の増加が認められた。この結果から、乳酸受容体刺激は骨格筋量の増加を引き起こすことが示唆された。また、骨格筋細胞に対する乳酸受容体刺激が筋核数に及ぼす影響についても検討した。その結果、乳酸ナトリウムおよび乳酸受容体アゴニストによる筋管細胞の核数の増加が認められた。したがって、乳酸受容体は筋芽細胞の融合、筋管細胞の形成に関与することが示唆された。

方法および結果

本実験は動物実験ならびに培養細胞実験の 2 つの実験系により構成された。

1. 乳酸受容体刺激が骨格筋量に及ぼす影響

本研究の動物実験は所属機関における動物実験に関する規程に従い、所属機関の動物実験委員会による審査・承認を経て実施された。動物実験では C57BL/6J 雄性マウスを用い、対照群と乳酸投与群に無作為に分類した。マウスは室温約 23℃、明暗サイクル 12 時間の環境下で飼育された。なお、餌および水は自由摂取とした。乳酸投与群のマウスには乳酸ナトリウムの経口投与を 3 週間行った。投与開始後 2 週目および 3 週目にマウスの体重を測定した後、後肢より足底筋ならびにヒラメ筋を摘出し、結合組織を除去した。筋重量測定後、体重あたりの筋重量を算出し、骨格筋量の変化を評価した。

乳酸ナトリウムが体重および筋重量に及ぼす影響を投与開始後 2 週目と 3 週目に検討した。実験期間中に体重は増加したが、乳酸ナトリウムによる体重の変化は認められなかった（図 1A）。一方、乳酸投与群のヒラメ筋ならびに足底筋の重量は対照群に比べて有意に（$p < 0.05$）高値を示した（図 1B）。体重あたりの筋重量も乳酸ナトリウムの投与により有意な（$p < 0.05$）増加が認められた（図 1C）。

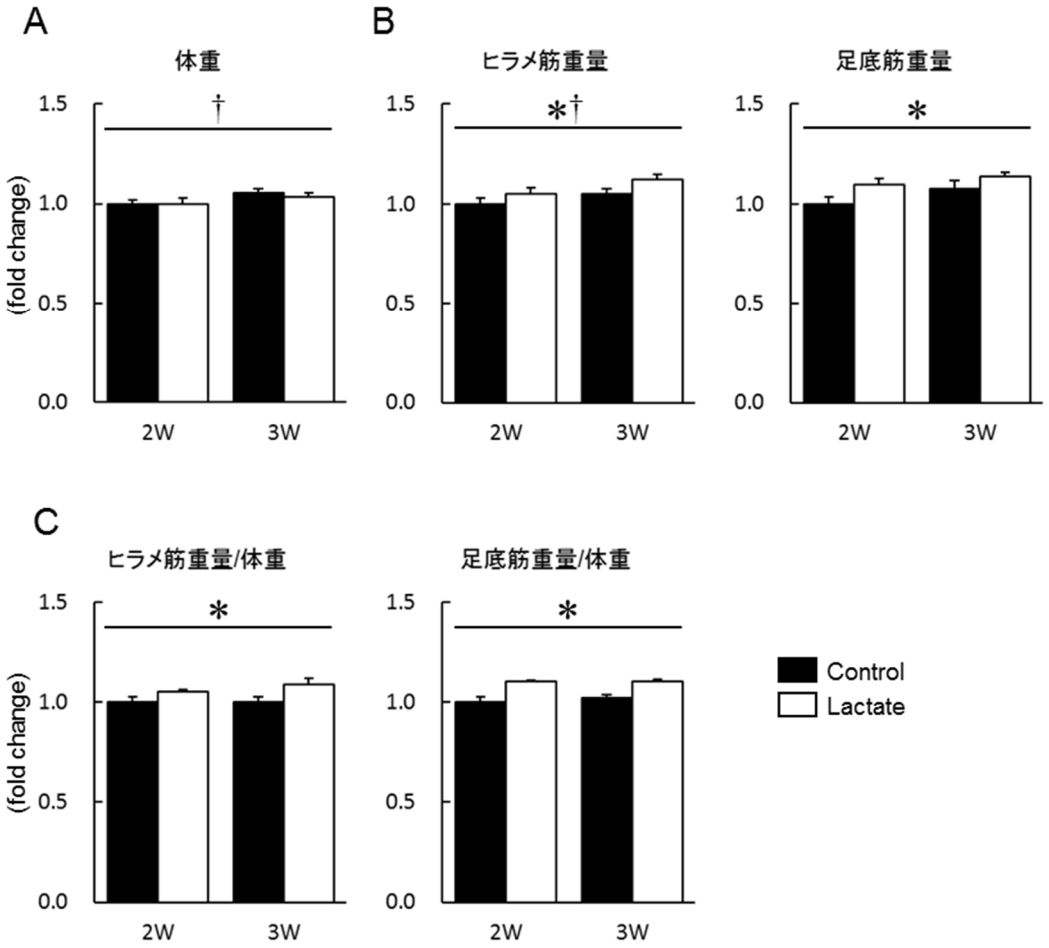


図 1. 乳酸ナトリウムが体重、筋重量に及ぼす影響

A : 体重、B : 筋重量、C : 体重あたりの筋重量。Control : 対照群、Lactate : 乳酸ナトリウム投与群。平均±標準誤差。

*$p < 0.05$（Control vs. Lactate）、†$p < 0.05$（2W vs. 3W）、two-way ANOVA、Tukey's test。

次に、マウスを対照群と HCA1 アゴニスト投与群に無作為に分類した。HCA1 アゴニスト投与群のマウスには CHBA（3-Chloro-5-hydroxybenzoic acid、東京化成工業）［3］の経口投与を 3 週間行い、マウスの体重ならびに骨格筋量の変化を評価した。

HCA1 アゴニストである CHBA が体重および筋重量に及ぼす影響を投与開始後 2 週目と 3 週目に検討した。実験期間中に CHBA による体重の変化は認められなかった（図 2A）。一方、対照群に比べて、HCA1 アゴニスト投与群のヒラメ筋ならびに足底筋の重量は有意に（$p < 0.05$）高値を示した（図 2B）。CHBA の投与は体重あたりの筋重量も有意に（$p < 0.05$）増加させた（図 2C）。

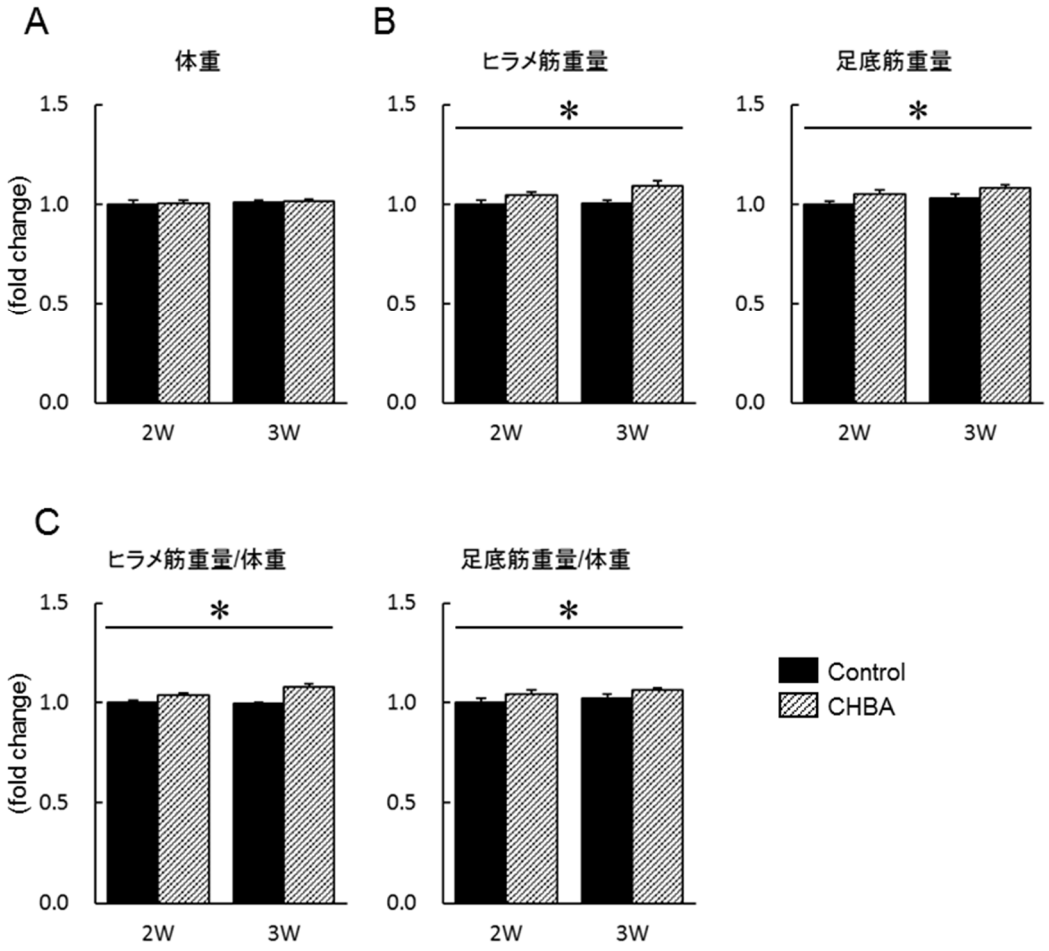


図 2. 乳酸受容体アゴニストが体重、筋重量に及ぼす影響

A：体重、B：筋重量、C：体重あたりの筋重量。Control：対照群、CHBA：CHBA 投与群。平均±標準誤差。

*p < 0.05（Control vs. CHBA）、two-way ANOVA、Tukey's test。

2. 乳酸受容体刺激が筋核数に及ぼす影響

培養細胞実験ではマウス筋芽細胞由来 C2C12 を用いた。筋芽細胞を播種し増殖培地にて増殖させた後、分化培地にて培養し筋管細胞に分化させた。分化期の培養培地に乳酸ナトリウムまたは乳酸受容体 HCA1 のアゴニストである 3,5-DHBA（3,5-dihydroxybenzoic acid、Tocris Bioscience）[4] を投与して培養した。培養終了時に免疫組織学的染色法を行い、筋管細胞を抗 Myosin 抗体（Sigma）、核を Dapi（4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride、Sigma）により染色した。蛍光顕微鏡（BZ-X700、キーエンス）下で撮影した細胞像において、筋管細胞中の核数の変化を評価した。

乳酸ナトリウムならびに HCA1 アゴニストである 3,5-DHBA が筋管細胞の核数に及ぼす影響を分化 5 日目に検討した。乳酸ナトリウムを分化期の培養培地に投与することで筋管細胞の核数が増加した。また、3,5-DHBA の投与も筋管細胞の核数を増加させた。

考　察

本研究において 3 週間の乳酸ナトリウムの経口投与により骨格筋重量が増加した。HCA1 受容体アゴニスト CHBA も乳酸ナトリウムと同様に筋重量を増加させた。これらの結果から、乳酸受容体刺激は骨格筋量の増加を引き起こすことが示唆された。また、乳酸ナトリウムおよび HCA1 受容体アゴニスト 3,5-DHBA は筋管細胞の核数を増加させた。したがって、乳酸受容体 HCA1 は筋芽細胞の融合、筋管細胞の形成に関与することが示唆された。現在、乳酸受容体 HCA1 依存性の細胞内シグナルについて検討を進めているところである。今後、乳酸受容体を介した骨格筋量増加のメカニズムを解明していきたいと考えている。

謝　辞

最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文　献

1) Liu C, Wu J, Zhu J, Kuei C, Yu J, Shelton J, Sutton SW, Li X, Yun SJ, Mirzadegan T, Mazur C, Kamme F, Lovenberg TW. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. J Biol Chem. 2009 Jan 30;284(5):2811-22. Epub 2008 Dec 1. PMID: 19047060 DOI: 10.1074/jbc.M806409200

2) Oishi Y, Tsukamoto H, Yokokawa T, Hirotsu K, Shimazu M, Uchida K, Tomi H, Higashida K, Iwanaka N, Hashimoto T. Mixed lactate and caffeine compound increases satellite cell activity and anabolic signals for muscle hypertrophy. J Appl Physiol (1985). 2015 Mar 15;118(6):742-9. Epub 2015 Jan 8. PMID: 25571987 DOI: 10.1152/japplphysiol.00054.2014

3) Dvorak CA, Liu C, Shelton J, Kuei C, Sutton SW, Lovenberg TW, Carruthers NI. Identification of hydroxybenzonic acids as selective lactate receptor (GPR81) agonists with antilipolytic effects. ACS Med Chem Lett. 2012 Jun 11;3(8):637-9. eCollection 2012 Aug 9. PMID: 24900524 DOI: 10.1021/ml3000676

4) Liu C, Kuei C, Zhu J, Yu J, Zhang L, Shih A, Mirzadegan T, Shelton J, Sutton S, Connelly MA, Lee G, Carruthers N, Wu J, Lovenberg TW. 3,5-Dihydroxybenzoic acid, a specific agonist for hydroxycarboxylic acid 1, inhibits lipolysis in adipocytes. J Pharmacol Exp Ther. 2012 Jun;341(3):794-801. Epub 2012 Mar 20. PMID: 22434674 DOI: 10.1124/jpet.112.192799