

## 運動負荷とエネルギー代謝調節機構

下岡 里英, 神原 彩, 瀬山 一正

Mechanism for the transition of energy resources by exercise

Rie SHIMOOKA, Aya KANBARA and Issei SEYAMA

### Abstract

As exercise intensity is enhanced, the transition of energy resources in the body rises in orderly way. The selection of resources of energy occurs by shifting from free fatty acid (FFA) in serum at 20% $\dot{V}O_2$ max to FFA from lipid cells and glucose from skeletal muscles and liver at 65% $\dot{V}O_2$ max. At the highest level of exercise of 85% $\dot{V}O_2$ max, utilization of FFA from lipid cells is suppressed, and energy resources mostly shift to more efficient and rapidly available glycolysis. This transition of energy resources is mediated by the acylcarnitine system and direct utilization of lactic acid in skeletal muscles instead of passing through the 'Corti' cycle. At moderate exercise, the acylcarnitine system operates in facilitating  $\beta$ -oxidation by providing available carnitine for transporting long-chain fatty acid acyl CoA from cytosole to mitochondria, but at much more strenuous exercise, the same system functions in the opposite direction—the suppression of  $\beta$ -oxidation by reducing available carnitine for long-chain fatty acid acyl CoA, where carnitine is largely transferred for buffering acetyl CoA. By so doing, due to overproduction of acetyl CoA by  $\beta$ -oxidation and additionally metabolizing accumulated lactic acid, the suppression of PDC, a key enzyme of the TCA cycle, will be removed and an efficient and rapid pathway through glycolysis and the TCA cycle is preferentially selected. In the case of lactic acid, it is directly metabolized in TCA cycle by using intramitochondrial LDH as well as by directly transferring it from white muscle to red muscle cells. Another supporting mechanism is provided by glycolysis in the liver and lipolysis in fat tissues conducted by IL-6 and other cytokines liberated from active skeletal muscles. These three exercise-induced mechanisms concertedly function for smooth transition of metabolic processes for carbohydrates and fat.

### I. 運動強度と燃料代謝調節

運動の強度及び持続時間によって、身体運動に深く関わる臓器である骨格筋、肝臓及び脂肪組織から、炭水化物及び脂肪がどのように利用されるかを人間で測定されたデータが示されている(図1)<sup>1)</sup>。25% $\dot{V}O_2$ maxの低い運動強度では、血漿中の脂肪酸とグルコースでほとんどのエネルギーが供給される。65% $\dot{V}O_2$ maxの中程度の運動強度では、筋肉内で中性脂肪の代謝が

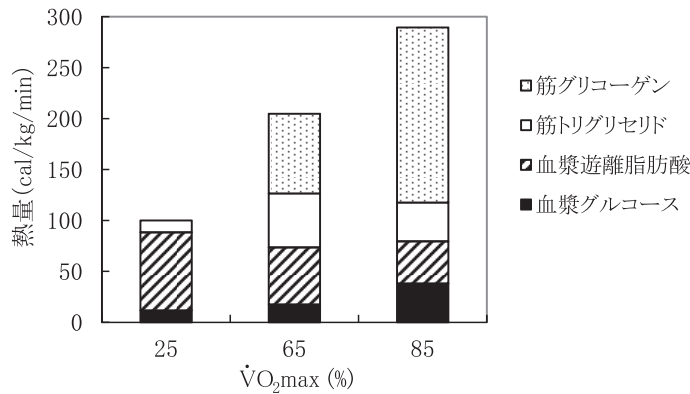


図1 運動強度の変化に伴う炭水化物と脂質の運動エネルギー供給に与する割合

最大となる。この運動強度では末梢の脂肪組織からの中性脂肪と骨格筋内中性脂肪分解が同程度にエネルギー供給を行っている。85% $\dot{V}O_{2max}$  の高い運動強度では脂肪の燃焼によるエネルギー供給が減少する。これは交感神経活動による  $\alpha$ -アドレナリン性血管収縮作用により脂肪組織への血流が減少したことと、それに伴い脂肪酸の運び出しに必要なアルブミンの供給が不足するため、血漿脂肪酸量が減少することによる。また、脂肪酸化によるエネルギー供給の減少は運動強度の強化により筋肉の解糖系の刺激とグルコース取り込みが亢進することの影響も受ける。運動強度の強化に伴い、血漿遊離脂肪酸量が減少するが、その減少分を補うように血漿グルコースからの供給が増加して、血漿からのエネルギー供給は全運動強度を通じて一定に保たれている。これは運動強度に比例して代謝系が脂肪酸化からグルコース酸化に推移していることを表している。

骨格筋における代謝は、脂肪酸がエネルギー源として利用できる時は第1選択肢として使用されるが、運動の強度と持続時間が増えてくると脂肪酸の利用からグルコースの利用へと移行する。多くの報告から、カルニチンがこの燃料選択に関わっている可能性が示されている。

### 1) カルニチンの燃料代謝での役割

まず、骨格筋の燃料代謝におけるカルニチンの役割について述べる。長鎖アシル CoA は、ミトコンドリア外膜のカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ1 (CPT1) により長鎖アシルカルニチンを形成し、脂肪酸トランスロカーゼ (FAT/CD36) およびカルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ (CACT) によりミトコンドリア内膜へ転移し、さらに CPT2 により、ミトコンドリアマトリックスへ輸送され、遊離カルニチンと長鎖アシル CoA になり、 $\beta$  酸化を受ける (図2)。

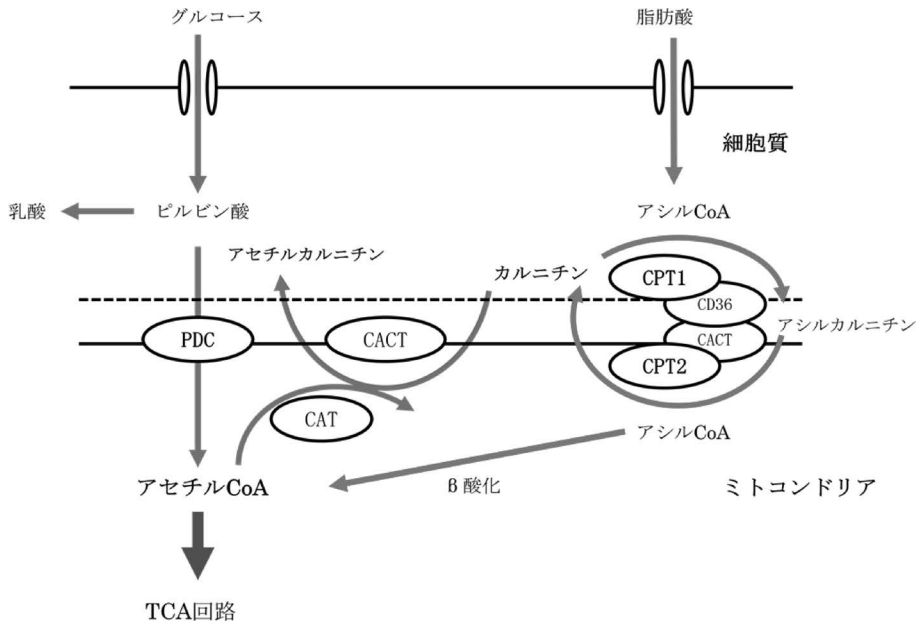


図2 燃料代謝におけるカルニチンの役割

骨格筋のカルニチン量が低下すると、パルミチン酸の酸化も低下すること<sup>2)</sup>から、骨格筋での長鎖脂肪酸酸化に対するカルニチンの重要性は、長鎖脂肪酸アシル基を細胞質からミトコンドリア内へ運搬することによって、骨格筋におけるエネルギー代謝の役割を担っている点である。このとき、長鎖脂肪酸のミトコンドリア内への移動と酸化の律速酵素は CPT1 である。

一方、カルニチンのエネルギー代謝における別の働きとして、運動開始時のアセチル CoA 過剰合成時における、アセチル CoA の緩衝剤としての働きが報告されている。高強度運動開始から数分間で、骨格筋の遊離カルニチン含量が安静時の総筋肉カルニチンプールの75%から20%へ減少し、この減少のほとんどはアセチルカルニチンの形成によるものであることが示された。このアセチルカルニチンの形成は筋肉のアセチル CoA の増加と直接関係している。しかし、低強度での運動開始時には筋肉のアセチルカルニチン含量に変化はみられなかった(図3)<sup>3-6)</sup>。つまり、高強度運動時や、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体(PDC)経由の代謝が活発である時、カルニチンはカルニチンアセチルトランスフェラーゼ(CAT)の触媒によって、過剰なアセチル CoA のアセチル基貯蔵に働き、アセチル基緩衝作用があると考えられる。これにより PDC 経由の代謝から TCA 回路への代謝の維持を助ける。

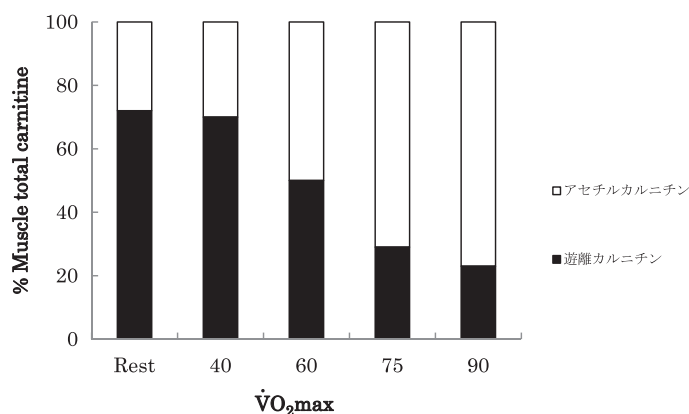


図3 運動強度とアセチルカルニチン含量

## 2) カルニチンによる燃料代謝制御機構

骨格筋のエネルギー生成に関する脂肪酸とグルコースの酸化割合を決める制御のメカニズムは、特に運動時において明らかになっていない。中強度から高強度への運動強度の上昇、または、運動中の糖質利用の増加によって、長鎖脂肪酸酸化速度の減少と相まって PDC 経由の代謝が増加することが示されている<sup>7,8)</sup>。安静時も運動時も、脂肪酸酸化が PDC 経由の代謝によって間接的に制御されること、そして、制御に関して CPT1 が中心的な役割を果たしていることを示唆する証拠が増えている。実験的に安静時グルコース利用度を増加させる、あるいは、血漿グルコース濃度を上昇させると、長鎖脂肪酸の酸化が減少するが、CPT1 に非依存的に酸化される中鎖脂肪酸の酸化には影響しないことが示されている<sup>9,10)</sup>。ここでの CPT1 における脂肪酸の酸化阻害は、筋肉の長鎖アシルカルニチン含量の減少によると考えられる。付け加えると、運動中に実験的に血漿遊離脂肪酸濃度を戻すことで、脂肪酸の酸化速度がある程度回復するという結果から、糖質利用増加による脂肪酸酸化阻害は、遊離脂肪酸の酸化機能ではないことを示唆している。

PDC 経由代謝の増加が CPT1 を介した長鎖脂肪酸酸化低下を制御する機構として、カルニチンの関与が示されている。CPT1 は pH 7 から pH 6.8 へ変化することによりその活性が50%低下する<sup>11)</sup>。また、この pH の変化は高強度運動時に起きることが予想される。つまり、糖質代謝の長鎖脂肪酸酸化への影響に加え、筋肉の pH の低下が CPT1 活性の直接的制御を行っている可能性を否定できない。マロニル CoA は、CPT1 の有名な阻害剤であり、ヒトの骨格筋における長鎖脂肪酸酸化の速度を細胞内制御する可能性がある。解糖系の増加によるアセチル CoA とクエン酸生成の増加は、アセチル CoA カルボキシラーゼを活性化し、筋肉のマロニル CoA 濃度を増加させるため、マロニル CoA によって CPT1 活性阻害が起き、長鎖脂肪酸酸化を抑

制すると考えられる。しかし、最近の研究において、ヒトやラットにおいて、長時間の中強度運動や段階的に強度を上げる運動時の骨格筋内で、アセチル基の著しい蓄積がみられるが、マロニル CoA と脂肪酸酸化の速度の間に関係はないこと<sup>5)</sup>、マロニル CoA の経時的変化は基質酸化の経時的変化と一致しないことが明らかになった。さらに、マロニル CoA に対する CPT 1 の感受性は、健康な被験者における運動による全身的脂肪酸酸化量の増大時に減少することも示されている<sup>12, 13)</sup>。CPT1 の主な基質がカルニチンであることから、PDC 経由の代謝が活発な状態での筋肉の遊離カルニチン量の著しい低下が、ミトコンドリアマトリックスへの長鎖アシル CoA 輸送および脂肪酸化の制御に関わってくる。実際に、高強度運動下での長鎖脂肪酸酸化速度の減少が、骨格筋の遊離カルニチン含量の減少と同時に起こっていることや、中強度運動 (65%  $\dot{V}O_2\text{max}$ ) 前に筋肉グリコーゲン含量を増加させると、遊離カルニチン濃度が減少し、脂肪酸酸化速度の低下もみられる<sup>14, 15)</sup>。つまり、カルニチンの濃度に比例して脂肪酸酸化速度が決定されるという仮説が考えられる。

## II. カルニチン添加による燃料代謝への影響

PDC 経由の代謝が活発な時、アセチルカルニチン量が増加し、遊離カルニチン量が減少することになり脂肪酸酸化が抑制されるという考え方に従えば、筋肉内総カルニチン含量の増加は、高強度運動時にみられる脂肪酸酸化の低下を緩和し、筋肉内グリコーゲンの利用を抑えられるという可能性を示唆する。実際に、運動選手は運動中の脂肪酸利用の能力が高く、筋肉のカルニチン含量が普通の人より高いということは注目値する。さらに、*in vitro* で骨格筋カルニチン含量の増加により疲労が軽減している<sup>16-18)</sup>。骨格筋カルニチン含量を実験的に増加させると、筋肉の PDC 活性の上昇を抑制することが示された。同時に乳酸生成も低下した。さらに、筋肉グリコーゲン量と長鎖アシル CoA 量はカルニチン投与により増加する<sup>17)</sup>。この現象は解糖機構の機能低下と脂肪酸酸化の促進によると解釈される。すなわち、筋肉内カルニチン量の増加により結果的に  $\beta$  酸化が増え、アセチル CoA の供給は脂肪酸酸化を経由することになる。このアセチル CoA の増加により、PDC は生成物阻害を受け活性が低下する。また、TCA 回路でのクエン酸生成が増加し細胞質への漏出を増加させることになり、クエン酸がフォスホフルクトキナーゼを抑制し、さらに、ヘキソキナーゼも生成物阻害を受けるため、結果的にグリコーゲンが温存されることになる。つまり、全体をみると筋肉のカルニチン量を増やすと、高強度運動でみられる脂肪酸酸化低下の改善が期待できる。しかし、このためには安静時に筋肉内カルニチン量を増やす必要がある。人においては経口的または経静脈的にカルニチンを投与しても筋肉のカルニチン含量の増加や運動能力の改善は認められない。Stephans らは、経口的にカ

ルニチンと大量の糖質を摂取すると、インスリン濃度が上昇し、結果的に L-カルニチン単独摂取に比べカルニチンの全身含有量を増加させることを示した<sup>19)</sup>。さらに、この効果はカルニチンと糖質の持続的摂取により維持されることも明らかにした。

一定強度の運動を開始すると、急激なクレアチンリン酸の加水分解と乳酸の蓄積で特徴付けられる酸化的 ATP 供給の遅れが生じる。これは、古典的にいわれている酸素供給の遅れというよりミトコンドリア ATP 生成機構にある慣性によると考えられている。この慣性に PDC 活性とアセチルカルニチンの関わりが示唆されている。PDC 活性化を薬理的に起こすと、安静時の骨格筋でアセチルカルニチン量が上昇し、酸素供給状態下の運動でクレアチンリン酸の加水分解と乳酸蓄積が減少したことから、TCA 回路の代謝が確保されていることが示唆された<sup>20)</sup>。運動開始時から蓄積したアセチルカルニチンによりアセチル CoA が確保され、TCA 回路の代謝回転が維持されると考えられる。健康な被験者において、低強度運動を短期に行い、それに引き続き高強度運動 (75% $\dot{V}O_2\text{max}$ ) を行うと、PDC 活性は影響しないが、安静時に比べ筋肉のアセチルカルニチン量は 2 倍になることが証明され、無酸素 ATP 再合成が 40% 減少していた<sup>21)</sup>。つまり、運動の初期から TCA 回路の基質を与えて結果として酸素非依存性の ATP 産生を抑え、疲労を抑えうる。そして、アセチル基の欠損は安静時の PDC 活性化やアセチルカルニチンによるアセチル基確保で克服できることを示している。

### Ⅲ. 乳酸の多彩な役割

#### 1) ミトコンドリアの乳酸代謝における役割

これまで、乳酸の産生は嫌氣的条件下で起こる反応であると考えられてきた。実際に、運動中は動脈血中の乳酸濃度が上昇する。しかし、乳酸は十分好氣的な条件下であっても常に様々な細胞で生成、利用されていることがわかってきた。したがって、運動中に増加する乳酸は、酸化を上回る筋相からの正味の放出があることを示している。乳酸は解糖系の産物である一方、酸化経路の基質となるため、解糖系と好氣的代謝は、酸素の有無によって選択される独立した経路ではなく、連携した過程としてみなされるべきである。

乳酸が酸化されるためには、ミトコンドリアにモノカルボキシレートトランスポーター (MCT) のような輸送体や L-乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) が必要だと考えられた。1980年代には、ラットの肝臓、腎臓、心臓のミトコンドリアに LDH が存在することが証明された。また、筋肉に MCT が存在することが明らかとなり、ミトコンドリアが乳酸を酸化する能力があると示された。MCT は、神経から赤血球、精子まで様々な細胞と組織に発現する。筋肉では、細胞質、ミトコンドリア、ペルオキシソーム膜に発現することがわかっている。MCT は 1～

4のアイソフォームを持ち、これらによって膜を介した乳酸促進輸送が行われていることがわかっている。

乳酸代謝は輸送速度によって制限されていることがわかり、輸送体が調べられた。乳酸輸送には、① L-乳酸-H<sup>+</sup> シンポーター、② L-乳酸/オキサロ酢酸アンチポーター、③ L-乳酸/ピルビン酸アンチポーターの3つの異なる輸送経路がある。ミトコンドリアは呼吸鎖で生じるH<sup>+</sup>をミトコンドリアの外へ排出しているため、常に内向きのH<sup>+</sup>勾配ができています。トレーニングによってミトコンドリアの発生が増加すると①のシンポーター (MCT2) の拡散勾配によって運動中の乳酸クリアランスが上昇する。また、L-乳酸はオキサロ酢酸をミトコンドリアの外へ移動させるため、糖新生の引き金となっていることから、肝臓の糖新生へのルートを明らかにした。L-乳酸/ピルビン酸アンチポーター (MCT1) は、LDH とともに作用する。LDH は、活発に呼吸をしている細胞内で乳酸を酸化させるものであるため、常にミトコンドリア内の乳酸濃度はミトコンドリア外よりも低くなっている。それゆえ、乳酸流入を駆動する勾配が確立されている。以上のことから、乳酸代謝には活発に呼吸をしているミトコンドリアが不可欠であるといえる。ミトコンドリアにおける乳酸代謝の研究成果は、L-乳酸代謝が主な役割を果たしているガンや、高血圧、糖尿病を含むいくらかの疾患に適応できるのか、またそれがどの程度適応できるのかについては今後の課題である。

## 2) 哺乳類における乳酸代謝

上述のように、ミトコンドリアに乳酸担体による輸送過程とLDHが存在するという事実は、これまで明らかとなっていなかった乳酸の代謝を説明する。ほんの数年前まで賛否両論があったけれども、現在は、細胞間および細胞内に乳酸シャトルがあると考えられている。細胞間乳酸シャトルの例としては、運動中に白筋線維で産生された乳酸を赤筋線維へ送り酸化することや、運動中に骨格筋で産生された乳酸を心臓や脳、肝臓、腎臓との間で輸送していることがあげられる。細胞内シャトルの例としては、ミトコンドリアによる乳酸の取り込み、ペルオキシソームにおける乳酸-ピルビン酸交換などがあげられる。これらの乳酸の流れによって細胞の酸化還元状態だけでなく、代謝に影響を及ぼす可能性が示唆されている。そのオートクライン、パラクライン、エンドクライン様の作用を考慮すると、乳酸は重要なシグナル伝達分子であるかもしれない。このように、乳酸代謝は様々な役割を果たしている可能性が示唆され、かつての考え方は大きく変化してきている。

### i) 肝臓

肝臓は糖新生の酵素機構を有するため、乳酸代謝において主要な役割を果たしていることはよく知られている。しかしながら、乳酸代謝は、単に細胞質のLDHの作用によって行われて

いると考えられてきた。最近, Bari<sup>22)</sup>らは, 外から乳酸を添加すると, 肝臓のミトコンドリアのLDHによってマトリックス内で乳酸が酸化され, ミトコンドリア内のNAD<sup>+</sup>とH<sup>+</sup>勾配の減少を伴うことを示した。激しい運動では, 効率よくATPを産生するために, 筋肉では嫌氣的解糖を行う。この際, 副産物として生成される乳酸は肝臓へ送られ, LDHによってピルビン酸へ変換され糖新生を行う。再生されたグルコースは筋肉へ戻され, エネルギー源として再利用される。このコリ回路は, 細胞間乳酸シャトルの例として, 初めて証明された。

#### ii) 心臓

心臓は積極的に乳酸を消費する。健全な心筋は, 安静時でも運搬速度に比例して乳酸を取り込み, 消費すると同時に産生している。したがって, 動脈血乳酸濃度が上昇すると, 優先的に心臓の燃料として使われる。肝臓と同様, 乳酸は細胞質のLDHによってピルビン酸となり, ピルビン酸がミトコン内で酸化されると考えられてきた。しかし, <sup>13</sup>C乳酸を使った実験では, イヌ科の心臓で $\alpha$ -ケトグルタル酸は標識するが, 細胞質のピルビン酸やアラニンの標識をしなかったことから, 乳酸がミトコンドリアの内部で代謝されていることが明らかとなった。

#### iii) 骨格筋

乳酸が骨格筋に蓄積するのは, 嫌氣的代謝の結果と考えられてきた。実際に骨格筋は乳酸を取り込むことができる。しかし, 十分好氣的条件下でも代謝されたグルコースの50%から乳酸が産生されることがわかってきた。ミトコンドリア内部にLDHが存在するという考えに基づき, 細胞質で解糖とグリコーゲン分解の結果生じた乳酸は, ミトコンドリアで酸化されることで平衡を保っていると仮説が立てられた。この仮説では, 解糖的に生成されたピルビン酸は, 担体によってミトコンドリアに取り込まれた後, アセチル CoAに代謝されるよりも優先的に細胞質で乳酸へ代謝されるということを示唆している。後に, Brooksら<sup>23)</sup>は, 酵素的分析に加え, 共焦点顕微鏡法と免疫蛍光分析法, ウェスタンブロット分析法によってLDHがミトコンドリアの内膜の外側に固定されていること, 乳酸酸化複合体が存在することを報告した。

#### iv) 脳

脳は, 特に高強度の運動中や, 運動からの回復期のはじめに血中から乳酸を取り込み, エネルギー基質として利用している。Hashimotoら<sup>24)</sup>は, ラットの脳と初代神経細胞培養で, ミトコンドリアのLDH, MCT1, MCT2が存在することを示した。グリア細胞が血中からグルコースを取り込み, 解糖によって乳酸に変換されるとMCT1によって細胞外層へ輸送する。次いでニューロン(特に小脳顆粒細胞)は, MCT2によって細胞外の乳酸を取り込み, ミトコンドリアの呼吸の燃料として利用している。脳においても, 酸素の有無にかかわらず, 乳酸が解糖の主な生成物であると考えられている。



### 3) 運動中の血中乳酸反応速度論

Brooks<sup>23)</sup> は、 $[^{14}\text{C}]$  乳酸トレーサーを用いたトレッドミル熱量測定によってラットの乳酸血流量および酸化速度を測定した。並行して、 $[^3\text{H}]$ -,  $[^{14}\text{C}]$ -グルコースを用いて実験した。この実験によって、安静時でも乳酸が常に産生され、急速に代謝回転していることが分かった。また、安静時には乳酸の除去率 (Rd) の半分を酸化が占めており、持続的なトレッドミル運動をしている間には酸化が占めるその割合が75~80%に上昇した。このとき運動による乳酸の産生速度に与える影響はほとんど見られなかったが、乳酸クリアランス率が上昇していた。さらに、 $[^3\text{H}]$ -,  $[^{14}\text{C}]$ -グルコース除去速度と同様に  $[^{14}\text{C}]$  乳酸トレーサーを測定することによって、乳酸が運動中の糖新生の主な前駆体となっていることが明らかになった。

同様の実験がヒトにおいても行われた。まず、安静時と運動中 ( $50\sim 75\% \dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ ) の Rd を測定したが、酸化による乳酸除去はラットの結果と同様であった。さらに、 $[^2\text{H}]$ ,  $[^{13}\text{C}]$ ,  $[^{14}\text{C}]$  トレーサーを組み合わせることによってグルコースと乳酸の流量と、乳酸からの糖新生を安静時と運動中で比較した。食後安静時には、グルコース流量は乳酸の2倍であったものが、中程度の運動ですでにその流量は乳酸と同じかそれ以下に変化し、強度が高まるにつれ、乳酸出現速度 (Ra) がグルコース除去速度を大きく上回っていった。さらに、トレーニングをしている群とそうでない群に分け、運動中の乳酸産生速度が測定されたが、差はほとんど見られなかった。しかし、この群間でもクリアランス率に差がみられた。また、長期的研究によって、トレーニングが乳酸クリアランスを高めることによって動脈血中の乳酸濃度を調節していることが確かめられた。これは、トレーニングによって筋線維鞘の MCT1 発現とミトコンドリアのタンパク発現が増加したことで説明ができる。

### 4) 糖新生の前駆体としての乳酸

筋で産生される乳酸は全てが酸化によって除去されないで、運動している筋相から正味の放出があるときには、動脈血乳酸濃度が上昇することになる。最近の研究では、D2-,  $^{13}\text{C}$ -グルコースを組み合わせ、さらに乳酸濃度を一定に保つために乳酸クランプを用いてどれだけグルコースに変換されているのか調査された。この研究によって、乳酸の除去は主に酸化が担っており糖新生に利用される部分はわずかであるけれども、持続的な運動中には糖新生の主な前駆体が乳酸であることが明らかとなった。さらに、運動中の動脈血乳酸濃度が上昇することは、糖新生の前駆体として有効性があるだけでなく、心臓に燃料を供給するという利点がある。一方、乳酸の利用が高まると他の基質の利用は減少する。

Liu ら<sup>25)</sup> は、古典的な生化学的精製方法を用いて、ブタ脳抽出物中において、ヘテロ三量体グアニンヌクレオチド結合タンパク質 (Gタンパク質) 共役受容体 (GPCR) GPR81 を活性化

することができるリガンドを同定した。GPR81 は、脂肪組織に最も豊富に見られる。核磁気共鳴分光解析によって、活性化能を有する画分には高純度の L-乳酸が含まれることが明らかになった。グアノシン 3 リン酸  $\gamma$ S の結合、アデノシン 3',5'-1 リン酸の蓄積の阻害、または有効濃度の中央値 ( $EC_{50}$ ) 5 mM を有する受容体の細胞内移行のアッセイで検出されるように、L-乳酸は GPR81 を活性化させた。5 mM の  $EC_{50}$  は、GPCR の大部分のリガンドが必要とする濃度よりもはるかに高かった。しかし、彼らは、ヒト血漿中の安静時の乳酸濃度は 0.5~2 mM であり、激しい無酸素運動の後には 20 mM にまで上昇することがあると指摘している。L-乳酸は、分化したマウス 3T3-L1 細胞 (脂肪細胞株) およびヒト脂肪細胞の初代培養において脂肪分解を阻害した。GPR81 ノックアウトマウスに由来する脂肪細胞では、脂肪分解に対する L-乳酸の影響は認められなかったが、これらの細胞における脂肪分解のインスリンおよび他の刺激に対する応答性は維持されていた。よって、GPR81 は乳酸のセンサーとして働き、代謝制御における乳酸の役割を説明するかもしれない。

過度の運動の間に産生される乳酸は脂肪分解を制限する働きがあるかもしれないと提唱されている。安静時には、筋肉とその相からの静脈流出液  $[LA^-]/[Pyr^-]$  比はおおよそ 10 であるが、過度の運動によってその比は 10 倍あるいはそれ以上になる。これはアセチル CoA の増加をもたらし、それゆえマロニル CoA 形成を増加させる。マロニル CoA の増加は、CPT1 を阻害することによって活性遊離脂肪酸のミトコンドリアマトリックス内への運搬を阻害するだけでなく、 $\beta$  ケトチオラーゼ、終末酵素、ミトコンドリアの  $\beta$  酸化経路の律速酵素を下向きに制御する。遊離脂肪酸からの ATP の産生は、ピルビン酸からの産生と比較して必要酸素量の点で効率が悪いので、運動時に脂肪分解を制限することは有益になりうる。したがって、乳酸を産生する解糖速度がミトコンドリアの呼吸速度を超える場合は、遊離脂肪酸の放出を制限するのが妥当であるといえる。乳酸は、代謝負荷時、例えば、食事後、グルコースが豊富に存在する時に、脂肪細胞によっても産生される。この場合、乳酸は脂肪分解を抑制する自己分泌シグナルとして働く可能性があると考えられる。

## 5) ROS 産生因子としての乳酸

創傷治癒における研究で、乳酸が ROS 産生因子としての役割があるという仮説が立てられた。Brooks ら<sup>23)</sup> は、これを確かめるために、ラット筋細胞由来の L6 細胞を 20 mM の乳酸に曝露させ、過酸化水素産生を観察した。その結果、高乳酸環境で過酸化物質の産生が高まり、高グルコース環境と同じ結果であることがわかった。同様に、20 mM の乳酸に曝露させた L6 細胞を使って、MCT1 遺伝子発現の増加が ROS 感受性転写因子の活性化に関与しているか EMSA によって DNA 結合の評価を行った。ROS 感受性の転写因子には、cAMP 反応結合因子タンパ

ク (CREB), NF- $\kappa$ B, 活性タンパク-a (AP-1), 刺激タンパク (SP-1), 核因子赤血球 (NF-E2, Neff) などが知られているが, このうち, NF- $\kappa$ B, NF-E2 の DNA 結合が増加した。したがって, NF- $\kappa$ B, NF-E2 の DNA 結合は, 乳酸誘導性の酸化ストレスに反応していることがわかる。しかしながら, 乳酸が遺伝子発現に与える影響については, 生体内では立証されていないことを考慮しなければならない。

#### IV. 骨格筋による代謝調節

骨格筋は収縮活動の程度と持続時間に比例して多彩な液性調節因子を放出している事が明らかになっている。放出される物質を例記すると IL-6, IL-8, IL-15, 脳内系神経栄養因子 (BDNF) と白血球抑制因子 (LIF) である。更に, その数は増加すると考えられている。筋原性のこれらの一群の調節因子を“マイオカイン”と呼ぶ事が提唱されている。

骨格筋が収縮活動を行うとまず IL-6 が安静時健康人の血中濃度 (1~2 pg/ml 以下) の100倍にも上昇する分泌が起こる。骨格筋の収縮活動の停止と共に IL-6 の濃度は急速に元の値に戻る。この際骨格筋内の IL-6 mRNA 量も同じ様に増加している事から骨格筋が IL-6 を生成している事が確認されている。IL-6 の増加に引き続き IL-1 受容体拮抗因子 (IL-1 ra) や抗炎症性サイトカイン IL-10, IL-8 も分泌される<sup>26)</sup>。

IL-6 の生成を引き起こす機構は, 二つ提唱されている。1) 骨格筋上に豊富に発現している神経性 NO 合成酵素による NO 放出が起点となると考えられている。細胞内タンパクの酸化還元反応などによる転写因子の活性化か, または環状 GMP の増大による転写因子への影響で IL-6 の生成を増やす。2) 骨格筋収縮に伴い細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  が増大する。 $\text{Ca}^{2+}$  がカルモジュリンと結合しカルシニューリン (カルモジュリン依存性プロテインフォスファターゼ) が活性化する。T 細胞活性化因子 (NFAT) が脱リン酸化され活性化した後核内に移動して転写を促進する。一方細胞内グリコーゲンの量によって IL-6 の生成量が限定されることから, P38MAPK (ストレス活性化プロテインキナーゼ) による IL-6 転写調節があると考えられている。結局  $\text{Ca}^{2+}$ /NFAT とグリコーゲン/P38MAPK 調節機構間の相互作用により IL-6 mRNA の発現調節が行われている<sup>27)</sup>。

##### 1) IL-6 による代謝系の変換

骨格筋系は色々な生理的状況に対応して多様な働き方をする。この多様性は IL-6 による骨格筋内代謝系の変換により, 燃料をグルコースから脂肪酸に変えることで可能になっている。筋肉活動時に増えた IL-6 は周辺に分泌されオートクラインまたはパラクラインで作用を発揮

する。代謝調節への関与は、IL-6 が受容体へ結合することから始まる。IL-6 受容体は gp130R $\beta$  という膜貫通型の二量体に IL-6 受容体が付いて三つの構造が一緒になり全体として機能する。IL-6 受容体の細胞内構造上に六つのチロシン残基がありこれらのリン酸化により二つの系が活性化される。1) フォスファチジルイノシトール 3 キナーゼにより Azk (プロテインキナーゼ B) の活性化が起こり、細胞内エンドゾームにあるグルコース輸送タンパクが細胞膜に組み込まれる。これによってグルコース輸送が増える。そのグルコースをグリコーゲンに転換して筋の糖貯蔵を増やす。2) STAT3 (JAK-STAT3 経路: JAK により STAT3 はリン酸化を受けホモ二量体を形成して核に移行し機能を発揮する) は AMP キナーゼ (AMPK) の上流酵素に付きこれにより AMPK をリン酸化で活性化する。その結果①アセチル CoA カルボキシラーゼが減少するので、マロニル CoA の生成も減る。②マロニル CoA が抑制している CPT1 の抑制が取れるので、アシル CoA のミトコンドリア内への移行が増える。③  $\beta$  酸化が促進され脂肪酸の消費が増える。このようにして骨格筋は糖の消費を抑え、脂肪酸の利用を促進して運動の維持を支えている。

IL-6 はその他、肝臓ではグルコースの生成を増やす。また脂肪組織では中性脂肪の分解を促進する。

## 2) 運動と IL-6 の抗炎症性効果

定期的な運動は炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  は増やさないが、抗炎症性サイトカインやサイトカイン作用抑制因子の分泌を増やす。これらの因子には IL-1 ra (IL-1 と結合しその作用を無効にする), IL-10 や溶解性 TNF 受容体 (TNF $\alpha$  と結合する血漿溶解性物質で TNF $\alpha$  の作用を無効にする) が含まれる。この結果、運動によって抗炎症性サイトカインの多い身体的環境が作られる。

## 3) 運動習慣の効用

運動習慣と血中 IL-6 の間に逆相関のあることが疫学調査で明らかにされている。習慣的身体活動量が多い程血中 IL-6 は低くなる。運動に伴って生じる血中 IL-6 量は低く抑えられるが、IL-6 受容体の骨格筋上の発現は増加する。従って、IL-6 の身体感受性は上昇していることになる。逆に運動をしない人々は IL-6 受容体が少なく、常に血中 IL-6 の量が多い状態が生じる。丁度インスリン抵抗性の出現が運動量の少ない程起り易い事と類似した状態が生じる。全身運動は肝臓における解糖を促進すること、及び全身の脂肪組織からの脂肪酸を動員することも起こす。

#### 4) 運動に伴い分泌されるその他のサイトカイン

##### i) IL-15

IL-15 は骨格筋に対し同化作用を示すと共に脂肪組織を減少することにも関与している。運動に伴って IL-15 mRNA が増加するので IL-15 が骨格筋内に蓄積される。皮下の脂肪組織に影響しないで内臓脂肪を減少させる。

##### ii) IL-8

IL-8 は好中球に対して走化性を有するサイトカインである。この性質に加えて血管新生促進因子としての働きがある。全身には影響しない量の IL-8 が活動している骨格筋の極く限られた周辺で生成分泌され血管新生を促し、活動を維持していると考えられている。

##### iii) 脳由来神経栄養因子 (BDNF)

BDNF は脳では神経細胞の生存、成長と活動の維持に関係している。一方、全身循環血中にも存在している。BDNF の血中濃度の低下が肥満や 2 型糖尿病の患者に見られる。又、インスリンに抵抗性の重症度と BDNF の血中濃度の低い程度が強く相関している。一方、活動している骨格筋には BDNF mRNA の増加と BDNF の増加が比例している。この事実から BDNF は運動時筋で作られることが明らかである。AMPK の作用を増強し、IL-6 と同様にアセチルカルボキシラーゼの働きを抑制し、アシル CoA のミトコンドリア内への移送を増加することで脂肪酸の  $\beta$  酸化を促している<sup>28)</sup>。

### 参 考 文 献

- 1) Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LA, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolfe RR. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* **265**, E380–391, 1993.
- 2) Engel AG, Angelini C. Carnitine deficiency of human skeletal muscle with associated lipid storage myopathy: a new syndrome. *Science* **179**, 899–920, 1973.
- 3) Harris RC, Foster CV, Hultman E. Acetylcarnitine formation during intense muscular contraction in humans. *J Appl Physiol* **63**, 440–442, 1987.
- 4) Sahlin K. Muscle carnitine metabolism during incremental dynamic exercise in humans. *Acta Physiol Scand* **138**, 259–262, 1990.
- 5) Constantin-Teodosiu D, Carlin JI, Cederblad G, Harris RC, Hultman E. Acetyl group accumulation and pyruvate dehydrogenase activity in human muscle during incremental exercise. *Acta Physiol Scand* **143**, 367–372, 1991.
- 6) Constantin-Teodosiu D, Cederblad G, Hultman E. PDC activity and acetyl group accumulation in skeletal muscle during prolonged exercise. *J Appl Physiol* **73**, 2403–2407, 1992.
- 7) Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Zhang XJ, Wolfe RR. Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. *J Appl Physiol* **79**, 1939–1945, 1995.

- 8) van Loon LJ, Greenhaff PL, Constantin-Teodosiu D, Saris WH, Wagenmakers AJ. The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilization in human. *J Physiol* **536**, 295–304, 2001.
- 9) Scdossis LS, Wolfe RR. Glucose and insulin-induced inhibition on fatty acid oxidation: the glucose-fatty acid cycle reversed. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **270**, E733–E738, 1996.
- 10) Horowitz JF, Mora-Rodriguez R, Byerler LO, Coyle EF. Lipolytic suppression following carbohydrate ingestion limits fat oxidation during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **273**, E768–E775, 1997.
- 11) Starritt EC, Howlett RA, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Sensitivity of CPT 1 to malonyl-CoA in trained and untrained human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **278**, E462–E468, 2000.
- 12) Winder WW, Arogyasami J, Elayan IM, Cartmill D. Time course of exercise-induced decline in malonyl-CoA in different muscle types. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **259**, E266–E271, 1990.
- 13) Holloway GP, Bezaire V, Heigenhauser GJ, Tandon NN, Glatz JF, Luiken JJ, Bonen A, Spriet LL. Mitochondrial long chain fatty acid oxidation, fatty acid translocase/CD36 content and carnitine palmitoyl-transferase I activity in human skeletal muscle during aerobic exercise. *J Physiol* **571**, 201–210, 2006.
- 14) Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Laithwaite D, Simpson EJ, Greenhaff PL. Insulin stimulates L-carnitine accumulation in human skeletal muscle. *FASEB J* **20**, 377–379, 2006.
- 15) Roepstorff C, Halberg N, Hillig T, Saha AK, Ruderman NB, Wojtaszewski JF, Richter EA, Kines B. Malonyl-CoA and carnitine in regulation of fat oxidation in human skeletal muscle during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **288**, E133–E142, 2005.
- 16) Lennon DL, Stratman FW, Shrago E, Nagle FJ, Madden M, Hanson P, Carter AL. Effects of acute moderate-intensity exercise on carnitine metabolism in men and women. *J Appl Physiol* **55**, 489–495, 1983.
- 17) Foster CV, Harris RC. Total carnitine content of the middle gluteal muscle of thoroughbred horses: normal values, variability and effect of acute exercise. *Equine vet J* **24**, 52–57, 1992.
- 18) Brass EP, Scarrow AM, Ruff LJ, Masterson KA, Van Lunteren E. Carnitine delays rat skeletal muscle fatigue in vitro. *J Appl Physiol* **75**, 1595–1600, 1993.
- 19) Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Laithwaite D, Simpson EJ, Greenhaff PL. Skeletal muscle carnitine accumulation alters fuel metabolism in resting human skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab* **91**, 5013–5018, 2006.
- 20) Timmons JA, Poucher SM, Constantin-Teodosiu D, Worrall V, Macdonald IA, Greenhaff PL. Increased acetyl group availability enhances contractile function of canine skeletal muscle during ischemia. *J Clin Invest* **97**, 879–883, 1996.
- 21) Campbell-O'Sullivan SP, Constantin-Teodosiu D, Peirce N, Greenhaff PL. Low intensity exercise in humans accelerates mitochondrial ATP production and pulmonary oxygen kinetics during subsequent more intense exercise. *J Physiol* **538**, 931–939, 2002.
- 22) de Bari L, Atlante A, Valenti D, Passarella S. Partial reconstruction of in vitro gluconeogenesis arising from mitochondrial L-lactate uptake/metabolism and oxaloacetate export via novel L-lactate translocators. *Biochem J* **380**, 231–242, 2002.
- 23) George A. Brooks. Cell-cell and intracellular lactate shuttles. *J physiol* **587**, 23, 5591–5600, 2009.
- 24) Hashimoto T, Hussien R, Cho HS, Kaufer D, Brooks GA. Evidence for the mitochondrial lactate oxidation complex in rat neurons : demonstration of an essential component of brain lactate shuttles. *PLoS ONE* **3**, e2915, 2008.
- 25) 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* **284**, 2811–2822, 2009.

- 26) Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Pedersen BK. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol* **529**, 237–242, 2000.
- 27) van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Møller K, Saltin B, Febbraio MA, Pedersen BK. Interleukin-6 Stimulates Lipolysis and Fat Oxidation in Humans. *JCEM* **88**, 3005–3010, 2003.
- 28) Pedersen BK, Edward F. Adolph Distinguished Lecture: Muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines. *J Appl Physiol* **107**(4), 1006–1014, 2009.