[PRESS RELEASE]

２０２０年８月２８日

京都府公立大学法人
京都府立医科大学
KYOTO PREFECTURAL UNIVERSITY OF MEDICINE

乳酸の代謝を促進する分子を発見

～高濃度の乳酸を代謝するメカニズムが明らかに～

本研究成果のポイント
〇乳酸に反応して細胞質から核へと移行する分子「LRPGC1」を同定。
〇LRPGC1 は乳酸存在下で転写因子 ERRγ と相互作用し，ミトコンドリアの活性化とそれによる乳酸代謝の促進を引き起こす。
〇薬剤により LRPGC1/ERRγ シグナルを活性化すると乳酸アシドーシスモデルマウスの生存率が顕著に上昇した。

京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体構造科学 助教 谷田任司，准教授 松田賢一，教授 田中雅樹らの研究グループは，乳酸に反応して細胞質から核へと移行する分子「LRPGC1」を同定し，この分子が乳酸存在下でミトコンドリアを活性化することで乳酸代謝を促進することを発見しました。本件に関する論文が米国科学雑誌『The FASEB Journal』に 2020 年 8 月 26 日（米国東部時間）付けで掲載されました。

過度な運動や代謝不全，悪性腫瘍，虚血などにより解糖によって生成された乳酸は大部分が肝臓によって代謝されますが，高濃度に蓄積された乳酸がどのように遺伝子発現を活性化させ，乳酸代謝が促進されるかについての分子メカニズムはよく分かっていませんでした。乳酸の蓄積は致死性の乳酸アシドーシスを引き起こす可能性があるため，乳酸代謝の分子メカニズムの解明は臨床的にも重要視されています。

今回研究グループは LRPGC1 を同定，その細胞内局在を詳細に調べることで乳酸によって核移行するという特性を見出し，遺伝子ノックアウト細胞やモデルマウスなどを用いて乳酸代謝を促進するという LRPGC1 の機能を突き止めました。この研究成果により，乳酸が蓄積した際それに反応して遺伝子発現が活性化する仕組みが明らかとなり，乳酸アシドーシスの病態解明と新たな治療法の開発に繋がることが期待されます。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名　The FASEB Journal 発表媒体　オンライン速報版 雑誌の発行元国　米国 オンライン閲覧　可 （URL: https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1096/fj.202000492R） 掲　載　日　2020 年 8 月 26 日（米国東部時間）

～京都府立医科大学は 2022 年，創立 150 周年を迎えます～

論文情報	論文タイトル （英）Novel metabolic system for lactic acid via LRPGC1/ERRγ signaling pathway （日）LRPGC1/ERRγ シグナル経路を介した新規乳酸代謝システム 代表著者 京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体構造科学　谷田任司 助教 共同著者 京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体構造科学　松田賢一 准教授 京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体構造科学　田中雅樹 教授

【論文概要】

１．研究分野の背景

乳酸は，解糖によって生ずる代謝産物です。過度な運動，種々の代謝障害，臓器不全，悪性腫瘍，重症感染症などは体内に乳酸を蓄積させ，乳酸アシドーシスを引き起こす可能性があります。乳酸アシドーシスは致死率が数十％以上にも上る非常に危険な病態であり，血中乳酸値は予後とも密接に関連していることから，乳酸代謝を促進する方法の確立が求められています。乳酸の代謝は 70％近くが肝臓によって行われ，蓄積された乳酸は通常速やかに代謝されますが，体内で乳酸値が過度に上昇した際どのように遺伝子発現が調節され乳酸の代謝が活性化されるのか，そのメカニズムについてはよく分かっていませんでした。

２．研究内容・成果の要点

今回同定された LRPGC1 は，好気的代謝を活性化する分子として知られる PGC1α の新規スプライシングバリアント，すなわち同一遺伝子から生ずる異型体です。細胞内での局在や動態はその分子の機能と密接に関わっているので，LRPGC1 の機能を調べるためにまず蛍光標識を行い，細胞内での局在を生細胞イメージングにより観察しました。すると，PGC1α は核に局在したのに対し，LRPGC1 は細胞質に局在しました。いくつかの刺激を与えて LRPGC1 の動きを観察すると，乳酸を投与した際に劇的な核移行を起こすことが判明しました（図 1)。そこで，この分子を lactic acid-responsive form of PGC1（LRPGC1）と名付けました。詳細な解析により，この核移行メカニズムには核外輸送シグナル（NES）が分子シャペロン HSC70 によって不活性化されることによって起こることが示唆されました。

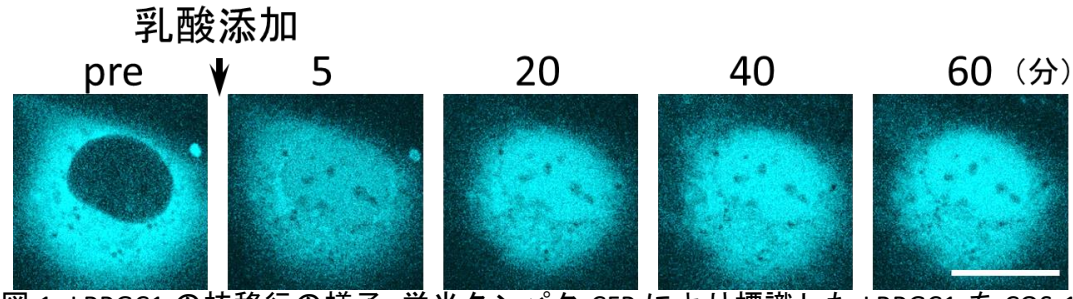

図 1. LRPGC1 の核移行の様子。蛍光タンパク CFP により標識した LRPGC1 を COS-1 細胞に発現させ，乳酸添加前後での局在変化を経時的に観察した（Bar = 20 μm）。LRPGC1 は乳酸添加により細胞質から核へと移行した。

機能解析を行ったところ，LRPGC1 は乳酸存在下で転写因子であるエストロゲン関連受容体（ERRγ）と相互作用し，その転写活性を高めることが分かりました。肝腫瘍由来細胞株 HepG2 から PGC1 遺伝子を CRISPR/CAS9 によりノックアウト（遺伝子を欠損）すると乳酸代謝量は低下しましたが, 従来知られていた PGC1α を導入しても乳酸代謝を回復させることはできませんでした（図 2)。一方，LRPGC1 を導入すると PGC1 ノックアウト細胞の乳酸代謝を回復させることができました（図 2)。ERRγ と相互作用できない LRPGC1 の変異体を作製し PGC1 ノックアウト細胞に導入しても乳酸代謝は回復されず，ERRγ のノックダウン（遺伝子発現の抑制）によっても乳酸代謝は顕著に低下しました（図 2)。つまり, LRPGC1 は ERRγ を介して乳酸代謝を促進する分子であることが明らかとなりました。

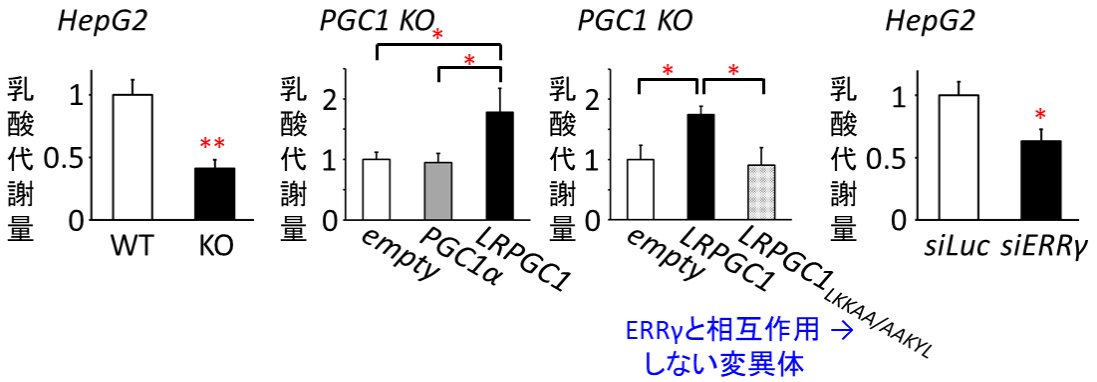

図 2. 乳酸代謝量の検討。
左: 正常型（WT）と PGC1 遺伝子をノックアウト（KO）した HepG2 細胞とで，培地に添加した乳酸の代謝量を比較した。
左中および右中: PGC1 KO 細胞に図に示した遺伝子の発現ベクターを導入した際の乳酸代謝量を測定（empty: コントロールベクター)。
右: 正常型 HepG2 細胞に siRNA による遺伝子ノックダウンを行った際の乳酸代謝量を測定（*siLuc*: コントロール siRNA)。
グラフは平均値±標準誤差を表す。t 検定あるいは分散分析とボンフェローニ/ダン法による多重比較検定により統計解析を行った（$*p < 0.05$; $**p < 0.01$)。

LRPGC1 による乳酸代謝のメカニズムを追究するために，エネルギー代謝に関する遺伝子発現を調べてみますと，乳酸添加後に PGC1 ノックアウト細胞では正常型 HepG2 細胞と比べミトコンドリアの活性に関わる遺伝子，特にミトコンドリア転写因子 A（*TFAM*）の発現が低下しており，ミトコンドリア形態も不全となっていることが分かりました。一方，乳酸存在下での PGC1 ノックアウト細胞における *TFAM* 発現やミトコンドリアの形態は PGC1α の導入によっては回復せず，LRPGC1 の導入によって回復し，ミトコンドリア膜電位も LRPGC1 の導入により有意に高まることが分かりました。また，*TFAM* 遺伝子のプロモーター（遺伝子発現の制御領域）上に ERR 応答配列が存在することを新たに見出し，この部位を介して LRPGC1/ERRγ シグナルは *TFAM* 遺伝子の発現を誘導することが判明しました。これらの結果から，乳酸存在下で LRPGC1 は ERRγ を介して *TFAM* 発現を誘導し，ミトコンドリアを活性化することが明らかとなりました。

乳酸アシドーシスのモデルマウスを用いた検討では，*Lrpgc1* を肝臓でノックダウンすると致死率が上昇し，薬剤により LRPGC1/ERRγ シグナルを活性化すると生存性が有意に上昇することが明らかとなりました（図 3)。

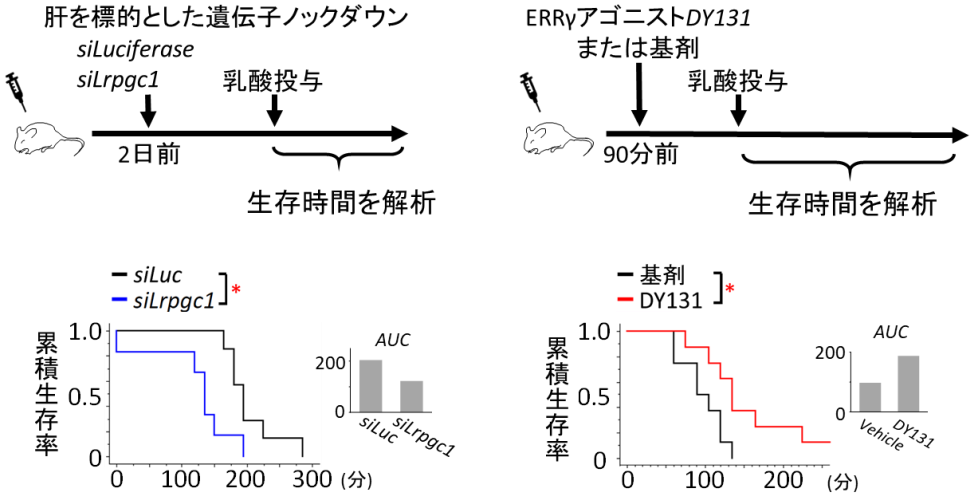

図 3．乳酸アシドーシスモデルを用いた検討。
左: *Luciferase*（コントロール）遺伝子あるいは *Lrpgc1* 遺伝子に対する siRNA を投与し，2 日後乳酸投与後の生存時間を解析した。*siLrpgc1* 投与群（*Lrpgc1* 遺伝子発現が抑制）は *siLuciferase* 群よりも有意に低い生存率を示した。
右: 基剤あるいは ERRγ 選択的アゴニスト DY131 を投与し，90 分後，乳酸投与後の生存時間を解析した。DY131 を投与した群は基剤投与群と比べ有意に高い生存率を示した。
グラフはカプランマイヤー生存曲線およびその曲線下面積（*AUC*）。ログランク検定により統計解析を行った（$*p < 0.05$）。

以上より，LRPGC1 は通常 NES の作用により細胞質に局在していますが，乳酸の曝露を受けると HSC70 によって NES が不活性化され核へと移行し，核内で転写因子 ERRγ と相互作用を起こした後 *TFAM* 遺伝子の発現を誘導，その結果ミトコンドリアの活性化による乳酸代謝の促進が起こる，というメカニズムが明らかとなりました（図 4）。

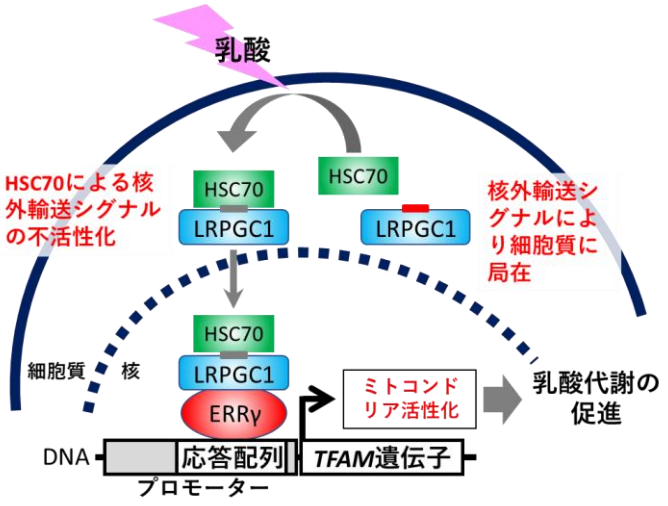

図 4．本研究から明らかとなったメカニズムの概略図。核外輸送シグナル（NES）によって通常細胞質に局在している LRPGC1 は，乳酸による刺激を受けると分子シャペロン HSC70 により NES が不活性化され，核へと移行する。核内で LRPGC1 は ERRγ と相互作用を起こし，*TFAM* 遺伝子プロモーター上の応答配列を介してその発現を誘導，続いてミトコンドリア活性化に伴う乳酸代謝の促進が起こる。

３．今後の展開と社会へのアピールポイント

本研究で明らかとなった LRPGC1/ERRγ シグナルを調節することにより，乳酸アシドーシスを治療する新たな方法に繋がることが期待されます。今後は，敗血症や代謝障害など，より具体的な病態モデルに合併した乳酸アシドーシス対し LRPGC1/ERRγ シグナルの活性化が役立つか否か，検証していく予定です。

本研究は以下の研究費の支援を受けて行われました。

日本学術振興会 科学研究費補助金
若手研究（B）24791116，26860852（谷田任司）
基盤研究（C）17K10188，20K08186（谷田任司）

＜研究に関すること＞	＜広報に関すること＞
京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体構造科学　助教 谷田任司 電　話：075-251-5301 E-mail：t-tanida@koto.kpu-m.ac.jp (ORCID ID：0000-0002-0864-2433)	広報センター［事務局：企画・研究支援課］土屋 電　話：075-251-5804 E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp

～京都府立医科大学は 2022 年，創立 150 周年を迎えます～