慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	心血管ホルモンによるミトコンドリアを介した酸素利用制御の病態生理学的意義の解明
Sub Title	Regulation of mitochondria by vascular hormones and the pathophysiological significance.
Author	宮下, 和季(Miyashita, Kazutoshi) 三石, 正憲(Mitsuishi, Masanori) 村木, 絢子(Muraki, Ayako) 田畤, 昌憲(Tamaki, Masanori)
Publisher	
Publication year	2013
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2012.)
JaLC DOI	
Abstract	申請者はこれまでの検討で、血管拡張/収縮による酸素供給の制御がその本質であると考えられてきた心血管ホルモンが、酸素を利用する臓器である骨格筋のミトコンドリア制御を介してエネルギー代謝を調節することを明らかにしてきた。本研究では内分泌因子のミトコンドリア作用の治療応用を目指し、高齢者や腎不全患者の身体能力低下におけるミトコンドリアならびに内分泌因子の意義を検討した。加齢や腎不全による身体能力および エネルギー代謝の低下に、骨格筋量の減少に加えミトコンドリア機能不全が密接に関与していることを見出し、また、摂食を促す消化管ホルモンであるグレリンの補償が、加齢に伴う身体能力低下の改善に有効であることを明らかにした。
Notes	研究種目 : 若手研究(B) 研究期間 : 2011 ~ 2012 課題番号 : 23791063 研究分野 : 医歯薬学 科研費の分科・細目 : 内科系臨床医学・内分泌学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_23791063seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様式Ｆ－１９

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2011～2012
課題番号：23791063
研究課題名（和文）　心血管ホルモンによるミトコンドリアを介した酸素利用制御の病態生理学的意義の解明
研究課題名（英文）Regulation of mitochondria by vascular hormones and the pathophysiological significance.
研究代表者
宮下　和季（MIYASHITA KAZUTOSHI）
慶應義塾大学・医学部・特任講師
研究者番号：50378759

研究成果の概要（和文）：
申請者はこれまでの検討で、血管拡張/収縮による酸素供給の制御がその本質であると考えられてきた心血管ホルモンが、酸素を利用する臓器である骨格筋のミトコンドリア制御を介してエネルギー代謝を調節することを明らかにしてきた。本研究では内分泌因子のミトコンドリア作用の治療応用を目指し、高齢者や腎不全患者の身体能力低下におけるミトコンドリアならびに内分泌因子の意義を検討した。加齢や腎不全による身体能力およびエネルギー代謝の低下に、骨格筋量の減少に加えミトコンドリア機能不全が密接に関与していることを見出し、また、摂食を促す消化管ホルモンであるグレリンの補償が、加齢に伴う身体能力低下の改善に有効であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：
Recent papers reported that loss of physical performance is associated with increased risk of metabolic syndrome and shortening of life span. The present study demonstrated that mitochondrial dysfunction is associated with deterioration in physical performance and energy metabolism with aging or renal dysfunction. A gastrointestinal hormone, ghrelin, was found to be effective to ameliorate mitochondrial dysfunction associated with aging in mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学
キーワード：心血管ホルモン，ミトコンドリア，酸素消費，エネルギー代謝，生活習慣病，身体能力，骨格筋，抗加齢

１．研究開始当初の背景

ミトコンドリアは真核細胞において好気的代謝とエネルギー産生の大部分を担う細胞内オルガネラであり、ミトコンドリア機能障害が肥満や２型糖尿病などのメタボリックシンドロームや悪性腫瘍、加齢性疾患と密接な関連があることが示唆されている。

一方、近年の大規模臨床試験において、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗剤(ARB)に糖尿病新規発症抑制効果が見られたことなどが報告され、心血管ホルモンが循環調節のみならず、糖脂質代謝に関与することが示唆され、メタボリックシンドローム発症およびその治療における心血管ホルモンの意義に注目が集まっている。

申請者らはエネルギー代謝の首座である骨格筋ミトコンドリアに着目し、ミトコンドリア機能のメタボリックシンドローム発症およびその治療における意義を一貫して研究してきた。これまでに代表的な心血管ホル

モンであるアンジオテンシン II(AngII)やナトリウム利尿ペプチド(NP)が血管トーヌス調節により酸素供給を制御するのみならず、骨格筋ミトコンドリア制御を介して、酸素消費を調節し、全身の糖脂質代謝の制御にも関与することを見出した。

また、最大のエネルギー消費臓器である骨格筋量の減少が、身体能力の低下のみならず心血管疾患やメタボリックシンドロームの発症、ひいては寿命短縮に関与する可能性が報告されている。そのことから運動療法の重要性が指摘され、これまで多くの検討がされてきたが、高齢者や腎不全患者は強い運動の適応がない。

そこで申請者らは、加齢および腎不全における骨格筋量減少ならびに身体能力の低下を骨格筋ミトコンドリアの観点から検討し、内分泌因子による骨格筋ミトコンドリア機能制御を介した新規治療法の開発を目標とした本研究を着想した。

２．研究の目的

加齢および腎不全に伴う骨格筋と身体能力の変化を、骨格筋ミトコンドリアの観点から検討し、そのメカニズムの解明と、内分泌因子を用いた新規治療法の開発を目指す。

３．研究の方法

8,20,50,100 週齢の C57b16 マウスを用い、加齢が骨格筋量、骨格筋ミトコンドリア機能および身体能力（筋力および持久力）に与える影響を検討した。次に骨格筋量増加作用が知られている高蛋白食が身体能力、耐糖能に与える影響を検討するため、8 週齢から 50 週齢まで通常食ないし高蛋白食を C57b16 マウスに与え、身体能力および耐糖能の評価を行った。また、加齢により減少が報告されているホルモンであるグレリンを 20 および 50 週齢のマウスに投与し、骨格筋量、骨格筋ミトコンドリア機能、身体能力に与える影響を検討した。

一方、腎不全に伴う身体能力の低下と骨格筋ミトコンドリア機能の関連を検討するため、慢性腎臓病モデルマウス（5/6 腎摘マウス）を作成し、骨格筋量、骨格筋ミトコンドリア機能および身体能力を検討した。

筋力の評価はマウス握力計、持久力の評価はマウストレッドミルを用いて行った（図 1)。

４．研究成果

8,20,50,100 週齢マウスの検討では、骨格筋量および筋力は 20 週齢以降、骨格筋ミトコンドリア機能および持久力は 8 週齢以降、加齢と共に低下していた。骨格筋量のマスターレギュレーターである mammalian target of rapamycin complex 1(TORC1)の活性をその下流分子である ribosomal S6 kinase 1 (S6K1)のリン酸化で評価したところ、骨格筋量および筋力と並行に 20 週齢以降加齢と共に低下していた。ミトコンドリアの主要レギュレーターである AMP-activated protein kinase(AMPK)の活性化を AMPK のリン酸化で評価したところ、骨格筋ミトコンドリア機能および持久力と並行に、8 週齢以降加齢と共に低下していた。骨格筋ミトコンドリア機能の低下と並行して、耐糖能およびインスリン感受性も低下していた。

TORC1 の活性化を介して骨格筋量を増加させることが報告されている高蛋白食をマウスに 8 週齢から約 1 年間投与したところ、通常食群と比較し、骨格筋量は増加し、筋力も増強していたが、骨格筋ミトコンドリア機能および持久力、耐糖能は有意に低下していた。AMPK 活性も高蛋白食により有意に低下していた。TORC1 活性化の意義をより詳細に検討するため、TORC1 の選択的阻害剤であるラパマイシンの投与を行った。通常食群および高蛋白食群のマウスにラパマイシンを投与したところ、骨格筋量および筋力は低下したが、高蛋白食による骨格筋ミトコンドリア機能低下および持久力、耐糖能の悪化は有意に改善された。以上から、高蛋白食による長期の TORC1 活性化が AMPK 活性抑制を介してミトコンドリア機能を低下させ、持久力および耐糖能の悪化を惹起していたと考えられた。

次に、加齢により減少するホルモンであり、骨格筋量増加作用が報告されている insulin-like growth factor-1(IGF-1)およびその上流に位置するグレリンの補充が骨格筋および身体能力に与える影響を検討した。50 週齢の C57b16 マウスに IGF-1 ないしグレリンを腹腔内投与したところ、骨格筋量および筋力は IGF-1、グレリンどちらの投与によっても有意に増加したが、骨格筋ミトコンドリア機能および持久力はグレリンの投与でのみ有意な改善を認めた。AMPK 活性を評価したところ、ミトコンドリア機能と同様に、グレリンの投与でのみ有意に活性化していた。電子顕微鏡を用いた検討でも、加齢によるミトコンドリア量の減少は、グレリンの投与でのみ有意に改善された（図 3)。

以上から、加齢に伴う身体能力と耐糖能の悪化は、骨格筋量の減少のみならず、骨格筋ミトコンドリア機能障害も密接に関与し、その治療にはミトコンドリア機能を改善させることが重要であることが示唆された。加齢により減少するホルモンであるグレリンの補充が、骨格筋加齢の治療に有効である可能性が示された。

慢性腎臓病モデルでの検討では、5/6 腎摘マウスにおいて、骨格筋量や筋力は 48-52 週齢以降顕著となったのに対し、骨格筋ミトコンドリア機能および持久力はより若齢(16-20 週齢)から著明な悪化を認め、AMPK 活

性やミトコンドリア生合成制御因子である peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator -1 alpha(PGC-1α)や transcription factor A, mitochondrial (Tfam)の活性 も低下していた。5/6 腎摘マウスに 8 週齢から 16 週齢まで高蛋白食を投与したところ、加齢マウスでの検討と同様に、高蛋白食により骨格筋量および筋力は有意に改善したが、筋肉量増加にもかかわらず持久力は更に悪化した。高蛋白食負荷により、ミトコンドリアにおける好気的代謝を促進する分子である pyruvate dehydrogenase (PDH)活性が有意に低下しており、PDH 活性化剤であるジクロロ酢酸(dichloroacetate, DCA)の投与により、高蛋白食を負荷したマウスの運動能が改善することを見出した。

以上より、腎不全に伴う身体能力の低下は、AMPK 活性低下によりミトコンドリア機能が低下と、加齢による骨格筋量減少が合わさって顕著となることが示唆された (図 4)。腎不全においても、骨格筋ミトコンドリア機能を維持・改善させる治療の開発は、身体機能のみならず予後を改善させる可能性が期待できる点で、非常に有効かつ重要であると考えられた。現在、腎不全患者におけるグレリンの臨床投与の準備をすすめており、腎不全と、身体能力の改善を検討する予定である。

図 1　マウス身体能力測定法



図 2　骨格筋量およびミトコンドリア活性制御に関与するシグナル

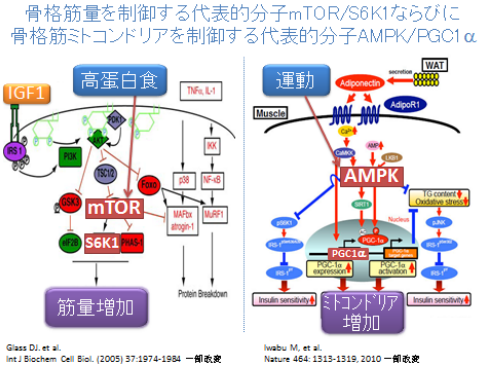


図 3　グレリンによるミトコンドリア機能および持久力の改善

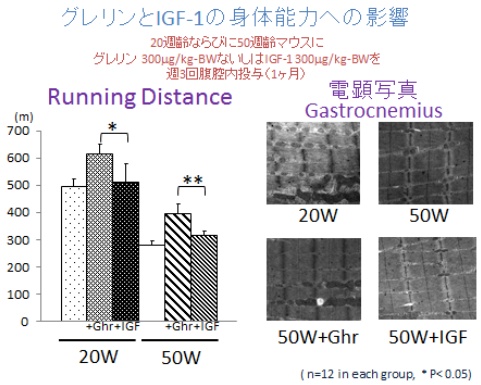
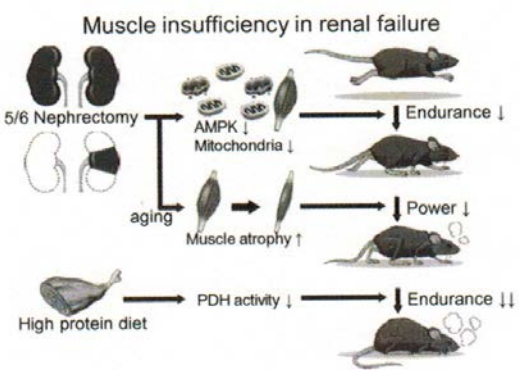


図 4　腎不全に伴う身体能力低下のメカニズム



５．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 1 件)*corresponding auther

1. Muraki A, Miyashita K*, Mitsuishi M, Tamaki M, Tanaka K, Itoh H. 1.Coenzyme Q10 reverses mitochondrial dysfunction in atorvastatin-treated mice and increases exercise endurance. J Appl Physiol. 113: 479-486 2012 （査読あり）

〔学会発表〕(計 8 件)

1. Mitsuishi M, Miyashita K, Muraki A, Tamaki M, Tanaka K, Itoh H. The effect of ghrelin on the mitochondrial dysfunction in muscle and physical disability associated with aging. 15th International Congress of Endocrinology. 2012.5.6 Florence (Italy).
2. Tamaki M, Miyashita K, Wakino S,

Mitsuishi M, Tanaka K, Hayashi K, Itoh H. Altered muscle mitochondrial amount and physical performance in CKD model mice. 15th International Congress of Endocrinology. 2012.5.6 Florence (Italy).

3. Tamaki M, Miyashita K, Wakino S, Mitsuishi M, Tanaka K, Hayashi K, Itoh H. High protein diet exacerbates decrease in muscle mitochondria and exercise endurance after 5/6 nephrectomy in mice. 45th Annual Meeting of American Society of Nephrology. 2012. 11.2 San Diego (United States of America)
4. 三石正憲, 宮下和季, 村木絢子, 田蒔昌憲, 田中久美子, 伊藤裕　骨格筋ミトコンドリア機能不全を基盤とした病態におけるグレリンの意義　第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会　2012 年 5 月 18 日　横浜
5. 三石正憲, 宮下和季, 村木絢子, 田蒔昌憲, 田中久美子, 伊藤裕　加齢に伴う身体能力の低下のグレリンによる改善　第 85 回日本内分泌学会学術集会　2012 年 4 月 21 日　名古屋
6. 三石正憲, 宮下和季, 村木絢子, 田蒔昌憲, 田中久美子, 伊藤裕　骨格筋加齢機構の解明と加齢により低下する内分泌因子の補充による身体能力の改善の試み　第 34 回日本高血圧学会総会　2011 年 10 月 22 日　宇都宮
7. 宮下和季, 村木絢子, 三石正憲, 田蒔昌憲, 伊藤裕　コエンザイム Q10 は酸素利用を制御してアトロバスタチンによる運動耐容能低下を改善する　第 11 回日本抗加齢医学会総会　2011 年 5 月 27 日　京都
8. 田蒔昌憲, 宮下和季, 三石正憲, 伊藤裕　慢性腎臓病モデルマウスの骨格筋ミトコンドリアと身体能力　第 84 回日本内分泌学会学術集会　2011 年 4 月 23 日　神戸

〔図書〕(計　0 件)

〔産業財産権〕
○出願状況（計　0 件）
○取得状況（計　0 件）

〔その他〕
ホームページ等
http://www.keio-emn.jp/donation/01.html

６．研究組織
(1)研究代表者
宮下　和季 (MIYASHITA KAZUTOSHI
慶應義塾大学・医学部・特任講師
研究者番号：50378759

(2)研究協力者
三石　正憲(MITSUISHI MASANORI)
慶應義塾大学・医学部・大学院生
村木　絢子(MURAKI AYAKO)
慶應義塾大学・医学部・助教
田蒔　昌憲(TAMAKI MASANORI)
慶應義塾大学・医学部・助教