

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19465

研究課題名(和文)電子キャリアを用いたミトコンドリア代謝是正による腎不全患者の身体能力改善法の開発

研究課題名(英文)Development of a new method for improving physical ability of chronic renal failure patients by correcting mitochondrial metabolism using electron carriers

研究代表者

三石 正憲(Mitsuishi, Masanori)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教

研究者番号：50468485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：5/6腎摘マウスに対するグレリン投与により骨格筋ミトコンドリア機能は改善し、筋量も増加、身体能力も改善した。グレリン投与によりエピゲノム修飾を介してミトコンドリア生合成が促進され、筋量とミトコンドリア量の双方を増やすことで、CKDに伴うサルコペニアを効率よく改善すると示唆された。

また、アミノレブリン酸(ALA)投与により骨格筋ミトコンドリア機能は改善し、筋量、身体能力共に改善した。ALA投与によりミトコンドリア生合成は増加していた。メタボロームを用いた検討で、ALA投与により骨格筋内の分枝鎖アミノ酸が増加していた。ALA投与による骨格筋内の代謝変容が骨格筋量増加に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ghrelin administration on 5/6 nephrectomized mice improved skeletal muscle mitochondrial function, increased skeletal muscle mass, and improved physical performance. Ghrelin administration improved mitochondrial biogenesis through epigenomic modification of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1a) and it was suggested that increasing both muscle mass and mitochondrial content by ghrelin would improve sarcopenia associated with CKD efficiently. On the other hand, amino levulinic acid (ALA) administration increased skeletal muscle mitochondrial function, muscle mass and physical function. ALA administration increased mitochondrial biogenesis. In metabolome studies, branched chain amino acids in skeletal muscle were increased by administration of ALA. It was thought that ALA increased skeletal muscle mass through the metabolic changes in skeletal muscle.

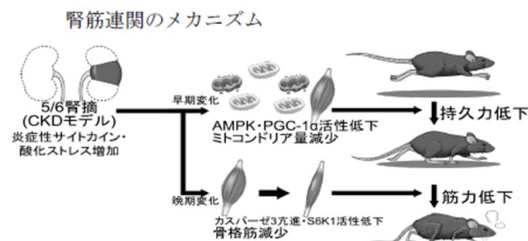
研究分野：内分泌代謝学

キーワード：骨格筋ミトコンドリア サルコペニア 慢性腎不全 身体能力 グレリン アミノレブリン酸

## 1. 研究開始当初の背景

身体能力の低下が心血管病のリスクになることはこれまでも知られていたが、最近の大規模臨床試験で、大腿周囲径の減少すなわちサルコペニアが、心血管病の強いリスクとなることが明らかにされ[Heitmann BL et al. BMJ 2009]、サルコペニアへの対応が内科の観点からも注目されるようになった。

慢性腎臓病 (CKD) 患者では発症早期から骨格筋量および身体能力の低下が認められ、それに伴う心血管病 (CVD) 死亡リスクの増加が非 CKD 患者と比して顕著であることが知られている [Shlipak MG et al. JAMA 2005]。申請者らは CKD における骨格筋の退行性変化をもたらす“腎筋連関”に着目し、その機構の検討を続けてきた。これまで CKD 患者における身体能力低下の主たる原因は骨格筋分解の亢進に伴う筋量低下であると考えられていたが、申請者らは軽症 CKD を模倣する動物モデルである 5/6 腎摘マウスを用いた検討により、CKD に伴う身体能力低下の初期病変は、筋量低下が生じるよりも早期の段階から認められる骨格筋ミトコンドリア量の減少にあることを見出した [Tamaki M et al. Kidney Int. 2014]。



一方、これまでのサルコペニア治療は筋量の増加に主眼をおいたものであり、ミトコンドリア機能に着目したものではない。申請者らはサルコペニア治療におけるミトコンドリア活性化の意義に関する検討を続け、電子伝達系における電子キャリアのひとつであるコエンザイム Q10 が、ミトコンドリア機能が低下するアトルバスタチン投与マウスの持久力を改善することを見出した [Muraki A et al. J Appl Physiol. 2012]。電子伝達系はミトコンドリア代謝の最終経路として重要であり、電子キャリアの不足により機能不全に陥る。一方電子キャリアの補充は、ミトコンドリア機能不全が生じた細胞のエネルギー代謝を修復する可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

CKD 患者では発症早期から身体能力の低下が認められ、それに伴う CVD 死亡リスクの増加が非 CKD 患者と比して顕著であることが知られている。申請者は 5/6 腎摘マウスを用いた検討で、CKD において筋量低下が生じるよりも早期の段階から骨格筋ミトコンドリア量が減少し、身体能力を低下させることを明らかにした。このことはミトコンドリアの活性化が CKD 患者の身体能力の維持、改善に重要なアプローチであることを示

唆している。本研究ではミトコンドリア電子伝達系、特にその電子キャリアに着目したミトコンドリア修復による治療アプローチを提唱する。電子キャリアであるアミノレプリン酸 (ALA) や酸素利用促進作用が報告された消化管ホルモンであるグレリンがミトコンドリアに与える効果を検討し、ミトコンドリア機能改善を介したサルコペニア治療の開発を目指す。これらの検討で得られた知見を基に、患者に最適化した運動療法を開発することが研究目的である。

## 3. 研究の方法

(1) 5/6 腎摘マウスにグレリンを投与し、骨格筋ミトコンドリア機能および骨格筋量、身体能力に与える影響を検討する。

(2) 100 週齢マウスおよび 5/6 腎摘マウスにミトコンドリア電子伝達系の代表的な電子キャリアである ALA を投与し骨格筋ミトコンドリア機能および骨格筋量、身体能力を評価する。

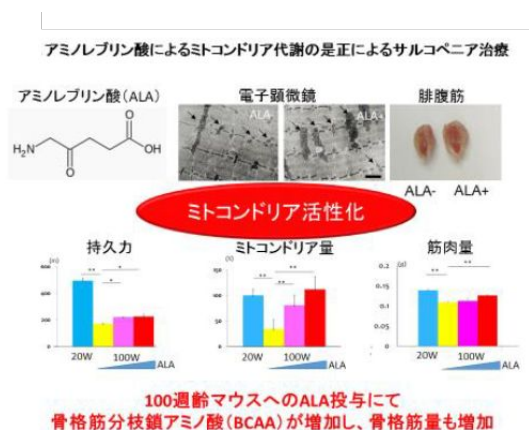
(3) グレリン投与マウスおよび ALA 投与マウスの骨格筋において、ミトコンドリア生合成制御因子や骨格筋量制御因子の発現を評価する。また、ミトコンドリア生合成制御因子の制御機構をエピゲノムの観点から検討する。骨格筋を用いてメタボローム解析を行い、ALA 投与による骨格筋内の代謝変容を解析し、骨格筋ミトコンドリア機能、骨格筋量、身体能力との関連を評価する。

## 4. 研究成果

5/6 腎摘マウスに対するグレリン投与により骨格筋ミトコンドリア機能は改善し、骨格筋量も増加、筋力および身体能力も改善した。グレリン投与により骨格筋におけるミトコンドリア生合成促進分子である peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC1α) や mitochondrial transcription factor a (TFAM) の発現は亢進しており、その機序として PGC1α のプロモーター領域のメチル化が低下していることが考えられた。これらの結果から、グレリンは PGC1α のエピゲノム制御を介して骨格筋量とミトコンドリア量の双方を増やすことで、CKD に伴うサルコペニアを効率よく改善すると示唆された [Tamaki M et al. Endocrinol. 2015]。

また、ALA 投与により 100 週齢マウスおよび 5/6 腎摘マウス共に骨格筋ミトコンドリア機能は改善し、骨格筋量、身体能力共に改善した。ALA 投与マウスの骨格筋を用いた検討で、ミトコンドリア生合成制御因子である PGC1α や TFAM の発現は増加していた。また、メタボロームを用いた検討で、ALA 投与により骨格筋内のロイシンやイソロイシンなどの分枝鎖アミノ酸が増加していた。ALA 投与による骨格筋内の代謝変容が target of rapamycin complex1 (TORC1) 活性化を介して骨格筋量増加に関与していることが示唆さ

れた。すなわち、ALA 投与により骨格筋ミトコンドリア機能改善を介した身体能力の向上のみならず、骨格筋内代謝変容を介したTORC1 活性化による骨格筋増加が認められ、サルコペニア治療への有効性が示唆された。



## 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)

査読有り

1. Tamaki M, Hagiwara A, Miyashita K, Wakino S, Inoue H, Fujii K, Fujii C, Sato M, Mitsuishi M, Muraki A, Hayashi K, Doi T, Itoh H. Improvement of physical decline through combined effects of muscle enhancement and mitochondrial activation by a gastric hormone ghrelin in male 5/6Nx CKD model mice. *Endocrinology* 156: 3638-3648. 2015  
DOI: 10.1210/en.2015-1353

[学会発表](計 6 件)

1. 藤井千華子、宮下和季、藤井健太郎、井上博之、萩原あいか、田蒔昌憲、三石正憲、村木絢子、河合俊英、伊藤裕. ミトコンドリア活性化分子であるアミノレブリン酸を用いたサルコペニア治療の試み. 日本肥満治療学会学術総会. 2016年7月1日 東京スクエアガーデン(東京都中央区)
2. 宮下和季、三石正憲、田蒔昌憲、萩原あいか、井上博之、藤井健太郎、藤井千華子、伊藤裕. 高血圧における臓器代謝異常 ホルモンによるミトコンドリア制御と身体能力. 第38回日本高血圧学会総会招待講演 2015年10月10日 ひめぎんホール(愛媛県松山市)
3. 田蒔昌憲、宮下和季、三石正憲、村木絢子、藤井千華子、萩原あいか、井上博之、藤井健太郎、伊藤裕. Improvement of physical decline through combined

effects of muscle enhancement and mitochondrial activation by a gastric hormone ghrelin in male 5/6Nx model mice. 第38回日本高血圧学会総会 2015年10月10日 ひめぎんホール(愛媛県松山市)

4. M Tamaki, K Miyashita, M Mitsuishi, M Sato, A Hagiwara, H Inoue, K Fujii, H Itoh. Improvement of physical performance in 5/6 nephrectomized CKD model mice through epigenetic modulation of PGC-1 $\alpha$  expression by a gastric hormone ghrelin. 52<sup>nd</sup> ERA-EDTA congress. 2015.5.28 London (England).
5. 宮下和季、三石正憲、村木絢子、田蒔昌憲、藤井千華子、萩原あいか、井上博之、藤井健太郎、伊藤裕. 高タンパク食によるサルコペニア治療のピットフォールとグレリン・IGF-1 の治療効果. 第88回日本内分泌学会学術総会. 2015年4月23日 ホテルニューオータニ(東京都千代田区)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等  
慶應義塾大学腎臓内分泌代謝内科ホームページ  
<http://www.keio-emn.jp/>

## 6. 研究組織

- (1)研究代表者  
三石 正憲( Masanori Mitsuishi )  
慶應義塾大学・医学部・共同研究員  
研究者番号: 50468485

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )