

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 10 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26750331

研究課題名(和文) 老化による異常ミトコンドリア処理機構の破綻における脳由来神経栄養因子の役割の解明

研究課題名(英文) Regulating mechanism of mitochondrial function by BDNF in the skeletal muscle

研究代表者

高田 真吾 (Takada, Shingo)

北海道大学・医学研究科・博士研究員

研究者番号：60722329

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：脳由来神経栄養因子(BDNF)はTrkB受容体を介して、神経の成長・分化、シナプスの可塑性に関与する。近年、BDNFは脳ミトコンドリア機能の増加、また、PGC-1を介してニューロン樹状突起棘のミトコンドリア生合成を増加することが報告された。さらに、骨格筋培養細胞において、AMPKのリン酸化を介して、脂肪酸酸化を亢進する。我々も、加齢における運動能力低下および骨格筋異常におけるBDNF-TrkBシグナルの活性化が骨格筋ミトコンドリア機能・量および脂肪酸酸化を制御し、運動能力を増加させることを明らかにした。また、ヒト血中BDNFが加齢により低下することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), a member of the neurotrophic factor family, has been known to be increased by exercise training and associated with exercise capacity (Int J Cardiol 2013), which are dependent on mitochondrial function in the skeletal muscle. BDNF-TrkB pathway may play an important role in the improvement of the beneficial effects of exercise training on the exercise capacity and skeletal muscle mitochondrial function.

研究分野：健康医科学

キーワード：ミトコンドリア 骨格筋 マイオカイン 心不全 老化・加齢 マイトファジー 脳由来神経栄養因子
ミトコンドリアダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

老化はミトコンドリア機能の低下やミトコンドリア DNA の変異を引き起こし、その異常ミトコンドリアの蓄積が代謝疾患の病因の一つであると考えられている。異常ミトコンドリアは活性酸素種 (ROS) の産生を増加し、更なるミトコンドリア機能障害へと導く (Circ Res 2001)。また、異常なミトコンドリアには基質蛋白質に分解の目印となるユビキチンを付加するユビキチン連結酵素 (ユビキチンリガーゼ: E3) Parkin が局在化し、ミトコンドリア外膜タンパク質をユビキチン化する。ユビキチン化された外膜タンパク質はプロテアソームによって分解されるか、ミトコンドリアに対するオートファジー (マイトファジー) によって分解される (J Biol Chem 2011)。また、障害されたミトコンドリアの他の処理機構として、ミトコンドリアの分裂・融合が重要な役割を果たしており、ミトコンドリア機能を制御している。特に、ミトコンドリアの分裂はミトコンドリア DNA の保持に、ミトコンドリアの融合は老化に対するミトコンドリア機能維持に重要な役割を果たしている (Science 2012)。つまり、このミトコンドリア処理機構による品質管理がミトコンドリア機能や量の調節に極めて重要であると考えられる。

BDNF は TrkB 受容体を介して、神経の成長・分化、シナプスの可塑性に関与することが知られている (Curr Opin Neurobiol 2000)。近年、BDNF は脳ミトコンドリア機能の増加 (Eur J Neurosci 2012) また、PGC-1 を介してニューロン樹状突起棘のミトコンドリア合成を増加することが報告された (Nat Commun 2012)。さらに、骨格筋培養細胞において、BDNF は AMPK のリン酸化を介して脂肪酸酸化を亢進することが報告されている (Diabetologia 2009)。一方で、AMPK はフォークヘッド転写因子 (FoxO) 3a のリン酸化を介して、オートファジー、ユビキチン-プロテアソーム系を制御し (J Mol Cell Cardiol 2013) unc-51-like kinase 1 (Ulk1) のリン酸化を介して、オートファジーを制御する可能性が示唆されている (Am J Physiol Cell Physiol 2012)。

このような背景を踏まえて、「BDNF-TrkB シグナルは AMPK シグナルおよび ROS の制御により、ミトコンドリア品質管理を調節することで、ミトコンドリア機能・量を維持し、老化による疾患の発症・進展を抑制する」という仮説を検証する本研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

老化によるミトコンドリアの機能的・形態的障害 (ミトコンドリア不全) はあらゆる臓器において、代謝疾患を惹起する。脳由来神経栄養因子 (BDNF) は TrkB 受容体を介して、ミトコンドリア機能・量を調節し、細胞におけるエネルギー代謝において極めて重要な役割を担っている。本研究の目的は、BDNF-TrkB の活性化が、老化に伴うミトコンドリア不全によるエネルギー代謝異常による疾患の発症・進展を抑制するという仮説を検証するとともに、BDNF-TrkB シグナル制御によるミトコンドリアの機能的・形態的適正化という独自の概念に基づく新たな老化、疾患予防・治療を目指すものである。

3. 研究の方法

老化マウスにおいて骨格筋ミトコンドリア機能異常・量低下があるかを明らかにする。正常マウスを 3、6、9、12、15 ヶ月間飼育し、以下を測定した。血中 BDNF、骨格筋 BDNF-TrkB シグナル経路: BDNF、TrkB、AMPK、Sirt1、PGC-1、FoxO3a (WB) ミトコンドリア機能: クエン酸合成酵素 (CS) 活性を評価した。また、臨床研究において、年齢と血中 BDNF レベルの関連を検討した。

4. 研究成果

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は TrkB 受容体を介して、神経の成長・分化、シナプスの可塑性に関与する。近年、BDNF は脳ミトコンドリア機能の増加、また、PGC-1 α を介してニューロン樹状突起棘のミトコンドリア合成を増加することが報告された。さらに、骨格筋培養細胞において、AMPK のリン酸化を介して、脂肪酸酸化を亢進する。我々も、

加齢における運動能力低下および骨格筋異常における BDNF-TrkB シグナルの活性化が骨格筋ミトコンドリア機能・量および脂肪酸酸化を制御し、運動能力を増加させることを明らかにした。また、ヒト血中 BDNF が加齢により低下することを明らかにした。

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 24 件)

1. Morita N, Kambayashi I, Okuda T, Oda S, Takada S, Nakajima T, Shide N, Shinkaiya H, Okita K. Inverse relationship between sleep duration and cardio-ankle vascular index in children. *J Atheroscler Thromb* 2017 in press.
2. Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Suga T, Takada S, Omokawa M, Kadoguchi T, Takahashi M, Fukushima A, Matsushima S, Yamato M, Okita K, Tsutsui H. Pioglitazone on improves whole-body aerobic capacity and skeletal muscle energy metabolism in patients with metabolic syndrome. *J Diabetes Investig* 2017 in press.
3. Mizushima W, Takahashi H, Watanabe M, Kinugawa S, Matsushima S, Takada S, Yokota T, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Chiba I, Nagashima S, Yanagi S, Matsumoto M, Nakayama KI, Tsutsui H, Hatakeyama S. The novel heart-specific RING finger protein 207 is involved in energy metabolism in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 100: 43-53, 2016.
4. Takada S, Masaki Y, Kinugawa S, Matsumoto J, Furihata T, Mizushima W, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Takahashi M, Harashima S, Matsushima S, Yokota T, Tanaka S, Okita K, Tsutsui H. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor improved exercise capacity and mitochondrial biogenesis in mice with heart failure via activation of glucagon-like peptide-1 receptor signalling. *Cardiovasc Res* 111: 338-347, 2016.
5. Furihata T, Kinugawa S, Fukushima A, Takada S, Homma T, Masaki Y, Abe T, Yokota T, Oba K, Okita K, Tsutsui H. Serum Myostatin Levels are Independently Associated with Skeletal Muscle Wasting in Patients with Heart Failure. *Int J Cardiol* 2016 220: 483-487, 2016.
6. Furihata T, Kinugawa S, Takada S, Fukushima A, Takahashi M, Homma T, Masaki Y, Tsuda M, Matsumoto J, Mizushima W, Matsushima S, Yokota T, Tsutsui H. The experimental model of transition from compensated cardiac hypertrophy to failure created by transverse aortic constriction in mice. *IJC Heart & Vasculature* 11: 24-28, 2016.
7. Fukushima A, Kinugawa S, Takada S, Matsumoto J, Furihata T, Mizushima W, Tsuda M, Yokota T, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Direct renin inhibitor ameliorates insulin resistance by improving insulin signaling and oxidative stress in the skeletal muscle from post-infarct heart failure in mice. *Eur J Pharmacol* 779: 147-156, 2016. 【査読有】
8. Takada S, Kinugawa S, Matsushima S, Takemoto D, Furihata T, Mizushima W, Fukushima A, Yokota T, Ono Y, Shibata H, Okita K, Tsutsui H. Sesamin prevents decline in exercise capacity and impairment of skeletal muscle mitochondrial function in mice with high-fat diet-induced diabetes. *Exp Physiol* 2015;100:1319-30. 【査読有】
9. Mizukami K, Yokoshiki H, Mitsuyama H, Watanabe M, Tenma T, Takada S, Tsutsui H. Small conductance Ca^{2+} -activated K^{+} current is upregulated

- via the phosphorylation of CaMKII in cardiac hypertrophy from spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015;309:H1066-74. 【査読有】
10. Takahashi M, Kinugawa S, **Takada S**, Hirabayashi K, Saito A, Yokota T, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Low-intensity exercise under ischemic conditions enhances metabolic stress in patients with heart failure. *Int J Cardiol* 201:142-144, 2015. 【査読有】
 11. Ono T*, **Takada S***, Kinugawa S, Tsutsui H. Curcumin ameliorates skeletal muscle atrophy in type I diabetic mice via inhibiting the protein ubiquitination. *Exp Physiol* 100:1052-1063, 2015. 【査読有】 * contributed equally to this work.
 12. Nishikawa M, Ishimori N, **Takada S**, Saito A, Kadoguchi T, Furihata T, Fukushima A, Matsushima S, Yokota T, Kinugawa S, Tsutsui H. AST-120 ameliorates lowered exercise capacity and mitochondrial biogenesis in the skeletal muscle from mice with chronic kidney disease via reducing oxidative stress. *Nephrol Dial Transplant* 30:934-942, 2015. 【査読有】
 13. Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Yokota T, Matsushima S, **Takada S**, Kadoguchi T, Oba K, Okita K, Tsutsui H. Serum brain-derived neurotrophic factor level predicts adverse clinical outcomes in patients with heart failure. *J Card Fail* 21:300-306, 2015. 【査読有】
 14. Kadoguchi T, Kinugawa S, **Takada S**, Fukushima A, Furihata T, Homma T, Masaki Y, Mizushima W, Nishikawa M, Takahashi M, Yokota T, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Angiotensin II can directly induce mitochondrial dysfunction, decrease oxidative fibre number and induce atrophy in mouse hindlimb skeletal muscle. *Exp Physiol* 100:312-322, 2015. 【査読有】
 15. **Takada S**, Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, Matsushima S, Suga T, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Mizushima W, Masaki Y, Furihata T, Katsuyama R, Okita K, Tsutsui H. Pioglitazone Ameliorates the Lowered Exercise Capacity and Impaired Mitochondrial Function of the Skeletal Muscle in Type 2 Diabetic Mice. *Eur J Pharm* 740:690-696, 2014. 【査読有】
 16. Hirabayashi K, Kinugawa S, Yokota T, **Takada S**, Fukushima A, Suga T, Takahashi M, Ono T, Morita N, Omokawa M, Harada K, Oyama-Manabe N, Shirato H, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Intramyocellular Lipid is Increased in the Skeletal Muscle of Patients with Dilated Cardiomyopathy with Lowered Exercise Capacity. *Int J Cardiol* 176:1110-1112, 2014. 【査読有】
 17. Fukushima A, Kinugawa S, **Takada S**, Matsushima S, Sobirin MA, Ono T, Takahashi M, Suga T, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Kadoguchi T, Yokota T, Okita K, Tsutsui H. (Pro)renin Receptor in the Skeletal Muscle is Involved in the Development of Insulin Resistance Associated with Post-Infarct Heart Failure in Mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 307:E503-514, 2014. 【査読有】
 18. Suga T, Kinugawa S, **Takada S**, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Takahashi M, Sobirin MA, Ono T, Hirabayashi K, Yokota T, Tanaka S, Okita K, Tsutsui H. Combination of exercise training and diet restriction normalizes limited exercise capacity and impaired skeletal muscle function in diet-induced diabetic mice. *Endocrinology* 155:68-80, 2014. 【査読有】
 19. Kinugawa S, **Takada S**, Matsushima S,

Okita K, Tsutsui H. Skeletal Muscle Abnormalities in Heart Failure. *Int Heart J* 2015;56:475-484. 【査読有】

20. 沖田孝一, 高田真吾, 阿部隆宏, 米澤一也 **ハートナーシング** 29巻4号 99-103, 2016. 【査読有】
21. 高田真吾, 沖田孝一. 心疾患における運動の意義. **日本末病システム学会雑誌**. 22巻2号, 1-4, 2016. 【査読有】
22. 沖田孝一, 高田真吾. 特集: CKD 患者のサルコペニア・フレイル. 筋肉代謝の基礎「運動による筋肉の酸素利用効率の改善」. **腎と透析**. 80巻5号, 636-640, 2016. 【査読有】
23. 沖田孝一, 高田真吾, 門口智泰, 森田憲輝, 井出幸二郎, 川初清典. 糖質制限は心臓リハビリテーションにおいて有効かあるいは支障になるのか? **心臓リハビリテーション** 20: 56-59, 2015.
24. 沖田孝一, 森田憲輝, 高田真吾, 舩谷夕貴, 絹川真太郎, 佐々木浩子, 澤田悦子. 精神及び身体機能高度低下例における複合的音楽療法の可能性. **心臓リハビリテーション** 20: 87-90, 2015.

〔学会発表〕(計 26 件)

1. **Takada S**, Mizushima W, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Katayama T, Nakajima T, Yokota T, Kinugawa S. The novel heart-specific RING-finger protein 207 modulates energy metabolism in cardiomyocytes. 第 81 回日本循環器学会学術集会. 石川県立音楽堂(金沢県金沢市). 2017 年 3 月 17 日.
2. 高田真吾. 「血流制限下レジスタンストレーニングの有用性: 近赤外線分光法による組織酸素動態」第 23 回医用近赤外線分光法研究会、持田製薬株式会社本社ルークホール(東京都特別区). 2016 年 10 月 29 日.
3. 高田真吾. 「mitoNEET における心筋ミトコンドリア鉄制御」. 第 4 回北海道若手交流会、JR55 ビル(北海道札幌市). 2016 年 8 月 29 日.
4. 高田真吾, 降旗高明, 横田卓, 沖田孝一, 絹川真太郎. mitoNEET 蛋白はミトコンドリアの鉄恒常性を調節する. 第 71 回日本体力医学会学術集会. 2016 年 9 月 24 日, いわて県民情報交流センター(岩手県盛岡市) 【査読有】.
5. 高田真吾. 「ミトコンドリア鉄における mitoNEET の役割」. 1st Hokkaido Exercise and Cardiovascular Health Research meeting、札幌医科大学(北海道札幌市). 2016 年 8 月 11 日.
6. 高田真吾, 正木芳宏, 松本純一, 門口智泰, 横田卓, 水島航, 降旗高明, 津田正哉, 中島孝之, 片山貴史, 福島新, 沖田孝一, 絹川真太郎. 心筋梗塞後心不全における骨格筋ミトコンドリア機能および運動能力に対する GLP-1 受容体の役割解明. 第二回日本筋学会学術集会. 2016 年 8 月 2 日, 国立精神・神経医療研究センター(東京都特別区).
7. 高田真吾, 絹川真太郎, 横田卓, 水島航, 降旗高明, 松本純一, 津田正哉, 中島孝之, 片山貴史, 沖田孝一, 筒井裕之. 脳由来神経栄養因子(BDNF)は加齢による骨格筋ミトコンドリア機能および運動能力低下を改善する. 第 22 回日本心臓リハビリテーション学会学術集会(YIA セッション)2016 年 7 月 16 日, 東京国際フォーラム(東京都特別区).
8. **Takada S**, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T, Mizushima M, Furihata T, Matsumoto J, Tsuda M, Nakajima T, Katayama T, Fukushima A, Okita K, Tsutsui H. Recombinant Human BDNF Increases Exercise Capacity and Mitochondrial Function in the Skeletal Muscle. 第 80 回日本循環器学会学術集会. 仙台市民会館(宮城県仙台市). 2016 年 3 月 20 日.
9. 高田真吾, 絹川真太郎, 横田卓, 松島将士, 沖田孝一, 筒井裕之. 心不全モデルマウスにおける骨格筋ミトコンドリア機能低下に対する脳由来神経栄養因子の役割解明. 第 70 回日本体力医学会. 2015 年 9 月, 和歌山県立医科大学(和歌山県和歌山市).

10. **Takada S**, Kinugawa S, Masaki Y, Kadoguchi T, Fukushima A, Furihata T, Kudo M, Matsumoto J, Tsuda M, Matsushima S, Yokota T, Okita K, Tsutsui H. DPP-4 inhibitor improved exercise capacity in mice with heart failure. International Awards session. 第 21 回日本心臓リハビリテーション学会 学術集会 . 2015 年 7 月 , 福岡国際会議場(福岡県福岡市) .
11. 高田真吾, 絹川真太郎, 正木芳宏, 菅 唯志, 門口智泰, 沖田孝一, 筒井裕之 . 心筋梗塞後心不全における骨格筋ミトコンドリア機能および運動能力に対する DPP-4 阻害薬の効果 . 第 69 回日本体力医学会 . 2014 年 9 月 , 長崎大学(長崎県長崎市) .
12. 高田真吾, 絹川真太郎, 門口智泰, 沖田孝一, 筒井裕之 . BDNF は骨格筋ミトコンドリア機能および運動能力を制御する . 第 20 回日本心臓リハビリテーション学会 , 2014 年 7 月 , 京都市勤業館みやこめっせ(京都府京都市) .
13. 高田真吾 . 脳由来神経栄養因子による運動能力の調節 . 第 2 回骨格筋生物学研究会 , 2014 年 3 月 , 北海道医療大学(北海道札幌市) .
14. **Takada S**, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota T, Suga T, Fukushima A, Kadoguchi T, Masaki Y, Furihata T, Katsuyama R, Homma T, Okita K, Tsutsui H. Brain-Derived Neurotrophic Factor Regulates Basal Exercise Capacity and Skeletal Muscle Mitochondrial Function via AMPK-PGC1 α pathway in Mice. 第 78 回日本循環器学会学術集会 , 2014 年 3 月 , 東京国際フォーラム(東京都特別区) .
15. 高田真吾 . 脳由来神経栄養因子による運動能力の調節 . 第 2 回骨格筋生物学研究会 . 2014 年 3 月 , 北海道医療大学(北海道札幌市) .
16. 高田真吾 . 「運動による健康寿命の延伸 ~ 若返り、脳機能改善 ~ 」平成 28 年度北翔大学・北海道大学・未来講義 . 南相馬市大学(福島県南相馬市) . 2016 年 11 月 26 日 .
17. 高田真吾 . 「Exercise is medicine (介護における運動療法) 」相馬の里 特別出張講義 . 南相馬市大学(福島県南相馬市) . 2016 年 11 月 26 日 .
18. 高田真吾 . 「老化ミトコンドリアにおける脳由来神経栄養因子 (BDNF) の役割」第 7 回 Young Diabetologia & Cardiologist Forum . TKP ガーデンシティ(北海道札幌市) . 2016 年 7 月 28 日 .
19. 高田真吾, 絹川真太郎, 沖田孝一, 筒井裕之 . 「トピックス : サルコペニア , フレイル , マイオカインとは ? 」第 29 回日本冠疾患学会 . 2015 年 11 月 20 日 , ロイトン札幌(北海道札幌市) .
20. 高田真吾, 絹川真太郎, 横田 卓, 松島将士, 沖田孝一, 筒井裕之 . 「骨格筋における BDNF-TrkB シグナルの役割解明」第 10 回 Vascular Biology Innovation Conference . 2015 年 8 月 , ホテル椿山荘東京(東京都特別区) .
21. 高田真吾 . 「DPP4 阻害薬の他臓器への多面的効果 - 基礎から臨床へ」クリニカルサイエンス談話会 2015 . 2015 年 4 月 , ホテルオークラ札幌(北海道札幌市) .
- 〔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://cvhp.med.hokudai.ac.jp/research/r_group_3.html
<http://researchmap.jp/s-takada/>
- 6 . 研究組織
(1)研究代表者 高田真吾 (Shingo Takada)
北海道大学大学院医学研究科・博士研究員
研究者番号 : 60722329
(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 ()