

## フレイル予防をめざしたミトコンドリアの機能保持

吉岡 泰淳・伊美 友紀子・川畑 球一  
寺尾 純二・柴田 克己

### Mitochondrial Function Management for Prevention of Frailty

YOSHIOKA Yasukiyo, IMI Yukiko, KAWABATA Kyuichi,  
TERAO Junji and SHIBATA Katsumi

**Abstract:** An urgent issue for Japan in the super-aging society is the extension of healthy life expectancy. Prevention of frailty is important for extending healthy life expectancy. One of the biggest causes of frailty is muscle atrophy due to mitochondrial dysfunction. Aging causes abnormal quality control of skeletal muscle mitochondria and induces abnormal mitochondrial accumulation that causes skeletal muscle dysfunction. Mitochondria maintain their quality through mitophagy and mitochondrial neoplasia. This paper describes the mechanism of muscle atrophy during aging, exercise, and calorie control.

**Key Words:** mitochondrial function, frailty, muscle atrophy

**抄録:** 超高齢化社会を迎えた日本では、健康寿命の延伸が喫緊の課題となっている。健康寿命の延伸には、フレイル予防が重要とされる。フレイルの最大の要因の1つに、ミトコンドリアの機能不全による筋肉の萎縮がある。老化は、骨格筋ミトコンドリアの品質管理の異常を引き起こし、骨格筋機能低下の原因となる異常ミトコンドリア蓄積を誘導する。ミトコンドリアは、マイトファジーとミトコンドリア新生により、品質を維持している。本稿では、加齢や運動、栄養状態の変化におけるタンパク質分解の機構について記述する。

**キーワード:** ミトコンドリア機能, フレイル, 筋萎縮

### はじめに

健康寿命の延伸には、フレイル予防が有効である。フレイル予防には、十分な栄養と適度な運動、休養をとることが必要である。フレイルとは、加齢とともに、心身の活力（筋肉や認知機能）が低下し、生活機能障害、要介護状態、そして死亡などの危険性が高くなった状態をいい、適切な介入・支援により、生活機能の維持向上が可能である状態である（図1）。フレイル

の多面的な要因として身体的・社会的・精神的の3つがあげられ、その中でも身体的要因に位置する低栄養による筋肉重量の低下は、最大の要因の1つとされる。低栄養に起因するフレイルの多くは、フレイルサイクルにより悪化し、要介護へと進んでしまう（図2）。このフレイルサイクルから脱するためには、適切な栄養をとることはもちろんのこと、筋萎縮の抑制とエネルギー産生の安定供給することが重要である。本稿では、エネルギー産生のあるミトコンドリアの機能に着目し、加齢や運動、栄

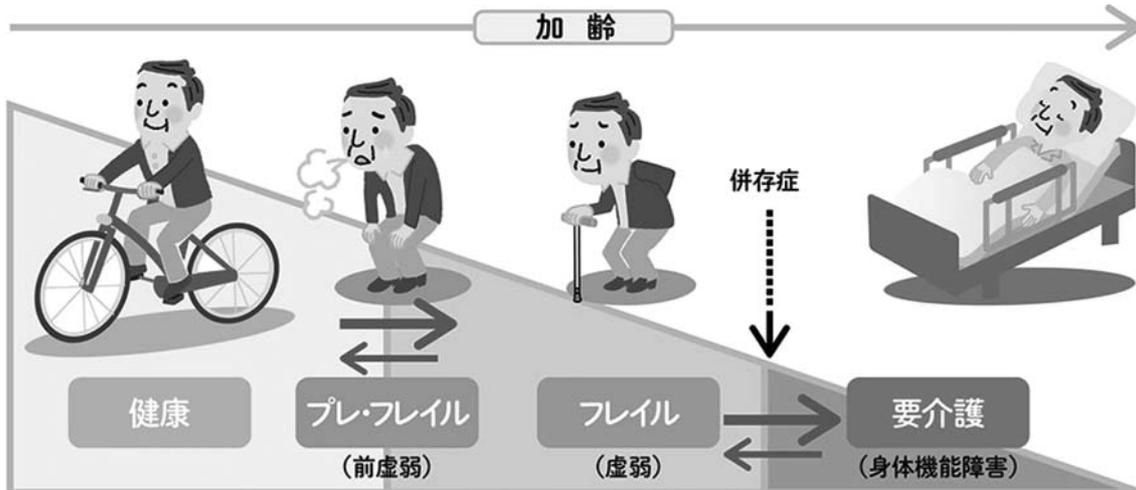


図1 フレイルの位置づけと流れ (東京都医師会より引用)

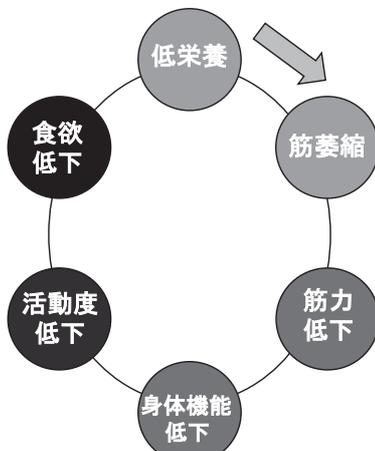


図2 フレイルサイクル

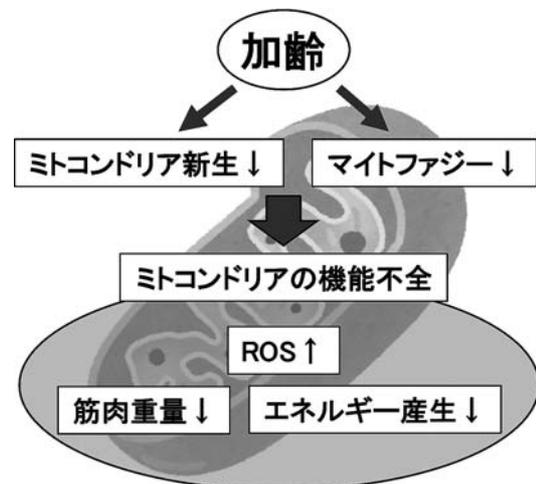


図3 加齢によるミトコンドリアの変化

養状態の変化におけるタンパク質分解の機構について記述する。

### ミトコンドリア

ミトコンドリアは、真核生物のエネルギー物質である ATP 産生を担い、核 DNA とは異なる環状 DNA (mtDNA, mitochondrial DNA) を有する細胞内小器官である。ミトコンドリアにおける ATP 生成は、内膜で生じる電子伝達系に共役する酸化リン酸化反応によって生じる。その過程で活性酸素種 (ROS, reactive oxygen species) を発生し、酸化ストレスを引き起こす。この酸化ストレスが老化の原因の有力な仮説の一つである<sup>1,2)</sup>。ミトコンドリアの電子伝達系において発生した ROS は、細胞内 DNA の酸化損傷を誘導する<sup>3,4)</sup>。mtDNA は ROS の生成部位との物理的距離が近く、ヒス

トンに保護されておらず、イントロンももたないため、ROS による酸化ストレスの影響を受けやすい<sup>5)</sup>。酸化ストレス等によって損傷した mtDNA や機能不全を生じたミトコンドリアは排除され、新たなミトコンドリアが生み出されることで、ミトコンドリアの機能的恒常性が保たれている。

### マイトファジーとミトコンドリア新生

機能異常をきたしたミトコンドリアは、オートファジーによって選択的に分解される。このことは、マイトファジーと呼ばれる<sup>6)</sup>。オートファジーは、酵母から哺乳動物までの真核生物において進化的に保存された細胞内の分解機構であり、基質のリサイクルを行うことで、細胞内の恒常性の維持に貢献している。マクロオー

トファジーに依存したマイトファジーは、隔離膜がミトコンドリアを取り込んでマイトファゴソームを形成し、それらがリソソームと融合することでミトコンドリアを選択的に分解する。ミトコンドリアへの酸化ストレスの蓄積は、マイトファジーの引き金となる<sup>7)</sup>。

ミトコンドリア新生は、運動や低酸素、寒冷などの刺激に応答して、細胞内のミトコンドリア数が増加する現象である。ミトコンドリア新生には、mtDNAには13種類のタンパクシカコードされていないため、mtDNAと核DNA遺伝子の協調した発現が必要である。転写共役因子である peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) は、ミトコンドリア新生を統合的に制御している<sup>8)</sup>。PGC-1 $\alpha$  は、運動や低酸素、寒冷などの刺激により、nuclear respiratory factor-1 (Nrf-1) と協調して核DNAのミトコンドリア関連タンパク発現を促進する<sup>9)</sup>。また、Nrf-1は mitochondrial transcription factor A (TFAM) の発現を調節し、mtDNAにコードされているミトコンドリア遺伝子の転写を促進する<sup>10)</sup>。

#### 老化による 骨格筋ミトコンドリアの機能低下

老化とは、生物学的には時間の経過とともに生物の個体に起こる変化のことで、死に至るまでの間に起こる機能低下やその過程を指す。地球上の多細胞生物は、ヒトに限らず、加齢とともに老化していく種が多く認められる。骨格筋において、加齢によるマイトファジーなどのミ

トコンドリアの機能低下は、骨格筋機能の低下と関連することが報告されている<sup>11)</sup>。骨格筋のミトコンドリア数は、20歳代の若年者に比べ、70歳代の高齢者では有意に低値であり、加齢に伴って骨格筋ミトコンドリア数は減少すると考えられている<sup>12)</sup>。実験動物を用いた試験において、老齢ラット骨格筋の異常ミトコンドリアが蓄積している部位では、骨格筋萎縮と電子伝達系関連酵素の活性低下が認められ、PGC-1 $\alpha$ の発現減少が観察されている<sup>13,14)</sup>。これに対して、老齢マウスの骨格筋に PGC-1 $\alpha$  を特異的に過剰発現させると、ミトコンドリア数の低下と骨格筋萎縮が抑制されたという報告がある<sup>15)</sup>。これらの研究から、加齢による PGC-1 $\alpha$  発現低下が骨格筋ミトコンドリア数の低下と関連している事が示唆される。

老化に伴い、オートファジーの機能は、低下することが明らかとなっている<sup>16,17)</sup>。ヒトの脳において、加齢によってオートファゴソーム膜形成に関わる ATG5 と ATG7 の発現が減少し、オートファゴソームの形成に異常が生じることが示唆されている<sup>18)</sup>。また、ATG1 を欠損させると、ミトコンドリア機能の低下や骨格筋の萎縮などの老化と共通した現象がみられる<sup>19)</sup>。したがって、加齢によりオートファジー機能は低下することから、マイトファジーにも機能異常が生じることが示唆される。

mtDNA 変異に起因する異常ミトコンドリアは、骨格筋をはじめ、様々な組織において機能を低下させる<sup>20,21)</sup>。骨格筋における異常ミトコンドリアの蓄積は、筋肉重量と運動機能を低下させる。ヒトを対象とした横断研究では骨格筋中の mtDNA の異常と骨格筋萎縮との間に高い関連性が認められている<sup>22)</sup>。mtDNA 変異の蓄積と骨格筋機能低下の関連性を明らかにするため、mtDNA ポリメラーゼ  $\gamma$  (Polg) のミトコンドリア DNA の修復機能を有する領域に変異を導入し、mtDNA 変異が蓄積する早老症モデルマウス (D257A: PolgAD257A/D257A) が作製された<sup>21)</sup>。この早老症モデルマウス D257A と野生型マウス (WT, Wild-type) の表現型を9ヶ月齢時に比較したところ、D257A マウスでは筋肉重量の減少を認めた<sup>21)</sup>。また、D257A マウスと WT マウスの骨格筋機能の比較を行ったところ、D257A マウスでは腓腹筋電子伝

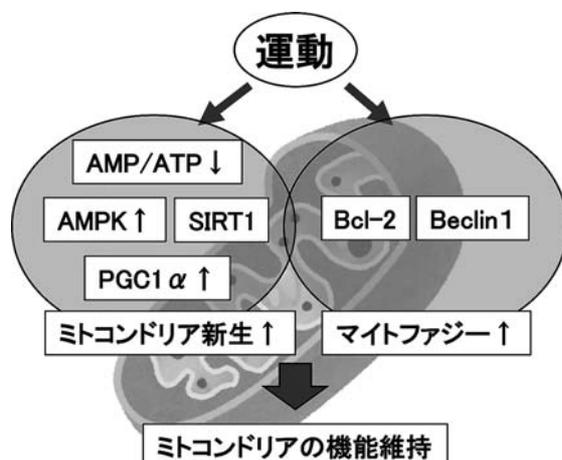


図4 運動によるミトコンドリアの変化

達系複合体 I, III, IV の mRNA の発現やミトコンドリアの膜電位の低下が認められた<sup>23)</sup>。これら研究から, mtDNA 変異の蓄積が異常ミトコンドリアを増加させ, 骨格筋の重量を減少させることが示唆される。

#### 運動による 骨格筋ミトコンドリアの機能維持

運動は, 老化による骨格筋機能の低下を抑制することが知られている。運動は骨格筋ミトコンドリアの機能を亢進するだけでなく, 骨格筋の異常ミトコンドリア蓄積を抑制することが示唆されている<sup>24, 25)</sup>。また, 骨格筋ミトコンドリアの増加を誘導するも知られている。特に, 持久的運動が, 骨格筋ミトコンドリア数を増加させる<sup>26)</sup>。興味深いことに, 老年期の骨格筋においても運動は, ミトコンドリア数の維持・増加に貢献することが示唆されている<sup>27)</sup>。骨格筋は, ATP の加水分解によって生じたエネルギーを用いて筋活動を行う。細胞内 AMP/ATP 比の増加により, silent mating type information regulation 2 homolog 1 (Sirt1) や adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) の活性化が誘導され, PGC-1 $\alpha$  が活性化することで, ミトコンドリア新生を誘導する<sup>28-30)</sup>。Sirt1 は, サーチュイン遺伝子ファミリーに属し, 細胞内 NAD<sup>+</sup>/NADH 比の変化に反応して活性化される<sup>31)</sup>。マウス線維芽細胞由来 C2C12 筋管細胞において, ヒストン脱アセチル化酵素である Sirt1 阻害剤である nicotinamide とヒストンアセチル化酵素である Generalcontrol non-derepressible 5 (GCN5) を添加して培養すると, PGC-1 $\alpha$  はアセチル化されることで, 不活性化される<sup>32)</sup>。また, Sirt1 をノックダウンさせた骨格筋細胞でも PGC-1 $\alpha$  や TFAM 発現量が減少する<sup>32)</sup>。これらの研究より, Sirt1 は PGC-1 $\alpha$  を脱アセチル化して活性化させることでミトコンドリア新生を亢進すると示唆される。また, 骨格筋特異的に PGC-1 $\alpha$  を過剰発現するとマイトファジーが亢進する<sup>33)</sup>。それに対して, Sirt1 をノックアウトしたマウスでは BCL2/adenovirus E1B 19-kDa protein-interacting protein 3 (Bnip3) の発現が増加しており, Sirt1 はマイトファジーに対して抑制的に働く<sup>34-36)</sup>。AMPK

は細胞内のエネルギーが欠乏すると, 細胞内 AMP/ATP 比の増加に反応して活性化する<sup>37)</sup>。AMPK 活性化剤である 5-aminoimidazole-4-carboxamide 1- $\beta$ -D-ribofuranoside 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside (AICAR) の筋芽細胞やマウス骨格筋への投与は PGC-1 $\alpha$  発現を増加させる<sup>38)</sup>。骨格筋特異的にアディポネクチン受容体 1 (AdipoR1: Adiponectin receptor 1) を欠損させたマウスでは, AMPK のリン酸化や PGC-1 $\alpha$  の発現が有意に低下し, mtDNA 量および持久性運動能力も低下した。このことから, 骨格筋の AMPK の活性化によるミトコンドリア新生の増大にアディポネクチン/AdipoR1 は重要な役割を担うことが示唆されている<sup>39, 40)</sup>。また, AMPK $\alpha$ 2 ノックアウトマウスではマイトファジーの減少がみられる<sup>41)</sup>。運動は Bcl2 の Beclin1 からの解離を誘導することでオートファジーを亢進する<sup>42)</sup>。また, 運動は骨格筋における Bnip3 発現を増加する<sup>33)</sup>。近年, 一過性の持久性運動によって骨格筋においてマイトファジー誘導タンパクである Parkin 発現の増大が報告された<sup>43)</sup>。これらの研究から, 運動は, 異常ミトコンドリアの分解を促進することが考えられる。運動によるミトコンドリア新生の亢進は, いずれも生体のエネルギー基質が枯渇した条件下で ATP 生成量を維持するための適応反応であると考えられる。運動による PGC-1 $\alpha$  の活性化の機構を解明することが望まれる。

#### カロリー制限による 骨格筋ミトコンドリアの機能維持

カロリー制限は, 継続的に食事を制限することであり, 総摂取カロリーを減らすことである。カロリー制限は, 様々な生物種において寿命を延長し, 心血管疾患や血糖調節機能障害, 脳の萎縮といった老化関連疾患の発症を減少させる<sup>44, 45)</sup>。カロリー制限によってミトコンドリア新生が亢進すること, さらにマイトファジーによる異常ミトコンドリアの除去も亢進することが示唆されている<sup>11)</sup>。マウスのカロリー制限では, 加齢による骨格筋萎縮は抑制される<sup>46)</sup>。また, 加齢によって増加する骨格筋ミトコンドリアのカルボニル化タンパク質の量は, カロリー制限を行うことで抑制される<sup>47)</sup>。さらに,

酸化ストレスを受けた異常タンパク質のプロテアソームは、カロリー制限によって活性化される<sup>48,49)</sup>。骨格筋 mtDNA や核 DNA の変異は、自由摂食で飼育した実験動物と比べて、カロリー制限をすると減少する<sup>47,50)</sup>。霊長類においても、このようなカロリー制限による骨格筋に対する酸化ストレスの抑制効果は、同様に示されている<sup>51)</sup>。

マウスにおいて、30-40%のカロリー制限は、心臓において PGC-1 $\alpha$  および mtDNA の発現の上昇を介してミトコンドリア数を増加させ、ミトコンドリア新生を亢進する<sup>5)</sup>。ヒトを対象として3ヶ月間のカロリー制限を行った研究においても、骨格筋において TFAM および mtDNA の発現が増加した<sup>52)</sup>。このようなカロリー制限によるミトコンドリア新生は、摂取量が少ない状況で効率よくエネルギーを生成するための骨格筋の適応であると考えられる。一方、絶食や低栄養、カロリー制限などによる飢餓は、骨格筋においてオートファジーによる細胞内タンパク質分解も誘導する。一過性の絶食によって肝臓や骨格筋において LC3 などのオートファジー関連タンパク質の発現上昇やオートファゴソーム形成が亢進する<sup>53,54)</sup>。

カロリー制限によるマイトファジーとミトコンドリア新生は、運動と同様に、Sirt1 や AMPK の活性化を介して PGC-1 $\alpha$  を活性化させることで調節されている<sup>55)</sup>。マウス骨格筋中の NAD<sup>+</sup>/NADH 比と Sirt1 発現量について検討したところカロリー制限により NAD<sup>+</sup>/NADH 比と Sirt1 の発現が増加した<sup>56)</sup>。骨格筋の AMPK 活性は、12ヶ月間のカロリー制限によって有意に増加する<sup>57)</sup>。これらの研究から、カロリー制限によるマイトファジーとミトコンドリア新生の亢進は、生体内のエネルギーバランスの変化による Sirt1 や AMPK などの活性化が関係していることが示唆される。そして、これらが PGC-1 $\alpha$  を介してミトコンドリアの分解と新生を亢進することで、ミトコンドリアの品質維持に貢献していると考えられる。

## おわりに

本稿では、マイトファジーとミトコンドリア新生を亢進させることにより、ミトコンドリア

機能が保持されていることを紹介した。フレイル予防を目的とした食品の開発や栄養管理をするためには、食品機能学と基礎栄養学を基盤とした分子栄養学の知識が必須になる。近年の実験手法の進歩により、骨格筋機能低下の基盤となる機構が解明されつつある。老化は、骨格筋ミトコンドリアの品質維持の異常を引き起こし、骨格筋機能低下の原因となる異常ミトコンドリアの蓄積を誘導する。本稿で着目した老化や運動、カロリー制限によるミトコンドリアの品質保持の調節に関わる分子機構を解明することは、健康寿命の延伸つまりはフレイル予防に寄与する。しかしながら、フレイルの最大の要因のひとつである低栄養に起因するフレイルの予防についての報告は少なく、筋萎縮やエネルギー産生の低下に関する分子機構についての議論はあまりされていない。今後、低栄養による筋肉重量の減少およびエネルギー産生の低下に関する分子情報基盤ができることを期待する。

## 謝辞

本総説の執筆にあたり、科学研究費補助金（基盤研究（B）課題番号 20H0294 次世代型フレイル予防食品開発をめざすミトコンドリア機能制御の基盤研究）の一部を使用した。関係各位に感謝する。

## 参考文献

- 1) Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11: 298-300, 1956.
- 2) Harman D. The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc* 20: 145-147, 1972.
- 3) Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 120: 483-495, 2005.
- 4) Sabharwal SS, Schumacker PT. Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel? *Nat Rev Cancer* 14: 709-721, 2014.
- 5) Bohr VA. Repair of oxidative DNA damage in nuclear and mitochondrial DNA, and some changes with aging in mammalian cells. *Free Radic Biol Med* 32: 804-812, 2002.
- 6) Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* 147: 728-741, 2011.
- 7) Deffieu M, Bhatia-Kissová I, Salin B, Galinier A, Mannon S, Camougrand N. Glutathione participates in the regulation of mitophagy in yeast. *J Biol Chem* 284: 14828-14837, 2009.
- 8) Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 92: 829-839, 1998.
- 9) Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant

- G, Mootha V, Troy A, Cinti S, Lowell B, Scarpulla RC, Spiegelman BM. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 98: 115-124, 1999.
- 10) Virbasius CA, Virbasius JV, Scarpulla RC. NRF-1, an activator involved in nuclear-mitochondrial interactions, utilizes a new DNA-binding domain conserved in a family of developmental regulators. *Genes Dev* 7: 2431-2445, 1993.
  - 11) Peterson CM, Johannsen DL, Ravussin E. Skeletal muscle mitochondria and aging: a review. *J Aging Res* 2012: 194821, 2012.
  - 12) Crane JD, Devries MC, Safdar A, Hamadeh MJ, Tarnopolsky MA. The effect of aging on human skeletal muscle mitochondrial and intramyocellular lipid ultrastructure. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65: 119-128, 2010.
  - 13) Wanagat J, Cao Z, Pathare P, Aiken JM. Mitochondrial DNA deletion mutations colocalize with segmental electron transport system abnormalities, muscle fiber atrophy, fiber splitting, and oxidative damage in sarcopenia. *FASEB J* 15: 322-332, 2001.
  - 14) Reznick RM, Zong H, Li J, Morino K, Moore IK, Yu HJ, Liu ZX, Dong J, Mustard KJ, Hawley SA, Befroy D, Pypaert M, Hardie DG, Young LH, Shulman GI. Aging-associated reductions in AMP-activated protein kinase activity and mitochondrial biogenesis. *Cell Metab* 5: 151-156, 2007.
  - 15) Wenz T, Rossi SG, Rotundo RL, Spiegelman BM, Moraes CT. Increased muscle PGC-1 alpha expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 20405-20410, 2009.
  - 16) Cuervo AM, Bergamini E, Brunk UT, Dröge W, Ffrench M, Terman A. Autophagy and aging: the importance of maintaining "clean" cells. *Autophagy* 1: 131-140, 2005.
  - 17) Rubinsztein DC, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell* 146: 682-695, 2011.
  - 25) Del Roso A, Vittorini S, Cavallini G, Donati A, Gori Z, Masini M, Pollera M, Bergamini E. Ageing-related changes in the in vivo function of rat liver macroautophagy and proteolysis. *Exp Gerontol* 38: 519-527, 2003.
  - 18) Lipinski MM, Zheng B, Lu T, Yan Z, Py BF, Ng A, Xavier RJ, Li C, Yankner BA, Scherzer CR, Yuan J. Genome-wide analysis reveals mechanisms modulating autophagy in normal brain aging and in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 14164-14169, 2010.
  - 19) Lee JH, Budanov AV, Park EJ, Birse R, Kim TE, Perkins GA, Ocorr K, Ellisman MH, Bodmer R, Bier E, Karin M. Sestrin as a feedback inhibitor of TOR that prevents age-related pathologies. *Science* 327: 1223-1228, 2010.
  - 20) Corral-Debrinski M, Horton T, Lott MT, Shoffner JM, Beal MF, Wallace DC. Mitochondrial DNA deletions in human brain: regional variability and increase with advanced age. *Nat Genet* 2: 324-329, 1992.
  - 21) Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgenuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Morrow JD, Van Remmen H, Sedivy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Weindruch R, Leeuwenburgh C, Prolla TA. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 309: 481-484, 2005.
  - 22) Pesce V, Cormio A, Fracasso F, Vecchiet J, Felzani G, Lezza AM, Cantatore P, Gadaleta MN. Age-related mitochondrial genotypic and phenotypic alterations in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 30: 1223-1233, 2001.
  - 23) Hiona A, Sanz A, Kujoth GC, Pamplona R, Seo AY, Hofer T, Someya S, Miyakawa T, Nakayama C, Samhan-Arias AK, Servais S, Barger JL, Portero-Otín M, Tanokura M, Prolla TA, Leeuwenburgh C. Mitochondrial DNA mutations induce mitochondrial dysfunction, apoptosis and sarcopenia in skeletal muscle of mitochondrial DNA mutator mice. *PLoS One* 5: e11468, 2010.
  - 24) Menshikova EV, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61: 534-540, 2006.
  - 25) Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. *Exerc Sport Sci Rev* 40: 159-164, 2012.
  - 26) Holloszy JO. Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* 242: 2278-2282, 1967.
  - 27) Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Rizza RA, Coenen-Schimke JM, Nair KS. Impact of aerobic exercise training on age-related changes in insulin sensitivity and muscle oxidative capacity. *Diabetes* 52: 1888-1896, 2003.
  - 28) Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Noriega L, Milne JC, Elliott PJ, Puigserver P, Auwerx J. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD<sup>+</sup> + metabolism and SIRT1 activity. *Nature* 458: 1056-1060, 2009.
  - 29) Jørgensen SB, Wojtaszewski JF, Viollet B, Andreelli F, Birk JB, Hellsten Y, Schjerling P, Vaulont S, Neuffer PD, Richter EA, Pilegaard H. Effects of alpha-AMPK knock-out on exercise-induced gene activation in mouse skeletal muscle. *FASEB J* 19: 1146-1148, 2005.
  - 30) Cantó C, Auwerx J. PGC-1 alpha, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Curr Opin Lipidol* 20: 98-105, 2009.
  - 31) Cantó C, Auwerx. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol Metab* 20: 325-331, 2009.
  - 32) Gerhart-Hines Z, Rodgers JT, Bare O, Lerin C, Kim SH, Mostoslavsky R, Alt FW, Wu Z, Puigserver P. Meta-

- bolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 alpha. *EMBO J* 26: 1913-1923, 2007.
- 33) Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, Breen DS, Hoehn KL, Yan Z. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. *FASEB J* 27: 4184-4193, 2013.
- 34) Zhang J, Ney PA. Role of BNIP3 and NIX in cell death, autophagy, and mitophagy. *Cell Death Differ* 16: 939-946, 2009.
- 35) Quinsay MN, Thomas RL, Lee Y, Gustafsson AB. Bnip3-mediated mitochondrial autophagy is independent of the mitochondrial permeability transition pore. *Autophagy* 6: 855-862, 2010.
- 36) Di Sante G, Pestell TG, Casimiro MC, Bisetto S, Powell MJ, Lisanti MP, Cordon-Cardo C, Castillo-Martin M, Bonal DM, Debattisti V, Chen K, Wang L, He X, McBurney MW, Pestell RG. Loss of Sirt1 promotes prostatic intraepithelial neoplasia, reduces mitophagy, and delays PARK2 translocation to mitochondria. *Am J Pathol* 185: 266-279, 2015.
- 37) Cantó C, Auwerx J. Calorie restriction: is AMPK a key sensor and effector? *Physiology (Bethesda)* 26: 214-224, 2011.
- 38) Jäger S, Handschin C, St-Pierre J, Spiegelman BM. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 12017-12022, 2007.
- 39) Kadowaki T, Yamauchi T, Waki H, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Nakamura M. Adiponectin, adiponectin receptors, and epigenetic regulation of adipogenesis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 76: 257-265, 2011.
- 40) Iwabu M, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Sato K, Nakagawa T, Funata M, Yamaguchi M, Namiki S, Nakayama R, Tabata M, Ogata H, Kubota N, Takamoto I, Hayashi YK, Yamauchi N, Waki H, Fukayama M, Nishino I, Tokuyama K, Ueki K, Oike Y, Ishii S, Hirose K, Shimizu T, Touhara K, Kadowaki T. Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 alpha and mitochondria by Ca<sup>2+</sup> and AMPK/SIRT1. *Nature* 464: 1313-1319, 2010.
- 41) Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, Gelino S, Kohnz RA, Mair W, Vasquez DS, Joshi A, Gwinn DM, Taylor R, Asara JM, Fitzpatrick J, Dillin A, Viollet B, Kundu M, Hansen M, Shaw RJ. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science* 331: 456-461, 2011.
- 42) He C, Bassik MC, Moresi V, Sun K, Wei Y, Zou Z, An Z, Loh J, Fisher J, Sun Q, Korsmeyer S, Packer M, May HI, Hill JA, Virgin HW, Gilpin C, Xiao G, Bassel-Duby R, Scherer PE, Levine B. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. *Nature* 481: 511-515, 2012.
- 43) Vainshtein A, Tryon LD, Pauly M, Hood DA. The role of PGC-1α during acute exercise-induced autophagy and mitophagy in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 11: ajpcell.00380, 2015.
- 44) Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, Allison DB, Cruzen C, Simmons HA, Kemnitz JW, Weindruch R. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 325: 201-204, 2009.
- 45) Mattison JA, Roth GS, Beasley TM, Tilmont EM, Handy AM, Herbert RL, Longo DL, Allison DB, Young JE, Bryant M, Barnard D, Ward WF, Qi W, Ingram DK, de Cabo R. Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study. *Nature* 489: 318-321, 2012.
- 46) Aspnes LE, Lee CM, Weindruch R, Chung SS, Roecker EB, Aiken JM. Caloric restriction reduces fiber loss and mitochondrial abnormalities in aged rat muscle. *FASEB J* 11: 573-581, 1997.
- 47) Lass A, Sohal BH, Weindruch R, Forster MJ, Sohal RS. Caloric restriction prevents age-associated accrual of oxidative damage to mouse skeletal muscle mitochondria. *Free Radic Biol Med* 25: 1089-1097, 1998.
- 48) Goto S, Takahashi R, Kumiyama AA, Radák Z, Hayashi T, Takenouchi M, Abe R. Implications of protein degradation in aging. *Ann N Y Acad Sci* 928: 54-64, 2001.
- 49) Goto S, Radák Z. Implications of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. *J Sport Health Sci* 2: 75-80, 2013.
- 50) Usuki F, Yasutake A, Umehara F, Higuchi I. Beneficial effects of mild lifelong dietary restriction on skeletal muscle: prevention of age-related mitochondrial damage, morphological changes, and vulnerability to a chemical toxin. *Acta Neuropathol* 108: 1-9, 2004.
- 51) Zainal TA, Oberley TD, Allison DB, Szweda LI, Weindruch R. Caloric restriction of rhesus monkeys lowers oxidative damage in skeletal muscle. *FASEB J* 14: 1825-1836, 2000.
- 52) Civitarese AE, Carling S, CALERIE Pennington Team. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Med* 4: e76, 2007.
- 53) Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Mol Biol Cell* 15: 1101-1111, 2004.
- 54) Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P, Burden SJ, Di Lisi R, Sandri C, Zhao J, Goldberg AL, Schiaffino S, Sandri M. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metab* 6: 458-471, 2007.
- 55) Guarente L. Mitochondria—a nexus for aging, calorie restriction, and sirtuins? *Cell* 132: 171-176, 2008.
- 56) Chen D, Bruno J, Easlson E, Lin SJ, Cheng HL, Alt

- FW, Guarente L. Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes Dev* 22: 1753-1757, 2008.
- 57) Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward JL 3rd, Goodyear LJ, Tong Q. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1 alpha in skeletal muscle. *Aging (Albany NY)* 1: 771-783, 2009.