

運動による白色脂肪組織の量的・機能的適応を制御する 因子としての骨格筋 AMP キナーゼの可能性

京都大学大学院 横 川 拓 海
(共同研究者) 同 江 川 達 郎
同 林 達 也

Effect of Skeletal Muscle-Specific AMP Kinase Inhibition on Exercise-Induced Quantitative and Functional Adaptations of White Adipose Tissue

by

Takumi Yokokawa
*Division of Food Science and Biotechnology,
Graduate School of Agriculture, Kyoto University*
Tatsuro Egawa, Tatsuya Hayashi
*Graduate School of Human and Environmental studies,
Kyoto University*

ABSTRACT

Exercise elicits quantitative and functional adaptations of white adipose tissue (WAT) ; however, the molecular mechanism remains unclear. AMP kinase (AMPK) in the skeletal muscle may contribute to the adaptations of WAT via enhanced fat oxidation and myokine expression. Therefore, we investigated whether AMPK in the skeletal muscle is involved in exercise-induced quantitative and functional adaptations of WAT. For skeletal muscle-specific inhibition of AMPK activity, we used transgenic mice overexpressing the dominant-negative mutant of AMPK $\alpha 1$ in the skeletal muscle (AMPK-DN mice). Both AMPK-DN and wild-type (WT) mice were randomly divided into two groups: wheel running groups or sedentary groups. After

the four-week intervention, the body weight was measured, and the epididymal WAT was excised. The protein expression of lipolysis-related molecules, triacylglycerol synthesis-related molecules, and a mitochondrial marker were measured by western blotting. AMPK-DN mice demonstrated exercise-induced decrement of epididymal WAT weight. Furthermore, although WT mice showed an increase in the protein expression of lipolysis-related molecule perilipin 1, this increase was diminished in AMPK-DN mice. On the other hand, no significant differences between genotypes were observed in the exercise-induced response of triacylglycerol synthesis-related molecules (fatty acid synthase and stearoyl-CoA desaturase 1) and a mitochondrial marker (voltage-dependent anion channel). In conclusion, these results suggest that AMPK in the skeletal muscle contributes to exercise-induced quantitative and functional adaptations of WAT.

キーワード

AMPキナーゼ, 白色脂肪組織, 肥満, 運動, ミトコンドリア

Keyword

AMP kinase, white adipose tissue, obesity, exercise, mitochondria

要旨

運動は白色脂肪組織の量的・機能的適応を惹起するが、詳細な分子機序は明らかでない。骨格筋AMPキナーゼ (AMPK) は脂肪酸利用の制御やマイオカインの発現を介して、運動による白色脂肪組織の適応に寄与している可能性がある。以上より、本研究では骨格筋AMPKが、運動による抗肥満効果ならびに白色脂肪組織の分子適応に寄与する可能性を検討することを目的とした。骨格筋特異的AMPK $\alpha 1$ ドミナントネガティブ変異体過剰発現 (AMPK-DN) マウスならびに野生型マウスを、自発性走運動群ならびに非運動群にわけて、介入を実施した。4週間の介入期間終了後、体重を測定し、精巣上体白色脂肪組織をサンプリングした。AMPK-DNマウスでは、運動に伴う白色脂肪組織重量の減少ならびに脂肪分解関連分子の発現増加が部分的に減弱していた。一方、運動によ

るトリアシルグリセロール合成関連分子ならびにミトコンドリアマーカーの増加は、野生型およびAMPK-DNマウスにて同程度であった。以上より、骨格筋AMPKは運動による白色脂肪組織の量的・機能的適応に寄与していることが示唆される。

緒言

運動は各組織における分子シグナルを惹起することで、脂肪酸代謝亢進・抗肥満効果をもたらすと考えられるが、その詳細な分子機序は明らかでない。運動トレーニングは、骨格筋の脂肪酸代謝関連分子ならびにミトコンドリア生合成を増加させることで、脂肪酸代謝の亢進に寄与していると考えられている。一方、近年では運動の標的として骨格筋以外の組織に関する解析が進んでおり、申請者らは長期的な運動により白色脂肪組織のミトコンドリア生合成¹⁾・脂肪酸分解関連分子²⁾が増加することを明らかとしている。しかしなが

ら、運動による白色脂肪組織の分子適応を制御する詳細な機序は未だ同定されていない。

骨格筋の5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) は急性運動により活性化することが、齧歯類ならびにヒトの双方で明らかとなっている^{3,4)}。骨格筋特異的なAMPK α 欠損マウスは、運動時の脂肪酸利用が抑制されることが報告されている⁵⁾。加えて、骨格筋AMPKは白色脂肪細胞の代謝的適応をもたらすマイオカインの発現制御に関与していることも明らかとなっている⁶⁻⁸⁾。従って、運動に伴う骨格筋AMPKの活性化は、白色脂肪組織の分子適応をもたらすことで抗肥満効果に寄与している可能性が考えられるが、上記の可能性は未だ検討されていない。

以上より、本研究では骨格筋AMPKが、運動による抗肥満効果ならびに白色脂肪組織の分子適応に寄与する可能性を検討することを目的とした。

1. 実験方法

1. 1 実験動物ならびに運動介入

8-10週齢、雄性の骨格筋特異的AMPK α 1ドミナントネガティブ変異体過剰発現 (AMPK-DN) マウスならびに野生型 (WT) マウスを用いて、自発性走運動を施す群 (WT + 運動群 [n=6]) ならびにAMPK-DN + 運動群 [n=6]) ならびに非運動群 (WT + 安静群 [n=7]) ならびにAMPK-DN + 安静群 [n=7]) の4群に分類した。4週間の運動介入後、体重を測定し、精巢上体白色脂肪組織をサンプリングした。本実験は京都大学が定める「京都大学における動物実験実施に関する規程」に従い、京都大学大学院人間・環境学研究所人間情報研究・動物実験委員会の審査・承認を得て実施した。

1. 2 ウェスタンブロット法

白色脂肪組織におけるタンパク質発現量の解析にはウェスタンブロット法を用いた。プロテアー

ゼ阻害剤ならびにフォスファターゼ阻害剤を加えたradioimmunoprecipitation buffer中で、ポリトロンホモジナイザーを用いて、各組織をホモジナイズした。その後、4°Cにてローテーターにより攪拌した。遠心分離後に脂肪層を除いた上清を回収し、再度、遠心分離を実施し、同様に上清を回収した。得られた上清中のタンパク質濃度を測定し、各サンプル間でタンパク質濃度が等しくなるように調整した後、3倍濃度のサンプルバッファーを混合することで、SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 用のサンプルを調整した。等量のサンプルをSDS-PAGEにより分離した後、Criterion blotter (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) を用いて、polyvinylidene difluoride membraneへとタンパク質を転写した。転写後のメンブレンを5%の脱脂粉乳 (NFDM) を含んだtris-buffered saline (TBST) で30分間ブロッキングした後、5%アルブミンを含むTBSTに一次抗体を加えた溶液にて4°Cで一晩インキュベートした。このメンブレンをTBSTにより洗浄し、1%DFDM/TBSTで3000倍希釈した二次抗体 (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) と室温で1時間インキュベートし、再度、TBSTにて洗浄した。このメンブレンを化学発光試薬 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) により反応させ、化学発光撮影装置 (ATTO, Tokyo, Japan) を用いて目的タンパク質を検出した。検出したバンドは、ImageJ (National Institutes of Health Bethesda, MD, USA) で定量化した。

1. 3 一次抗体

ウェスタンブロット法における標的タンパク質の検出には、以下の抗体を使用した：hormone-sensitive lipase (HSL, 1:5000, Cell Signaling Technology, #18381)；adipose triglyceride lipase (ATGL, 1:5000, Cell Signaling Technology, #2439)；perilipin 1 (PLIN1, 1:5000, Cell

Signaling Technology, #9349) ; comparative gene identification-58 (CGI-58, 1:5000, Abcam, Cambridge, UK, ab183739) ; fatty acid synthase (FAS, 1:5000, Cell signaling Technology, #3180) stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1, 1:5000, Cell Signaling Technology, #2794) ; voltage-dependent anion-selective channel protein (VDAC, 1:5000, Cell Signaling Technology, #4661).

1. 4 統計解析

全ての測定値は、平均値±標準誤差で示した。統計処理は、主効果を遺伝子型ならびに運動介入とした対応のない二元配置分散分析を実施した後、Benjamini and Hochberg法による多重比較検定により実施した。

2. 実験結果

AMPK-DNマウスでは運動による白色脂肪組織重量の減少が抑制されていた。

4週間の介入期間後の体重を測定したところ、4群間で有意な差は観察されなかった(図1A)。精巣上体白色脂肪組織に関しては、野生型マウス

では運動介入により組織重量が有意に減少していた。一方で、AMPK-DNマウスでは運動による白色脂肪組織重量の減少が抑制されていた(図1B)。

AMPK-DNマウスでは運動に伴う脂肪分解関連タンパク質の増加が部分的に抑制された。

運動及び骨格筋AMPK経路が白色脂肪組織の脂肪分解経路に及ぼす影響を検討するために、関連タンパク質の白色脂肪組織における発現量を測定した。野生型マウスにおいて、運動によるPLIN1の有意な増加(図2C)ならびに、HSLおよびCGI-58の増加傾向が観察された(図2AおよびD)。一方、AMPK-DNマウスにおいては、運動によるHSLおよびCGI-58の発現増加が観察されなかった(図2A,D)。また、PLIN1に関しても、AMPK-DNマウスでは運動による発現増加が減弱していた(図2C)。加えて、野生型マウスの運動群と比較して、AMPK-DNマウスの運動群では、CGI-58が有意に減少しており(図2D)、HSLは減少傾向を示した(図2A)。ATGLに関しては、4群間で有意な差が検出されなかった(図2B)。

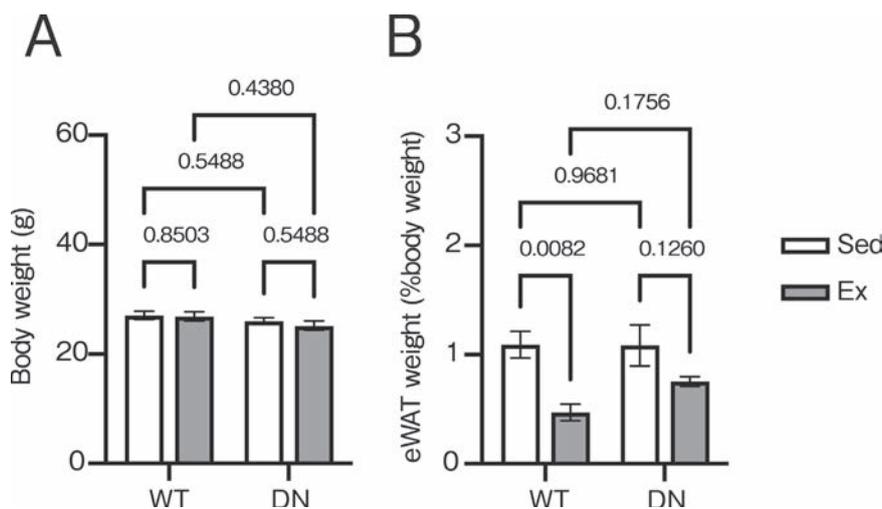


図1 体重ならびに精巣上体白色脂肪組織重量(%体重)
eWAT:精巣上体白色脂肪組織, WT:野生型マウス, DN:AMPKドミナントネガティブ変異体発現マウス, Sed:非運動群, Ex:運動群, eWAT:epididymal white adipose tissue

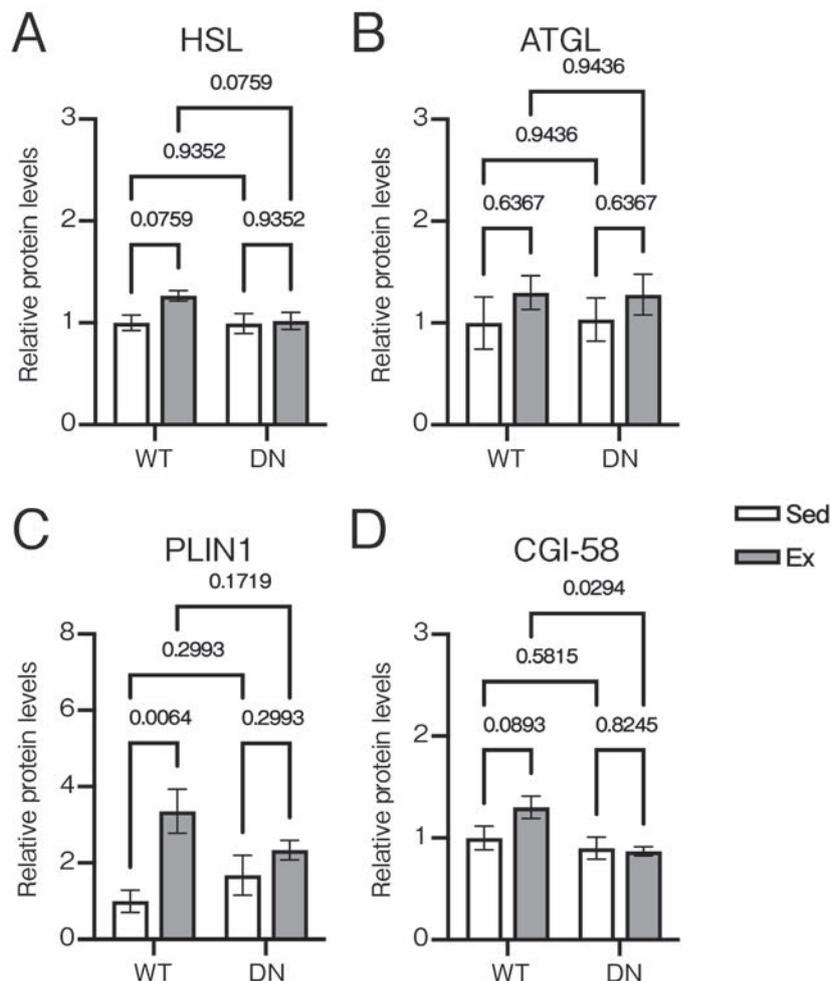


図2 白色脂肪組織における脂肪分解関連タンパク質の発現量
 WT:野生型マウス, DN:AMPK ドミナントネガティブ変異体発現マウス, Sed:非運動群, Ex:運動群, HSL:hormone-sensitive lipase, ATGL:adipose triglyceride lipase, PLIN1:Perilipin 1, CGI-58:comparative gene identification-58

野生型ならびに AMPK-DN マウスにおいて、運動によるトリアシルグリセロール合成経路関連タンパク質の増加が観察された。

運動及び骨格筋 AMPK 経路が白色脂肪組織のトリアシルグリセロール合成経路に及ぼす影響を検討するために、関連タンパク質の白色脂肪組織における発現量を測定した。野生型ならびに AMPK-DN マウスの双方において、運動による FAS ならびに SCD1 の発現増加が観察された。一方で、AMPK-DN の発現による影響は検出されなかった (図3)。

野生型ならびに AMPK-DN マウスにおいて、運動によるミトコンドリアタンパク質の増加が観察された。

運動及び骨格筋 AMPK 経路が白色脂肪組織のミトコンドリア生合成に及ぼす影響を検討するために、ミトコンドリアマーカである VDAC の白色脂肪組織における発現量を測定した。野生型ならびに AMPK-DN マウスの双方において、運動による VDAC の発現増加が観察された (図4)。一方、遺伝子型による発現変動は観察されなかった。

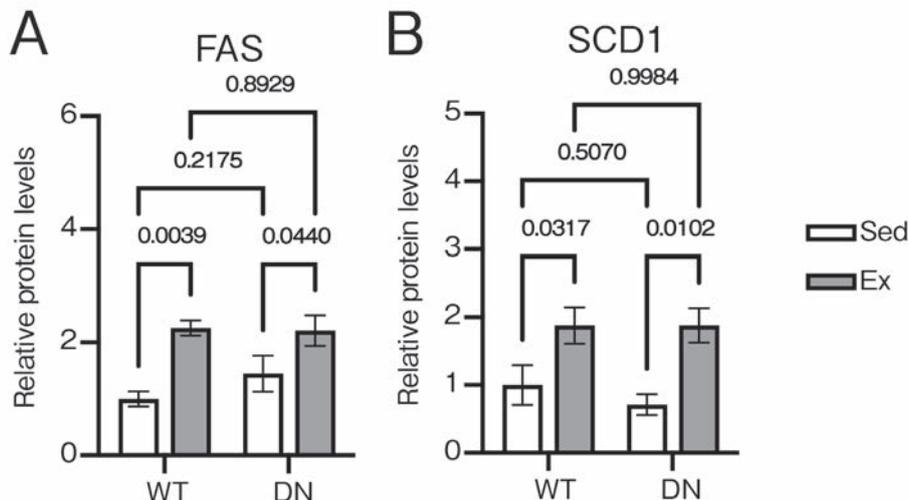


図3 白色脂肪組織におけるトリアシルグリセロール合成経路関連タンパク質の発現量
WT: 野生型マウス, DN: AMPK ドミナントネガティブ変異体発現マウス, Sed: 非運動群, Ex: 運動群, FAS: Fatty acid synthase, SCD1: stearoyl-CoA desaturase 1

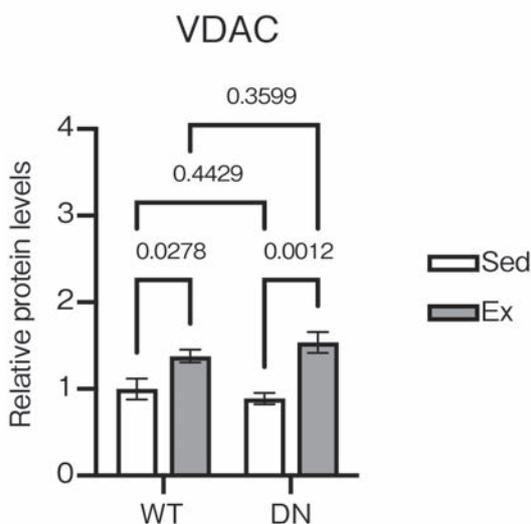


図4 白色脂肪組織におけるミトコンドリアタンパク質の発現量
WT: 野生型マウス, DN: AMPK ドミナントネガティブ変異体発現マウス, Sed: 非運動群, Ex: 運動群, VDAC: voltage-dependent anion-selective channel protein

3. 考 察

本研究結果より、骨格筋 AMPK は、自発性走運動に伴う白色脂肪組織重量の減少ならびに、白色脂肪組織の脂肪分解経路関連タンパク質の発現増加に部分的に関与していることが示された。一

方、自発性走運動による白色脂肪組織のトリアシルグリセロール合成経路関連タンパク質の増加ならびに、ミトコンドリア生合成の亢進に関しては、骨格筋 AMPK の寄与が観察されなかった。以上より本研究は、骨格筋 AMPK が運動に伴う白色脂肪組織の量的・機能的適応に関与していることを示唆した点で新規性を持つ。

本研究において、骨格筋 AMPK 活性は、自発性走運動に伴う白色脂肪組織重量の減少に関与していることが示された。この機序としては、①骨格筋 AMPK ならびに下流分子の活性化により骨格筋の脂質代謝が亢進したこと、②骨格筋 AMPK により制御される何らかの因子により白色脂肪組織の機能的変化が生じ、脂肪分解が亢進したことが考えられる。前者に関しては、骨格筋 AMPK が脂肪酸の取り込み制御に関与していること、ミトコンドリア生合成をはじめとする脂肪酸代謝経路の関連分子の発現を上方制御することが明らかとなっており、一定の成果が得られている⁹⁾。一方、後者の可能性に関しては、近年、骨格筋と白色脂肪組織の臓器連関が複数報告されているものの^{6,8)}、AMPK の直接的な関与を示した研究は存

在しない。従って、本研究では骨格筋 AMPK 活性の阻害が、運動に伴う白色脂肪組織の分子適応に与える影響を検討した。

先行研究により、長期的な運動が白色脂肪組織の脂肪分解経路を担うタンパク質の発現量を増加させることが明らかとなっている^{2, 10, 11}。HSLをはじめとするこれら分子の増加は、アドレナリンなどの運動誘導性因子による白色脂肪組織の脂肪分解活性を亢進させることで、運動時の効率的な脂肪燃焼に寄与している可能性がある¹²。従って、本研究では骨格筋 AMPK が白色脂肪組織の脂肪分解経路関連タンパク質の発現に寄与している可能性を検討した。図2で示されているように、骨格筋 AMPK は PLIN1 の運動による増加に関与していることが示唆された。先行研究により、PLIN1 の欠損マウスはカテコラミン刺激による脂肪分解が減弱すること¹³、PLIN1 の過剰発現は食事誘導性の肥満を抑制することが示されている¹⁴。従って、運動に伴う骨格筋 AMPK の活性化は、白色脂肪組織の PLIN1 の発現増加をもたらすことで、効率的な脂肪燃焼をもたらしている可能性がある。

一方で本研究では、先行研究とは異なり^{10, 11}、運動による HSL ならびに CGI-58 への影響は増加傾向のみであり、ATGL に関しては発現変動が観察されていない。この理由の1つとしては、先行研究は2群間の比較であったのに対し、本研究では4群間の比較を実施したことで、より多くのサンプルパワーが必要になったことが考えられる。また、その他の可能性として、本研究においてマウスへのストレスを考慮して多頭飼育(2匹/ケージ)にて自発性走運動を施したことがあげられる。ランニングホイールへのアクセスが社会的ヒエラルキーに依存することで、運動量に差が生じている可能性がある。以上より、適切なサンプルサイズのマウスを用いて、各マウスに十分な運動負荷をかけることのできる実験系にて、より詳細

な検討を実施する必要がある。

骨格筋と同様に、脂肪組織のミトコンドリアが、運動により増加することが明らかとなっている^{11, 15}。脂肪組織のミトコンドリアは、エネルギー代謝に寄与すると共に善玉アディポカインとされているアディポネクチンの発現制御に寄与していることが明らかとなっており¹⁶、肥満や二型糖尿病への関与が示唆されている¹⁷。白色脂肪組織のミトコンドリア生合成の制御機序として、peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α) の骨格筋での増加が、マイオカインである irisin ならびに β -aminoisobutyric acid (BAIBA) を介して、白色脂肪組織のミトコンドリア生合成ならびにベージュ化をもたらすことが報告されている^{6, 8}。AMPK は PGC-1 α の上方制御因子であることから¹⁸、AMPK-DN マウスでは、白色脂肪組織の運動に伴うミトコンドリア生合成の増加が抑制されると考えられた。しかしながら、本研究では野生型に比して、同程度のミトコンドリアマーカーの増加が AMPK-DN マウスにて観察された。従って、骨格筋 AMPK の白色脂肪組織におけるミトコンドリア制御への寄与は、本研究結果からは示唆されなかった。本研究のリミテーションとして、測定したミトコンドリアマーカーがVDACのみであったことがあげられる。従って、白色脂肪組織のミトコンドリアタンパク質ならびに遺伝子の発現量を包括的に測定するとともに、ミトコンドリア DNA 量を計測することで、骨格筋 AMPK が白色脂肪組織の機能を制御する分子機序の解明につながる可能性がある。

総括

骨格筋 AMPK は、自発性走運動に伴う脂肪組織の量的・機能的適応に部分的に関与していることが示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、助成を賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) T. Yokokawa, K. Kido, T. Suga, K. Sase, T. Isaka, T. Hayashi, S. Fujita, Exercise training increases C1SD family protein expression in murine skeletal muscle and white adipose tissue., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **506**, 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.10.101> (2018)
- 2) T. Hashimoto, T. Yokokawa, R. Narusawa, Y. Okada, R. Kawaguchi, K. Higashida, A lactate-based compound containing caffeine in addition to voluntary running exercise decreases subcutaneous fat mass and improves glucose metabolism in obese rats, *J. Funct. Food.* **56**, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.007> (2019)
- 3) T. Hayashi, M.F. Hirshman, E.J. Kurth, W.W. Winder, L.J. Goodyear, Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport, *Diabetes.* **47**, 1369–1373 (1998)
- 4) N. Fujii, T. Hayashi, M.F. Hirshman, J.T. Smith, S.A. Habinowski, L. Kaijser, J. Mu, O. Ljungqvist, M.J. Birnbaum, L.A. Witters, A. Thorell, L.J. Goodyear, Exercise Induces Isoform-Specific Increase in 5'AMP-Activated Protein Kinase Activity in Human Skeletal Muscle, *Biochem. Biophys. Res. Co.* **273**, 1150–1155. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3073> (2000)
- 5) J. Fentz, R. Kjøbsted, J.B. Birk, A.B. Jordy, J. Jeppesen, K. Thorsen, P. Schjerling, B. Kiens, N. Jessen, B. Viollet, J.F.P. Wojtaszewski, AMPK α is critical for enhancing skeletal muscle fatty acid utilization during in vivo exercise in mice, *Faseb. J.* **29**, 1725–1738. <https://doi.org/10.1096/fj.14-266650> (2015)
- 6) P. Boström, J. Wu, M.P. Jedrychowski, A. Korde, L. Ye, J.C. Lo, K.A. Rasbach, E.A. Boström, J.H. Choi, J.Z. Long, S. Kajimura, M.C. Zingaretti, B.F. Vind, H. Tu, S. Cinti, K. Højlund, S.P. Gygi, B.M. Spiegelman, A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis, *Nature.* **481**, 463–468. <https://doi.org/10.1038/nature10777> (2013)
- 7) J.S.V. Lally, R.J. Ford, J. Johar, J.D. Crane, B.E. Kemp, G.R. Steinberg, Skeletal muscle AMPK is essential for the maintenance of FNDC5 expression, *Physiol. Rep.* **3**, e12343. <https://doi.org/10.14814/phy2.12343> (2015)
- 8) L.D. Roberts, P. Boström, J.F. O' Sullivan, R.T. Schinzel, G.D. Lewis, A. Dejam, Y.-K. Lee, M.J. Palma, S. Calhoun, A. Georgiadi, M.-H. Chen, V.S. Ramachandran, M.G. Larson, C. Bouchard, T. Rankinen, A.L. Souza, C.B. Clish, T.J. Wang, J.L. Estall, A.A. Soukas, C.A. Cowan, B.M. Spiegelman, R.E. Gerszten, β -Aminoisobutyric Acid Induces Browning of White Fat and Hepatic β -Oxidation and Is Inversely Correlated with Cardiometabolic Risk Factors, *Cell Metab.* **19**, 96–108. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.003> (2014)
- 9) R. Kjøbsted, J.R. Hingst, J. Fentz, M. Foretz, M. Sanz, C. Pehmøller, M. Shum, A. Marette, R. Mounier, J.T. Treebak, J.F.P. Wojtaszewski, B. Viollet, L. Lantier, AMPK in skeletal muscle function and metabolism, *Faseb. J.* **32**, 1741–1777. <https://doi.org/10.1096/fj.201700442r> (2018)
- 10) J. Ogasawara, T. Sakurai, T. Kizaki, Y. Ishibashi, T. Izawa, Y. Sumitani, H. Ishida, Z. Radak, S. Haga, H. Ohno, Higher Levels of ATGL Are Associated with Exercise-Induced Enhancement of Lipolysis in Rat Epididymal Adipocytes, *Plos One.* **7**, e40876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040876> (2012)
- 11) T. Hashimoto, K. Sato, M. Iemitsu, Exercise-inducible factors to activate lipolysis in adipocytes, *J. Appl. Physiol.* **115**, 260–267. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00427.2013> (2013)
- 12) T. Hashimoto, H. Segawa, M. Okuno, H. Kano, H. Hamaguchi, T. Haraguchi, Y. Hiraoka, S. Hasui, T. Yamaguchi, F. Hirose, T. Osumi, Active involvement of micro-lipid droplets and lipid-droplet-associated proteins in hormone-stimulated lipolysis in adipocytes, *J. Cell Sci.* **125**, 6127–6136. <https://doi.org/10.1242/jcs.113084> (2013)
- 13) J.T. Tansey, C. Sztalryd, J. Gruia-Gray, D.L. Roush, J.V. Zee, O. Gavrilova, M.L. Reitman, C.-X. Deng, C. Li, A.R. Kimmel, C. Londos, Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance

- to diet-induced obesity, *Proc. National Acad. Sci.* **98**, 6494–6499. <https://doi.org/10.1073/pnas.101042998> (2001)
- 14) H. Miyoshi, S.C. Souza, M. Endo, T. Sawada, J.W. Perfield, C. Shimizu, Z. Stancheva, S. Nagai, K.J. Strissel, N. Yoshioka, M.S. Obin, T. Koike, A.S. Greenberg, Perilipin overexpression in mice protects against diet-induced obesity, *J. Lipid. Res.* **51**, 975–982. <https://doi.org/10.1194/jlr.m002352> (2010)
- 15) L.N. Sutherland, M.R. Bomhof, L.C. Capozzi, S.A.U. Basaraba, D.C. Wright, Exercise and adrenaline increase PGC-1 α mRNA expression in rat adipose tissue, *J. Physiology.* **587**, 1607–1617. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.165464> (2009)
- 16) E.H. Koh, J.-Y. Park, H.-S. Park, M.J. Jeon, J.W. Ryu, M. Kim, S.Y. Kim, M.-S. Kim, S.-W. Kim, I.S. Park, J.H. Youn, K.-U. Lee, Essential Role of Mitochondrial Function in Adiponectin Synthesis in Adipocytes, *Diabetes.* **56**, 2973–2981. <https://doi.org/10.2337/db07-0510> (2007)
- 17) C.M. Kusminski, P.E. Scherer, Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue, *Trends Endocrinol. Metabolism.* **23**, 435–443. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.06.004> (2012)
- 18) S. Jäger, C. Handschin, J. St.-Pierre, B.M. Spiegelman, AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α , *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 12017–12022. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705070104> (2007)