

## 2022年度（第47回）学術研究振興資金 学術研究報告

学 校 名	日 本 体 育 大 学	研究所名等	体 育 研 究 所
研 究 課 題	アジア人の遺伝的背景に基づいたサルコペニア予防戦略	研究分野	体 育 学
キ ー ワ ー ド	①サルコペニア ②アジア人 ③アセトアルデヒド脱水素酵素2 ④アクチニン3 ⑤遺伝子多型 ⑥遺伝子編集 ⑦遺伝子改変動物 ⑧運動介入		

## ○研究代表者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
中 里 浩 一	日 本 体 育 大 学 学 部 保 健 医 療 体 育 研 究 所	教 授	研究総括

## ○研究分担者

氏 名	所 属	職 名	役 割 分 担
平 沼 憲 治	日 本 体 育 大 学 学 部 保 健 医 療 体 育 研 究 所	教 授	医学的見地からの助言
岡 本 孝 信	日 本 体 育 大 学 学 部 体 育 研 究 所	教 授	世田谷・青葉コホート研究の総括
小 林 正 利	日 本 体 育 大 学 学 部 体 育 研 究 所	教 授	アジア人サルコペニアモデル実験指導(病理学)
菊 池 直 樹	日 本 体 育 大 学 学 部 体 育 研 究 所	准 教 授	世田谷・青葉コホート研究の実施
田 村 優 樹	日 本 体 育 大 学 学 部 体 育 研 究 所	助 教	アジア人サルコペニアモデル実験実施
鴻 崎 香 里 奈	日 本 体 育 大 学 学 部 保 健 医 療 体 育 研 究 所	助 教	アジア人サルコペニアモデル実験実施
小 谷 鷹 哉	日 本 体 育 大 学 学 部 体 育 研 究 所	助 教	アジア人サルコペニアモデル実験実施

# アジア人の遺伝的背景に基づいたサルコペニア予防戦略

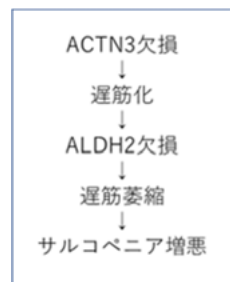
## 1. 研究の目的

サルコペニアは加齢に伴って生じる骨格筋機能・筋量の低下を指す。サルコペニアは日常生活活動動作に支障をきたすのみならず転倒リスク等の整形外科的疾患発生につながるため、超高齢社会においてその予防はすでに重要課題と位置付けられている。サルコペニアの診断基準はやはり筋力、筋機能、筋量による。2019年11月に日本サルコペニア・フレイル学会にてアジア人のエビデンスに基づいたサルコペニア診断基準が発表された。がん、感染症などと同様、サルコペニアも人種等の遺伝性要素が重視視されつつある。

近年、アルコール代謝欠損の原因となるALDH2(アルデヒド脱水素酵素2)遺伝子多型(rs671)はアジア人の遺伝的特性と報告された(Nature communication 2019)。すなわち、アジア人の遺伝的特性であるALDH2遺伝子多型はミトコンドリアおよびサルコペニア発生に関与することが示唆される。ALDH2ノックアウトマウスの骨格筋ミトコンドリアにおいて活性酸素種産生亢進を確認していた(Am J Physiol, 2020)。さらに我々は2021年度より本学術振興資金の援助を得ながらミトコンドリアが豊富な遅筋においてその影響が強く出ること(Am J Physiol, 2022)、ヒトにおいてALDH2遺伝子変異保有者が若年、アスリート、高齢者のそれぞれにおいて低値を示すこと(Biol Sport, 2022, J Physiol Anthro, 2022)を見出した。すなわちアジア人の遺伝的特性であるALDH2遺伝子の変異はミトコンドリアを介して筋力や筋量の低値に影響を与えることを見出してきた。

一方、速筋の構造タンパク質であるアクチニン3タンパク質を欠失するACTN3遺伝子多型(rs1815739)はスポーツパフォーマンスとの関連性が明らかになっていることに加え、特にアジア人コホートにて加齢性筋機能・筋量低下との関連性が報告されている(Cells. 2019 Dec 19;9(1):12)。従って、ACTN3遺伝子多型がアジア人のサルコペニア発生に影響を与える可能性が示唆される。本学術振興資金を得ることで2021年度までにACTN3遺伝子多型モデルとして遺伝子編集を用いてACTN3遺伝子ノックアウトマウスの作出に成功している。

さらにALDH2およびACTN3遺伝子多型の両方がアジア人サルコペニア発生に関与するメカニズムとして、ACTN3KOマウスでは骨格筋の遅筋化が促進されること(Hum Mol Genet. 2014)およびALDH2KOマウスでミトコンドリアの活性酸素産生能亢進により遅筋が萎縮することの組み合わせから、ACTN3多型が遅筋化を促しALDH2多型による加齢時の遅筋萎縮の影響をより強く受けるとするALDH2、ACTN3遺伝子多型によるアジア人特異的サルコペニア発生の生理学的メカニズム(右図)が仮定してきた。本学術振興資金の支援を得てすでにALDH2およびACTN3ダブルノックアウトマウスの作出にも成功している。



以上のような背景をもとに本研究の目的はALDH2遺伝子およびACTN3遺伝子多型が筋力および筋量に与える影響を検討することとする。動物を対象とした基礎研究においては本学術振興資金の支援を得て作成したACTN3遺伝子ノックアウトマウスを用いて骨格筋量などの特徴を検討することとした。ヒトを対象とした臨床研究においては横断研究においてすでに本学術振興資金の援助を得てALDH2遺伝子多型が筋力低下に影響を与えることがわかっていることから、筋力の縦断的变化に対してACTN3およびALDH2遺伝子多型が与える影響を調査することとした。

## 2. 研究の計画

以下、動物を対象とした基礎研究とヒトを対象とした臨床研究のそれぞれに分けて研究計画を示す。

### (1)ACTN3 遺伝子ノックアウトマウスの骨格筋量の特徴

本研究において遺伝子編集を用いて確立したACTN3ノックアウトマウス(5匹)および同腹より得た野生型(10匹)を2ヶ月齢にて解剖し下腿骨格筋を得た。重量測定の後、その後の測定のために液体窒素にて急速凍結した。

## (2)ヒト ALDH2 遺伝子多型および ACTN3 遺伝子多型が加齢性筋力低下に与える影響

本学キャンパスが存在する東京都世田谷区および横浜市青葉区の住民を対象に 2011 年より体力測定を実施しデータ収集している（世田谷・青葉コホート）。本年度は、3 年間の追跡調査が可能な高齢者の筋力低下に対しての ALDH 2 遺伝子多型 (rs671) および ACTN3 遺伝子多型 (rs1815739) の影響について検討した。

## 3. 研究の成果

### (1)ACTN3 遺伝子ノックアウトマウスの骨格筋量の特徴

先行研究において ACTN3 ノックアウトマウスは低体重および低筋量の傾向を示すと報告されている。我々が確立した ACTN3 ノックアウトマウスについては体重に統計的な有意差はなかったが、握力においてノックアウトマウスが有意な高値を示した。さらに腓腹筋、足底筋、前脛骨筋が統計的に有意な高値を示し、先行研究と異なる結果となった。

ウエスタンブロッティングにより ACTN3 タンパク質が完全に欠失していることが確認できたため我々のマウスにおける遺伝子編集は問題なく行われていることが確認できた。近重量が高値を示したため病理組織化学染色を用いて筋繊維断面積を計測したところ、速筋の中でもミトコンドリア含量が多いタイプ 2A の断面積がノックアウトマウスにおいて高値を示した。

先行研究において ACTN3 ノックアウトマウスではミトコンドリア含量が増加しているとされている。我々が確立したマウスで分析を行ったところミトコンドリア含量の指標である COX 2 量はノックアウトマウスで低値を示す結果となり先行研究と一致しなかった。酸化的リン酸化に関する酵素もノックアウトマウスで低値を示し、先行研究とは一致しなかった。

以上まとめると我々が確立した ACTN3 ノックアウトマウスは先行研究において報告されている形質とは全く異なる形質を示すことが明らかになった。

### (2)ヒト ALDH2 遺伝子多型および ACTN3 遺伝子多型が加齢性筋力低下に与える影響

我々がこれまでおこなってきた大規模研究では、ALDH2 の AA タイプは特に高齢の対象者において筋力が低値であることを報告している。今回の研究では高齢者における 3 年間の筋力低下を検討したものの遺伝子多型による影響は認められなかった。今後、追跡期間の延長および被験者数の追加を予定している。

## 4. 研究の反省・考察

### (1)ACTN3 遺伝子ノックアウトマウスの骨格筋量の特徴

今回我々が確立したノックアウトマウスはウエスタンブロッティングの結果から確かに ACTN3 タンパク質を欠失していたが、その表現形は先行研究とは全く異なる結果となった。先行研究における低体重、低筋重量、遅筋化などの特徴は低週齢において見られる特徴であり、高い週齢において同様の傾向が見られるかは検討されていない。さらに言えばマウスノックアウトに対応するヒト ACTN3XX 型において低体重、筋量の低値、遅筋化などは報告されておらず、ACTN3XX 型が持久的競技に有利とする報告は少なく現在では懐疑的である。詳細な検討はさらに必要ではあるが今回の結果は ACTN3 ノックアウトが骨格筋に与える影響について全くの新知見を得た可能性が強く示唆される。

### (2)ヒト ALDH2 遺伝子多型および ACTN3 遺伝子多型が加齢性筋力低下に与える影響

横断研究において明らかにされてきた ALDH2 多型と低筋力の関係は縦断研究においては必ずしも確認されないとの結果を得た。ただし今回は被験者が少なかったこともあり、最終年度においてさらなる例数の追加を持って最終的な結論を得たいと考える。

## 5. 研究発表

### (1)学会誌等

①Jee E, Tamura Y, Kouzaki K, Kotani T, Nakazato K, Effect of different types of muscle activity on the gene and protein expression of ALDH family members in C57BL/6J mouse skeletal muscle., Appl Physiol Nutr Metab (IF: 2.67; Q3). 2022 Jul 1;47(7):775-786

②De Almeida KY, Saito M, Homma H, Mochizuki Y, Saito A, Deguchi M, Kozuma A, Okamoto T, Nakazato K, Kikuchi N., ALDH2 gene polymorphism is associated with fitness in the elderly Japanese population., J Physiol Anthropol, 2022 Nov 5;41(1):38.

(2) 口頭発表

①中里浩一、骨格筋形態・代謝適応制御の分子運動生理学 その黎明期から未来へ、遺伝子多型研究が分子運動生理学に果たす役割、第77回日本体力医学会大会、2022年、招待講演

②服部桜、田村優樹、鴻崎香理奈、小谷鷹哉、木下涼雅、中里浩一、iGONAD法を用いたC57BL/6J系統のActn3ノックアウトマウス作成と形質解析、第70回日本実験動物学会、つくば市