

2023年度（第48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	保 健 医 療 学 部 ・ 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④アクチニン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 保 健 医 療 学 部	教 授	研究統括

○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 保 健 医 療 学 部 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 体 育 学 部 体 育 研 究 所	教 授	世田谷・青葉コホート研究の統括
小 林 正 利	日 本 体 育 大 学 体 育 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 体 育 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 体 育 学 部 体 育 研 究 所	准 教 授	アジア人サルコペニアモデル実験の統括
鴻 崎 香 里 奈	日 本 体 育 大 学 保 健 医 療 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

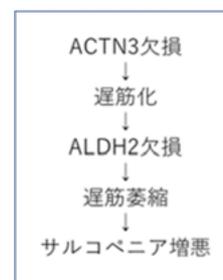
1. 研究の目的

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。

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)。さらに複数の状況証拠から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た。我々は 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おり (Am J Physiol, 2020)、2021年度より本学術振興資金の援助を得てミトコンドリアが豊富な遅筋においてその影響が強くなること (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、高齢者のそれぞれで低値を示すこと (Biol Sport, 2022, J Physiol Anthro, 2022) などを見出し、報告した。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が明らかとなった。

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。さら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て 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) を仮定し研究を進めてきた。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。2022年度までに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た検討の結果、骨格筋量、筋線維タイプ、ミトコンドリア量などについて従来の報告と全く異なる結果を得た。ただし昨年度の予備的検討は2ヶ月齢のマウスであった。2ヶ月週は成長段階として若齢ないしは成長期にあり個体差が大きかった。そこで2023年度は体重、筋量が安定する成長期後の5ヶ月齢の Actn3 ノックアウトマウスの特徴を詳細に解析し、2022年度に予備的に観察された骨格筋量と筋線維の特徴について確固たる結論を得ることを目指した。本基礎実験で得た結果をヒトにおいて確認するために新規に骨格筋量に関するメタ分析を実施することとした。

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研究のそれぞれにわけて研究計画を示す。

(1) Actn3 ノックアウトマウスの骨格筋量の野生型マウスとの特徴の差

5ヶ月齢のC57BL/6Jマウスを対象とし、本研究室にて確立したACTN3KOマウスおよび同腹の野生型マウスを用いた。麻酔下にて解剖し下腿骨格筋群を得た。重量測定のものち、筋線維タイプ別に断面積の測定を行った。

(2) ACTN3 タンパク質欠失がヒト骨格筋に与える影響

Actn3ノックアウトマウスの骨格筋量が野生型と差がないとする基礎研究の結果は先行研究と著しく異なっており、結論を出すにはさらなる解析が必要であろうと考えた。ヒトACTN3遺伝子R577X多型と骨格筋量の関係は多数の報告がなされている。ただしその結果は必ずしも一致しておらず、定量的に文献を評価する必要があると考えた。そこで今回我々はヒトにおけるACTN3遺伝子多型と骨格筋量の関係をより明確に結論づけるためにヒトにおけるACTN3遺伝子多型と骨格筋量について、メタ分析を実施することにした。

文献はPubmedデータベースを用い、検索用語は(ACTN3 or actinin3 or "alpha actinin3") AND ("muscle mass" or "lean body mass" or "muscle volume" or "cross sectional area" or "Muscular Atrophy" or "Sarcopenia")を用いた。本研究では骨格筋量として、除脂肪量 (FFM)、筋横断面積 (CSA)、筋重量 (MV) の項目について検討した。以上の基準を用いてACTN3遺伝子R577X多型と骨格筋量の関係を検討している論文を、PubMedデータベースの検索により抽出した。

3. 研究の成果

(1) Actn3 ノックアウトマウスの骨格筋量の野生型マウスとの特徴の差

α -アクチニン3の欠失は野生型と比較して腓腹筋、前脛骨筋、長趾伸筋の筋湿重量を有意に増加させた。ただし筋線維横断面積には影響を与えなかった。今回の成長期以降の動物を用いた検討より、「 α -アクチニン3欠失は筋量の低値をもたらす」という従来のACTN3遺伝子ノックアウト動物を用いた結論は、今回作製したC57BL/6J系統を背景としたActn3 KOマウスでは再現されないことが明らかになった。従来Actn3ノックアウトマウスとして用いられていたマウスの系統(C57BL/10)は今回用いたC57BL/6Jとは異なることから、 α -アクチニン3欠失の表現型は、Actn3 KOマウスの背景系統の違いによって変化することが示唆された。

(2) ACTN3 タンパク質欠失がヒト骨格筋に与える影響

取得された全論文を用いてメタ分析を行ったところ、遺伝子型と骨格筋量に有意な関連は認められなかった。また、若齢と老齢に分けて分析を行ったが、両集団共に遺伝子型と骨格筋量に有意な関連は認められなかった。老齢集団を欧米人集団とアジア人集団に分け分析を行うと、アジア人集団でのみXX型における骨格筋量の有意な低値が認められた。これらのことより、 α -アクチニン3の欠失は骨格筋量に対し普遍的な影響を与えず、アジア人特異的に筋量の低値を導くことが示唆された。この結果は本申請の仮説を支持するものである。

4. 研究の反省・考察

(1) Actn3 ノックアウトマウス骨格筋量の野生型マウスとの特徴の差

2022年度より従来基礎研究で主張されてきたActn3ノックアウトマウスでの骨格筋の低値とは本研究では全く異なる結果が得られた。週齢が骨格筋量に影響を与える可能性があったため、今回成長期以降の骨格筋量が安定した時期での比較を試みた。結果的に2022年度に得られた観察と同様の結果を得るに至った。先行研究と結果が異なる理由として我々は背景となるマウス系統の違いをあげているが、逆に先行研究で用いられている系統(C57BL/10)を用いて追試を行うべきである。

(2) ACTN3タンパク質欠失がヒト骨格筋に与える影響

基礎研究で得られた結果をより強固にするために今回は先行研究をもちいたメタ分析を実施した。結果的にACTNタンパク質欠失は普遍的に骨格筋量を減少させることはなかった。さらに我々が本申請において仮説としていたアジア人高齢者集団において α アクチニンタンパク質を欠失することで骨格筋が低値になることを見出した。この結果はアジア人の遺伝的背景がACTN3欠失に伴って生じる骨格筋の特徴に影響を与えることを示唆すると言え、大変重要な発見をすることができた。

特筆すべき点として、本内容の一部は2023年度に開催された第31回日本運動生理学会にて大会奨励賞を受賞した。本発表は従来の結論を覆す重要な知見であるため現在本内容の投稿にむ

けて入念に準備中である。

(3) ACTN3、ALDH2ダブルノックアウトマウスについて

2023年度申請書でも記載のとおり、ACTN3およびALDH2ダブルノックアウトマウスは現在本施設にて飼育中であり、本実験期間内での解析には間に合わなかった。ただし今年度末には解析を終了する予定であり、結果が判明したら速やかに外部公表する予定である。

5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし

(2) 口頭発表

服部桜、田村優樹、鴻崎香里奈、木下涼雅、中里浩一、Actn3遺伝子欠損がマウス骨格筋量に与える影響、第31回日本運動生理学会大会、2023年9月、筑波大学（大会奨励賞受賞）

(3) 出版物

なし