

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：34304

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K17873

研究課題名（和文）運動時の心理的ストレスを反映するマーカーとしての分泌型microRNAの可能性

研究課題名（英文）Possibility of secreted microRNA as a marker of psychological stress

研究代表者

石飛 博之（Ishitobi, Hiroyuki）

京都産業大学・現代社会学部・准教授

研究者番号：30772074

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、心理状態を特異的に反映する新たなマーカーの確立を目指し、大学生アスリート・高齢健常者・鬱患者の血清を用いたmicroRNA(miRNA)次世代シーケンサー解析を行った。試合準備期、試合終了後に比べ、試合期において、不安感が高まるアスリート血清中のmiRNAは高齢健常者では変化がないものの、高齢鬱患者ではアスリートの不安感と同様に変動するmiRNAが観察された。これらのことから、miRNAのモニタリングは大会期間などの一過性の心理的ストレスを評価する指標となり得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はmiRNAのストレス応答を明らかにし、アスリートの競技シーズン中の心理的状態やコンディショニングを把握する研究開発に繋げる基礎資料となり得る。今後、アスリートだけでなく、健康寿命などを改善するうえで、一般的な心身のストレス状態の評価を行い、様々なストレス応答マーカーの開発に繋げることが期待される。また、miRNAは血液以外の体液などにも存在することから、唾液などを用いて検討を行うことで、より簡便な評価法の開発が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted microRNA (miRNA) next-generation sequencer analysis using serum samples from college athletes, healthy elderly subjects, and depressed patients with the aim of establishing new markers that specifically reflect psychological states. The miRNAs in the blood of athletes that increase anxiety during the match preparation period and after the match period do not change in healthy elderly subjects, but in elderly patients with depression, miRNAs that fluctuate in the same way as athletes' anxiety were observed. These results suggest that miRNA monitoring may serve as an indicator for evaluating temporary psychological stress such as during competitions.

研究分野：応用健康科学

キーワード：Exosome microRNA ストレス コンディション フレイル

1. 研究開始当初の背景

試合や発表会などの本番で十分に力を発揮するためには、いわゆる「心・技・体」を総合的に高める必要がある。このうち「体」については、運動生理学などの知見から、骨格筋の疲労を反応速度の低下などに変換することで、パフォーマンスの低下を説明することができる。一方、「心」の状態の理解については、アンケートやコルチゾールなど生化学的指標を組み合わせた評価が行われてきた(Bonifazi et al.: J Endocrinol Invest.2009)。しかし、前者は客観性に乏しく、後者は運動に大きく影響を受けることから、コルチゾールの測定では、身体あるいは心理のどちらの状態を反映しているのかを判断することは困難である。従って、心理的要因を反映する心理的ストレスマーカーを開発することは、運動が身体、あるいは心理のどちらに影響しているかの判断材料になることが推測される。

そこで新たなストレスマーカーの候補として、Exosome、および分泌型 microRNA(miRNA)に着目した。標的の mRNA の遺伝子発現を主に負に制御することで知られる miRNA は、近年、Exosome と呼ばれる分泌顆粒に含まれ唾液や血液などの体液中に分泌され、ガン疾患では一部診断マーカーとして報告される。また、ストレスマーカーの可能性を示す先行研究として、医師国家試験前後では不安調査(STAI)の値と唾液・血清中の miRNA-144 などの発現に正の相関があることが報告されている(Rokutan et al.: Neurosci Lett.2012)。また、これらの miRNA は、うつ症状を示す脳疾患との関連が示唆されることから(Wang et al.: Epigenetics.2015)、miRNA は心理的ストレスを反映するストレスマーカーの候補として有望と考えられる。以上のことから、心理的ストレスを反映する miRNA の同定は、これまで漠然と考えられていた、運動が心に及ぼす影響を遺伝子レベルで定量することが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、血清中に存在する分泌型 miRNA や Exosome に含まれる miRNA が心理的ストレスを反映するストレスマーカーとしての有用性を明らかにするため、以下の課題を設定した。

[課題 1] 競技シーズン中におけるアスリートの不安状態を反映する miRNA の応答性の検討

[課題 2] 不安状態を反映する miRNA とうつ症状患者由来の血清中 miRNA の発現の比較検討

[課題 3] 若年層世代における心理的ストレス応答性 miRNA の発現検討

3. 研究の方法

[課題 1] 競技シーズン中におけるアスリートの不安状態を反映する miRNA の応答性の検討

京都産業大学陸上競技部長距離部門、男子学生 20 名(20.2±1 歳)を被験対象とし、駅伝競技大会の直前期・大会期間、大会終了後の 3 期において STAI アンケート調査および採血を行った。大会直前期に比べ、大会期間に STAI 値(不安感)が増加し、大会終了後に大会直前期と同程度の不安感に戻るといったパターンを観察した被験者の血清を用いて、次世代シーケンサー解析を行った。

[課題 2] 不安状態を反映する miRNA とうつ症状患者由来の血清中 miRNA の発現の比較検討

アスリートの比較対象サンプルとして、国立長寿医療センターからサンプル提供を受けた、高齢健常者・鬱患者の血清サンプル、各々 3 名分に対し、次世代シーケンサー解析を行った。

[課題 3] 若年層世代における心理的ストレス応答性 miRNA の発現検討

京都産業大学の運動習慣のない健康な一般男子学生 20 名(19.6±0.2 歳)を非運動群、運動習

慣のある男子アスリート学生 12 名(20.6±0.3 歳)を運動群とし、2 群に対し、身体組成測定、運動能力測定、アンケート調査、血液サンプリングの 4 つの項目に渡り、調査を行った。

4. 研究成果

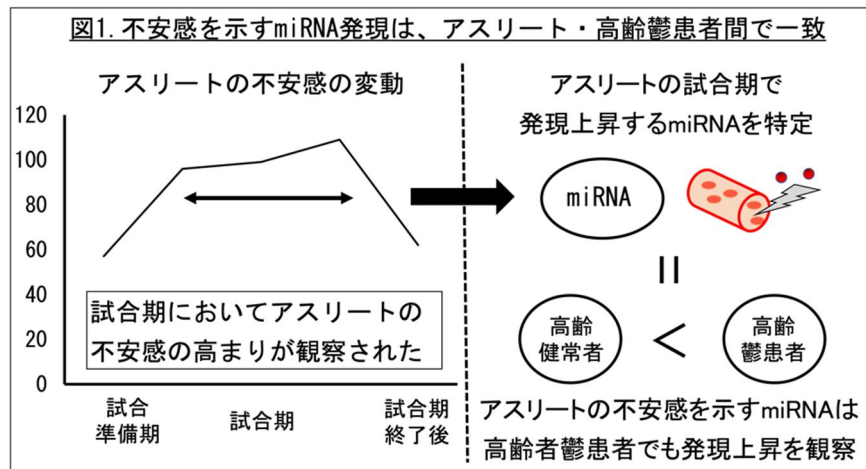
[課題 1] 競技シーズン中におけるアスリートの不安状態を反映する miRNA の応答性の検討

男子学生 20 名を被験対象とし、駅伝競技大会の直前期・大会期間、大会終了後の 3 期において STAI アンケート調査および採血を行った。心理的ストレスを反映する miRNA を同定するために大会直前期に比べ、大会期間に不安感が増加し、大会終了後に大会直前期と同程度の不安感に戻るといったパターンを示す被験者を探索したところ 20 名のうち 1 名の被験者を観察した。この被験者の血清を用いて、次世代シーケンサー解析を行った結果、STAI 値の結果を反映して変動する miRNA を観察した。

[課題 2] 不安状態を反映する miRNA とうつ症状患者由来の血清中 miRNA の発現の比較検討

課題 1 から心理的ストレスを反映することが示唆される miRNA の候補を特定したが、サンプル数が少ないために、心理的不安を反映している新規 miRNA の候補であると結論づけることは困難であった。そこで国立長寿医療センターからサンプル提供を受けた、高齢健常者・鬱患者の血清サンプル、各々 3 名分を比較対象のサンプルとし、同様に次世代シーケンサー解析を行った。

その結果、試合準備期、試合期終了後に比べ、試合期において、STAI 値が高まるアスリート血清中の miRNA は高齢健常者では変化がないものの、高齢鬱患者ではアスリートと同様に変動する miRNA が



観察された(図 1)。発現が低下する miRNA では、鬱患者での報告がある miRNA-335(Li J et al.: Neurosci Lett.2015)や未知の新規 miRNA を同定し、発現が上昇する miRNA においても、統合失調症で報告される miR-195(Huseyin et al.: Psychiatry Res.2016)や未知の新規 miRNA を同定した。以上[課題 1、2]の結果から、miRNA のモニタリングを行うことは、大会期直前におけるプレッシャーなど、シーズン中におけるアスリートの一過性の心理的ストレスを評価する指標となり得る可能性が示唆された。今後は、残りのアスリートサンプルに対し、リアルタイム PCR 法を用いてこれら miRNA の発現解析を行い、新規心理的ストレスマーカーの確立を目指す。

[課題 3] 若年層世代における心理的ストレス応答性 miRNA の発現検討

課題 1、2 の観察された miRNA が若年層世代の心理的ストレスを反映するマーカーとしても有用であるかを明らかにするため、新たな被験対象者として、運動習慣のない健康な一般男子学生 20 名(19.6±0.2 歳)の非運動群と運動習慣のある男子アスリート学生 12 名(20.6±0.3 歳)の運動群の 2 群を設定し、それぞれの項目について調査を行った。

身体組成測定について

運動群では非運動群に比べ骨格筋量、基礎代謝、ウエスト周囲計の値が有意に高かった。ウエスト周囲計の値が高かった運動群には数名の肥満体型に該当する被験者が観察され、一方で非運動群はウエスト周囲計の値が低いにも関わらず、隠れ肥満体型(外見の体型は普通だが内臓脂

肪が多いこと)に該当する被験者が観察された。

運動能力測定について

骨格筋量の値が有意に高かった運動群では、関連する握力や膝伸展といった筋力発揮の値も非運動群に比べ高かった。非運動群では全国平均の女学生の筋力発揮の値よりも低値を示す被験者も散見された。また、歩行テストについて、真っ直ぐ歩く場合は両群にタイム差はなかったものの、歩行動作に方向転換が加わるテストでは、運動群のタイムは非運動群より有意に低かった。これまでの結果から、運動群に比べ非運動群では骨格筋量、骨格筋機能、代謝系に健康課題があることが示唆された。これらは将来的に身体的なフレイルに繋がる要因である。近年、若年層の年代においても心身のフレイル問題の健康不安が指摘され、また、コロナ禍において、うつや適応障害など、メンタルヘルス問題も報告されている。今後、アンケート調査や血液中の miRNA の発現について検討し、これらデータの包括的な観点から、若年層における心身の健康状態を把握する方法として、ストレスマーカーとしての miRNA の応用可能性を検討していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sanada Yohei, Ikuta Yasunari, Ding Chenyang, Shinohara Masahiro, Yimiti Dilimulati, Ishitobi Hiroyuki, Nagira Keita, Lee Minjung, Akimoto Takayuki, Shibata Sachi, Ishikawa Masakazu, Nakasa Tomoyuki, Matsubara Kiminori, Lotz Martin K., Adachi Nobuo, Miyaki Shigeru	4. 巻 24
2. 論文標題 Senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) in male as a spontaneous osteoarthritis model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Research and Therapy	6. 最初と最後の頁 235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-022-02916-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyata M, Iwata S, Mifude CK, Tajima M, Kameyama M, Ihara M, Matsui T, Yamagishi SI, Ishitobi H, Miyaki S, Kaseda K	4. 巻 Jun 1
2. 論文標題 A Novel Mucidosphaerium sp. Downregulates Inflammatory Gene Expression in Skin and Articular Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Altern Ther Health Med	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishitobi H, Sanada Y, Kato Y, Ikuta Y, Shibata S, Yamasaki S, Lotz MK, Matsubara K, Miyaki S, and Adachi N.	4. 巻 Jul 5;830
2. 論文標題 Carnosic acid attenuates cartilage degeneration through induction of heme oxygenase-1 in human articular chondrocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2018.04.018.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Sanada Y, Miyaki S, Ikuta Y, Shinohara M, Nagira K, Ishitobi H, Matsubara K, Ishikawa M, Nakasa T, Adachi N.
2. 発表標題 Senescence accelerated mice as a new mouse model for aging related osteoarthritis Development
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石飛博之, 味八木茂, 眞田洋平, 亀井直輔, 石川正和, 中佐智幸, 安達伸生
2. 発表標題 Exosome型miRNAの投与は老化促進マウス(SAMP8)における軟骨破壊を軽減する
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 眞田洋平, 味八木茂, 生田 祥也, 石飛博之, 石川正和, 中佐智幸, 安達伸生
2. 発表標題 老化促進モデル(SAMP8)マウスは早期に軟骨下骨の変化に伴う変形性膝関節症を発症する
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 眞田洋平, 味八木茂, 生田 祥也, 石飛博之, 石川正和, 中佐智幸, 安達伸生
2. 発表標題 老化促進モデル(SAMP8)マウスは早期に軟骨下骨の変化に伴う変形性膝関節症を発症する
3. 学会等名 第32回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------