

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：16401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19681

研究課題名（和文）末梢血単核球のミトコンドリア活性化を用いた新しい運動トレーニング評価法の開発

研究課題名（英文）Development of a New Evaluation Method for Exercise Training Using Mitochondrial Activation of Peripheral Blood Mononuclear Cells

研究代表者

荻野 景規（Ogino, Keiki）

高知大学・医学部・特任教授

研究者番号：70204104

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：運動トレーニングによる酸化ストレス刺激が、ミトコンドリアの活性化による抗酸化酵素の発現上昇を招き、寿命延伸につながるというミトホルミシスの概念を、ヒトの末梢血単核球で検討した。学生を対象とした介入研究で、毎日30分、2週間の軽い運動で、末梢血単核球のSOD1mRNA、SOD2mRNAの発現上昇を認めた。さらに、岡山県の健診機関で企業健診受診者約392名を対象にした横断研究で、運動習慣のあるヒトでは、SOD2mRNA及びMtDNAが優位に高かった。多変量解析では、運動習慣はSOD2mRNA上昇と関連し、喫煙の影響でこの関連が消失することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動トレーニングによる酸化ストレス刺激が、ミトコンドリアの活性化による抗酸化酵素や解毒酵素群の発現上昇を招き、寿命延伸につながるというミトホルミシスの概念を、ヒトの運動後の骨格筋細胞ではなく末梢血単核球で評価できることを、初めて介入研究と横断研究で証明した。特にミトコンドリアの酸化ストレスに關与する抗酸化酵素であるSOD2のmRNAが運動習慣と関連していることが証明されたことは、SOD2mRNAが、運動評価の血液マーカーとなる可能性があり、健康運動産業の新たなイノベーションに繋がる。

研究成果の概要（英文）：The concept of mitohormesis, in which oxidative stress stimulation by exercise training leads to increased expression of antioxidant enzymes due to mitochondrial activation, leading to increased lifespan, was investigated in human peripheral blood mononuclear cells. In an intervention study with students, light exercise for 30 minutes daily for two weeks was found to increase the expression of SOD1mRNA and SOD2mRNA in peripheral blood mononuclear cells. Furthermore, in a cross-sectional study of approximately 392 individuals who underwent corporate health examinations at a health examination institution in Okayama Prefecture, SOD2mRNA and MtDNA were predominantly higher in humans with exercise habits. Multivariate analysis showed that exercise habit was associated with elevated SOD2mRNA, and that this association disappeared under the influence of smoking.

研究分野：実験を伴う衛生学分野

キーワード：末梢血単核球 抗酸化酵素mRNA ミトホルミシス SOD2

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1)健康志向の高まりと、ダイエットブームから、有酸素運動を主体とした運動トレーニングが重要視されている。しかしながら、運動トレーニングの効果に、ほぼ8~12週間の比較的長い時間の運動が必要とされている。一旦、ダイエットが成功しても、体重のリバウンドが起こることが多く、運動行動を継続することは難しい。その原因として、運動トレーニングの効果の判定に時間がかかり、運動の効果の実感が少ないことが考えられる。その意味から、新しい運動評価法の開発が必要とされている。

(2)カロリー制限や運動トレーニングは、細胞内のエネルギー産生場所であるミトコンドリアから活性酸素を産生させ、核内の転写因子を活性化し、最終的にスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、カタラーゼ(Cat)、グルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)等の抗酸化酵素を誘導し、疾病予防や抗加齢に有利な状況を作り、寿命を延伸させミトホルミシスという概念が報告され、線虫や齧歯類では証明されているが、ヒトでは評価が定まっていない(Ristow M, Nat Med, 20, 709-711, 2014)。この現象は、骨格筋細胞の生検を用いたものであり、末梢血単核球を用いて評価することを考えた。

### 2. 研究の目的

このミトホルミシスの概念を実証するため、毎日1時間の運動トレーニングを、4週間行い、その前後で、末梢血単核球で筋肉の代用の可能性を検討した結果、末梢血単核球でも同じように、ミトコンドリア抗酸化酵素が有意に誘導されていることを認めた(Tsukiyama et al., J Clin Biochem Nutri, 2017)。しかしながら、運動期間が長いと、運動習慣のないヒトでは、運動を継続する意思を維持できないので、毎日30分程度のランニングで、2週間の運動評価できる介入研究が必要と考えた。さらにこの介入研究の結果から有望なマーカーを見つけ、培養細胞で確認をおこない、横断研究で運動習慣との関連性を見いだす必要があると考えた。

### 3. 研究の方法

(1)ヒトの運動トレーニングによる末梢血単核球のミトコンドリア活性化を介入研究でおこなう。高知大学医学部学生実習で、毎日30分の運動トレーニングを週5日、2週間実施し、その前後、運動終了後2週間、4週間後の末梢血単核球のRNAを抽出し、抗酸化酵素群のmRNAをRT-PCRで測定し、統計解析を行う。

(2)平成帝京大学の大学学生(約20名)の協力で、1日30分のランニングを2週間行い、末梢血(指先)のmRNAの抽出による抗酸化酵素の動態を観察するクロスオーバー介入研究を行う。

(3)ヒト単核球培養細胞 THP-1 細胞を培養し、細胞を低酸素又は低酸素後再酸素化にすることで、抗酸化酵素群のmRNAの変化を検討した。

(4)岡山県の健康診断専門機関で企業健診を受診する392名の対象者に、運動習慣を含む生活習慣と全血のRNA回収による抗酸化酵素mRNA、DNA回収によりミトコンドリアDNA量の測定、さらに血清の酸化ストレスマーカー(TBARS)を行い、生活習慣との関連性を検討する。

### 4. 研究成果

(1)医学部の学生を対象として臨床研究で、毎日30分、2週間の軽いジョギングで、末梢血単核球からのSOD1、SOD2、cat等の抗酸化酵素群やミトコンドリアの合成を調整しているSIRT3等のmRNAの有意な発現上昇が認められ、短時間の軽い運動でもミトホルミシス現象を発現できた。さらに、運動中止後2週間経過した時点でもこれらの酵素群の高発現を認め、運動効果の持続を認めた。さらに、運動前の検証で、SOD2は、運動習慣のあるヒトで有意に高いことが判明した。

(2)学生10名を交互に運動群とコントロール群に分けて、運動介入を行い、指先から全血100mlを採血し、RNA抽出後、SOD2のmRNAを測定したが、運動群で有意な上昇は見られなかった。サンプルの収集に問題があった可能性がある。

(3)THP-1細胞を5%酸素(O<sub>2</sub>)下で24時間培養では、抗酸化酵素のmRNAはほとんど変化を認めなかったが、48時間培養すると、SOD1、catのmRNA発現の抑制が認められた。さらに、細胞を5%酸素で24時間培養後、酸素濃度を18%に戻し24時間培養するとSOD1、SOD2、catalase、GPx1のmRNAが有意に上昇発現した。このことは、運動により血液中の単核球細胞に抗酸化酵素の上昇

が認められた原因として、運動中に筋肉等の末梢循環の単核球は虚血再灌流の環境にさらされた可能性がある。

(4)岡山県の健康診断専門機関で企業健診を受診した 392 名を対象者に、全血の抗酸化酵素 mRNA 及びミトコンドリア DNA 及び血清 TBARS を測定し、運動習慣を中心とした生活習慣との関連性を検討した。その結果、運動習慣のあるヒトは、ないヒトに比較し、SOD2 の抗酸化酵素 mRNA 発現が有意に高く、SOD2 mRNA 値は、運動習慣と有意な相関を認めた。さらにロジスティクス多変量解析で SOD2 mRNA 値は、運動習慣との有意な関連性は、喫煙のないヒトでのみ認められた。このことから、全血の SOD2 の mRNA 測定は、運動の効果を比較的短い時間で評価できる方法である可能性がある。

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 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hamanishi S, Eguchi E, Ito T, Nagaoka K, Ogino K	4. 巻 14
2. 論文標題 Head cooling during sleep improves sleep quality in the luteal phase in female university students: A randomized crossover-controlled pilot study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0213706
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0213706	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 Ito T, Kubo M, Nagaoka K, Funakubo N, Setiawan H, Takemoto K, Eguchi E, Fujikura Y, Ogino K	4. 巻 74
2. 論文標題 Early obesity leads to increases in hepatic arginase I and related systemic changes in nitric oxide and L-arginine metabolism in mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Physiol Biochem.	6. 最初と最後の頁 9-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13105-017-0597-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shihona Ogino, Noriyoshi Ogino, Kotomi Tomizuka, Masamitsu Eitoku, Yosuke Okada, Yoshiya Tanaka, Narufumi Suganuma, Keiki Ogino	4. 巻 68
2. 論文標題 SOD2 mRNA as a potential biomarker for exercise: interventional and cross-sectional research in healthy subjects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	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） 10.3164/jcfn.21-24	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 荻野 景規、長岡 憲次郎、荻野 学芳、松浦 有希、伊藤 達男
2. 発表標題 アルギナーゼI上昇は、L-arginineを消費し、NO産生を抑制し、糖尿病の発症に関連する。
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱西誠司、伊藤達男、長岡憲次郎、江口依里、荻野景規
2. 発表標題 睡眠時の頭部冷却が月経前の睡眠の質に及ぼす影響
3. 学会等名 第88回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤達男、荻野景規、長岡憲次郎、竹本圭
2. 発表標題 化学ストレス環境下における細胞内でのアルギニンメチル化基質の役割
3. 学会等名 第91回日本産業衛生学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱西誠司、伊藤達男、長岡憲次郎、江口依里、荻野景規
2. 発表標題 睡眠時の頭部冷却が月経前の睡眠脳波に及ぼす影響
3. 学会等名 第16回日本予防医学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長岡憲次郎、荻野学芳、笹岡香織、伊藤達男、荻野景規
2. 発表標題 労働者における動脈硬化とアルギナーゼ1およびNO関連因子の関連性について
3. 学会等名 第62回中国四国合同産業衛生学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荻野学芳、荻野志穂奈、長岡憲次郎、伊藤達男、荻野景規
2. 発表標題 労働者のメンタルヘルスと血清アルギナーゼ活性は関連するか
3. 学会等名 第62回中国四国合同産業衛生学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荻野景規、荻野志穂奈、富塚琴美、荻野学芳、栄徳勝光、菅沼成文
2. 発表標題 運動習慣を反映する血中ミトコンドリアバイオマーカーの検討
3. 学会等名 第91回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2021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
研究分担者	古松 毅之  (Furumatsu Takayuki)  (20432651)	岡山大学・大学病院・講師   (15301)	削除：2019年4月11日
研究分担者	長岡 憲次郎  (Nagaoka Kenjiro)  (40752374)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教   (15301)	削除：2020年2月26日
研究分担者	梅田 孝  (Umeda Takashi)  (50311535)	名城大学・薬学部・教授   (33919)	削除：2019年10月11日

## 6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	伊藤 達男 (Ito Tatsuo) (80789123)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教  (15301)	削除：2019年10月11日
研究分担者	荻野 学芳 (Ogino Noriyoshi) (70614204)	高知大学・医学部・客員助教  (16401)	
研究分担者	荻野 志穂奈 (Ogino Shihona) (70746685)	高知大学・医学部・客員助教  (16401)	
研究分担者	浜田 博喜 (Hamada Hiroki) (10164914)	岡山理科大学・理学部・教授  (35302)	削除：2019年4月11日
研究分担者	高柴 正悟 (Takashiba Syogo) (50226768)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授  (15301)	削除：2019年10月11日
研究分担者	松田 依果 (Matsuda Yorika) (60368678)	帝京平成大学・健康メディカル学部・講師  (32511)	削除：2019年10月11日
研究分担者	東 華岳 (Azuma Kagaku) (20273146)	産業医科大学・医学部・教授  (37116)	削除：2019年11月21日
研究分担者	菅沼 成文 (Suganuma Narufumi) (50313747)	高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・教授  (16401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	栄徳 勝光  (Eitoku Masamitsu)  (50552733)	高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・講師     (16401)	

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