

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：53401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06367

研究課題名（和文）エピジェネティクスの手法を用いた筋機能関連遺伝子解析

研究課題名（英文）Epigenetic approach for the muscle function-related gene analysis

研究代表者

川村 敏之（kawamura, Toshiyuki）

福井工業高等専門学校・物質工学科・准教授

研究者番号：80413772

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：アスリートではACTN3遺伝子多型とスプリント/パワー系運動能力との関連が指摘されるが、我々は一般人のRアレル（RR型、RX型）とXX型との間に静的筋力には差異を認めず（Azumaら、2021）、体力テストにおけるスプリント/パワー系種目においてRアレル群が優位であることを示した（Matsuiら、2023）。ただし、その効果量は小さく、エピジェネティックな効果との関連が示唆された（Kawamuraら、2024）。一方、PNFストレッチングによって生じる筋腱複合体のメカニカルな変化はRR型の柔軟性に対して不利益を与えないことも明らかにされた（Azumaら、2023；Azumaら、2024）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

速筋線維に特異的に発現するACTN3遺伝子多型はアスリートにおけるスプリント/パワー系運動能力との関連が数多く報告されてきたが、一般人の多型と運動能力との関連に関する報告は希少である。我が国におけるコホート研究によれば一般人のRR型における柔軟性が低いことが指摘されるが、一般人の多型と体力全般との関連については海外報告にとどまる。我々の研究によって国内一般人の体力テストにおけるスプリント/パワー系種目と多型との関連が認められたほか、エピジェネティックな効果によりACTN3の性質の発現が抑制される可能性が示唆されたことから、余暇活動での運動選択や健康管理に活用し得る遺伝子解析の意義が認められた。

研究成果の概要（英文）：Although an association between ACTN3 gene polymorphisms and sprint/power abilities has been reported in athletes, we found no difference in static muscle strength between R alleles (RR and RX types) and XX types in the general population (Azuma et al., 2021), but the R allele group was superior in sprint/power abilities in physical fitness tests (Matsui et al., 2023). However, the effect sizes were small, suggesting an association with epigenetic effects (Kawamura et al., 2024). On the other hand, mechanical changes in the muscle-tendon complex induced by PNF stretching were not found to be detrimental to RR-type flexibility (Azuma et al., 2023; Azuma et al., 2024).

研究分野：応用人類学

キーワード：ACTN3遺伝子多型 体力 速筋線維 エピジェネティクス

## 様式 C - 19 , F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、同じ遺伝子配列でも、核のどこに遺伝子が局在するかで、発現量が全く異なることが明らかになりつつある。すなわち、「遺伝子型」=「形質」ではなく、同じ遺伝子型でもエピジェネティクスにより、当該遺伝子の核がどの場所に局在するかによって遺伝子が発現する程度が異なり、それに伴ってパフォーマンスに差が生じるほか、遺伝子解析の信頼性や解析結果に基づく適切な処置を後退させる原因となり得る。一般学生の ACTN3 遺伝子多型は運動の嗜好とは高率では一致しないことを明らかにした Kawamura ら (2021) の報告もこのことを傍証するものである。アスリートにおける ACTN3 遺伝子多型はスプリント/パワー系運動能力と関連することが多くの報告で支持されている (Alfred, 2011; Kikuchi ら, 2014; Orysiak ら, 2014; Garatachea ら, 2014; Yang ら, 2017), 逆説的には ACTN3 遺伝子多型における RR 型もしくは RX 型で、且つ、スプリント/パワー系運動能力が高い者がアスリートとしての status を得ているとも考えられる。このような視点を明らかにする上で、非アスリート (一般人) を対象とした ACTN3 遺伝子多型と運動能力の関係を調べることや、一般人の RR 型のエピジェネティクスのな解明の必要性が求められる (Świątowy ら, 2021)。

### 2. 研究の目的

「遺伝子型」=「形質」ではなく、同じ遺伝子型でも遺伝子が発現する程度が異なるというエピジェネティクスの視点を明らかにするためには、明らかな発現が認められてきたようなアスリートを対象とするのではなく、一般人を対象とした運動能力について、スプリント/パワー系能力だけでなく様々な運動能力を幅広く調べる必要があり、静的脚伸展筋力から算定する体重支持指数 (WBI) や体力テスト項目全般、筋の高度な手技に従うストレッチング効果を遺伝子多型間で比較し、アスリートと同等な特性が認められるかどうかを明らかにすることや、エピジェネティクスの証左となり得る DNA メチル化解析によって Homo-RR の遺伝子上流領域の CpG および非 CpG のシトシンのメチル化の有無を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では ACTN3 遺伝子多型と体重支持指数 (WBI) の関連 (n=64; Azuma ら, 2021), 体力テストとの関連 (n=123; Matsui ら, 2023) を調べるため、18~21 歳の非アスリート男子学生を被検者として実験を企図した。一方、また、Matsui ら (2023) の被検者からランダムに抽出した RR 型 11 名および XX 型 10 名について、PNF ストレッチングの一過性効果を調査した (Azuma ら, 2024)。PNF ストレッチングが RR 型と XX 型とで同一条件で与えられるべく、パートナーを介しない PNF ストレッチングシステムを開発し (Azuma ら, 2023), それが一般的な (パートナーを介する) PNF ストレッチングと同等の作用を与えることを 21 名の被検者によって検証した上で、RR 型と XX 型間でストレッチング効果を比較した (Azuma ら, 2024)。

ACTN3 遺伝子多型の分析は次の手順に従う。すなわち、Mills ら (2001) の手法にしたがい、R577X のナンセンス変異を毛髪サンプルから、ゲノム DNA を抽出した後に R577X 部位を含むよう PCR により増幅、電気泳動、DNA 精製後、サンガー法により塩基配列を決定することで、被検者を RR 型、RX 型、XX 型の 3 群に分類した。なお、本研究は福井工業高等専門学校 HIT のヒトを対象とする研究倫理審査委員会の承認を得ている (承認番号: R2-01, R3-3, R4-5, R5-3)。各々の研究における具体的方法を以下 (1)~(4) に示す。

#### (1) 体重支持指数 (WBI)

被検者は椅子に座り、ストレインゲージ式張力計 (YAGAMI, KE-D300) にて静的最大脚伸展力を計測された。張力計は被検者が膝を 90 度に屈曲した姿勢で片方の足首部分にワイヤーを介して非伸縮性のバンドで固定された (図 1)。計測前には軽い力で何度か練習を行わせ、その後、最大努力での静的脚伸展力を 2 回計測した。左右の順番は被検者によって無作為とし、左右それぞれ大きい方の値を平均して最大脚伸展力とした。体重支持指数 (WBI) は最大脚伸展力を体重で除して求めた。

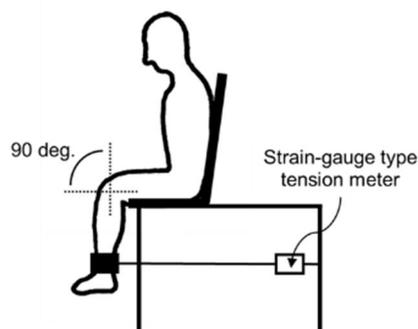


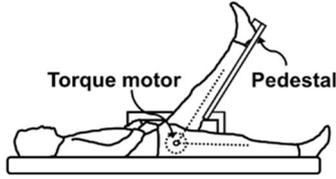
図 1. 最大脚伸展力測定スキーム

#### (2) 体力テスト

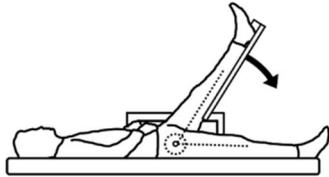
体力テストは文部科学省新体力テストに従い、握力 (等尺性筋力), 上体起こし (腹筋筋持久力), 長座体前屈 (柔軟性), 反復横とび (敏捷性), 20 m シャトルラン (全身持久力), 50 m 走 (スピード), 立ち幅とび (瞬発力), ハンドボール投げ (巧緻性, 瞬発力) の 8 項目 (12~19 歳対象) をすべての被検者に対して行った (スポーツ庁, 2022)。各被検者が 18 歳の時に計測されたデータを用いた。50m 走とハンドボール投げはいずれも筋パワーを評価する項目であるが、前者は走能力、後者は投能力が反映された筋パワーであるとみなせる (スポーツ庁, 2022)。

### (3)PNF ストレッチング

#### a. 10-s holding (stretching)



#### b. 6-s isometric contraction



#### c. Relax and raising the leg

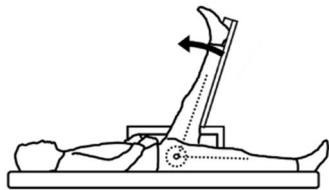


図 2. PNF ストレッチング (HR)  
(PNF ストレッチシステムを利用)

本研究では主要な傷害予防につながるストレッチングを意図して hamstrings を対象筋とした。本研究では、PNF ストレッチングのいくつかの手法の中で最もシンプルな手技である Hold relax (HR)を採用した。HR は標的筋の筋収縮によってゴルジ腱器官が伸長を感知することで生じる自己抑制( b 抑制)を利用した手技である (Hindle ら, 2012)。被検者は仰臥位での straight leg raise (SLR)による HR を Azuma ら(2023)が開発した PNF ストレッチングシステムを用いて行った。HR の手順は、一般的に、被検者は仰臥位で膝を伸ばしたまま痛みを感じる手前まで左脚を挙上させ(SLR), その状態で 10 秒間の予備伸長を行う(図 2, a)。次にハムストリングスの等尺性収縮を 6 秒間行い(図 2, b), その後、筋を弛緩させて痛みを感じる手前までさらに脚部を挙上させる。脚の挙上ならびに予備伸長時と等尺性収縮時の脚の保持についてはパートナーが行うべきところ、PNF ストレッチングシステムを用いて被検者自らの操作で PNF ストレッチングを実施した(システムは被検者の大転子がモーターの回転中心となるように配置された。)すなわち、被検者は左脚を台座に乗せ、仰臥位のまま、スイッチ操作で脚を挙上させ(図 2. c; 回転トルクにより受動的筋伸長が可能),制動トルクによって予備伸長時と等尺性収縮時に脚を保持させた。被検者はこのシステム使用前にあらかじめ HR の手順について指導され、それを十分に理解していた。また、システム使用中、検者は被検者の傍らで口頭でも手順を指示した。加えて、このシステムに

は危険時に実験を監視する検者が電源を遮断するためのブレーカも電源コンセント部に設置された (Azuma ら, 2023)。

### (4)DNA メチル化解析

また、エピジェネティクス解析は、18~20 歳の非アスリート男子学生で ACTN3 の R577X 多型で RR 型である 25 名について行った。被検者から提出された毛髪サンプルからゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト処理を行ったのち、ACTN3 遺伝子上流センス鎖 480 塩基領域を PCR により増幅を行った。非メチル化シトシンは全てウラシルに変換されるため、メチル化されたシトシンを検出することができる。アガロースゲル電気泳動後、ゲルから DNA を精製しサンガー法により塩基配列決定を行った (Kawamura ら, 2024)。

## 4. 研究成果

### (1)体重支持指数 (WBI) と ACTN3 遺伝子多型との関係

脚伸筋筋力発揮には多型間の差異は認められず、このことはスプリント/パワー系能力が優位とされる RR 型や RX 型アスリートにおいて力よりもスピードにその効果が認められるとする従来の報告に一致した。一方、筋力発揮の身体資源である除脂肪量で除した相対筋力である WBI は XX 型が RR 型や RX 型よりも有意に大きく、推論として、XX 型には遅筋線維が多いと仮定した場合の遅筋線維の補償的な力発揮や ACTN2 を介したカルシニューリンの作用による補償的な筋力発揮のほか、ミオグロビン系の筋(持久性遅筋)の機能的充実が重力に抗する筋活動を高め、結果として WBI を大きくする可能性が示唆された。

### (2) 体力テストと ACTN3 遺伝子多型との関係

RR 型と RX 型を一つのグループとみなした R-Allele 群と XX 群の間には、50m 走と立ち幅跳びにおいてのみ有意差が認められた。すなわち、ラボテストでスプリント/パワー系アスリートに観察されてきたような ACTN3 遺伝子多型 (RR 型, RX 型) の特異性が一般男子学生のフィールドテスト項目においても捉えられることが明らかになった。しかるに、ACTN3 遺伝子多型の分析は、アスリートのみならず一般人にとってもスプリント/パワーに関連する動きへの適性を示す情報として活用される可能性が示唆された。しかしながら、その効果量は小さく (Cohen's  $d < 0.5$ ), エピジェネティックな効果との関連が示唆された。

### (3) PNF ストレッチングと ACTN3 遺伝子多型との関係

我が国におけるコホート研究 (Kikuchi ら, 2014) によれば一般人の RR 型における柔軟性が低いことが指摘されるが、この研究では PNF ストレッチングによって生じる高度な柔軟性の一過性変化 (筋腱複合体のメカニカルな変化) を RR 型と XX 型で比較した。その結果、Kikuchi ら (2014) が報告するような一般人における ACTN3 遺伝子多型間の柔軟性の違いは認められず、

PNF ストレッチングによる hamstrings の一過性の伸長において ACTN3 の遺伝子多型は関連しないことを意味する。すなわち、PNF ストレッチングのような手技によって生じる筋腱複体のメカニカルな変化は ACTN3 遺伝子を有する一般人の柔軟性に対して何ら不利益を与えず、そのトレーニング効果も期待できると推察された。

#### (4) ACTN3 遺伝子 RR 型の DNA メチル化解析

RR 型一般学生 25 名の遺伝子上流センス鎖 480 塩基領域の DNA メチル化解析において、36%の被検者にシトシンメチル化が検出され(図 3)、エピジェネティックな効果により ACTN3 の性質の発現が抑制される可能性が示唆された(Kawamura ら, 2024)。したがって、ACTN3 が RR 型であればスプリント/パワー系, XX 型であれば持久系という、従来のエリートアスリートに観察されたような画一的な傾向は、一般の非アスリートの学生には当てはまらない部分が多いと考えられた。すなわち、ACTN3 遺伝子の性質の発現は、アスリートの表現型より複雑であり、様々な補完システムを持ち、その一つが DNA メチル化による発現調節の可能性であると推察される。

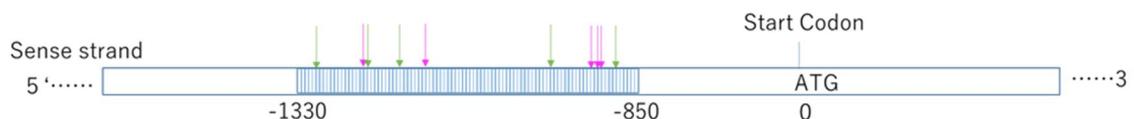


図 3. RR 型被検者の ACTN3 遺伝子上流センス鎖 480 塩基領域におけるメチル化 (ピンク色矢印: CpG シトシンのメチル化, グリーン色矢印: 非 CpG のシトシンのメチル化)

#### (5) 総括

ACTN3 は速筋線維 (Type II) に特異的に発現するタンパクであり、スプリント/パワー系スポーツ選手に RR の遺伝子型が多く観察されるとともに、一般人や非鍛錬者では多型間においてこれらの運動能力に差異が認められないとされる (Santiago, 2010)。このことは、ACTN3 遺伝子のいわゆるエピジェネティクスに関連するかもしれない (Światowy ら, 2021)。すなわち、一般人には ACTN3 遺伝子がメチル化され、サイレンシングされている場合がアスリートに比べて多い可能性が考えられる。逆説的にいうなら、メチル化されず、且つ、ACTN3 遺伝子本来の特性が発揮され、高いスプリント/パワー系能力を発揮することができる者がアスリートとなり、結果的としてスプリント/パワー系スポーツ選手の中に多くの RR 型が観察されるのかもしれない。

我々の研究によって国内一般人の体力テストにおけるスプリント/パワー系種目と多型との関連が認められたが、その効果量は大きくないことも明らかとなり、エピジェネティックな効果により ACTN3 の性質の発現が抑制される可能性が示唆された。余暇活動での運動選択や健康管理に活用し得る遺伝子解析の意義が認められた。

#### < 引用文献 >

- Alfred T, Ben-Shlomo Y, Cooper R, Hardy R, Cooper C, Deary IJ, Gunnell D, Harris SE, Kumari M, Martin RM, Moran CN, Pitsiladis YP, Ring SM, Sayer AA, Smith GD, Starr JM, Kuh D, Day IN; HALCYon study team. (2011): ACTN3 genotype, athletic status, and life course physical capability: meta-analysis of the published literature and findings from nine studies. *Human Mutation*, 32(9): 1008-1018.
- Azuma A, Kawamura T, Matsui K. (2021): Is ACTN3 R577X genotype associated with weight-bearing index in male college students? *Proceedings of the 39th International Conference on Biomechanics in Sports*, 380-383.
- Azuma A, Matsui K, Kawamura T. (2023): Development of a proprioceptive neuromuscular facilitation stretching system using a low-speed, high-torque motor. *European Journal of Human Movement*, 50(2023): 45-51.
- Azuma A, Matsui K, Kawamura T. (2024): Acute effect of proprioceptive neuromuscular facilitation stretching on flexibility in ACTN3 R577X genotype. *Medicina dello Sport*, in print.
- Garatachea N, Verde Z, Santos-Lozano A, Yvert T, Rodriguez-Romo G, Sarasa FJ, Hernández-Sánchez S, Santiago C, Lucia A. (2014): ACTN3 R577X polymorphism and explosive leg-muscle power in elite basketball players. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 9(2): 226-232.
- Hindle K, Whitcomb TJ, Briggs WO, Hong J. (2012): Proprioceptive neuromuscular facilitation (PNF): its mechanisms and effects on range of motion and muscular function. *Journal of Human Kinetics*, 31(1): 105-113.
- Japan Sports Agency (スポーツ庁). (2022): 体力・運動能力調査 2021. スポーツ庁.
- Kawamura T, Matsui K, Azuma A. (2021): Is ACTN3 R577X genotype associated with a preference in type of exercise such as sprint or endurance? *Advances in Physical Education*, 11(2): 268-275.

- Kawamura T, Azuma A, Matsui K. (2024): Latent trait and epigenetic analysis of ACTN3 gene polymorphism homo-RR in Japanese college students. *Gazzetta Medica Italiana - Archivio per le Scienze Mediche*, in print.
- Kikuchi N, Nakazato K, Min SK, Ueda D, Igawa S. (2014): The ACTN3 R577X polymorphism is associated with muscle power in male Japanese athletes. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 28(7): 1783-1789.
- Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL, Beggs AH, Easteal S, North K. (2001): Differential expression of the actin-binding proteins, alpha-actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution on functional redundancy. *Human Molecular Genetics*, 10(13): 1335-1346.
- Matsui K, Kawamura T, Azuma A, Valleser CWM, Diaz FCB. (2023): Association of ACTN3 R577X genotype with physical fitness in Japanese male college students. *International Journal of Human Movement and Sports Sciences*, 11(4): 908-913.
- Orysiak J, Busko K, Michalski R, Mazur-Różycka J, Gajewski J, Malczewska-Lenczowska J, Sitkowski D, Pokrywka A. (2014): Relationship between ACTN3 R577X polymorphism and maximal power output in elite Polish athletes. *Medicina (Kaunas)*, 50(5): 303-308.
- Santiago C, Rodríguez-Romo G, Gómez-Gallego F, González-Freire M, Yvert T, Verde Z, Naclerio F, Altmäe S, Esteve-Lanao J, Ruiz JR, Lucia A. (2010): Is there an association between ACTN3 R577X polymorphism and muscle power phenotypes in young, non-athletic adults? *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 20(5): 771-778.
- Światowy WJ, Drzewiecka H, Kliber M, Szaśiadek M, Karpiński P, Pławski A, Jagodziński PP. (2021): Physical Activity and DNA Methylation in Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23): 12989.
- Yang R, Shen X, Wang Y, Voisin S, Cai G, Fu Y, Xu W, Eynon N, Bishop DJ, Yan X. (2017): ACTN3 R577X gene variant is associated with muscle-related phenotypes in elite Chinese sprint/power athletes. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 31(4): 1107-1115.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Akihiro Azuma, Toshiyuki Kawamura, Kazuhiro Matsui	4. 巻 in print
2. 論文標題 Acute effect of proprioceptive neuromuscular facilitation stretching on flexibility in ACTN3 R577X genotype	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Medicina dello Sport	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 Toshiyuki Kawamura, Akihiro Azuma, Kazuhiro Matsui	4. 巻 in print
2. 論文標題 Latent Trait and Epigenetic Analysis of ACTN3 Gene Polymorphism Homo-RR in Japanese College Students	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Gazzetta Medica Italiana - Archivio per le Scienze Mediche	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 Kazuhiro Matsui, Toshiyuki Kawamura, Akihiro Azuma, Christian Wisdom M. Valleser, Francis Carlos B. Diaz	4. 巻 11
2. 論文標題 Association of ACTN3 R577X Genotype with Physical Fitness in Japanese Male College Students	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Human Movement and Sports Sciences	6. 最初と最後の頁 908～913
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.13189/saj.2023.110427	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 Akihiro Azuma, Kazuhiro Matsui, Toshiyuki Kawamura	4. 巻 50
2. 論文標題 Development of a Proprioceptive Neuromuscular Facilitation Stretching System Using a Low-Speed, High-Torque Motor	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Human Movement	6. 最初と最後の頁 45-51
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21134/eurjhm.2023.50.5	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 -

1. 著者名 Akihiro Azuma, Toshiyuki Kawamura, Kazuhiro Matsui	4. 巻 39th
2. 論文標題 Is ACTN3 R577X genotype associated with weight-bearing index in male college students?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the 39th International Conference on Biomechanics in Sports	6. 最初と最後の頁 380-383
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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Azuma A, Kawamura T, Matsui K.
2. 発表標題 Is ACTN3 R577X genotype associated with weight-bearing index in male college students?
3. 学会等名 39th Conference on the International Society of Biomechanics in Sports (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Azuma A, Matsui K.
2. 発表標題 Association of ACTN3 R577X Genotype with Physical Fitness in Japanese Male College Students
3. 学会等名 CHK Research Forum, University of the Philippines Diliman
4. 発表年 2022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	松井 一洋  (Matsui Kazuhiro)  (10805055)	福井工業高等専門学校・一般科目(自然系)・准教授    (53401)	

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	東 章弘  (Azuma Akihiro)  (50546257)	福井工業高等専門学校・一般科目（自然系）・教授    (53401)	

	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
研究協力者	ヴァレッサー クリスチャ ウィズダム  (Valleser Christian Wisdom M.)	フィリピン大学ディリマン校ヒューマンキネティクス	
研究協力者	ディアス フランシス カルロス  (Diaz Francis Carlos B.)	フィリピン大学ディリマン校ヒューマンキネティクス	

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		
フィリピン	University of the Philippines Diliman		