

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350884

研究課題名(和文) 運動療法によって変動するエピジェネティック分子の網羅的解析と予防医学の意義

研究課題名(英文) Genome-wide analysis of epigenetic events induced by exercise prescription, and the significance in terms of preventive medicine

研究代表者

橋本 繁成 (HASHIMOTO, Shigenari)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号：90359729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)： 熟年者の健康増進の為に、能勢らは運動処方インターバル速歩(IWT)を開発した。巨視的健康指標(血圧など)でその有効性が示されてきたが、その分子生物学的裏付けも重要と考えた。

本研究では、ゲノムワイドでエピジェネティックな変化を調べた。我々の目的は、以前炎症関連遺伝子ASCについての研究を基に、被験者の血液DNAについて、IWTに反応してメチレーション変化を示す遺伝子を同定することであった。そして、IWTに対応して、幾つかの炎症関連遺伝子のメチル化変化が抗炎症的であることを示唆する結果を得た。特に、炎症のマスター遺伝子の一つであるNFkB2のメチル化がIWTによる増強は注目すべきと考えられた。

研究成果の概要(英文)： To improve the health condition of elderly people, Nose et al. have developed an exercise program termed high-intensity interval walking training (IWT). Conventional physical and biochemical markers have shown the health-promoting effects of IWT. On one hand, we have been also investigating the effects of IWT from molecular-biological points of view.

In this study, we did epigenetical investigation on the effects of IWT with genome-wide DNA methylation assays. Our aim was to uncover genes that respond to IWT through examining DNA methylation changes in samples of IWT subjects. The obtained results indicated that IWT led to epigenetically suppress a pro-inflammatory status, consistently with our previous study on pro-inflammatory ASC gene methylation. We found significant methylation changes in several genes relating to inflammation. In particular, it was note-worthy that NFkB2, one of master genes for inflammation, was hyper-methylated.

研究分野：分子生物学

キーワード：健康増進 運動処方 インターバル速歩 エピジェネティクス 炎症 NFkB遺伝子 メチル化

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本は長寿国であるとともに、高齢社会であり健康寿命を伸ばすための基礎科学的研究は社会的要請と考えられた。

(2) 超高齢社会を迎えた日本は、今後慢性疾患の増大、生活の質(QOL)の低下や医療費の増大が予想されることから、疾患の発症予防や進行予防が重要性を増してきている。

(3) このような状況に対処すべく、治療を中心とした医療体制から予防を中心とした医療体制に必要な基礎科学的研究が不可欠である。

(4) 私達は全国に先駆けて熟年者を対象とした健康増進プログラムを立ち上げ、より効率的な健康増進方法や、病気になりづらい体作りを遺伝子レベルの研究も含めてサポートするための組織として、熟年体育大学遺伝子コンソーシアムを立ち上げた。

これまでに、4000人を超える熟年者を対象に当大学が構築した健康増進プログラムに従った運動処方を行い、プログラム前後の生理データを収集するとともに2000人超の血液DNAサンプルを収集した。

熟年者に限定した遺伝子データ、臨床データ数は全国でもトップクラスであり、熟年者特有の疾患の解明として重要な研究ソースと考えられる。

(5) 上記の健康増進プログラムにおいて、能勢教授らによって開発された熟年者対象にインターバル速歩(IWT)という運動処方が健康増進に有効であることが示された(図1)。



図 1

(6) その分子生物学的根拠を示すために先の研究で、私達は IWT の効果をエピジェネティクスの側面から解析し、炎症性サイトカインであるインターロイキン1の産生に鍵となる ASC (私達が見出した遺伝子) のメ

チル化レベルの運動処方による変動を調べた。その結果、熟年者は若年者と比べ、メチル化が低値であるが運動処方でメチル化のレベルが若年に近づくことが判明した。この結果を受け、運動処方は若返り、即ち、抗炎症の状態になると示唆された。このことを更に裏付けるため研究が必要とされた。

2. 研究の目的

(1) 既述した背景をもとに IWT のエピジェネティック効果をゲノムワイドで調べ、運動処方によって抗炎症的効果の有無を検証することである。

(2) また、運動処方によるメチル化変化のメカニズムを動物実験によって検討することである。

(3) 私達の構想が証されることは、直接的に熟年者の健康改善およびこれに関する研究の重要な情報源として意義があると考えられる。具体的に、

①個々に適した運動方法を情報として提供できる、

②運動による健康改善効果を遺伝子レベルで検出することでより客観的に評価できる、

③健康改善、若返りの効果の作用機序を分子レベルで解明する上で重要な情報となり得る、

などが考えられる。

3. 研究の方法

(1) NPO 法人熟年体育大学リサーチセンターと共同して、松本市を中心に 40 歳以上の被験者を対象として研究への協力同意書を得て、血液採取し DNA サンプルを調製した。

(2) 運動前後におけるメチル化レベルの変化をアレイ法を用いて網羅的に解析した。その結果を運動処方状況や臨床データと照らし合わせ関連性を検討した。

(3) 有意なメチル化変動を示す遺伝子について、再現性とより定量的に測定するため、独立の被験者群を用い上記とは別のメチル化測定法であるパイロシーケンス法を採用してデータを収集した。

#### 4. 研究成果

(1) ゲノムワイドでのメチル化測定法でメチル化が増減する遺伝子を数多く認めたが、そのうちで、プロモーターの複数箇所、有意にメチル化が上昇している遺伝子として、炎症のマスター遺伝子の一つである NFκB2 を同定した (図 2)。

エネルギー消費量に強く依存してメチル化が増強した遺伝子

Gene symbol	Chr	Probe region (TSS)	Spearman's rho	P-value	Function
HELT	4	-148	0.736	0.004	HELT 遺伝子は神経活性に関わる
PRRC2A /BAT2	6	-595	0.769	0.002	BAT2 遺伝子は糖尿病に関連する
NFκB2	10	-565	0.709	0.007	炎症サイトカイン発現を制御するマスター遺伝子
		-709	0.747	0.003	
		-787	0.555	0.049	

図 2

このメチル化の変化程度は被験者の運動実施日数や消費エネルギーと相関した。他にも炎症促進に働く遺伝子でメチル化が亢進し、炎症抑制的に働く遺伝子でメチル化の減少が観察された (図 3)。

エネルギー消費量と強く依存してメチル化が減弱した遺伝子

Gene symbol	Chr	Probe region (TSS)	Spearman's rho	P-value	Function
SLIT2	4	-598	-0.786	0.001	血栓形成に関与する
NKX2-5	5	-3266	-0.753	0.003	心臓の発達過程に重要な役割を担う
TBX18	6	-9439	-0.841	0.0003	ペースメーカー細胞へと心筋細胞の転換を誘導する
EGR2	10	-1900	-0.714	0.006	EGR2 EGR3 はサイトカインの産生と細胞増殖を抑制して炎症抑制的に働く
		-1983	-0.769	0.002	

図 3

なお、独立の運動処方群で再現性と定量性を調べるために、NFκB2 遺伝子に着目してメチル化を調べたところ、やはり運動処方によるメチル化の亢進が認められた (図 4)。

NFκB2のメチル化はエネルギー消費量と強く依存する

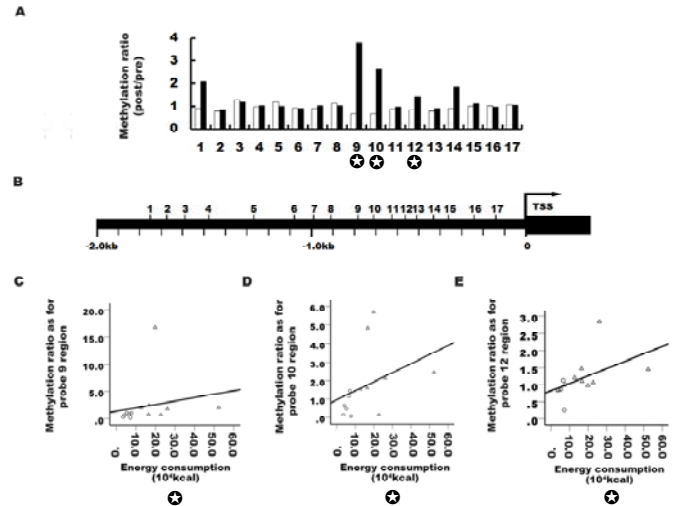


図 4

(2) この結果を得て、現在サプリメント摂取介入実験を行い、それに伴うメチル化変化を調べるという新たな研究展開がなされるに至っている。

(3) しかし、当初計画したヒトでの結果をマウスの系で再現し、メチル化変動の機序解明の試みはサスペンド状態となった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Int J Sports Med 2015; 36(09): 769-775  
NFκB2 Gene as a Novel Candidate that Epigenetically Responds to Interval Walking Training (査読有)

Y. Zhang, S. Hashimoto, C. Fujii S. Hida, K. Ito, T. Matsumura, T. Sakaizawa, M. Morikawa, S. Masuki, H. Nose, K. Higuchi, K. Nakajima, S. Taniguchi

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

橋本 繁成 (HASHIMOTO, Shigenari)  
 信州大学・学術研究院医学系・助教  
 研究者番号：9 0 3 5 9 7 2 9

##### (2) 研究分担者

谷口 俊一郎 (TANIGUCHI, Shunichiro)  
 信州大学・学術研究院医学系・教授  
 研究者番号：6 0 1 1 7 1 6 6

中島 弘毅 (NAKAJIMA, Koki)  
松本大学・人間健康学部・教授  
研究者番号：80258954