

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32689

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19520

研究課題名（和文）エピジェネティック時計に及ぼす長期的な運動トレーニングの効果

研究課題名（英文）Effect of long-term exercise training on epigenetic clock

研究代表者

河村 拓史（Kawamura, Takuji）

早稲田大学・スポーツ科学大学院・その他（招聘研究員）

研究者番号：80823327

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）：本研究の目的は、運動がエピジェネティック時計の進行に及ぼす影響を検証することで、生物学的老化の遅延や逆転に運動が有効であるのか否かを明らかにすることであった。本研究の結果、心肺体力とエピジェネティック時計の進行との間に負の関係があることが示された。また、心肺体力だけではなく、適切な代謝状態の維持、微量栄養素の十分な摂取、喫煙や過度な飲酒の回避、朝型の生活リズムなどの生活習慣がエピジェネティック時計の進行遅延と有意に関連していた。これらの知見は、健康的な生活習慣が生物学的老化を遅らせることができることを示唆するものであり、健康寿命の延伸に向けた介入戦略の立案に大きく貢献するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、これまで明らかにされていなかった心肺体力とエピジェネティック時計の進行との間に負の関係があることを見出した点、また、内臓脂肪型肥満の回避、微量栄養素の十分な摂取、朝型の生活リズムなどの生活習慣がエピジェネティック時計の進行遅延と関連することを明らかにした点である。老化は加齢性疾患や死亡の最大のリスク因子であり、老化そのものを標的とした介入戦略の確立が近年では強く求められている。本研究は、抗老化剤の探索を行う他の研究とは一線を画し、誰でも実践可能な健康的な生活習慣が生物学的老化の遅延と関係していることを示した点において、その社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）： The purpose of this study was to investigate the effects of exercise on the progression of the epigenetic clock and to determine whether exercise is effective in delaying or reversing biological aging. As a result of this study, it was demonstrated that there is a negative relationship between cardiorespiratory fitness and the progression of the epigenetic clock. In addition to cardiorespiratory fitness, lifestyle habits such as appropriate metabolic state, sufficient intake of micronutrients, avoidance of smoking and excessive alcohol consumption, and a morning-type chronotype were significantly associated with delayed progression of the epigenetic clock. These findings suggest that healthy lifestyle habits can delay biological aging and contribute significantly to the development of intervention strategies to extend healthy life expectancy.

研究分野：運動生理学、ジェロサイエンス

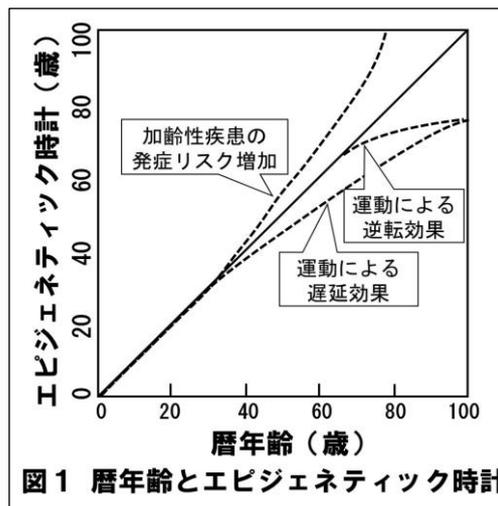
キーワード：心肺体力 エピジェネティック時計 DNAメチル化 生物学的老化 喫煙 内臓脂肪型肥満 クロノタイプ 栄養素摂取状況

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

生まれてから現在までの経過年数によって表される「暦年齢」は、機能障害、慢性疾患および死亡の主要なリスク因子となる。しかし、「暦年齢」を基にした高齢者の健康アウトカムには大きな個人差が伴うため、個々の老化の度合いを表す「生物学的年齢」を正確に捉えることのできるバイオマーカーが長年探求されてきた。

近年、ヒトの「生物学的年齢」を正確に予測可能なエピジェネティック時計という測定法が確立された (Horvath S, Genome Biol., 2013)。エピジェネティック (エピジェネティクス) とは、DNA 配列の変化を伴わずに生物の持つ性質や特質が変わること、すなわち DNA のスイッチを ON・OFF にするはたらきとも言い換えることができる。先行研究では、エピジェネティックな変化から算出したエピジェネティック時計が健康なヒトの「暦年齢」を生涯に亘って高精度で予測できること、また、「暦年齢」を上回るエピジェネティック時計の進行は加齢性疾患の強力な予測因子となることが明らかにされている (Horvath & Raj, Nat Rev Genet., 2018, 図 1)。現在では、その正確性からエピジェネティック時計は生物学的年齢を測る最良のバイオマーカーであると考えられている (Jylhava & Hagg, EBioMedicine, 2017)。



興味深いことに、このエピジェネティック時計は肥満の回避や身体活動量の維持など、健康的な生活習慣によってその進行を遅らせることができるだけでなく (Quach et al., Aging, 2017)、ヒト成長ホルモンの継続的な投与により巻き戻し可能であることが最新の報告によって明らかにされている (Fahy et al., Ageing Cell, 2017)。そのため、成長ホルモンの分泌を促すことで知られる運動刺激もまたエピジェネティック時計の逆転に有効であると考えられる (図 1)。しかしながら、これまで長期的な運動トレーニングやこれに伴う身体フィットネスレベルの維持・向上がエピジェネティック時計に及ぼす影響を検討した論文は皆無であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、ヒトおよび実験動物 (ラット) を対象として、①長年に亘る運動習慣がエピジェネティック時計に及ぼす影響、②心肺体力の違いがエピジェネティック時計に及ぼす影響、③長期的な運動トレーニングがエピジェネティック時計に及ぼす影響を検討することで、運動が生物学的老化を遅延・逆転するのか否かを明らかにすることであった。

## 3. 研究の方法

(1) 課題 1: 本課題は、当初 2019 年の Master Rowing World Championship に参加した 60 歳以上の高齢アスリートを含む日本人 30 名を対象とする予定であったが、その後、ハンガリースポーツ科学大学 (旧名: ハンガリー体育大学) との共同研究として、よりサンプルサイズを大きくしたうえで実施された。対象は、上記の世界大会に参加した中高齢アスリートの男女 205 名および同年代の男女 98 名で構成される、年齢 33 歳から 88 歳までの計 303 名であった。中高齢アスリートの運動実施頻度には大きな個人差がみられたため、被験者は、Chester Step Test で推定された最大酸素摂取量に基づき、低-中体力男性群 (n = 50)、低-中体力女性群 (n = 62)、高体力男性群 (n = 93)、高体力女性群 (n = 91) に振り分けた。被験者から採取した血液サンプル

から DNA を抽出し、Infinium MethylationEPIC BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA) を用いてエピゲノム全体の DNA のメチル化レベルを測定した。得られたデータから、DNAmPhenoAge、DNAmGrimAge および DNAmFitAge という 3 つのエピジェネティック時計について、絶対値 (DNAmAge) と、暦年齢への回帰の残差から年齢調整した値 (DNAmAgeAcceleration) をそれぞれ算出した。DNAmAgeAcceleration の値は、推定される生物学的年齢が暦年齢よりもどの程度高いか、低いを表す指標である。

(2) 課題 2 : 対象は、Waseda Alumni's Sports, Exercise, Daily Activity, Sedentariness, and Health Study (WASEDA'S Health Study) に参加した 65~72 歳の日本人男性 144 名であった。測定項目は、最高酸素摂取量を含む体力、体組成、血液生化学的パラメータ、栄養素摂取量、喫煙、飲酒、疾病状況、睡眠状況およびクロノタイプであった。なお、本課題の主要評価指標である最高酸素摂取量は、自転車エルゴメーターを用いて、ブレスバイブレス法にて測定した。測定は、3 分間の安静後、30W で開始し、疲労困憊に至るまで 1 分間に 15W ずつ徐々に負荷を増大させた。運動負荷試験のエンドポイントは、酸素摂取量のプラトー、または心拍数が年齢により予測される最高心拍数の約 90% に達したときとした。また、運動負荷試験は、自覚的運動強度が 18 以上になった場合、被験者が運動を継続できないと申し出た場合、または収縮期血圧が 250mmHg に達した場合に中止された。被験者から採取した血液サンプルから DNA を抽出し、課題 1 と同様の方法にて DNA のメチル化レベルの測定と、DNAmAge および DNAmAgeAcceleration の算出を行った。

(3) 課題 3 : 持久走行能力を基に人為的に繁殖が繰り返された、雌性の低走行能ラット (Low-capacity runner : LCR) および高走行能ラット (High-capacity runner : HCR) それぞれ 26 匹ずつ、合計 52 匹を本課題に使用した。これらのラットを月齢に基づき、Sedentary-LCR 群 (n = 18)、Sedentary-HCR 群 (n = 18)、Trained-LCR 群 (n = 8)、Trained-HCR 群 (n = 8) 群へと振り分けた。Trained 群には、回転かごを設定した飼育用ケージにて 6 ヶ月間の Voluntary exercise を行わせた。全てのラットは、動物用トレッドミルにより最大酸素摂取量を測定し、その後、総走行時間および総走行距離を算出した。また、認知機能、特に海馬機能に依存する空間記憶を Morris Water Maze Test にて測定した。測定は 1 日 4 回の試行を 5 日間連続して実施した。その後、2 日以上以上の休息を挟んでラットの臓器 (海馬、心臓、肺、腎臓、肝臓、腓腹筋、ヒラメ筋、足底筋および大腸) の摘出を行った。本研究では、予算の都合上、Sedentary-LCR 群および Sedentary-HCR 群の各群 8 匹ずつを対象に、海馬、心臓、ヒラメ筋および大腸の DNA メチル化レベルをバイサルファイトシーケンス (Reduced Representation Bisulfite Sequencing) 法にて測定した。

#### 4. 研究成果

(1) 課題 1 : DNAmFitAgeAcceleration は、既存の DNAmPhenoAgeAcceleration および DNAmGrimAgeAcceleration と比較して、心肺体力との関連が最も強かった ( $r = -0.274$ ,  $p < 0.001$ )。高体力男性群の DNAmFitAgeAcceleration は低-中体力男性群のそれと比べて約 2.0 歳低い値を示した ( $p < 0.001$ )。同様に、高体力女性群の DNAmFitAgeAcceleration は中-低体力女性群のそれと比べて約 1.5 歳低い値を示した ( $p = 0.005$ )。一方で、DNAmGrimAgeAcceleration と DNAmPhenoAgeAcceleration では、男女ともに高体力群と低-中体力群との間に有意差はなかった。

これらの知見から、長年に亘る運動習慣とそれによる心肺体力の維持が生物学的老化を遅らせることが示唆された。課題 1 の結果をまとめた論文は既に出版済みである (Jokai et al., *Geroscience*, 2023)。

(2) 課題 2 : 呼気ガス分析により測定された最高酸素摂取量と DNAmGrimAgeAcceleration との間に有意な負の相関 ( $r = -0.222$ ,  $p = 0.008$ ) が認められた。また、最高酸素摂取量に基づく三分位群の比較では、高体力群の DNAmGrimAgeAcceleration は低体力群のそれと比較して 1.6 歳若かった ( $p = 0.035$ )。他の生活習慣関連因子では、徐脂肪体重、下腿周径囲、血清 HDL コレステロールレベル、炭水化物、鉄、銅、ビタミン C、 $\beta$ -カロテンの 1 日当たりの摂取量が DNAmAgeAcceleration との間に負の関係があることが示された。一方で、体脂肪率、内臓脂肪断面積および血清トリグリセリド (TG) レベルは DNAmAgeAcceleration と正の関係があることが示されました。さらに、頻繁なアルコール摂取、過去および現在の喫煙状況は DNAmAgeAcceleration との間に正の関係があり、朝型のクロノタイプでは負の関係があることが示された。重回帰分析では、最高酸素摂取量よりも血清トリグリセリドレベル、炭水化物摂取量および喫煙状況が、DNAmAgeAcceleration と有意に関連していることが示された。これらの知見から、生物学的老化に対する心肺体力の寄与率は、喫煙などの生活習慣要因と比べると相対的に低いものの、高齢男性における心肺体力と生物学的老化との間には負の関係があることが明らかとなった。課題 2 の結果をまとめた原稿は既にプレプリントとして公開済みであり、(Kawamura et al., medRxiv, 2023)、学術誌に投稿中である (Kawamura et al., *Aging Cell*, Under revise)。

(3) 課題 3 : 最大酸素摂取量、総走行時間および総走行距離は、Sedentary-LCR 群と比べて Sedentary-HCR 群でいずれも有意に高かった。具体的には、最大酸素摂取量の平均値および標準偏差は、Sedentary-LCR 群で  $32.7 \pm 14.2$  mL/kg/分、Sedentary-HCR 群で  $54.2 \pm 11.5$  mL/kg/分であり、Sedentary-HCR 群で有意に高かった ( $p < 0.01$ )。総走行時間は、Sedentary-LCR 群で  $9.5 \pm 1.3$  分、Sedentary-HCR 群で  $18.3 \pm 4.8$  分であり、Sedentary-HCR 群で有意に長かった ( $p < 0.001$ )。総走行距離は Sedentary-LCR 群で  $101.3 \pm 23.9$  m、Sedentary-HCR 群で  $344.2 \pm 174.5$  m であり、Sedentary-HCR 群で有意に長かった ( $p < 0.01$ )。Morris Water Maze Test で評価した各群の到達時間は時間による有意な主効果 ( $p < 0.001$ ) がみられ、試験を繰り返すことで時間が短縮された。一方で、グループによる主効果および交互作用はみられなかった。現在は、海馬、心臓、ヒラメ筋および大腸の DNA メチル化レベルの測定が完了し、ラット用のエピジェネティック時計 (rat pan-tissue clock) の算出を行っているところである。仮説としては、高い心肺体力を有するラットでは、低い心肺体力を有するそれよりも多臓器における生物学的老化が遅延していることが予想される。課題 3 については、全てのデータが出揃った時点で基礎老化分野の学術誌に投稿する予定である。

## 5. 主な発表論文等

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

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Ligeti B, Kalcsevszki R, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Boldogh I, Ba X, Szabo D, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.             | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation.   | 5. 発行年<br>2023年 |
| 3. 雑誌名<br>medRxiv   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1101/2022.07.22.22277842  | 査読の有無<br>無      |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する    |
| 1. 著者名<br>Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Ligeti B, Kalcsevszki R, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Szabo D, Davies KJA, Horvath S, Radak Z. | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation  | 5. 発行年<br>2023年 |
| 3. 雑誌名<br>Geroscience   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s11357-023-00826-1   | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する    |
| 1. 著者名<br>Kawamura T, Radak Z, Tabata H, Akiyama H, Nakamura N, Kawakami R, Ito T, Usui C, Jokai M, Torma F, Kim HK, Miyachi M, Suzuki K, Torii S, Ishii K, Sakamoto S, Oka K, Higuchi M, Muraoka I, McGreevy K.M., Horvath S, Tanisawa K.  | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>Associations between cardiorespiratory fitness and lifestyle-related factors with DNA methylation-based aging clocks in older men: WASEDA'S Health Study   | 5. 発行年<br>2023年 |
| 3. 雑誌名<br>medRxiv   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1101/2023.04.12.23288187  | 査読の有無<br>無      |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する    |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Koloncs A, Kawamura T, Szipocs R, Radak Z.  |
| 2. 発表標題<br>Accelerated epigenetic changes may contribute to the development of hepatic insulin resistance revealed by NADH FLIM. |
| 3. 学会等名<br>15th MiPconference: Bioenergetics (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2023年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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                                |  |  |  |
|---------|--|--|--|--|
| ハンガリー   | Hungarian University of Sports Science |  |  |  |
| 米国      | University of California, Los Angeles  |  |  |  |