

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：82674

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650414

研究課題名(和文)世界トップレベルのスプリンターにおける全エクソン領域の塩基配列決定

研究課題名(英文)Exsome sequencing of world-class sprint athletes

研究代表者

福典之(Fuku, Noriyuki)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：40392526

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒトゲノム上に点在する全エクソンの塩基配列を次世代シーケンサーで解析し、運動能力に関連する遺伝子多型を探索することを目的とした。対象は、アフリカ系および日本人スプリンターであった。方法は、頬の粘膜または唾液からDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いて全エクソン塩基配列を決定した。口腔粘膜のDNAを利用したジャマイカ人の塩基配列は多くの解析エラーが見つかった。したがって、日本人のみのデータをその後の解析対象とした。エリート短距離選手群で頻度が高い多型は11種見つかった。また、エリート短距離選手群で頻度が低い多型は15種見つかった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the present study to identify genetic variants associated with anaerobic performance, namely, elite Jamaican (African ancestry) and Japanese sprint athlete status, from analysis of entire exon sequence. Total DNA was isolated from oral mucosa (Jamaican) and saliva (Japanese) with a QIAamp DNA Blood Mini Kit and Oragene DNA Collection Kit, respectively. Entire exon sequencing was analyzed by use of SOLiD4. A lots of sequence errors were found in Jamaican sprinters because of using DNA samples from oral mucosa, but not in Japanese sprinters. Therefore, we excluded in Jamaican athletes from further analysis. In the Japanese cohort, frequencies of the 11 variants were higher. Five variants of them cause amino acid replacement. On the other hands, frequencies of the 15 variants were lower in elite Japanese sprinters than controls. Further extensive studies are necessary to confirm or identify genetic variants associated with elite Japanese sprint athlete status.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：短距離選手 全エクソン塩基配列 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

運動能力の決定因子として、日々のトレーニングや食事、休養などの環境因子が重要であることは言うまでもないが、遺伝因子も重要な運動能力の決定因子の1つである。

家族研究や双子研究は、様々な表現型に対する環境因子と遺伝因子の貢献度を調べるために用いられている。例えば、持久性運動能力と関連がある最大酸素摂取量は約50%が、瞬発性運動能力に関連する筋力は約60%が遺伝因子の関与であると説明されている。また、4488名の大規模疫学研究によれば、競技力の66%が遺伝で決まると報告している。したがって、運動能力に関連する遺伝要因の解明は競技力向上を目的とした研究において極めて重要であると考えられる。

我々は、これまでに運動能力と関連がある遺伝子多型をシステムティックレビューにより調べた。その結果、56遺伝子座において89多型が運動能力やそれに関連した表現型に関連するとの報告があった。また、アフリカ系であるジャマイカ人およびアフリカ系アメリカ人ならびに日本人トップアスリートのゲノムワイド関連解析(Genome-Wide association studies: GWAS)を進めており、瞬発系/パワー系および持久系の運動能力に関連する新しい多型が見つかった。

しかしながら、これらの多型の中には、機能的意義が不明なものも少なくない。これを解決するには、その多型の周辺の塩基配列を決定し、その多型(機能的意義が不明な多型)と強く連鎖した機能的な多型を抽出する必要がある。また、集団において頻度が高い多型のみでなく、頻度の低い稀な変異が運動能力に関連している可能性もある。

2. 研究の目的

そこで本研究では、ヒトゲノム上に点在するすべてのエクソン(4500万塩基対)の塩基配列を次世代シーケンサーで解析し、瞬発系の運動能力に関連する遺伝子多型および遺伝子変異をスクリーニングすることを目的とした。

3. 研究の方法

対象は、ジャマイカ人の短距離選手5名ならびに日本人の短距離選手7名であった。全ての選手は、国際大会参加経験者であり、オリンピックのメダリストも含まれていた。本研究は東京都健康長寿医療センター研究所ならびに英国・グラスゴー大学における倫理委員会の承認を得て、被験者にはあらかじめ実験の目的と内容を説明し、文書により同意を得て諸検査を実施した。

これらの選手の口腔粘膜(ジャマイカ人)または唾液(日本人)を採取し、DNA抽出キットを用いて総DNAを抽出した。200~500ngの総DNAからエクソンのみをキャプチャー(捕捉)して取り出し、PCR法にて増幅した後、次世代シーケンサーSOLiD4により、

全エクソン領域の塩基配列を決定した。シーケンシング解析ソフト Avadis NGS により遺伝子多型・変異を抽出・同定し、コントロール群の塩基配列を比較対象とした。コントロール群は、既に解析を終えているジャマイカ人および日本人の非競技者とした。

4. 研究成果

口腔粘膜から総DNAを抽出したジャマイカ人スプリンターの塩基配列は多くの解析エラーが見つかった。これは、多くのバクテリアなどが混入していたために外来種由来のDNAが解析されてしまったと考えられる。

したがって、日本人のみのデータをその後の解析対象とした。既に解析を終えている日本人非競技者群の塩基配列と比較して、大きく頻度が異なる多型を抽出した。エリート短距離選手群で頻度が高い多型は11種見つかった。この中で、5種の多型がタンパク質の機能的な変化を引き起こすと予想されるアミノ酸置換を伴うものであった(下表)。

トップスプリンターで高頻度であった多型

多型	染色体	遺伝子名	機能
SNP1	chr1	FLG2	non-synonymous
SNP2	chr3	SSR3	cds-synonymous
SNP3	chr3	IQCG	non-synonymous
SNP4	chr5	JAKMIP2	cds-synon
SNP5	chr5	GALNT10	cds-synon
SNP6	chr10	PNLI PRP1	non-synonymous
SNP7	chr12	KRT1	frameshift, cds-synon
SNP8	chr14	SPTB	cds-synon
SNP9	chr14	CEP128	non-synonymous
SNP10	chr14	CLMN	cds-synon

また、エリート短距離選手群で頻度が低い多型は15種見つかった。これらのほとんどの多型はタンパク質をコードしていないイントロン領域に存在しており、その機能的意義は不明であるが、一部はタンパク質の発現に影響を及ぼす可能性がある。

本研究では、ジャマイカ人および日本人のエリート短距離選手に特徴的な塩基置換の探索を全エクソン領域を対象に試みた。残念なことに、ジャマイカ人の短距離選手のDNAの質が悪く、解析が困難であった。今後は唾液や血液からの解析が必要である。

一方、日本人のエリート短距離選手特異的

な塩基置換を見いだすことができた。今後は、次世代シーケンサーによる解析で見つかったこれらの塩基置換を、より信頼性の高いサンガー法で再確認する必要があると共に、これらの関連性について大規模な集団を用いた再現性試験や機能解析が必要である。

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 20 件)

1. Mikami E, Fuku N, Murakami H, Tsuchie H, Takahashi H, Ohiwa N, Tanaka H, Pitsiladis YP, Higuchi M, Miyachi M, Kawahara T, Tanaka M. ACTN3 R577X Genotype is Associated with Sprinting in Elite Japanese Athletes. *Int J Sports Med*, 35:172-177, 2014
2. Pinós T, Fuku N, Cámara Y, Arai Y, Abe Y, Rodríguez-Romo G, Garatachea N, Santos-Lozano A, Miro-Casas E, Ruiz-Meana M, Otaegui I, Murakami H, Miyachi M, Garcia-Dorado D, Hinohara K, Andreu AL, Kimura A, Hirose N, Lucia A. The rs1333049 polymorphism on locus 9p21.3 and extreme longevity in Spanish and Japanese cohorts. *Age (Dordr)*, 36:933-943, 2014
3. Murakami H, Iemitsu M, Fuku N, Sanada K, Gando Y, Kawakami R, Miyachi M. The Q223R polymorphism in the leptin receptor associates with objectively measured light physical activity in free-living Japanese. *Physiol Behav*, 129:199-204, 2014
4. Garatachea N, Emanuele E, Calero M, Fuku N, Arai Y, Abe Y, Murakami H, Miyachi M, Yvert T, Verde Z, Zea MA, Venturini L, Santiago C, Santos-Lozano A, Rodríguez-Romo G, Ricevuti G, Hirose N, Rábano A, Lucia A. ApoE gene and exceptional longevity: Insights from three independent cohorts. *Exp Gerontol*, 53:16-23, 2014
5. Zhou H, Mori S, Kou I, Fuku N, Naka Mieno M, Honma N, Arai T, Sawabe M, Tanaka M, Ikegawa S, Ito H. Association of the formiminotransferase N-terminal sub-domain containing gene and thrombospondin, type 1, domain-containing 7A gene with the prevalence of vertebral fracture in 2427 consecutive autopsy cases. *J Hum Genet*, 58:109-112, 2013
6. Fuku N, Mikami E, Tanaka M. Association of mitochondrial DNA polymorphisms and/or haplogroups with elite Japanese athlete status. *J Phys Fitness Sports Med*, 2:17-27, 2013
7. Tanisawa K, Mikami E, Fuku N, Honda Y, Honda S, Ohsawa I, Ito M, Endo S, Ihara K, Ohno K, Kishimoto Y, Ishigami A, Maruyama N, Sawabe M, Iseki H, Okazaki Y, Hasegawa-Ishii S, Takei S, Shimada A, Hosokawa M, Mori M, Higuchi K, Takeda T, Higuchi M, Tanaka M. Exome sequencing of senescence-accelerated mice (SAM) reveals deleterious mutations in degenerative disease-causing genes. *BMC Genomics*, 14:248-, 2013
8. Wang G, Mikami E, Chiu LL, DE Perini A, Deason M, Fuku N, Miyachi M, Kaneoka K, Murakami H, Tanaka M, Hsieh LL, Hsieh SS, Caporossi D, Pigozzi F, Hilley A, Lee R, Galloway SD, Gulbin J, Rogozkin VA, Ahmetov II, Yang N, North KN, Ploutarhos S, Montgomery HE, Bailey ME, Pitsiladis YP. Association analysis of ACE and ACTN3 in elite Caucasian and East Asian swimmers. *Med Sci Sports Exerc*, 45:892-900, 2013.
9. Pitsiladis Y, Wang G, Wolfarth B, Scott R, Fuku N, Mikami E, He Z, Fiuza-Luces C, Eynon N, Lucia A. Genomics of elite sporting performance: what little we know and necessary advances. *Br J Sports Med*, 47:550-555, 2013
10. Mikami E, Fuku N, Takahashi H, Ohiwa N, Pitsiladis YP, Higuchi M, Kawahara T, Tanaka M. Polymorphisms in the control region of mitochondrial DNA associated with elite Japanese athlete status. *Scand J Med Sci Sports*, 23:593-599, 2013
11. Wang G, Padmanabhan S, Wolfarth B, Fuku N, Lucia A, Ahmetov II, Cieszczyk P, Collins M, Eynon N, Klissouras V, Williams A, Pitsiladis Y. Genomics of Elite Sporting Performance: What Little We Know and Necessary Advances. *Adv Genet*, 84:123-149, 2013
12. Mikami E, Fuku N, Kong QP, Takahashi H, Ohiwa N, Murakami H, Miyachi M, Higuchi M, Tanaka M, Pitsiladis YP, Kawahara T. Comprehensive analysis of common and rare mitochondrial DNA variants in elite Japanese athletes: a case-control study. *J Hum Genet*, 58:780-787, 2013
13. Pitsiladis YP, Wang G, Padmanabhan S, Wolfarth B, Fuku N, Lucia A, Ahmetov II, Cieszczyk P, Collins M, Eynon N, Williams A. Genetic testing in Sports and exercise. *The Sport and Exercise Scientist*, 38:16-17, 2013

14. 福典之、田中雅嗣. ミトコンドリアゲノムとヒトの寿命. *メディカル・サイエンス・ダイジェスト*, 38:7-10, 2012
 15. Deason M, Scott R, Irwin L, Macaulay V, Fuku N, Tanaka M, Irving R, Charlton V, Morrison E, Austin K, Pitsiladis YP. Importance of mitochondrial haplotypes and maternal lineage in sprint performance among individuals of West African ancestry. *Scand J Med Sci Sports*, 22:217-223, 2012
 16. Fuku N, Mori S, Murakami H, Gando Y, Zhou H, Ito H, Tanaka M, Miyachi M. Association of 29C>T Polymorphism in the Transforming Growth Factor-1 Gene with Lean Body Mass in Community-Dwelling Japanese Population. *Geriatr Gerontol Int*, 12:292-297, 2012
 17. Fuku N, Murakami H, Iemitsu M, Sanada K, Tanaka M, Miyachi M. Mitochondrial macrohaplogroup associated with muscle power in healthy adults. *Int J Sports Med*, 33:410-414, 2012
 18. Muyderman H, Sims NR, Tanaka M, Fuku N, Raghupathi R, Thyagarajan D. The mitochondrial T1095C mutation increases gentamicin-mediated apoptosis. *Mitochondrion*, 12:465-471, 2012
 19. de Saint Pierre M, Bravi CM, Motti JM, Fuku N, Tanaka M, Llop E, Bonatto SL, Moraga M. An alternative model for the early peopling of southern South America revealed by analyses of three mitochondrial DNA haplogroups. *PLoS One*, 7:e43486-, 2012
 20. 福典之、家光素行. 遺伝的要因を考慮したコンディショニング ロンドンオリンピックのメダリストと遺伝 - メダリストの DNA は特別なのか? - . *JATI Express*, 31:16-17, 2012
- 〔学会発表〕(計 19 件)
1. Eri Mikami, Noriyuki Fuku, Haruka Murakami, Hideyuki Takahashi, Nao Ohiwa, Yannis P. Pitsiladis, Hiroyasu Tsuchie, Mitsuru Higuchi, Motohiko Miyachi, Takashi Kawahara, Masashi Tanaka: ACTN3 And ACE Genotypes In Elite Japanese Track And Field Athletes . American College of Sports Medicine 59th Annual Meeting and 3rd World Congress on Exercise is Medicine, San Francisco, 2012.5.29-6.2
 2. Noriyuki Fuku, Eri Mikami, Takashi Kawahara, Hideyuki Takahashi, Nao Ohiwa, Hiroaki Tanaka, Yannis P. Pitsiladis, Masashi Tanaka: Genome-Wide Association Study In Elite Japanese Track And Field Athletes . American College of Sports Medicine 59th Annual Meeting and 3rd World Congress on Exercise is Medicine, San Francisco, 2012.5.29-6.2
 3. Wnag G, Mikami E, de Perini A, Bailey ME, Caporossi D, Pigozzi F, Fuku N, Miyachi M, Kaneoka K, Murakami H, Tanaka M, Deson M, Hilley A, Lee R, Ahmetov II, Rogozkin VA, Galloway SD, Gulbin J, Yang N, North KN, Montgomery HE, Pitsiladis Y: ACTN3 and ACE genotypes in elite Caucasian and Japanese swimmers. International Convention on Science, Education & Medicine in Sports 2012, Glasgow, 2012.7.19-7.24
 4. Fuku N, Mikami E, Kawahara T, Tanaka H, Pitsiladis Y, Tanaka M: Polygenic profile of elite Japanese endurance runners. International Convention on Science, Education & Medicine in Sports 2012, Glasgow, 2012.7.19-7.24
 5. Deson M, Wnag G, Fuku N, Mikami E, Tanisawa K, Scott R, Irwin L, Irving R, Charlton V, Morrison E, Austin K, Tladi D, Headley S, Kolkhorst F, Tanaka M, Pitsiladis Y: Genetic ancestry and elite sprinting in groups of west African Descent. International Convention on Science, Education & Medicine in Sports 2012, Glasgow, 2012.7.19-7.24
 6. Okutoyi P, Aibast H, Adero W, Bargoria VK, Sigei T, Chemjor D, Fuku N, Konstable K, Ongaro N, Lieberman DE, Pitsiladis Y: Ankle range of motion, foot arch characteristics and foot strength of habitually barefoot versus shod children in rural Kenya. International Convention on Science, Education & Medicine in Sports 2012, Glasgow, 2012.7.19-7.24
 7. 三上恵里、福典之、村上晴香、高橋英幸、大岩奈青、土江寛裕、樋口満、樋口満、川原貴、田中雅嗣: 瞬発系運動能力関連多型と陸上選手の競技特性・競技レベルとの関連性. 第 67 回日本体力医学会大会, 岐阜, 2012.9.14-9.26
 8. 福典之、三上恵里、大岩奈青、高橋英幸、村上晴香、宮地元彦、田中宏暁、川原貴、田中雅嗣: 全ゲノム関連解析を用いた持久系ならびに瞬発系運動能力関連多型の探索. 第 67 回日本体力医学会大会, 岐阜, 2012.9.14-9.26
 9. Aibast H, Sigei T, Okutoyi P, Adero W, Chemjor D, Ongaro N, Fuku N, Konstable K, Lieberman DE, Pitsiladis Y: Anatomical adaptation of the lower limb in habitually barefoot versus

- shod children in rural Kenya. XXXIII World Congress of Sports Medicine, Rome, 2012.9.27-9.30
10. Wang G, Fuku N, Padmanabhan S, Mikami E, Tanaka M, Miyachi M, Murakami H, Morrison E, Pitsiladis Y: Genome-wide association study (GWAS) of elite sprinting of west African ancestry. XXXIII World Congress of Sports Medicine, Rome, 2012.9.27-9.30
 11. Wang G, Fuku N, Padmanabhan P, Mikami E, Tanaka M, Miyachi M, Murakami H, Morrison E, Pitsiladis Y: Genome-wide association study of world class athlete status using elite Jamaican sprinters. The Malawi-Liverpool-Wellcome Trust Clinical Research Programme, Glasgow, 2013.4.21
 12. Haruka Murakami, Motoyuki Iemitsu, Kiyoshi Sanada, Noriyuki Fuku, Ryoko Kawakami, Yuko Gando, Motohiko Miyachi: Effects of Dopamine D2 receptor gene polymorphism on physical activity level in humans. American College of Sports Medicine 60th Annual Meeting and 4th World Congress on Exercise is Medicine, Indianapolis, 2013.5.28-6.1
 13. Noriyuki Fuku, Eri Mikami, Haruka Murakami, Hideyuki Takahashi, Nao Ohiwa, Motohiko Miyachi, Yannis P Pitsiladis, Hiroaki Tanaka, Takashi Kawahara, Masashi Tanaka: Association between CNTF receptor gene polymorphism and elite Japanese endurance athlete status. American College of Sports Medicine 60th Annual Meeting and 4th World Congress on Exercise is Medicine, Indianapolis, 2013.5.28-6.1
 14. Mikami E, Murakami H, Miyachi M, Higuchi M, Tanaka M, Kawahara T, Fuku N: A C-to-T polymorphism in 3'-untranslated region of CNTFR is associated with sprint/power performance. 18th Annual Congress of the European College of Sports Science, Barcelona, 2013.6.26-6.27
 15. 福典之: 運動と循環と遺伝子. 運動と循環研究会, 滋賀, 2013.8.23
 16. 菊池直樹、宮本恵里、村上晴香、宮地元彦、関石基、中里浩一、福典之: 日本人陸上競技における種目特性とACTN3遺伝子 R577X 多型との関連. 第 68 回日本体力医学会大会, 東京, 2013.9.21-9.23
 17. 福典之、宮本恵里、村上晴香、宮地元彦、川原貴: 毛様体神経栄養因子受容体遺伝子多型と持久的運動能力との関連. 第 68 回日本体力医学会大会, 東京,

2013.9.21-9.23

18. 村上晴香、福典之、川上涼子、丸藤祐子、埜智史、宮地元彦: 身体活動増大を目的とした介入による身体活動量の変化とドーパミン遺伝子多型との関連. 第 68 回日本体力医学会大会, 東京, 2013.9.21-9.23
19. 福典之: 東アフリカ人の持久的運動能力を規定する遺伝要因ならびに環境要因. 第 26 回ランニング学会, 大阪, 2014.3.21-3.22

〔図書〕(計 2 件)

1. 福典之、新興交易出版、身体運動と呼吸・循環機能 - ミトコンドリア DNA の個人差 -, 2012 年, 168-179 頁
2. 福典之、大修館書店、からだの発達と加齢の科学 - 遺伝子と運動パフォーマンス - ミトコンドリア DNA 多型を中心に -, 2012 年, 240-247 頁

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
特になし

取得状況 (計 0 件)
特になし

〔その他〕
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福典之 (FUKU, Noriyuki)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員
研究者番号: 40392526

(2) 研究分担者

田中雅嗣 (TANAKA, Masashi)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター・東京都健康長寿医療センター研究所・部長
研究者番号: 60155166

(3) 連携研究者

井原邦夫 (IHARA, Kunio)
名古屋大学・遺伝子実験施設・助教
研究者番号: 90223297