

表5 血液検査の解析結果

項目	グループ	n	pre と post の変化				運動量 (週平均散歩時間) (x) と差 (post-pre) (y) との関係		
			pre	post	差	p	回帰式	r	p
Tcho (mg/dl)	A group (~175.72)	105	159.61±1.27	172.87±2.28	13.26	***	y = 0.0853 * x	0.39	***
	B group (175.73~240.44)	508	207.26±0.79	210.14±1.15	2.88	**	y = 0.0172 * x	0.09	*
	C group (250.45~)	105	260.58±1.87	248.13±2.91	-12.45	***	y = -0.0788 * x	0.32	***
HDL-C (mg/dl)	A group (~47.77)	104	41.18±0.56	45.25±0.69	4.07	***	y = 0.0493 * x	0.45	***
	B group (47.78~78.60)	529	61.59±0.37	63.74±0.45	2.15	***	y = 0.0168 * x	0.27	***
	C group (78.61~)	124	88.47±0.72	87.14±1.18	-1.33	n.s	y = -0.0053 * x	0.07	n.s
LDL-C (mg/dl)	A group (~98.18)	122	84.16±1.04	94.32±1.81	10.16	***	y = 0.0746 * x	0.38	***
	B group (98.19~159.31)	530	128.90±0.70	127.06±1.00	-1.84	*	y = -0.0116 * x	0.08	n.s
	C group (159.32~)	105	179.81±1.86	166.30±2.51	-13.52	***	y = -0.0925 * x	0.36	***
TG (mg/dl)	A group (~44.17)	31	36.90±0.84	48.32±2.39	11.42	***	y = 0.0904 * x	0.51	**
	B group (44.18~166.31)	631	90.60±1.20	96.44±1.64	5.84	***	y = 0.0259 * x	0.09	*
	C group (166.32~)	95	224.84±8.22	184.63±8.45	-40.21	***	y = -0.4618 * x	0.38	***
血糖値 (mg/dl)	A group (~81.82)	26	77.27±0.68	81.15±1.16	3.88	**	y = 0.0493 * x	0.33	n.s
	B group (81.83~123.70)	619	98.53±0.38	96.31±0.44	-2.21	***	y = -0.0220 * x	0.28	***
	C group (123.71~)	67	151.81±3.93	136.90±3.65	-14.91	***	y = -0.1051 * x	0.44	***
HAlc (%)	A group (~3.65)	0	-	-	-	-	-	-	-
	B group (3.66~7.21)	311	5.07±0.03	5.13±0.02	0.06	***	y = 0.0005 * x	0.13	*
	C group (7.22~)	17	12.16±0.76	11.72±0.73	-0.45	*	y = 0.0041 * x	0.58	*
動脈硬化指数	A group (~1.53)	109	1.30±0.02	1.35±0.03	0.05	*	y = 0.0001 * x	0.04	n.s
	B group (1.54~3.34)	484	2.33±0.02	2.31±0.03	-0.02	n.s	y = 0.0004 * x	0.11	*
	C group (3.35~)	113	4.03±0.05	3.72±0.08	-0.31	***	y = -0.0024 * x	0.34	***

n: 該当する参加者の数, pre, post: 平均値±標準誤差(SE), *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05, ns 有意差なし
r: 相関係数

図12 Tcho (総コレステロール) の解析結果

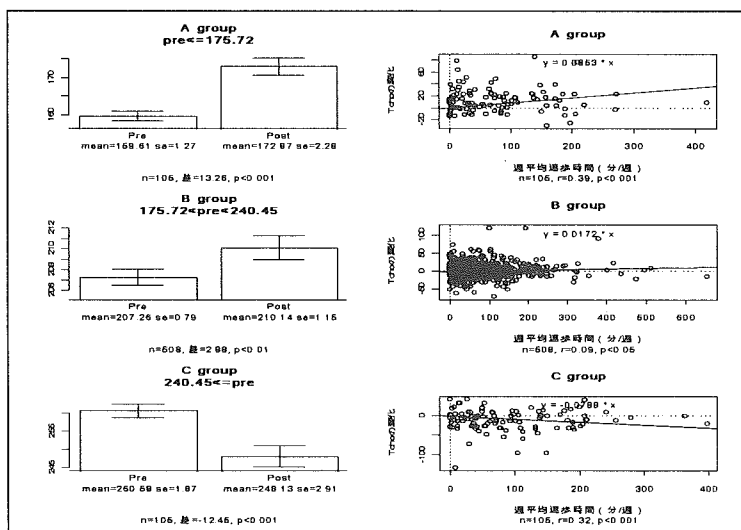


図 1 3 HDL-C (善玉コレステロール) の解析結果

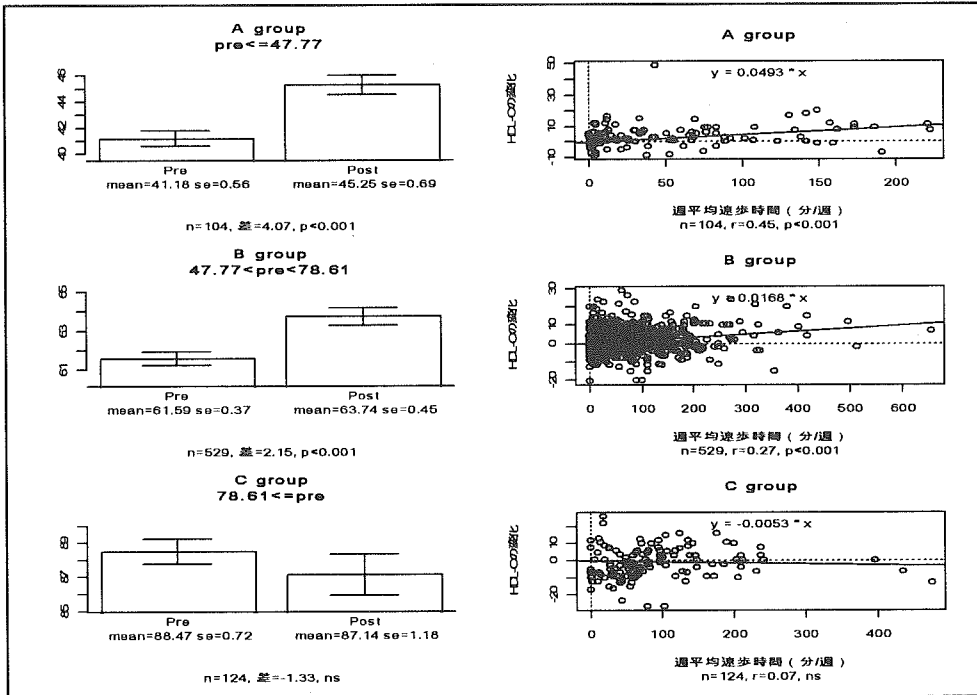


図 1 4 LDL-C (悪玉コレステロール) の解析結果

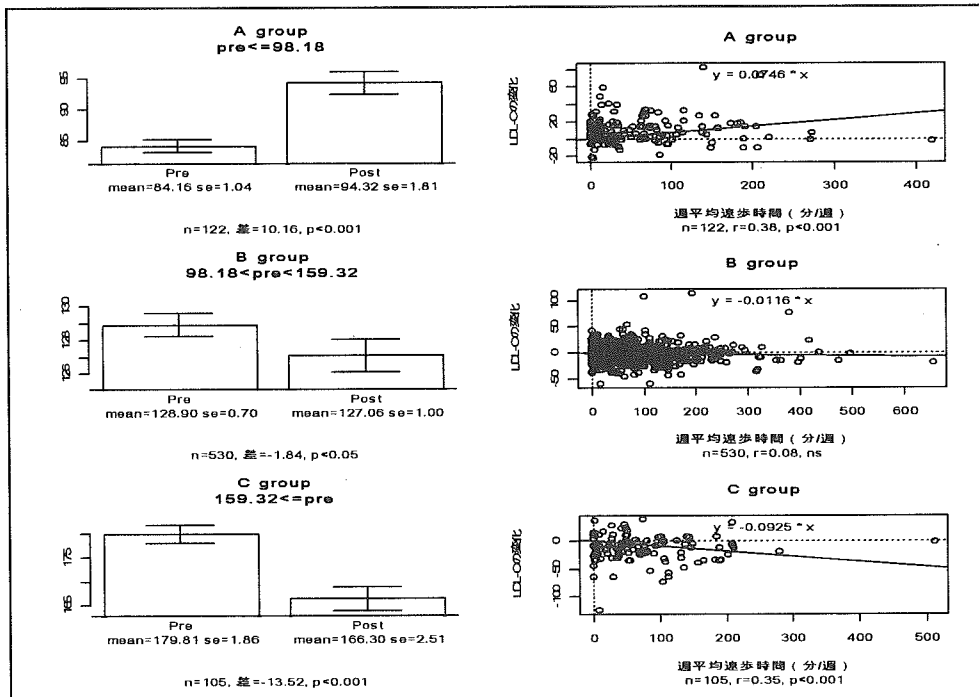


図15 TG (中性脂肪) の解析結果

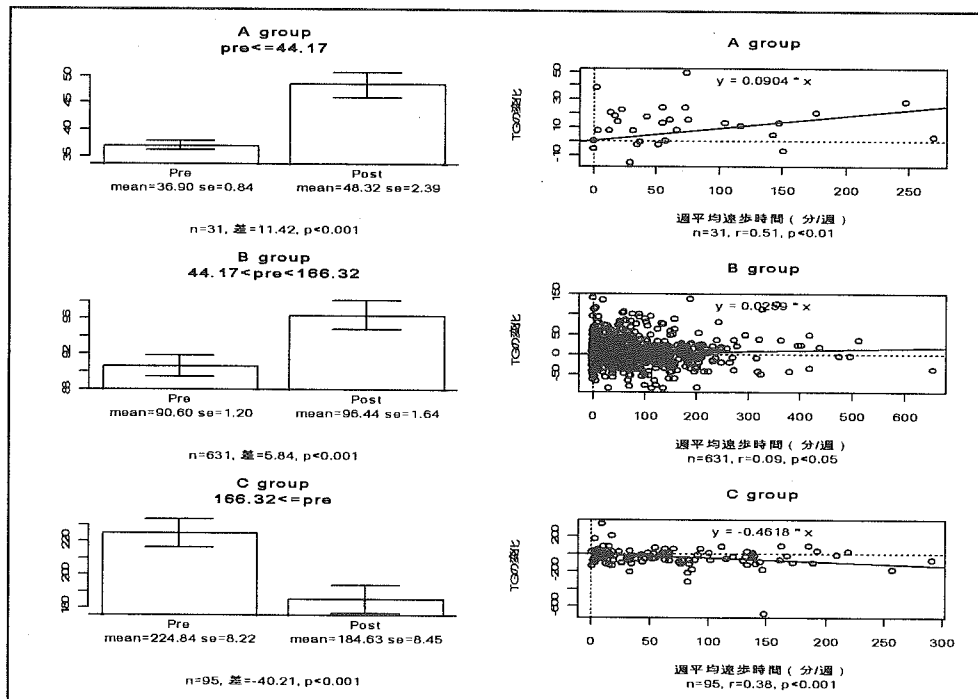
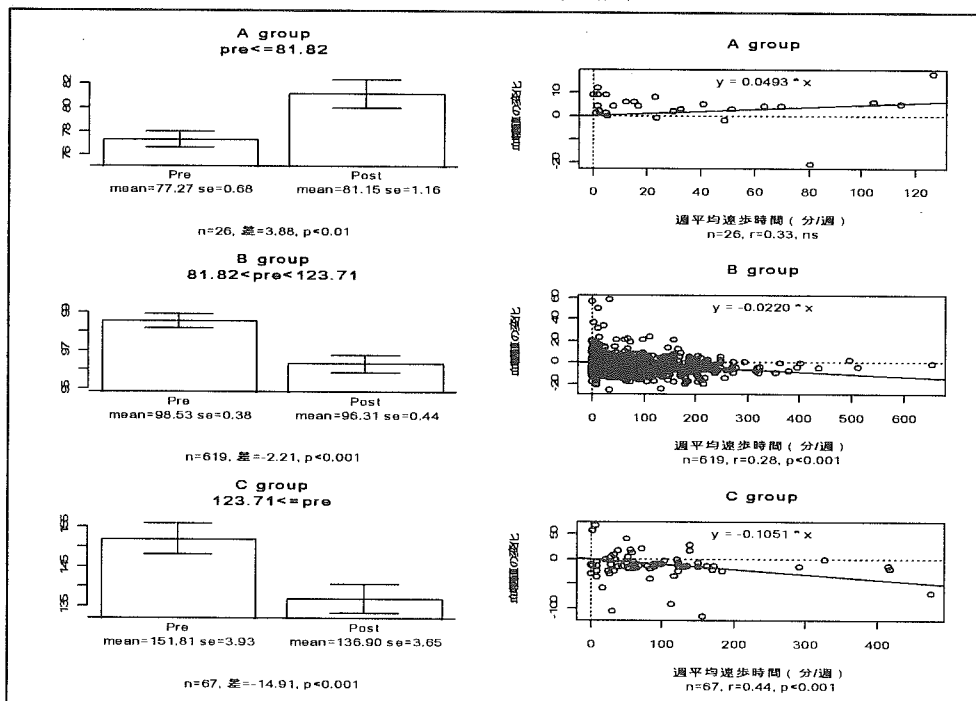


図16 血糖値の解析結果



(d) うつ指標CES-D: 自己うつ評価尺度

うつ症状がやや重いと判断されるB group, うつ症状が重いと判断されるC groupでうつ指標が有意に減少し, 特にC groupで顕著な減少が認められた. なお, うつ症状が軽いと判断されるA groupにおいて有意な増加が見られるが, A groupのpostの平均値は, うつ症状が軽いとされる10点以下(5.51±0.29)である.

また, 運動量(週平均速歩時間)と差(post-pre)との関係では, うつ症状が重いと判断されるC groupで相関係数0.5以上の相関が見られた.

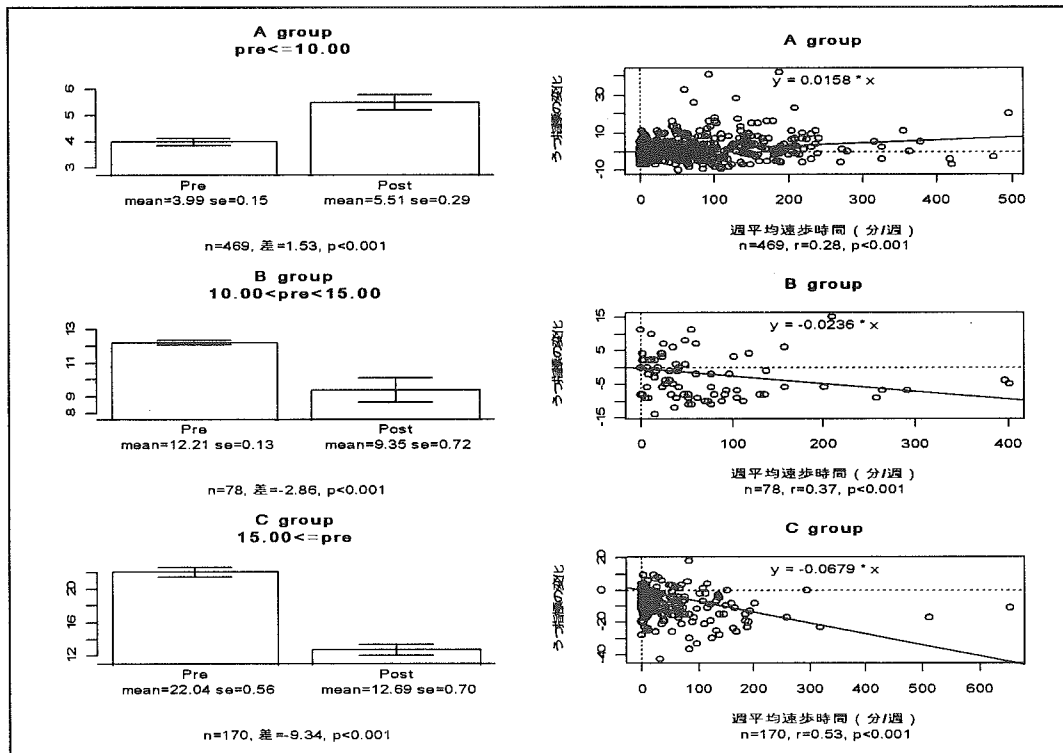
うつ指標の解析結果を表6, そのグラフを図17に示す.

表6 うつ指標の解析結果

項目	グループ	n	pre と post の変化				運動量 (週平均速歩時間) (x) と 差 (post-pre) (y) との関係		
			pre	post	差	p	回帰式	r	p
うつ指標(点)	A group (~10)	469	3.99±0.15	5.51±0.29	1.53	***	$y = 0.0158 * x$	0.28	***
	B group (11~14)	78	12.21±0.13	9.35±0.72	-2.86	***	$y = -0.0236 * x$	0.37	**
	C group (15~)	170	22.04±0.56	12.69±0.70	-9.34	***	$y = -0.0679 * x$	0.53	***

n: 該当する参加者の数, pre,post: 平均値±標準誤差(SE), *** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05, ns 有意差なし
r: 相関係数

図17 うつ指標の解析結果



D. 考察

本事業で実施した5つの事業モデル(自治体モデル, 企業モデル, 病院モデル, 大学モデル, 老人ホームモデル)の健康指導前に計測した初期体力や血液検査値などの属性で参加者を層別化し, 層別群ごとにインターバル速歩の効果(体力の向上度, 血液検査値・体重・血圧値などの改善度など), 及び運動量(週平均速歩時間)との関係を明らかにした. 具体的には, 形態測定, 体力測定, 血液検査の項目については, 健康指導前に計測した参加者の初期体力などの値を用いて, 「全参加者の平均的な値より少ない層(A group)」、「平均的な値の層(B group)」、「平均的な値より高い層(C group)」の3つのグループに層別化し, 解析を行った. また, うつ指標(CES-D: 自己うつ評価尺度)においては, うつ症状が軽いとされる10点以下をA group, うつ症状がやや重いとされる11点~14点をB group, うつ症状が重いとされる15点以上をC groupとして解析を行った.

この解析の結果, 体重, BMI(体格指数)に関しては, 各層ともインターバル速歩のトレーニングにより, 減少の傾向を示すことが確認できた(但し, A groupはBMIの減少に有意差なし). また, 体脂肪率については, B, C groupで有意な減少, A groupで有意な増加が認められ, ウエスト周囲長では, B, C groupで有意な減少, 特にC groupにおいて, 顕著な減少が確認できた. 血圧(最高血圧, 最低血圧)に関しては, 血圧値の低い参加者は高く, 血圧値の高い参加者は低くなることが認められた. これは, インターバル速歩により, 各層とも血圧値が正常に近づくことを意味する結果である. 同様の結果は, 血液検査のTcho(総コレステロール), HDL-C(善玉コレステロール), LDL-C(悪玉コレステロール), TG(中性脂肪), 血糖値, 動脈硬化指数においても確認できた. また, うつ指標においては, B group, C groupで有意な減少, 特にC groupで顕著な減少が確認できた. これは, インターバル速歩が参加

者のメンタル面でも良い効果を与えているといえる. 体力については, 初期体力(筋力, 持久力)が低い層(A group)では, 非常に顕著な増加(体力の向上)が確認できた. その一方で, 初期体力が高い層(C group)において, 有意な減少が認められた. 原因としては, インターバル速歩のトレーニングにより, これまで行ってきた運動を行わなくなった等が考えられるが, 初期体力(筋力, 持久力)が高い層に対しては, インターバル速歩以上の負荷トレーニングが必要であることを示唆する結果となった. なお, 今回の解析では, 運動量に応じてリスクとなるような傾向を示す結果は認められなかった.

E. 結論

以上の結果により, 健康指導前に実施する体力測定や血液検査の結果から, 被験者の初期属性の各層ごとに運動量に応じた効果を定量的に予測することができ, 参加者の初期体力や血液検査値, 運動量・運動頻度に応じたきめ細かい指導が可能になる. また, 事前にインターバル速歩の効果を参加者が知ることができ, 参加者個人の運動意欲の継続が期待できる.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nemoto K, Genno H, Nose H. Walking training regimen to increase aerobic capacity and thigh muscle strength for elderly people. J. Appl. Physiol. in submission.
- 2) Kamijo Y, Okumoto T, Takeno Y, Okazaki K, Inaki M, Masuki S, Nose H. Transient cutaneous

vasodilation and hypotension after drinking in dehydrated and exercising men. J. Physiol (Lond.) 568: 689-698, 2005.

3) Masuki S, Todo T, Nakano Y, Okamura H, and Nose H. Reduced α -adrenoceptor responsiveness and enhanced baroreflex sensitivity in CRY-deficient mice lacking a biological clock. J. Physiol (Lond.) 566: 213-224, 2005.

4) Mitono H, Endoh H, Okazaki K, Ichinose T, Masuki S, Takamata A, and Nose H. Acute hypoosmolality attenuates the suppression of cutaneous vasodilation with increased exercise intensity. J. Appl. Physiol.99: 902-908,2005.

5) Ichinose T, K. Okazaki, S. Masuki, H. Mitono, M. Chen, H. Endoh, and H. Nose. Improved cutaneous vasodilation and blunted hyperosmotic suppression sensitivity after endurance training in humans. J. Appl. Physiol.99:237-243,2005.

2. 学会発表

1) 根本賢一 他: 中高年のための地域連携型運動処方システムの開発: 携帯型運動量連続測定装置と IT ネットワークの応用、第60回日本体力医学会、倉敷、9月23日-25日、2005年、体力科学 vol.54:604, 2005.

2) 田邊義憲 他: 3軸加速度を利用した運動・体力評価、スポーツ工学・ヒューマンダイナミクス・ジョイントシンポジウム 2005、東京、2005年9月11日-13日、日本機会学会シンポジウム講演論文集, No.05-16, 2005.

3) Y.Tanabe et al., Exercise meter using triaxial acceleration data, ICEC2005, Sanda, 9.19-21, 2005, Abstracts 25-28, 2005.

4) M.Asano et al., Development of an exercise meter using triaxial acceleration data, The 27th Annual

International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Shanghai, China, 9.1-4, 2005, Proceedings of the 2005 IEEE, 2005.

5) K. Nemoto et al., Walking regimen to aerobic capacity and muscle strength for elderly people by accelerometry, EB2006, San Francisco, 4.2-6., 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1) 能勢 博 他: 持久力算出装置、持久力算出方法及びプログラム (特願2005-55217)

2) 能勢 博 他: 脚筋力算出装置、脚筋力算出方法及びプログラム (特願2005-55221)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

松本市熟年体育大学を基盤とした運動処方反応性遺伝子の探索

分担研究者 樋口京一 信州大学医学研究科加齢生物学分野

共同研究者 森政之*、橋本麻衣子*、福嶋義光**、谷口俊一郎***、佐野健司****

*信州大学医学研究科加齢生物学分野、**同医学部医学科遺伝医学分野、

同医学研究科分子腫瘍学分野、*同医学部附属病院臨床検査部

研究要旨 中高年者の健康増進に最適の運動処方を確立するためには、運動処方が生活習慣病関連指標を改善する効果のメカニズムを解明することが必須である。我々は、同じ運動処方を適用していても、生活習慣病関連指標の改善効果には大きな個人差が観察されることに着目した。そこで「このような個人差の原因が各個人のもつ遺伝子組成（運動処方反応性遺伝子群）の違いにある」との仮説を考え、運動処方反応性遺伝子の同定を目的とした研究を行なった。松本市熟年体育大学の参加者のうち、研究目的・方法の説明後に研究参加への同意を得られた469名を解析対象とした。インターバル速歩を主体とした6ヶ月間の運動処方適用前後での体重、体脂肪率、血圧、血糖値、血中コレステロール値、筋力、持久力を測定した。運動処方反応性遺伝子の候補として機能的に血圧、糖代謝、脂質代謝、骨代謝、エネルギー代謝、難聴、老化などに関与することが示唆されている86個の遺伝子を選定し、これらの遺伝子上の132個の single nucleotide polymorphisms (SNPs) に関してTaqManプローブ法により対象者の遺伝子型判定を開始した。今後、遺伝子型と上記の生活習慣病関連指標の測定値、およびこれらの運動処方開始前後での改善効果との相関を解析し、運動処方反応性遺伝子の同定を目指す。

A. 研究目的

松本市熟年体育大学の目的の一つは中高年者の健康増進に最適の運動処方を確立することにある。これまでに多くの中高年者の参加を得て、実績・データを蓄積して来た。この結果、インターバル速歩を主体とした運動処方が血圧、血糖値、体脂肪率などの生活習慣病関連指標に対する著明な改善効果をもつことが明らかとなった。しかしながら、その効果には大きな個人差が観察される。すなわち、同じ強度と頻度の運動を行なっても、生活習慣病関連指標の大きな改善効果が得られる者がある一方で、ほとんど改善効果が得られない者もある。また、どの指標が改善されるかも個人毎に異なる。このことから、生活習慣病関連

指標の改善には画一的なプロトコルではなく、個人毎の違い（体質）を考慮した運動処方を適用することがより効果的であると考えられた。

このような運動処方を確立するためには、インターバル速歩が生活習慣病関連指標の改善効果を生むメカニズム、およびその改善効果に個人差が存在することのメカニズムの解明が必要である。我々はインターバル速歩による生活習慣病関連指標の改善効果の個人差の原因の一つとして、各個人には遺伝子群（運動処方反応性遺伝子群）の違いがあり、これらの組み合わせが運動処方に対する反応の違い（個人差）を規定していると考えた。そこで、松本市熟年体育大学のシステムを基盤として、運動処方反応性遺伝子を同定

することを目的とした研究を行なった。

本年度は松本市熟年体育大学の特色を活かしながらこの研究目的を達成するための研究戦略、および倫理面での課題を解決するための方法の考案、構築、確認を行なった。そのために信州大学医学部で関連する研究領域を専門とするスタッフによる遺伝子研究コンソーシアムを組織した。熟年体育大学リサーチセンター(JTRC)のスタッフを交え、これらの課題に関して合議検討した。コンソーシアムの議事録を資料として添付した。

B. 研究方法

1)解析対象

松本市熟年体育大学への平成17年度後期(平成17年10月ー平成18年3月)の参加者を対象とした。

2)形質の測定

松本市熟年体育大学のプログラムとしての各地区の体育における運動処方開始前(平成17年10月)と6ヶ月の運動処方適用後(平成18年3月)に基礎的データ(体重、体脂肪率、血圧、血糖値、血中コレステロール値、筋力、持久力)の計測に同行した(述べ13会場)。その際に約7 Mℓを採血した。これ以降、個人名の特定制が不可能となるように採血管などには匿名化コードラベルを添付して識別することとした。また後日、信州大学医学部整形外科学講座の協力でDXA法による骨量測定、および信州大学医学部耳鼻咽喉科学講座の協力で聴力検査を実施した。

3)DNA抽出

血液は血清と血球画分を遠心分離し、血清は後日のホルモン測定に備えて-80℃に凍結保存した。同意拒否者の血球画分は廃棄した。血球画分1 MℓからQIAamp DNA Blood Midi Kit (Qiagen社製)を用いてDNAを抽出した(約30

μg)。このうち50 ng画分をGenomiPhi DNA Amplification Kit (GEヘルスケア バイオサイエンス社製)を用いて全ゲノム増幅した。これを蒸留水で20倍に希釈したサンプルをsingle nucleotide polymorphisms (SNPs)解析のテンプレートとした。残った血球画分は-80℃に凍結保存した。

4) 運動処方反応性遺伝子の解析

運動処方反応性遺伝子の検索法に関してコンソーシアムで議論した。ゲノム上で互いに連鎖不平衡にない多数の遺伝子を調査する“網羅的アプローチ”と、機能的に生活習慣病に関連すると考えられる遺伝子を調査する“候補遺伝子アプローチ”の比較となった。網羅的アプローチはコスト面から実質的に不可能であることから、候補遺伝子アプローチを採用することとなった。

運動処方反応性遺伝子の候補の選定はコンソーシアムのメンバー各自が専門とする研究領域に関連するものを分担し、血圧(10遺伝子)、糖代謝(15遺伝子)、脂質代謝(12遺伝子)、骨代謝(8遺伝子)、エネルギー代謝(22遺伝子)、難聴(14遺伝子)、老化(5遺伝子)に関与することが示唆される計86個の遺伝子を選定した(表1)。

次いで運動処方反応性遺伝子同定のための遺伝子型の判定法に関してコンソーシアムにおいて議論した。その結果、塩基配列決定法とSNPs解析法では、松本市熟年体育大学への参加者数が500ー600名程度であること、コンソーシアムのメンバーから実験に割り当てることができる人員は1ー2名しかいないこと、経済性などの要因を考慮すると、SNPs解析法の方が効率的かつ経済的であると結論した。SNPs解析法としてはマイクロアレイ法よりもTaqManプローブ法がより効率的で、信頼性も高い解析法であると結論した。しかしながら、信州大学には384ウェルプレート対応型のリアルタイムPCRシステムを保有していないため、愛媛大学医学部老年医学講座のものを

共同研究の形で借用することとした。

これらの遺伝子中の対象SNPsの選定に関しては、1遺伝子1SNPにするか、あるいは特に重要と考えられる候補遺伝子に関して網羅的にSNPs解析をするかを議論した。1遺伝子1SNPは経済的であり、同じ予算内で多くの遺伝子を解析できる点が長所と考えられた。短所はそのSNPを含む遺伝子自体は解析対象形質と連鎖しているが選定したSNP自身は連鎖していない場合、せっかくの有意な結果を見落とす可能性がある点である。網羅的SNPs解析の長所は、その遺伝子内に原因となるSNPsがあれば、高い確率で有意な結果が検出される点である。短所は費用が掛かるので、同じ予算内で解析できる遺伝子の数が限られる点である。そこで、なるべく両方法の利点を活かせるように原則的に1遺伝子2SNPsとした。同一遺伝子内の2つのSNPs間の距離が適度に離れていることを基準の一つとした。ただし今回は2つのSNPs間の連鎖不平行に関しては考慮しなかった。1遺伝子2SNPs とすることで、SNP遺伝子型だけでなく、2つのSNPs遺伝子型の組み合わせ(ハプロタイプ)解析が可能となる利点も考えられた。その他のSNPs選定の基準は、他の研究者による生活習慣病の遺伝子解析に関する報告、原則としてJSNPデータベースに登録されており、日本人集団中で多型的であることが確認されていること、対立遺伝子頻度が5%以上であることなどとした。これらのSNPsの遺伝子型判定のためのTaqManプローブ/プライマーセットの合成をApplied Biosystems社に発注した。遺伝子あるいはSNPsによってはData BankへのSNPsの登録が無いもの、あるいはプライマー/プローブのデザインが不可能であり、この時点で解析不可能となったものもあった。最終的に86遺伝子上の132個のSNPsを解析することとなった。

解析法に関しては、各測定形質(例えば血圧)

において運動処方に対する反応の高い上位20%の集団と、反応性の低い20%の集団間で、その形質(血圧)に関与する遺伝子のみを調査解析する方法を採るか、あるいは被験者全員に関して全SNPsを調査解析する方法を採るかを討議した。本研究では測定形質が多いことから、前者では解析対象者とSNPsを抽出して組み合わせる手間が煩雑であることから、一定のフォーマットで解析が可能な全被験者/全SNPs解析を行なうこととした。

(倫理面への配慮)

本研究計画は信州大学医学部倫理委員会による研究計画の審査を受け、その承認を得た。(代表者:樋口京一、申請番号118、課題名:熟年体育大学を基盤とした運動効率遺伝子および老人性難聴関連遺伝子の探索、承認日:平成17年1月18日)

松本市熟年体育大学参加者に研究目的、研究戦略、方法、倫理的な配慮を説明するためのビデオCDを作製した。

松本市熟年体育大学参加者がインターバル速歩データの「熟年者スポーツ支援センター」ホストコンピューターへの転送に来る福祉広場(計25地区)にコンソーシアムのメンバーが出向し、JTRCスタッフの協力を得ながらビデオ放映により一通りの説明を行なった。その後、面談形式で説明文書(添付資料)を用いて補足説明を行ない、同意書(添付資料)への署名を得た。同意書は同時に2部作製し、そのうち1部を説明文書とともに参加者に渡した。データ転送日に面談できなかった参加者に関しては、最終体力測定/採血日にあらためて面談形式による説明と同意書の取得を行なった。最終的に469名の同意を得た。同意拒否者は14名であった。

DNAサンプルはNTTデータ社製のセキュアー

ネームをレンタル使用して連結不可能匿名化処理した。

C. 研究結果

従来の報告と同様に、6ヶ月間のインターバル速歩を中心とした運動処方適用後の体重、体脂肪率、血圧、血糖値、血中コレステロール値の変化には被験者間で大きな個人差が観察された。

研究参加への同意が得られた469名の血液サンプルから約30 μ gのゲノムDNAを抽出した。このうち50 ng画分を用いて全ゲノム増幅し、さらに蒸留水で20倍に希釈したものをテンプレートDNAとした。予備的解析として10名分のサンプルに関してTaqMan法による3個のSNPs遺伝子型解析を行なってみたところ、100%の確度で遺伝子型の判定が可能であった。このことからテンプレートDNA作製までの操作の妥当性も確認された。現在、469名分のサンプルに関して86遺伝子132個のSNPsの遺伝子型をタイピング中である。今後、SNPs遺伝子型と体重、体脂肪率、血圧、血糖値、血中コレステロール値、筋力、持久力およびこれらの運動処方開始前後での改善効果との相関解析を進める。さらにこの結果に基づき、解析を他の遺伝子およびSNPsに拡張し、さらに詳細に検討する予定である。

D. 考察

1)運動反応性遺伝子同定の必要性

中高年健康増進のためのITによる地域連携型運動処方システムの構築には、運動反応性遺伝子の探索と、その結果に基づく各個人の体質にあった運動処方の確立が必須である。そのためには、運動処方研究のための基本的なシステムが確立しており、多くの参加者の実績があり、過去のデータの蓄積もある松本市熟年体育大学を基盤とすることが最善である。本年度は熟年体育

大学リサーチセンターと連携しながら、効率的に研究を推進するための基本的なシステムを構築することができた。これは今後、熟年体育大学事業を全国的に展開し、それに伴って研究規模を拡大する際のモデルとなりうる。

2)老化関連形質の遺伝解析への応用

これまでも高血圧、高脂血症、肥満、糖尿病、骨粗鬆症などの生活習慣病の遺伝子解析は他の多くの研究機関でも行なわれて来たが、芳しい成果には乏しいのが実情であった。生活習慣病の原因遺伝子の同定が困難である原因の一つは、これらが多因子疾患であり、すなわち複数の遺伝子に規定されていること、さらに各遺伝子の効果が小さいことにあると考えられている。このような生活習慣病の原因遺伝子と本研究での解明を目指す運動処方反応性遺伝子は機能的に関連しているはずである。我々は運動処方を適用することにより生活習慣病の原因遺伝子の効果を増幅し、したがってその効果を検出し易くできるのではないかと考えている。もしもこれらの仮説が正ければ、運動処方反応性遺伝子の同定から、連鎖的に生活習慣病を規定する遺伝子の同定をも達成できることが期待される。

また本研究においては、松本市熟年体育大学参加者の協力を得て、聴力に関するデータも取得している。多くの高齢者が老人性難聴を患い、Quality of Life (QOL)低下の大きな要因となっており、予防を含めた対処法の確立が急務である。老人性難聴の発症年齢には大きな個人差があり、遺伝的関与も示唆されるが、老人性難聴の遺伝解析に関してはほとんど報告が無い。これらの遺伝解析では、主として老人性難聴既患者と健常高齢者との比較であるケース/コントロール解析法が採用されている。しかしながら意外なことに、健常者の中年齢から高齢齢にかけての聴力の加齢変化に関する基礎的なデータはほとんど無いのが現状である。本研究は、500人

以上の大規模な中年～高齢者集団を用いて、まずこの点を明らかとした上で、聴力の加齢変化を加味して遺伝解析を行なう研究戦略を採っており、老人性難聴の原因遺伝子を同定できる可能性が高い。

3) 今後の計画、課題と発展の可能性

本研究成果を真に実効あるものにし、さらに将来的な発展に備えるためには、各個人の形質測定値と遺伝子プロファイルの膨大なデータを入力・統合し、必要な解析パラメーターを解析しやすい形で取り出すことが可能な質の高いデータベースを構築し、さらに遺伝統計解析のための優れたコンピュータープログラムを活用することが必須と考えられる。このようなコンピュータープログラムに関しては、現在、地元企業であるキッセイコムテック社の開発したものの使用を検討中である。

今後は毎年100人程度が松本市熟年体育大学への新規加入者として事業に参加して来ると予測されている。これらの新規参加者の解析データを蓄積していくことにより、より精度・信頼性の高いデータとなることが見込まれる。本年度では福祉広場では同意を取得できたものの最終体力測定／採血日には参加しなかったために解析できなくなったケースも少なからずあった。より効率的に研究への参加を得るための方策の考案は今後の課題である。

本研究の継続により、世界的にも類が無い運動処方反応性遺伝子の探索に向けての研究フィールドを整備することが可能と期待される。

E. 結論

松本市熟年体育大学を基盤として運動処方が生活習慣病関連指標を改善する効果のメカニズムの解明、および運動処方反応性遺伝子を同定するための研究システムを確立することができた。運動処方反応性遺伝子が同定されれば、中高齢

者各個人がもつ運動処方反応性遺伝子の違い(体質)に合わせた健康増進に最適の運動処方の確立へと発展させることが可能と期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Li G, Guo Z, Higuchi K, Kawakubo M, Matsumoto K, Mori M.: A locus for eosinophilia in the MES rat is on Chromosome 19. *Mamm Genome* 16: 516-523, 2005
- 2) Yan J, Fujii K, Yao J, Kishida H, Hosoe K, Sawashita J, Takeda T, Mori M, Higuchi K.: Reduced Coenzyme Q10 supplementation decelerates senescence in SAMP1 mice. *Exp Gerontol* 41: 130-140, 2006
- 3) Mori M, Li G, Abe I, Nakayama J, Guo Z, Sawashita J, Ugawa T, Nishizono S, Serikawa T, Higuchi K, Shumiya S.: Lanosterol synthase mutations cause cholesterol deficiency-associated cataracts in the Shumiya cataract rat. *J Clin Invest* 116: 395-404, 2006
- 4) Korenaga T, Yan J, Sawashita J, Matsushita T, Naiki H, Hosokawa M, Mori M, Higuchi K, Fu X.: Transmission of amyloidosis in offspring of mice with AApoAll amyloidosis. *Am J Pathol* 168: 898-906, 2006

2. 学会発表

- 1) 付笑影, 是永龍巳, Zhang Huanyu, 嚴景民, 澤下仁子, 森政之, 樋口京一: マウス老化(AApoAll)アミロイドーシス; 飼育室における伝播。日本基礎老化学会第28回大会 (2005.6.16 東京)
- 2) 嚴景民, 藤井健志, 岸田秀之, 細江和典, 姚俊

潔, 澤下仁子, 森 政之, 樋口京一: SAMP1マウスを用いた還元型Coenzyme Q10の抗老化作用の解析。日本基礎老化学会第28回大会 (2005.6.16 東京)

3) 樋口京一: スタートした熟年体育大学を基盤とした研究。信州大学加齢適応医科学系専攻、第2回公開シンポジウム、市民公開講座、厚生労働科学研究費: 長寿科学総合研究事業研究成果発表会 (2006.2.18 松本)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. 運動処方反応性遺伝子の候補とSNP登録番号リスト

Adrenergic receptor α 1A: rs1048101, rs1383914
Adrenergic receptor β 2: rs1042713, rs1042718
Adrenergic receptor α 2A: rs1800038
Adrenergic receptor β 3: rs4994, rs2071493
Arginine vasopressin receptor 1A: rs1042615, rs3759292
Solute carrier family 6, member 2; Norepinephrine transporter: rs2242446, rs5569
Nitric oxidase synthase 3: rs207074, rs1799983
Lipoprotein lipase: rs328
Interleukin 6: rs1800795
Lipase, endothelial: rs2000813
Leptin: rs2167270
Leptin receptor: rs1137100, rs1805096
Adiponectin: rs1501299
TNF- α : rs1800629, rs1800610
Resistin: rs1862513, rs3745367
pre-B-cell colony enhancing factor 1 (Visfatin): rs1065322, rs3801266
Stearoyl-CoA desaturase-1: rs1054411, rs3793768
Protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic

subunit: rs466108
Protein kinase, AMP-activated, alpha 2 catalytic subunit: rs6490266
Protein kinase, AMP-activated, beta 1 non-catalytic subunit: rs1062688, rs6490266
Protein kinase, AMP-activated, beta 2 non-catalytic subunit: rs6937, rs1348316
Protein kinase, AMP-activated, gamma 1 non-catalytic subunit: rs2293445
Protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit: rs2270212, rs8961
Protein kinase, AMP-activated, gamma 3 non-catalytic subunit: rs1062688
Insulin receptor substrate-1: rs1801278
Glucokinase (MODY2): rs1799884, rs2971679
FOXO1A: rs3751436
11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: rs12086634, rs2282740
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma: rs1805192
Peroxisome proliferator-activated receptor alpha: rs1800206, rs2229245
Sterol regulatory element-binding protein 1: rs4925115
Sterol regulatory element-binding protein 2: rs2269657, rs2228314
Retinoid X receptor, alpha: rs1805352
Retinoid X receptor, beta: rs2076310, rs6531
Retinoid X receptor, gamma: rs3753897, rs2134095
Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 4: rs913378
Cochlin: rs1045644, rs1124181
Deafness, autosomal dominant 5: rs754555, rs2269812
Gap junction protein, beta 2, 26kDa (connexin 26): rs2274084, rs2274083
Gap junction protein, beta 3, 31kDa (connexin 31): rs2236214
Gap junction protein, beta 6, 30kDa (connexin 30): rs7333214, rs945369
Collagen, type IX, alpha 1: rs592121, rs1135056
Collagen, type IX, alpha 3: rs751557, rs2294995
Collagen, type XI, alpha 2: rs2272904, rs2254287
Tectorin alpha: rs520805, rs2155369
Myosin VI: rs2273857, rs2842549
MYO7A: rs2276288, rs1052030
Myosin, heavy polypeptide 9, non-muscle: rs223978, rs2239784

Wolframin: rs734312, rs1805070
Low density lipoprotein receptor-related protein 5:
rs2306862
Secreted frizzled-related protein 1: rs3832595,
rs7013229
Secreted frizzled-related protein 2: rs3810765
Frizzled-related protein: rs7775
Secreted frizzled-related protein 4: rs1132552,
rs1052974
Bone morphogenetic protein 2: rs2273073
12/15-Lipoxygenase): rs748694, rs2288619
Interleukin-1-associated kinase 1: rs1059703,
rs1059702
Apolipoprotein A1: rs670
Apolipoprotein C3: rs5128
Oxidized low-density lipoprotein receptor-1:
rs3736232, rs2742115
Paraoxonase-1: rs662
Nuclear respiratory factor 1: rs1882094, rs3735006
Peroxisome proliferator activated receptor-gamma
coactivator-1 alpha: rs8192678, rs3736265
Peroxisome proliferator activated receptor-gamma
coactivator-1 beta: rs7732671
Estrogen-related receptor alpha: rs2276014
Transcription factor A, mitochondrial: rs11006128
Transcription factor B1, mitochondrial: rs324356,
rs3940
Transcription factor B2, mitochondrial: rs3795479,

rs3129568
Uncoupling protein 1: rs2270565, rs3811787
Uncoupling protein 2: rs659366, rs660339
Uncoupling protein 3: rs1800849, rs2075577
Cytochrome b-245, alpha polypeptide: rs4673
NADPH oxidase 4: rs2289122, rs3816123
Glycogen synthase kinase-3beta: rs334558, rs6438552
Protein kinase C, beta 1: rs11645239, rs432998
Lamin A: rs4641
KLOTHO: rs1207568, rs9527025
Microsomal triglyceride transfer protein (large
polypeptide, 88kDa): rs1800591, rs2306986
Werner syndrome: rs2725362
Sirtuin 1: rs374005, rs2236318
ATP5C1: rs2070594
ATP5J2: rs2293256
Ghrelin: rs696217, rs2075356
Agouti signaling protein: rs2424984
5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase: rs1801133,
rs2274976
Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter),
member 4: rs5435
SLC2A4 regulator: rs2253823, rs1058319
Myosin, heavy polypeptide 1, skeletal muscle, adult:
rs1017068, rs3744563
Pyruvate dehydrogenase kinase 4: rs10085637,
rs207397

「ヒト遺伝子研究」説明文書

(参加者用)

《遺伝子とは》

「遺伝」とは、「親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気に罹りやすいことなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝とともに、生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」に「子」という字が付き「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。ほとんど全ての生物では、遺伝子の本体は「DNA」という物質です。「DNA」は、A、T、G、Cという四つの塩基の連続した鎖です。塩基がいくつもつながって遺伝子になります。

一つの細胞の中には数万種類の遺伝子が散らばって存在しています。全ての遺伝情報を総称して「ゲノム」といいます。人体は約60兆個の細胞から成り立っていて、細胞の一つ一つにすべての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、遺伝子は精密な「体の設計図」です。受精した一つの細胞は、分裂を繰り返してふえ、一個一個の細胞が、「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には約60兆個まで増えて人体を形作ります。二つ目は「種の保存」です。先祖から現在まで「人間」という種が保存されてきたのも、遺伝子の働きによります。

《遺伝子と病気》

ほとんどすべての体力の年齢に伴う減退や病気は、その人の生まれながらの体質（遺伝素因）と病原体、生活習慣などの影響（環境因子）の両者が合わさって起こると考えられています。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや動脈硬化などのように両者が複雑に絡み合っているものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せも重要です。

《遺伝子解析研究への協力について》

この研究は、運動をした時の健康状態の改善や、聴力の障害などに関係があるかもしれない遺伝子を探したり、何らかの理由で関係が疑われている遺伝子について、その構造や機能を解析し、実際に関係があるかどうかを調べます。

まず、研究の内容を含め、同意していただくための説明を行います。この説明を十分理解し、研究に協力して血液等を提供しても良いと考えられた場合には、「ヒト遺伝子研究への協力についての意

思の確認書」に署名することにより、同意したということをはっきり示すようお願いいたします。

《研究に協力するかどうかを考えるために》

(1) 研究に協力するかどうかは任意です。途中で気が変わるのも自由です。

研究協力するかどうかは自由意志で決めてください。強制いたしません。協力されてもされなくても、熟年体育大学と信州大学では同じように最善の運動処方とを提供いたします。

一旦同意された場合でも、不利益を受けることなくいつでも一方的に文書により、同意を撤回することができます。その場合は採取した血液や遺伝子解析の結果は廃棄され、診療記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。ただし、同意を撤回した時すでに研究結果が論文などで公表されていた場合や試料が完全に匿名化されて研究者にも誰のものかわからなくしてある（連結不可能匿名化）場合等、血液や遺伝子を調べた結果を廃棄できないことがあります。

遺伝子解析に関する意思の確認書の原本は、実施機関において保管します。あなたには、その写し一部をお渡しします。

(2) 研究の実施計画は、以下の通りです

本遺伝子解析計画は信州大学医学部「遺伝子解析専門倫理委員会」で審査され、信州大学医学部長により承認されたものです。

研究題目	熟年体育大学を基盤とした運動効率関連遺伝子および老人性難聴関連遺伝子の探索
研究機関名	信州大学医学研究科分子腫瘍学、加齢生物学、スポーツ医学分野、臨床検査部、医学部耳鼻咽喉科学講座
研究責任者氏名・職名	谷口俊一郎・教授
共同研究機関名・責任者名	NPO法人・熟年体育大学リサーチコンソーシアム・源野広和、花岡正明 ただし、共同研究を行う機関や責任者が追加される可能性があります。
対象とする疾患名あるいは薬剤名	運動処方による体力の改善、聴力障害
調べる遺伝子あるいは遺伝子群の名称	運動関連遺伝子 高齢者難聴に関係すると考えられる遺伝子 ただし、調べる疾患・薬剤関連遺伝子の種類が追加される可能性があります。

採血量	約 7.5 ml
手術組織を用いるか？	<input type="checkbox"/> 用いる <input checked="" type="checkbox"/> 用いない
研究期間	5年
解析結果保持期間	10年
バンク事業への参加	<input checked="" type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(機関名： 責任者名：) 学術的意義：
本研究に関する問い合わせ先名と電話番号	信州大学医学研究科加齢適応医科学系加齢生物学分野（樋口京一） 電話番号；0263-37-2693
本説明書作成日	平成17年1月17日

研究目的：

この研究の目的は、運動処方を受けたときに健康状態や体力の改善の程度が個人の体質と関係しているかどうか、あるいは老人性難聴になりやすいか否かを、血液など（試料といいます）から取り出した遺伝子を調べることによりあきらかにすることです。これにより、将来、個人毎により適当な運動処方やより有効な処方ができるようになると期待されます。また生活習慣やライフスタイルを変えることにより老人性難聴の発症を遅らせることを目的とします。

研究協力要請の理由：

熟年体育大学はこれまでに類を見ない様な大規模な健康増進プロジェクトであり、有効な研究成果が得られると期待されています。

この研究のために使われる試料や健康状態などの情報は、医学の発展にともなって将来行われる研究にとっても貴重なものとなる可能性があります。今回の試料が将来の研究にも使えるよう、あわせて同意をお願いいたします。

研究方法：

血液を通常の方法で採ります。この採血にともなう危険性はほとんどありません。血液などの試料に含まれるDNAやRNAという物質を取り出し、遺伝子の構造を解析します。調べる対象は、現在明らかになっていないものを含み、関係する可能性のある数多くの遺伝子です。

研究計画などを見たいとき：

希望があれば、個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障を来さない範囲内で、この研究計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合も用意し、説明いたします。

(3) 試料を提供した本人にとっての利益および不利益

本遺伝子解析研究の結果が、試料を提供した人に直接利益となるような情報をもたらす可能性はほとんどありません。まれに、偶然に重大な病気との関係が見つかることがあります。この時は、本人や家族や血縁者がその結果を知ることが有益であると判断され、医の倫理委員会も同様に考えた場合に限り、診療を担当する医師から本人や家族や血縁者に、その結果の説明を受けるかどうかについて問い合わせることがあります。

研究の成果は、今後医学が発展することに役立ちます。その結果、将来、運動による健康増進や、病気に苦しむ方々の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになることが期待されます。

本研究では、誰の遺伝子を解析した結果であるかが個人情報管理担当医以外には分からないように、(4)に述べる匿名化などを行って、個人情報を厳重に管理しています。遺伝子解析の結果によっては、就職・結婚・保険への加入などに関して、現時点では予測できないような不利益が生じる可能性がないとはいえませんので、十分な注意が必要です。

(4) 個人情報は他人には決して漏らしません

個人の情報を保護することは、刑法で定められた医師の義務です。遺伝情報はそのなかでも最も厳重に管理されます。遺伝子解析や遺伝カウンセリングに関するカルテは、他のカルテとは異なった独立の鍵のかかる場所に保管され、持ち出しは禁止されています。

遺伝子解析の結果は、いろいろな問題を引き起こす可能性があるために、他人に漏れないように、取扱いを慎重に行っています。解析を開始する前に、あなたの試料や診療情報からは住所、氏名などが削られ、代わりに新しく符号がつけられます(匿名化)。あなたとこの符号とを結びつける対応表は、試料を採取した病院で個人情報の管理担当医が厳重に保管します(連結可能匿名化)。こうすることによって、あなたの遺伝子の解析を行う者には符号しか分からず、誰の試料を解析しているのかわかりません。ただし、結果を本人に説明する場合には、試料を採取した機関においてこの符号を元どおりに戻します。結果を本人に説明する必要のない場合には、個人名と符号を結びつける対応表を

作らないこともあります（連結不可能匿名化）。

（５）遺伝子解析の結果の伝え方

本研究は、多くの方々の協力を得て、運動処方によって健康増進が改善しやすい人達と、そうでない人達、聴力障害がある人とそうでない人達など、それぞれのグループの間に遺伝子の違いがあるかどうかを比べたり、運動による健康増進や、病気の発症、診断、治療に影響を与える遺伝子の手がかりをさがしたりするものです。この結果、なんらかのきっかけが見いだされたとしても、その意義をあきらかにし、実際に応用するには、さらに多くの研究が必要です。したがって、すぐに健康増進や個人の病気の治療などに役に立つ結果が出る可能性はほとんどありませんので、原則として解析結果はお知らせいたしません。

（６）研究結果の公表

ご協力によって得られた研究の成果は、個人が誰であるかわからないようにした上で、学会や学術雑誌およびデータベース上で公に発表されることがあります。

（７）知的財産権が生じたとき

遺伝子解析の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関および研究遂行者などに属し、試料の提供者には属しません。また、その特許権により経済的利益が生じる可能性があります。試料の提供者はこれについても権利がありません。

（８）遺伝子解析が終わった試料がどう扱われるか

血液などの試料は、匿名化されたまま厳重に保存され、原則として本研究のために使用されます。もし同意していただければ、将来の研究のための貴重な資源として、研究終了後も保管させていただきます。この場合も、（４）で説明した方法により、誰の試料かわからないようにしたまま、試料を使い切るまで保管します。試料を廃棄する場合は、匿名のまま、密封容器に廃棄あるいは焼却処分します。

将来、試料を医学研究に用いる場合には、改めて研究計画書を提出し、遺伝子解析専門倫理委員会の承認を受けます。

（９）遺伝子解析の費用は誰が払うのか

遺伝子解析は研究費によって行われますので、その費用をあなたが払う必要はありません。しかし、遺伝子解析の結果により病気の診断がつき新たな検査や治療が必要となったときや遺伝カウンセリングには、一般診療と同様の個人負担となります。また、この研究への協力に対しての報酬は支払われません。

本研究の費用は文部科学省科学研究費補助金や厚生科学研究費などの公的研究費によっています。

(11) 遺伝カウンセリングの体制

病気のことや遺伝子解析に関して、不安に思ったり、相談したいことがある場合は、遺伝カウンセリング担当者（*）が相談を受けます。診療を担当する医師、インフォームド・コンセント担当者など病院職員にその旨お伝えください。

（*） 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部：予約制，電話0263-35-4600 [臨床遺伝外来予約係]

(12) 問合せ・苦情の受付先

本遺伝子解析についての問い合わせ先は本書2頁を参照。苦情がある場合は、信州大学医学部総務部庶務係（電話 0263-37-2576）で受付けます。

(信大医遺伝子解析様式 3 - 3)

ヒト遺伝子研究への協力についての意思の確認書

(参加者用)

研究責任者： _____ 殿

研究題目： _____ について

<説明を受け理解した項目>

遺伝子について

研究協力は自由意思で、協力しない場合も不利益は受けません。文書による同意の撤回も自由です。

研究目的と方法：運動処方による健康増進の効果や高齢者における聴力障害にどの遺伝子がどのように関係しているか、種々の遺伝子の構造や機能を調べ、より正確な診断やより有効な治療を目指すものです。血液 7.5 mlを採血し、DNA (RNA)を取り出して、関係する可能性のある数多くの遺伝子を調べます。場合によっては、家族が今までにかかった病気について詳しい説明をお願いすることもあります。

希望により、研究計画書を見ることができます。

試料提供者に対する利益と不利益：本解析研究の結果が一人一人に有益な情報をもたらす可能性は非常に低いと考えられます。一方で、この研究により将来、健康の増進や、病気の診断や予防、治療などがより効果的に行われるようになる可能性があります。遺伝子解析により社会的差別などを受ける可能性がないとはいえません。

試料と健康、体力、及び診療情報は、分析前に、住所・氏名などを削り、新しく符号をつけます(匿名化)。個人名とこの符号を結びつける対応表は、試料採取を行った施設において厳重に保管します。解析結果の説明などが必要な場合には、この符号を氏名に戻す操作を行います。

遺伝子解析結果の開示：本研究では、なんらかの遺伝子の違いが見いだされたとしても、それが個人に直接有益な情報となる可能性は極めて低いので、原則として本人に解析結果は開示しません。

研究の成果は、個人が特定されない方法で学術雑誌等に公表されることがあります。

研究から知的財産権が生じても、試料の提供者には属しません。

試料を匿名化のまま本研究終了後も保管するか廃棄するかについて。将来、試料を研究に用いる場合は、改めて研究計画書を遺伝子解析専門倫理委員会に提出し承認を受けます。

不安や相談がある場合、遺伝カウンセリングを受けることができます。

解析に関する費用の負担はありません。

説明者の氏名および職名 _____

説明者の署名または記名・押印 _____