

図14 実測VO<sub>2</sub>と推定VO<sub>2</sub>の関係

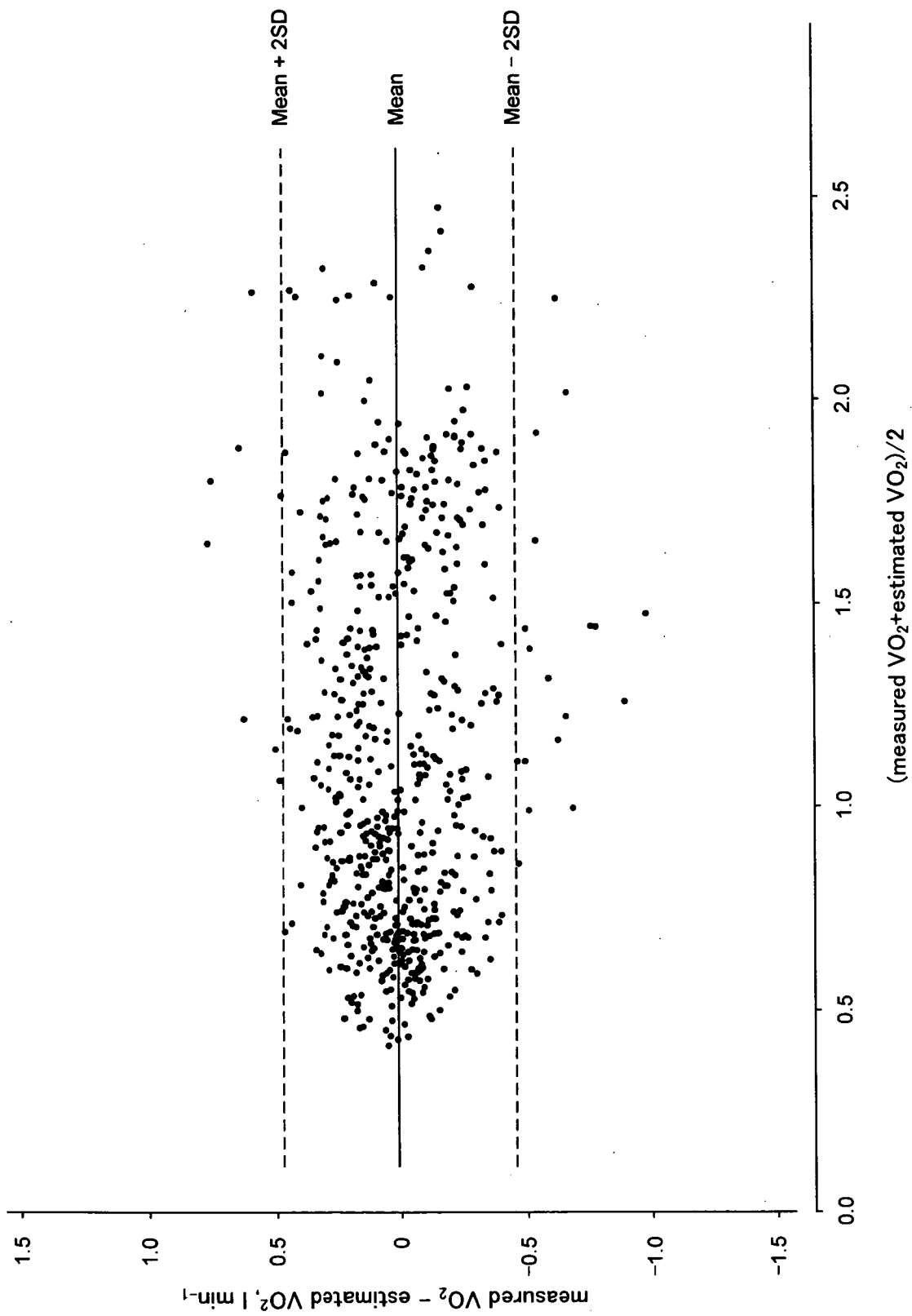


図15 実測 $VO_2$ と推定 $VO_2$ の差 (Bland-Altman plot)

## 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 信州大学大学院医学系研究科加齢生物学分野

**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、「松本市熟年体育大学受講者が、個人毎の体力に合わせた運動処方を適用されているにもかかわらず、生活習慣病関連指標の改善効果に大きな個人差を示す」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。研究目的・方法の説明後に研究参加への同意を得られた松本市熟年体育大学受講者を解析対象とした。インターバル速歩を主体とした運動処方適用前後で測定された体脂肪率、血圧、血糖値、血漿中コレステロール値、血漿中中性脂肪値を解析した。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、老化に関与することが示唆される 100 個の遺伝子を選定し、これらの遺伝子上の 143 個の single nucleotide polymorphisms (SNPs) に関して TaqMan プローブ法、塩基配列決定法、および PCR/アガロースゲル電気泳動法を併用して対象者の遺伝子型判定を行った。統計解析の結果、いくつかの遺伝子上の SNPs において上記の生活習慣病関連指標の運動処方実施前後での改善効果との相関が検出された。これらは運動処方反応性遺伝子の有力な候補であると考えられる。

### 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ことも問題点として明らかとなった。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ことが確認された。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る。

このような個人ごとの体質に適した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。

### B. 研究方法

#### 1) 研究参加への意思確認と倫理的配慮

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

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）

熟年体育大学参加者が約6ヶ月ごとに行なう体力測定/採血の場に出向し，JTRC スタッフの協力を得ながら遺伝子研究の性質，研究目的，方法などに関する一通りの説明を行なった。その後，面談形式で説明文書を用いて補足説明を行ない，同意書への署名を得た。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。

収集した血液サンプルはNTTデータ社製のセキュアネームをレンタル使用して信州大学医学部附属病院遺伝子診療部において連結不可能匿名化を行なった。

## 2) 血液サンプルの収集

本研究事業の3年間で，熟年体育大学システム（速歩講座など自治体により呼称は異なる）を採用した松本市，およびその他の地方自治体での受講者から，以下に示すように合計1041名分の血液サンプルを収集した。

平成17年度

長野県松本市 469名

平成18年度

長野県松本市 112名

平成19年度

長野県松本市 134名

長野県山形村 47名

長野県上田市 86名

長野県茅野市 70名

長野県伊那市 34名

東京都日野市 89名

## 3) DNA抽出

約7mlの血液をEDTA真空採血管中に採取した。このうち1mlから約30 $\mu$ gのDNAを抽出した。さらに，このうち50ng画分から全ゲノム増幅した。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。残った血液は-80℃に凍結保存した。

## 4) 遺伝相関解析対象者と形質

生活習慣病指標の改善値の遺伝相関解析には，松本市熟年体育大学への平成17年度の参加者（平成17年4月または10月入学）のうち，研究参加への意思確認が得られ，平成18年3月と9月の両時点で生活習慣病指標データが得

られた299名（女性201名，男性98名）を対象とした。男女別の平均年齢は64.8歳（女性），および70.2歳（男性）であった。

解析形質としては，松本市熟年体育大学のプログラムの一環として計測されたデータ（体脂肪率，最高血圧，最低血圧，伸展筋力，血漿中総コレステロール値，HDLコレステロール値，LDLコレステロール値，血中中性脂肪，空腹時血糖）を使用した。

## 5) 運動による生活習慣病の改善効果の遺伝解析

生活習慣病に機能的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”を行なった。

運動処方反応性遺伝子の候補として血圧，糖代謝，脂質代謝，骨代謝，エネルギー代謝，難聴，老化に関与することが示唆される計100個の遺伝子を選定した。

原則的に1つの候補遺伝子あたり2つまでのSNPsを調べた。SNPs遺伝子型解析はTaqManプローブ法，塩基配列決定法，およびPCR/アガロースゲル電気泳動法を併用して行なった。

## 6) 統計解析

遺伝子型と運動による改善効果の遺伝相関解析はコンピュータプログラムStatView (ver. 5.0)を使用して行なった。平成18年3月から同年9月にかけての生活習慣病関連指標の運動前後の改善効果に関する解析は対応のあるt検定で行った。各指標の改善値とSNPsによる遺伝子型との相関解析は分散分析およびTukey-Kramerの多重比較検定法により行なった。いずれもP値<0.05を有意水準とした。

## C. 研究結果

体脂肪率，最高血圧，血漿中LDLコレステロールレベルに関しては，臨床的な疾患閾値を超える初期値をもつ対象者群において運動による顕著な改善効果が認められた。しかしながら，その改善効果には大きな個人差があった。そこで疾患群において，改善効果と遺伝的多型との遺伝相関解析を行なってみたところ，以下の結果を得た。

平成18年3月の時点で，女性201名中で肥満を規定する指標閾値である体脂肪率が30%以上の値を持つ対象者143名（71%）の体脂肪率の平均

は34.7%であったが、6ヶ月間の運動継続後の平成18年9月には32.9%と有意に低下していた。体脂肪率の改善値と143個のSNPsにおける遺伝子型との相関解析を行なった。その結果、 $\beta$ 3アドレナリン受容体遺伝子 (*ADRB3*) 上のSNP (SNPsデータベース内での登録番号 = rs4994), peroxisome proliferator activated receptor-gamma coactivator-1 alpha (*PPARGC1A*) 上のSNP (rs3736265), およびアンジオテンシン変換酵素遺伝子 (*ACE*) の第16イントロン内の挿入/欠失多型が改善値との相関を示すことを見出した。

平成18年3月の時点で、高血圧の診断閾値である最高血圧が140 mmHg以上の値を持つ対象者は女性201名中59名(29%), 男性98名中42名(43%)であった。これらの101名の高血圧者の最高血圧の平均は148.4 mmHgであったが、6ヶ月間の運動継続後の平成18年9月には137.7 mmHgと有意に低下していた。最高血圧の改善値と143個のSNPsにおける遺伝子型との相関解析を行なった。その結果、 $\beta$ 2アドレナリン受容体遺伝子 (*ADRB2*) 上のSNP (rs1042718), アルギニン/バソプレッシン受容体遺伝子 (*AVPR1A*) 上のSNP (rs1042615), メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素遺伝子 (*MTHFR*) 上のSNP (rs2274976), およびレジスチン遺伝子 (*RETN*) 上のSNP (rs3745367) が改善値との相関を示すことを見出した。

平成18年3月の時点で、高LDLコレステロール血症の診断閾値である140 mg/dl以上の値を持つ対象者は女性201名中79名(39%), 男性98名中31名(32%)であった。これらの110名の血漿中LDLコレステロール値の平均は160.1 mg/dlであったが、6ヶ月間の運動継続後の平成18年9月には150.8 mg/dlと有意に低下していた。血漿中LDLコレステロール値の改善値と143個のSNPsにおける遺伝子型との相関解析を行なった。その結果、アンジオテンシン変換酵素遺伝子 (*ACE*) の第16イントロン内の挿入/欠失多型が改善値との相関を示すことを見出した。

#### D. 考察

いくつかの運動処方反応性遺伝子の候補を同定することができた。

本研究では、生活習慣病に機能的に関連する100個の候補遺伝子上の143個の多型を調査す

る方法を採用したが、この方法が有効であることが確認された。

本研究の科学的信頼性をさらに強固にし、研究成果を真に実効あるものにするためには、今後以下の検討が必須である。

##### ① サンプル数拡大と追試

サンプル集団の拡大、あるいは他者による追試が必須である。本年度から松本市以外の自治体での参加者からの採血およびDNA抽出を開始し、572名分の新たなサンプルを得ることができた。しかしながら、サンプル数はまだ不足していると考えられた。特に男性のサンプル数が不足している。

##### ② 遺伝子多型が運動を介した生活習慣病の改善効果の個人差を規定するメカニズムの解明

本研究で見つかった遺伝子多型が運動を介した生活習慣病の改善効果の個人差を規定するメカニズムは不明である。本データの真偽を確認し、さらに生活習慣病の予防・改善のためにより有効な運動処方を確立するためには、このメカニズムを細胞やマウスモデルなどを用いて明らかとしていく必要がある。

期待される。

#### E. 結論

本研究により、運動処方への反応(改善効果)の個人差には遺伝的な基盤が存在すること、すなわち、改善効果の個人差は運動処方反応性遺伝子群により規定されることが確認された。今後のさらなる運動処方反応性遺伝子の同定、およびその機能の解明を進めることにより、中高年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 AApoAII amyloidosis. *Am J Pathol* 168: 898-906, 2006
- 5) Zhang H, Sawashita J, Fu X, Korenaga T, Yan J, Mori M, Higuchi K.: Transmissibility of mouse AApoAII amyloid fibrils: inactivation by physical and chemical methods. *FASEB J* 20: 1012-1014, 2006
- 6) Mori M, Higuchi K, Matsumoto K.: A third locus for eosinophilia on chromosome 1 of the MES rats. *Exp Anim* 55: 497-500, 2006
- 7) Nakanishi R, Shimizu M, Mori M, Akiyama H, Otsuki B, Okudaira S, Hashimoto M, Higuchi K, Tsuboyama T, Nakamura T.: Secreted Frizzled-Related Protein 4 as a negative regulator of bone formation and a candidate gene affecting peak bone mineral density in mice. *J Bone Mineral Res* 21: 1713-1721, 2006
- 8) Mori M, Sawashita J, Higuchi K: Functional polymorphisms of the *Lss* and *Fdft1* genes in laboratory rats. *Exp Anim* 56: 93-101, 2007
- 9) Otsuki B, Matsumura T, Shimizu M, Mori M, Okudaira S, Nakanishi R, Higuchi K, Hosokawa M, Tsuboyama T, Nakamura T: Quantitative trait locus that determines the cross-sectional shape of the femur in SAMP6 and SAMP2 mice. *J Bone Miner Res* 22: 675-685, 2007
- 10) Ge F, Yao J, Fu X, Guo Z, Yan J, Zhang B, Zhang H, Tomozawa H, Miyazaki J, Sawashita J, Mori M, Higuchi K: Amyloidosis in transgenic mice expressing murine amyloidogenic apolipoprotein (*Apoa2*<sup>Q</sup>). *Lab Invest* 87: 633-643, 2007
- 11) Yan J, Fu X, Ge F, Zhang B, Yao J, Zhang H, Qian J, Tomozawa H, Naiki H, Sawashita J, Mori M, Higuchi K: Cross-seeding and cross-competition in mouse apolipoprotein A-II amyloid fibrils (AApoAII) and protein A amyloid fibrils (AA). *Am J Pathol* 171: 172-180, 2007
- ## 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 (AApoAII) 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)
- 4) 澤下仁子, 鬼塚さやか, 源野広和, 立石紀彦, 飯野文枝, 石川忍, 長岩利幸, 村上武雄, 関洋一, 花岡正明, 濱澄男, 能勢博, 樋口京一: 熟年世代に対する食事指導とインターバル速歩トレーニングの併用効果. 日本基礎老化学会第29回大会 (2006. 6. 15 長崎)
- 5) 島田厚良, 慶野裕美, 森政之, 樋口京一, 佐藤衛, 千葉陽一, 齋藤優子, 細川昌則: SAM マウスをモデルとした脳の老化変性に関わる遺伝子の探索. 日本基礎老化学会第29回大会 (2006. 6. 15 長崎)
- 6) 森政之, 樋口京一: 熟年体育大学を基盤とした運動反応性遺伝子の研究. 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「運動と健康: 生活習慣病予防をめざした運動と体質」 (2007. 1. 27 松本)
- 7) 森政之, 信州大学遺伝子研究コンソーシアム,

NPO 法人熟年体育大学リサーチセンター，田原康玄，三木哲郎，宮川健，能勢博，樋口京一：松本市熟年体育大学受講者における遺伝子多型と生活習慣病関連指標との遺伝相関解析．日本基礎老化学会第 30 回大会（2007. 6. 21 札幌）

8) 森政之，櫻井晃洋，福嶋義光，田原康玄，三木哲郎，宮川健，能勢博，樋口京一，信州大学遺伝子研究コンソーシアム，NPO 法人熟年体育大学リサーチセンター：松本市熟年体育大学受講者における運動による生活習慣病関連指標の改善効果に対する遺伝子多型の関与．日本遺伝子診療学会第 14 回大会（2007. 7. 27 松山）

9) 森政之，樋口京一：熟年体育大学を基盤とした運動反応性遺伝子の研究．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「運動と健康：生活習慣病予防をめざした運動と体質」（2008. 3. 1 松本）

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

生活習慣病改善および／または体力増強を目的とした運動処方に対する感受性について，特定の遺伝子あるいは遺伝子群（以下，運動処方反応性遺伝子あるいは運動処方反応性遺伝子群という）の型を調べ，前記運動処方反応性遺伝子あるいは運動処方反応性遺伝子群の型に基づき，被験者の生活習慣病および／または体力増強を目的とした運動処方に対する感受性を予測することを特徴とする，運動処方に対する感受性を予測する方法（平成 19 年 7 月 24 日提出）

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

**(資料3) ヒト遺伝子研究への協力についての意志の確認書**



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

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

以上について、説明文書を用いて説明を受けたことをチェックを入れて確認し、次に研究協力及び結果の開示についての意思を明らかにします。(1・2・3のいずれか及び4・5のいずれかに○を付け、署名して下さい。)

1. 本遺伝子解析研究のために試料を提供します。また、私の試料が将来、実施される遺伝子解析を含む医学研究に使用されることに同意します。
2. 本遺伝子解析研究のために試料を提供します。しかし、私の試料を将来、医学研究に使用しないでください。
3. 本遺伝子解析研究のために試料を提供することに同意しません。

本人氏名：

---

住所：

---

電話：

---

平成 年 月 日

本人署名または記名・押印：

---

\*本意思の確認書のコピー一部を必ずもらってください。

## (資料4) 「ヒト遺伝子研究」説明文書

## 「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のかどうか、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たさない範囲内で、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、そうでない人たち、聴力障害がある人とそうでない人たちなど、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等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する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。



## 松本市熟年体育大学を基盤とした 生活習慣病ならびに運動処方感受性遺伝子探索のための遺伝子多型解析

分担研究者

三 木 哲 郎

愛媛大学大学院医学系研究科生命多様性医学講座加齢制御内科学・教授

### 研究要旨

生活習慣病や運動処方感受性遺伝子を明らかにする目的で、松本市熟年体育大学参加者を対象に遺伝子多型の分析を行った。種々の候補遺伝子について、1 遺伝子あたり 2 つの SNP（計 137SNP）をピックアップし、469 例を対象として分析を行ったところ、技術的な理由から 123SNP について分析を終えた。加えて、別途収集された 572 例のサンプルについて、当初の検討で有意な相関を示した 18SNP について分析を行った。

### A. 研究目的

生活習慣病の発症・進展には、複数の環境因子と遺伝因子とが交絡して影響している。このゲノムネットワークは、疾患発症のみならず、薬物や介入などによる改善効果に関しても同様である。高齢社会を目前に、個人の遺伝的背景に基づいた適切な運動指導方法の確立が望まれている。一方、松本市熟年体育大学では、以前より、インターバル速歩をベースとした運動処方を行うとともに、個人の運動量や成果を定量的に把握してきた。そこで本研究では、運動介入効果の遺伝的背景を、生活習慣病も含めて明らかにする目的で熟年体育大学受講者を対象にした感受性遺伝子解析を行った。

### B. 研究方法

対象は松本市熟年体育大学の受講者とした。このうち、本研究に対して書面にて同意の得られた 469 例を解析対象とした。加えて、同様の手続きの下であらたに収集された 572 例についても解析対象とした。

対象者の DNA は、信州大学において末梢血より定法に則って抽出した。このうち約 50ng の供与を受け、全ゲノム増幅を行ってから分析に供した。

遺伝子解析は候補遺伝子アプローチとし、信州大学と共同で、血圧、糖代謝、脂質代謝、骨代謝、エネルギー代謝、難聴、老化などの分野において、今までに種々の疾患や介入効果との関連が示唆されている 137 個の SNP をピックアップした。SNP の分析は TaqMan プローブ法で行った。原則的に

1 遺伝子あたり 2 つの SNP 解析することとし、同一遺伝子内で適度に遺伝的距離が離れているものを選別した。ただし 2 つの SNPs 間で連鎖不平衡は考慮しなかった。選別にあたっては、日本人を対象とした JSNP データベースを用い、マイナーアレル頻度が 5%以上であることを条件とした。ただし、技術的に解析が困難であるものは上記の条件を満たした場合でも解析から除外した。

上記の解析で有意な相関が認められた SNP については、新たに収集された 572 例を対象に再現性を検証した。

#### （倫理面への配慮）

愛媛大学においては、医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会より、研究課題名「生活習慣病、動脈硬化性疾患、ならびに抗加齢に関する遺伝疫学研究」として承認を得ている。本研究実施にあたり、能勢博・信州大学大学院医学研究科スポーツ医学・教授ならびに樋口京一・信州大学大学院医学研究科加齢生物学・教授を共同研究者として追加申請し承認を得た。

信州大学においても、同様に医学部倫理委員会による研究計画の承認を得ている（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）。対象者には、本研究の主旨を十分に説明し、書面にて同意を得た。個人情報 は、適切に匿名化されている。遺伝子解析を行うにあたり、愛媛大学では供与を受けた情報は匿名化コードのみである。一連の手続きは、我が国におけるヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守したものであり、本研究における倫理面への配慮は十分であると判断した。

### C. 研究結果

分析予定の 137 個の SNP を表 1 に示した。また、分析が終了した SNP と頻度を表 2 に示した。SNP

の選択にあたり、最小アレル頻度が 5%以上であることを 1 つの基準としたが、分析結果をみると、本研究対象でも同様の頻度が観察された。なお、表中の SNP\_ID は愛媛大学での管理番号である。

表 1 分析予定の SNP

SNP_ID	シンボル	遺伝子名	rs番号/SNP名
572	ADIPOQ	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	rs1501299
573	ADRA1A	adrenergic, alpha-1A-, receptor	rs1048101
574	ADRA1A	adrenergic, alpha-1A-, receptor	rs1383914
575	ADRA2A	adrenergic, alpha-2A-, receptor	rs1800038
576	ADRB2	adrenergic, beta-2-, receptor, surface	rs1042718
577	ADRB2	adrenergic, beta-2-, receptor, surface	ADRB2-1-GORA
578	ADRB3	adrenergic, beta-3-, receptor	rs2071493
579	ADRB3	adrenergic, beta-3-, receptor	ADRB3-1-TORC
580	ALOX15	arachidonate 15-lipoxygenase	rs748694
581	ALOX5	arachidonate 5-lipoxygenase	rs2288619
582	APOC3	apolipoprotein C-III;apolipoprotein A-I	rs5128
583	ASIP	agouti signaling protein, nonagouti homolog (mouse)	rs2424984
584	ATP5C1	ATP synthase, H <sup>+</sup> transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1	rs2070594
585	AVPR1A	arginine vasopressin receptor 1A	rs1042615
586	AVPR1A	arginine vasopressin receptor 1A	rs3759292
587	BMP2	bone morphogenetic protein 2	rs2273073
588	BTBD4	BTB (POZ) domain containing 4;	rs2253823
589	BTBD4	BTB (POZ) domain containing 4;	rs1058319
590	Clorf121	chromosome 1 open reading frame 121	rs3795479
591	CLCN6	chloride channel 6;5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	rs1801133
592	CLDN20	claudin 20;transcription factor B1, mitochondrial	rs324356
593	COCH		COCH-2-CORG
594	COL11A2	collagen, type XI, alpha 2	rs2272904
595	COL11A2	collagen, type XI, alpha 2	rs2254287
596	COL9A1	collagen, type IX, alpha 1	rs1135056
597	COL9A1	collagen, type IX, alpha 1	rs592121
598	CPSF4	cleavage and polyadenylation specific factor 4, 30kDa	rs2293256
599	DENND1	dendrin;protein kinase, AMP-activated, gamma 1 non-catalytic subunit	rs2293445
600	DFNA5	deafness, autosomal dominant 5	rs754555
601	DFNA5	deafness, autosomal dominant 5	rs2269812
602	EPDR1	ependymin related protein 1 (zebrafish);secreted frizzled-related protein 4	rs1132552
603	ESRRA		ESRRA-1-CORT
604	FLJ31166	hypothetical protein FLJ31166	rs2742115
605	FOXO1A	forkhead box O1A (rhabdomyosarcoma)	rs3751436
606	FRZB	frizzled-related protein	rs7775
607	GCK	glucokinase (hexokinase 4, maturity onset diabetes of the young 2)	rs2971679
608	GCK	glucokinase (hexokinase 4, maturity onset diabetes of the young 2)	rs1799884
609	GJA4	gap junction protein, alpha 4, 37kDa (connexin 37)	rs2236214
610	GJB2	gap junction protein, beta 2, 26kDa (connexin 26)	GJB2-1-CORT
611	GJB2	gap junction protein, beta 2, 26kDa (connexin 26)	rs2274084
612	GJB6	gap junction protein, beta 6 (connexin 30)	rs945369
613	GJB6	gap junction protein, beta 6 (connexin 30)	GJB6-1-AORC
614	GSK3B	glycogen synthase kinase 3 beta	rs334558
615	GSK3B	glycogen synthase kinase 3 beta	rs6438552
616	HSD11B1	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1	rs2282740
617	HSD11B1	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1	rs12086634

表1 分析予定のSNP (つづき)

SNP_ID	シンボレ	遺伝子名	rs番号/SNP名
618	IL6		IL6-CORG
619	IRS1	insulin receptor substrate 1	rs1801278
620	KCNQ4	potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 4	KCNQ4-1-CORT
621	KCNQ4	potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 4	rs913378
622	KL	klotho	rs1207568
623	KLOTHO		KLOTHO-2-CORG
624	LEP		rs2167270
625	LEPR	leptin receptor	rs1805096
626	LIPG		LIPG-CORT
627	LMNA	lamin A/C	rs4641
628	LOC389286	similar to FKS62;protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit	rs466108
629	LPL	lipoprotein lipase	rs328
630	LRP5	low density lipoprotein receptor-related protein 5	rs2306862
631	MCEMP1	mast cell-expressed membrane protein 1;resistin	rs1862513
632	MEDCF2	methyl CpG binding protein 2 (Rett syndrome)	rs1059703
633	MTHFR	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	rs2274976
634	MTP	microsomal triglyceride transfer protein (large polypeptide, 88kDa)	rs2306986
635	MTP	microsomal triglyceride transfer protein (large polypeptide, 88kDa)	rs1800591
636	MVD	mevalonate (diphospho) decarboxylase;interleukin 17C	rs4673
637	MYH1	myosin, heavy polypeptide 1, skeletal muscle, adult	rs3744563
638	MYH2	myosin, heavy polypeptide 2, skeletal muscle, adult	rs1017068
639	MYH9	myosin, heavy polypeptide 9, non-muscle	rs2239786
640	MYO6	myosin VI	rs2842549
641	MYO6	myosin VI	rs2273857
642	MYO7A	myosin VIIA (Usher syndrome 1B (autosomal recessive, severe))	rs1052030
643	MYO7A	myosin VIIA (Usher syndrome 1B (autosomal recessive, severe))	rs2276288
644	NOS3		NOS3-1-TORC
645	NOS3		NOS3-2-GORT
646	NOX4	NADPH oxidase 4	rs3816123
647	NOX4	NADPH oxidase 4	rs2289122
648	NRF1	nuclear respiratory factor 1	rs1882094
649	OLR1	oxidised low density lipoprotein (lectin-like) receptor 1	rs3736232
650	PBEF1	pre-B-cell colony enhancing factor 1	PBEF1-1-AORC
651	PBEF1	pre-B-cell colony enhancing factor 1	rs3801266
652	PK4	pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4	rs2073977
653	PN1	paraoxonase 1	rs662
654	PPARA	peroxisome proliferative activated receptor, alpha	rs1800206
655	PPARG	peroxisome proliferative activated receptor, gamma	rs1805192
656	PPARGC1A	peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1, alpha	rs3736265
657	PPARGC1A	peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1, alpha	rs8192678
658	PPARGC1B	peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1, beta	rs7732671
659	PRKAB1	protein kinase, AMP-activated, beta 1 non-catalytic subunit	rs1062688
660	PRKAB1	protein kinase, AMP-activated, beta 1 non-catalytic subunit	rs6490266
661	PRKAB2	protein kinase, AMP-activated, beta 2 non-catalytic subunit	rs1348316
662	PRKAB2	protein kinase, AMP-activated, beta 2 non-catalytic subunit	rs6937
663	PRKAG2	protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit	rs8961
664	PRKAG2	protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit	PRKAG2-1-CORG
665	PRKCB1		PRKCB1-2-CORT
666	RAI1	retinoic acid induced 1;sterol regulatory element binding transcription factor 1	rs4925115
667	RETN	resistin;mast cell-expressed membrane protein 1	rs3745367
668	RXRA	retinoid X receptor, alpha	rs1805352
669	RXRA	retinoid X receptor, alpha	rs1045570

表 1 分析予定のSNP (つづき)

SNP_ID	シンボル	遺伝子名	rs番号/SNP名
670	RXRβ	retinoid X receptor, beta	RXRβ-1-CORT
671	RXRβ	retinoid X receptor, beta	RXRβ-2-CORT
672	RXRγ	retinoid X receptor, gamma	rs2134095
673	RXRγ	retinoid X receptor, gamma	rs3753897
674	SCD	stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase)	rs3793768
675	SCD1		SCD1-1-CORG
676	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	rs7013229
677	SFRP2	secreted frizzled-related protein 2	rs3810765
678	SIRT1	sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) 1 (S. cerevisiae)	rs2236318
679	SIRT1	sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) 1 (S. cerevisiae)	rs3740051
680	SLOC6A2	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, noradrenalin); member 2	rs2242446
681	SLOC6A2	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, noradrenalin), member 2	rs5569
682	SREBF2	sterol regulatory element binding transcription factor 2	rs2269657
683	SREBF2	sterol regulatory element binding transcription factor 2	SREBF2-2-CORG
684	STRN3	striatin, calmodulin binding protein 3	rs1045644
685	TATDN2	TatD DNase domain containing 2;ghrelin precursor	rs2075356
686	TATDN2	TatD DNase domain containing 2;ghrelin precursor	rs696217
687	TCFL5	transcription factor-like 5 (basic helix-loop-helix);collagen, type IX, alpha 3	rs2294995
688	TECTA	tectorin alpha	rs520805
689	TECTA	tectorin alpha	rs2155369
690	TFAM	transcription factor A, mitochondrial	rs11006128
691	TFB1M	transcription factor B1, mitochondrial;claudin 20	rs3940
692	TFB2M	transcription factor B2, mitochondrial	rs3129568
693	TNF	tumor necrosis factor	rs1800629
694	TNFA		TNFA-2-CORT
695	UCP1	uncoupling protein 1 (mitochondrial, proton carrier)	rs2270565
696	UCP2	uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	rs659366
697	UCP2	uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	rs660339
698	UCP3	uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier)	rs1800849
699	UCP3	uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier)	rs2075577
700	WFS1	Wolfram syndrome 1 (wolframin)	rs734312
701	WFS1	Wolfram syndrome 1 (wolframin)	rs1805070
702	WRN	Werner syndrome	rs2725362
703	YBX2	Y box binding protein 2	rs5435
711	ADRA2C		
712	ADRA1D	adrenergic, alpha-1D-, receptor	rs3803964
713	ADRA1D	adrenergic, alpha-1D-, receptor;spermine oxidase	rs709024
714	ADRA2B	adrenergic, alpha-2B-, receptor	rs3813662
715	ADRB1	adrenergic, beta-1-, receptor	rs1801253

#### D. 考察

当初解析を予定した 137SNP のうち、技術的な理由により一定の精度をもってタイピングでいたのは 123SNP であった。残りの 14SNP については、PCR 反応時の温度やプライマー/プローブの濃度調整等、反応条件の個別設定を行ったものの、TaqMan 法での分析は不可能であった。原因として、SNP 周辺領域の DNA 配列が影響しているものと考えられる。1 遺伝子あたり 2SNP を解析していることから、分析が出来なかった SNP については、同一遺伝子上の別の SNP の疾患感受性をみつつ、

必要に応じて別の方法で分析を進めることが妥当といえる。

上記の解析で有意な相関が認められた 18SNP について、新たに収集された 572 例を対象に分析を行った (表 3)。これについては、いずれも分析が可能であった。

#### E. 結論

松本市熟年体育大学参加者を対象に収集された 469 例、および追加の 572 例について、総計 141SNP の分析を終えた。