

運動が加齢に伴う筋ミトコンドリア DNA の
突然変異の蓄積を抑制できるか

(研究課題番号 10680015)

平成 10 年度～平成 11 年度科学研究費補助金 (基盤研究 C)
研究成果報告書

平成 12 年 3 月

研究代表者 久野 譜也

(筑波大学体育科学系講師)

筑波大学図書館



I はしがき

わが国はすでに高齢化社会に突入し、平成 6 年には高齢化率（65 歳以上人口）が 14.1%に達している。また、65 歳以上の要介護者数（寝たきりも含む）は、昭和 61 年から平成 4 年までの 6 年間に約 1.6 倍も増加している。したがって、高齢になっても多くの者が心身を含めたよりアクティブな生活（quality of life）を営むことができることは、本人における充足度の達成と同時に、医療費軽減など社会に及ぼすインパクトも非常に大きいものと思われる。

ところで、ここ数年加齢にともないエネルギー産生において重要な役割をもつミトコンドリアの DNA（mtDNA）突然変異の蓄積が、アルツハイマー病や糖尿病の発病原因の一つであることが明らかにされてきた。また、単に病気という観点のみでなく、高齢になるとたとえ健康であっても活動量が減少するが、それは mtDNA 突然変異の蓄積がエネルギー産生系の低下をもたらした結果である可能性が指摘されている。すなわち、mtDNA の突然変異の蓄積は、エネルギー産生系からみた老化現象を引き起こす主要因ということになる（Linnanc ら 1989 年）。

したがって、老化を抑制するためには、mtDNA 突然変異の蓄積を抑制すれば良いことになる。この抑制に関しては、臨床医学領域も含め様々なアプローチの仕方が考えられるが、運動そのものがその抑制策になることは十分に予想される。なぜならば、高齢ランナーにおける脚筋のミトコンドリア系酵素活性は、一般若年者と同様な能力が維持されていることから明らかにされているためである。

そこで我々は、長期にわたるトレーニングが、mtDNA の突然変異の蓄積に対する抑制効果を及ぼすものと仮定した。それを明らかにするために本研究では、運動の種類・強度・頻度・ライフスパンにおける開始時期などを影響を考慮しながら、老化予防につながる mtDNA の突然変異の蓄積の抑制策として望ましい運動形態を明らかにしようとするものである。

研究組織

研究代表者

久野 譜也 (筑波大学体育科学系 講師)

研究分担者

勝田 茂 (筑波大学体育科学系 教授)
林 純一 (筑波大学生物科学系 助教授)
宮崎 りか (筑波大学体育科学系 助手)

研究経費

平成 10 年度 2,100 千円
平成 11 年度 1,200 千円

研究発表

論文発表

1. 久野譜也, 村上晴香: 運動時の筋細胞のエネルギー生産機構を分子で探る-
b) 運動とミトコンドリア-, 運動と筋の分子生物学, 山田 茂編, ナップ
(印刷中)

Tran Tuan – Khanh, Napapon Sailasuta, Ulrike Kreutzer, Ralph Hurd, Youngran Chung,
Paul Mole, Shin-ya Kuno and Thomas Jue : Comparative analysis of NMR and
NIRS measurements of intracellular PO₂ in human skeletal muscle, Am. J.
Physiol., 276 : R1682-R1690, 1999.

Ito Sayaka, Shigeo Ohta, Kiyomi Nishimaki, Yasuo Kagawa, Rika Soma, Shin-ya Kuno,
Yasuko Komatsuzaki, Hidehiro Mizusawa and Jun-ichi Hayashi : Functional
integrity of mitochondrial genomes in human platelets and Autopsied brain
tissues from elderly patients with Alzheimer's disease, Proc. Natl. Acad. Sci. USA,
96 : 2099-2103, 1999.

久野譜也, 増田和実: 運動誘発性筋損傷と遅発性筋痛, 整形・災害外科, 42 :
627-638, 1999.

学会発表

1. Sasaki Shinya, Shigeru Katsuta, Haruka Murakami, Rika Soma, Daisaku Takai,
Junichi Hayashi, Yukio Iwamura and Shin-ya Kuno : Effect of Endurance Training
on Accumulation of Age-Associated Mitochondrial DNA Deletions in Old Rats, Third
annual congress of the European College of Sport Science, Manchester, England,
July. 1998.
2. 久野譜也, 佐々木心哉, 増田和美, 村上晴香, 下修仁士, 岩村幸雄, 岡田
守彦, 勝田 茂: 持久的トレーニングがヒト骨格筋ミトコンドリア DNA の
突然変異の蓄積に及ぼす影響, 第53回日本体力医学会, 横浜, 1998.
3. 佐々木心哉, 久野譜也, 岩村幸雄, 岡田守彦, 勝田 茂: 高齢期により開
始した持久的トレーニングは加齢に伴うミトコンドリア DNA の突然変異の
蓄積を統御できるか?, 第53回日本体力医学会, 横浜, 1998.
4. 相馬りか, 村上晴香, 勝田 茂, 岡田守彦, 久野譜也: 有酸素性作業能力
とミトコンドリア酸素活性の関連-ミトコンドリア DNA に注目して-, 第5
3回日本体力医学会, 横浜, 1998.
5. Kuno Shin-ya : Muscle characteristics in athlete and elderly. Symposium " Muscle
training from molecule to man".(招待講演) 13th Asian Games Scientific Congress,
Thailand, 1998.
6. Kuno Shin-ya, Shinya Sasaki, Rika Soma, Yukio Iwamura, Junichi Hayashi,
Morihiro Okada. and Shigeru Katsuta : Relationship Between exercise training and
mutation of muscle mitochondrial DNA in human. 46th American College of Sports
Medicine Annual Meeting, Seattle, 1999.

7. Soma Rika, Haruka Murakami, Masaki Sugita, Shin-ya Kuno and Morihiko Okada : Relationship between mitochondrial oxygen consumption and aerobic Capacity, 46th American College of Sports Medicine Annual Meeting, Seattle, 1999.
8. 村上晴香, 相馬りか, 久野譜也, 鯨坂隆一, 松田光生, 岡田守彦, 勝田 茂 : 持久的トレーニングの効果における個人差とミトコンドリア DNA の関係. 第 54 回日本体力医学会, 熊本, 1999.
9. 相馬りか, 村上晴香, 久野譜也, 岡田守彦, 林 純一 : ミトコンドリア機能と持久性運動能力に対するミトコンドリア DNA の影響. シンポジウム「ミトコンドリア DNA と人間生態」第 53 回日本人類学学会, 東京, 1999.

II 研究の概要

ミトコンドリア DNA は (mtDNA) には多くの点変異や欠失が存在し、様々な病気や身体症状の原因となっている。特に common deletion と呼ばれる長さ 4.977bp の欠失 (mtDNA⁴⁹⁷⁷) は加齢にともない増加することが知られている。我々はすでに、2 ヶ月間の持続的トレーニングによって若年者においても mtDNA⁴⁹⁷⁷ が検出されることを報告した (ACSM,1999)。しかし、急性運動がヒト骨格筋の mtDNA 欠失に及ぼす影響については明らかになっていない。本研究では、若年者の骨格筋において、急性運動および長期間の運動が mtDNA⁴⁹⁷⁷ に及ぼす影響を比較することを目的とした。【方法】被験者は成人男性 6 名であった。被験者は、急性運動および持続的トレーニングの 2 つの運動プログラムに参加した。急性運動は漸増負荷する自転車運動を疲労困憊まで行い、持続的トレーニングは運動負荷 70%VO₂max の自転車運動を 1 日 1 時間、週 3.5 日、8 週間行った。被験筋は外側広筋とし、筋生検は運動前、急性運動 1 日後、持続的トレーニングプログラム終了後の 3 回行われた。筋から全 DNA を抽出し、1 段階の PCR 法によって mtDNA⁴⁹⁷⁷ を検出、評価した。【結果および考察】運動前、いずれのサンプルにおいても欠失は検出されなかった。持続的トレーニング後は全ての筋サンプルに欠失がみられた。急性運動後は、5 つのサンプルから欠失が検出されたが、その程度は持続的トレーニング群よりも小さかった。これらの結果は定量することによって再検討する必要があると思われる。

ABSTRACTS OF RESEARCH PROJECT, GRANT-IN-AID
FOR SCIENTIFIC RESEARCH (1999)

1. RESEARCH INSTITUTION NUMBER : 12102
2. RESEARCH INSTITUTION : University of Tsukuba
3. CATEGORY : C
4. TERM OF PROJECT (1998~1999)
5. PROJECT NUMBER : 10680015
6. TITLE OF PROJECT : Effect of endurance training on accumulation of age-associated mitochondrial DNA deletions in old rats.
7. HEAD INVESTIGATOR : 70242021 Shinya, KUNO Institute of Health and Sport Sciences. Professor
8. INVESTIGATORS : (1) 70038446 Shigeru, KATSUTA Institute of Health and Sport Sciences. Professor
(2) 60142113 Jun-Ichi, HAYASHI Institute of Biological Sciences. Associate Professor
(3) 20292542 Rika, Miyazaki Institute of Health and Sport Sciences. Research Associate

9. SUMMARY OF RESEARCH RESULTS

It has been proposed that age-associated decline of muscle metabolism of energy product are resulted from the accumulation of mitochondrial DNA (mtDNA) deletions in several species (Linnane et al., 1989). However, age-associated mt DNA deletions have not been successfully detected in the rat skeletal muscles (Filser et al., 1997). Exercise has been known to improve the muscle metabolism and then may have a benefit to prevent the accumulation of mtDNA deletions with age. As long as we know, little has been known about the effects of exercise on the accumulation of mtDNA deletions so far. The purpose of this study was to detect the age-associated mtDNA deletions in the rat skeletal muscles, and to examine whether endurance training effects on the accumulation of mtDNA deletions with age in different type of skeletal muscle. We used forty five Wistar male rats (10 wks: n=29, 90 wks: n=16) in this study. Young rats were divided into three groups (20 m/min training group, 30 m/min training group

and control group) and old rats were divided into two groups (20 m/min training group and control group). The training protocol consisted of 60 min, 5 days/wk for 10 wks. MtDNA of m. soleus (SOL) and m.plantaris (PLA) were analyzed by polymerase chain reaction (PCR). The presence of age-associated 4.8-kb deletion (common deletion) and the number of deletion products detected per rat were examined. The presence of common deletion was evaluated by the number of rats in each group and the number of deletion was estimated by counting the deletion products visualized per rat. Two of the young rats (6.9%) and nine of the old rats (56.3%) had common deletion in SOL, while two of the young rats (6.9%) and fifteen of the old rats (93.8%) had in PLA. No effect of the endurance training on the presence of common deletion was seen in either the young group or the old group. In the old group, the presence of common deletion was higher in PLA than that in SOL. The numbers of deletion in PLA increased with age significantly ($p < 0.01$). However the numbers of deletion in SOL showed no significant difference between the young and the old groups. The training effect on the numbers of deletion was not observed in any groups. In the young group, the number of mtDNA deletion products in SOL was higher than that in PLA. In the old group, however, the value was lower in SOL than in PLA.

In conclusion, we could detect the accumulation of age-associated mtDNA deletions of the rat skeletal muscles, and observed no endurance training effect on that in this study. Moreover, the accumulation of mtDNA deletions can be specific according to fiber types.

10. KEY WORDS

(1) aging

(2) exercise

(3) mitochondrial DNA