

日本人トップアスリートの身体運動能力を規定するミトコンドリア DNA 多型の探索

スポーツ科学研究科 身体運動科学研究領域

5008a055-5 三上 恵里

研究指導教員:樋口 満 教授

I. 背景

一流競技者という極めて優れた身体運動能力が要求される表現型において、遺伝要因は競技能力を規定する因子の一つである。これまでに、欧米人のデータを中心に、身体運動能力や健康関連体力に影響を及ぼす約 200 種の遺伝子多型が報告されており、その大部分は核 DNA 多型であるが、近年、身体運動能力と関連する mtDNA 多型も報告されている。

ミトコンドリアはほとんどの真核生物が持つ細胞内小器官であり、内膜に組み込まれた電子伝達系および ATP 合成酵素における酸化的リン酸化反応は、生命活動や身体活動に不可欠なエネルギーを絶えず供給している。ミトコンドリアは核とは別に独自の遺伝情報を持ち、それはミトコンドリア DNA (mtDNA) と呼ばれている。16569 塩基対からなる環状二重鎖の mtDNA は、酸化的リン酸化に不可欠な 13 種のタンパク質をコードしており、母系遺伝するという性質を持つ。疫学研究において有酸素性運動能力は父親より母親の影響をうけるということが報告されている。また、ある種の mtDNA の変異は運動不耐能と関連することが知られている。これらのことから mtDNA 多型は身体運動能力に影響を及ぼしている可能性がある。そこで本研究は、日本人トップアスリートを対象として、mtDNA 多型と身体運動能力との関連性を検討することとした。

II. 研究課題1 「日本人トップアスリートに関連するミトコンドリアハプログループ」

i. 緒言

類似した mtDNA のハプロタイプをまとめたものを、ミトコンドリアハプログループと呼ぶ。近年このミトコンドリアハプログループが、ヨーロッパ人およびアフリカ人において、一流持久系競技者の競技能力と関連していることが報告されている。しかしながら、アジア人においてミトコンドリアハプログループと身体運動能力との関連性は明らかとなっていない。ミトコンドリアハプログループの分布には地域的な多様性が存在し、アフリカやヨーロッパで認められるほとんどのハプログループは日本人を含むアジア人においては存在しない。したがって、アジア人におけるミトコンドリアハプログループと運動能力との関連性はアジア人を対象として独自に行っていく必要がある。

そこで研究課題1の目的は、日本人トップアスリートの運動能力とミトコンドリアハプログループとの関連性を明らかにすることとした。

ii. 対象および方法

対象: 過去にオリンピック出場経験のある日本人 141 名を対象とし、専門種目の競技特性により、一流持久系競技者 (EA) 群 81 名、および一流瞬発系・パワー系競技者 (SPA) 群 60 名へと分類した。コントロール (CON) 群として、ヒトミトコンドリアゲノム多型データベース上の日本人 672 名のデータを用いた。**方法:** 競技者群の静脈血より総 DNA を抽出し、mtDNA の Hypervariable sequence I (HVS-I) および 5178 番目の塩基部位を含む DNA 断片を PCR 法にて増幅した。増幅断片の塩基配列を直接塩基配列決定法により

解析し、改訂版ケンブリッジ参照配列との比較により多型を抽出した。HVS-I およびいくつかのタンパクコード領域の多型から日本人に主要な 12 のハプログループに分類し、競技者群とコントロール群の間でハプログループの頻度比較を行った。

iii. 結果

EA 群と CON 群間、および SPA 群と CON 群間におけるハプログループの分布比較を図1に示した。EA 群のハプログループ G1 の頻度(8.9%)は CON 群(3.7%)と比較して有意に高かった(オッズ比:2.52 [95%信頼区間:1.05-6.02], $P=0.032$)。

一方、SPA 群のハプログループ F の頻度(15.0%)は、CON 群(6.0%)と比較して有意に高かった(オッズ比:2.79 [95%信頼区間:1.28-6.07], $P=0.007$)。

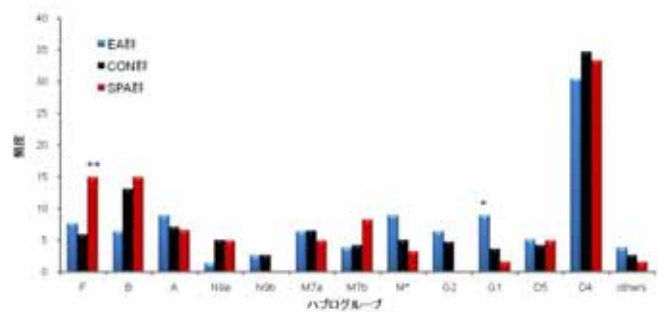


図1.ハプログループの分布比較

*: $P<0.05$ vs CON 群, **: $P<0.01$ vs CON 群

iv. 考察

本研究では、一流持久系競技者群においてハプログループ G1 の頻度がコントロール群と比較して有意に高かった。ミトコンドリアの主な機能は、酸化的リン酸化による ATP の生成であるが、より強く共役した酸化的リン酸化は熱産生を減少させ、結果として ATP の産生効率が増加すると考えられる。このような ATP 生成効率は、ハプログループ G1 と優れた有酸素性運動能力を持つ一流持久系競技者との関連性を部分的に説明できる可能性がある。Okura et al. (2003)は、中高年の男女においてハプログループ G1 を規定する多型の一つが肥満と関連することを報告している。したがって、ハプログループ G1 は、ATP 産生効率の良い遺伝子型である可能性が考えられる。

また、本研究では、一流瞬発系・パワー系競技者群においてハプログループ F の頻度がコントロール群と比較して有意に高かった。ミトコンドリアは筋収縮やグリコーゲンの分解に関与する Ca^{2+} の貯蔵庫であり、細胞内の Ca^{2+} 濃度を調節している。Kazuno et al. (2006)は、マクロハプログループ N が細胞内の Ca^{2+} 動態と関連していることを報告している。ハプログループ F はマクロハプログループ N の構成要素であるので、ハプログループ F は細胞内の Ca^{2+} 濃度の調節を介して、解糖系による ATP 生成速度もしくは筋収縮の速度に関連しているかもしれない。

III. 研究課題2 「日本人トップアスリートにおけるミトコンドリアゲノム全塩基配列の決定」

i. 緒言

研究課題1では、mtDNA の中でも遺伝子をコードしていないHVS-Iといくつかのタンパクコード領域のみを解析することにより、ミトコンドリアハプログループに分類し、競技能力との関連性を検討した。HVS-I の塩基配列を元にしたハプログループの分類は、非常に簡便で迅速な方法ではあるが、関連性の認められたハプログループが有する機能的に重要な多型までを明らかにすることはできない。先行研究により、日本人のハプログループを規定する遺伝子コード領域の多型は示されているが(Tanaka et al., 2004), 研究課題1においてHVS-Iの解析によりそれぞれのハプログループに分類された人々が実際にそれらの多型を有しているかは確かではない。したがって、遺伝子コード領域の機能的な多型を解析するためには mtDNA 全塩基配列の決定が不可欠である。

さらに、先行研究においてハプログループをさらに細分化したサブハプログループの D4a が長寿と関連することが報告されている(Bilal et al., 2008)。図1に示すように日本人の多くがハプログループ D4 分類されることから、ハプログループ D4 を詳細に解析するためにも mtDNA 全塩基配列の決定が必要である。

そこで研究課題2の目的は、日本人トップアスリートの mtDNA 全塩基配列の決定を行うことにより、競技能力に関連したハプログループが有する機能的な多型を明らかにすること、また競技者群 96 名をサブハプログループにまで分類し、それらと競技能力との関連性を検討することであった。

ii. 対象および方法

対象: 研究課題1の競技者群 141 名から無作為に選出した 96 名を対象とした。競技特性により分類すると一流持久系競技者(EA)群が 52 名、一流瞬発系・パワー系競技者(SPA)群が 44 名であった。コントロール(CON)群としてヒトミトコンドリアデータベース上の日本人 672 名のデータを用いた。**方法:** 競技者群の静脈血から総 DNA を抽出し、PCR 法にて mtDNA を互いにオーバーラップする 60 の断片として増幅し、直接塩基配列決定法により mtDNA 全塩基配列の決定を行った。改訂版ケンブリッジ参照配列との比較により得られた多型から、ハプログループおよびサブハプログループへの分類を行った。

iii. 結果

ハプログループ G1 を規定する 4 つの多型(m.7867C>T, m.8200T>C, m.15323G>A, m.15497G>A)は、研究課題1でハプログループ G1 に分類されたすべての人が保有している一方で、ハプログループ G1 以外に分類される競技者は一人も持っていなかった。本研究課題は 96 名のみでの解析であったため統計パワーが不足し有意差は得られなかったが、これら 4 つの多型はすべて EA 群で頻度が高い傾向があった。

瞬発系・パワー系競技者に関連していたハプログループ F を規定する 6 つの多型(m.248delA, m.3970C>T, m.6392T>C, m.10310G>A, m.13928G>C, m.16302T>C)は、研究課題1でハプログループ F に分類された人全員が必ず保有しており、m.248delAを除いて、これらの多型はハプログループ F に分類される競技者以外は一人も保有していなかった。これらの多型は全て SPA 群で有意に頻度が高かった($P=0.010\sim 0.044$)。

ハプログループ D4 をさらにサブハプログループまで分類し、EA 群と CON 群, SPA 群と CON 群の間でサブハプログループの頻度比較を行った。その結果 EA 群は CON 群と比較し、サブハプログループ D4e の頻度が有意に高いことが明らかとなった(オッズ比:2.61 [95%信頼区間:1.04-6.56], $P=0.035$)。

iv. 考察

ハプログループ G1 に特異的な多型のうち、m.15323G>A 多型および m.15497G>A 多型はタンパクコード領域に存在し、アミノ酸置換を伴う非同義置換であった。これらの多型は電子伝達系複合体 III のタンパク質であるシクロム b (Cytb)にアミノ酸置換を引き起こす(図 2-1)。m.15323G>A 多型は Cytb の 193 番目のアミノ酸をアラニンからスレオニンへ、m.15497G>A 多型は Cytb の 251 番目のアミノ酸をグリシンからセリンへと置換する。興味深いことに、Okura et al. (2003)はこの m.15497G>A 多型(Cytb: Gly251Ser)が、中高年者において、肥満と関連すると報告している。また、ミトコンドリアミオパチーや運動不耐能を示す患者において m.15498G>A 変異(Gly251Asp)が報告されており、Gly251Ser のアミノ酸置換が機能的に重要である可能性がある。

ハプログループ F に特異的な多型のうち、m.13928G>C 多型は電子伝達系複合体 I の NADH 脱水素酵素複合体サブユニット 5(ND5)において 531 番目のアミノ酸をセリンからスレオニンへ置換する(図 2-2)。セリンとスレオニンの間に生じる物理化学的な相違は 58 と比較的高いので、複合体 I の機能に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられる。

また、本研究では EA 群におけるサブハプログループ D4e の頻度が CON 群の頻度と比較して有意に高かった。サブハプログループ D4e は m.11215C>T によって規定されているが、この多型は同義置換であり機能的意義は不明である。したがって、今後は mtDNA 多型だけでなく、核 DNA 多型との関連性も含めて検討してゆく必要がある。



図 2-1.ハプログループ G1 に特異的なアミノ酸置換

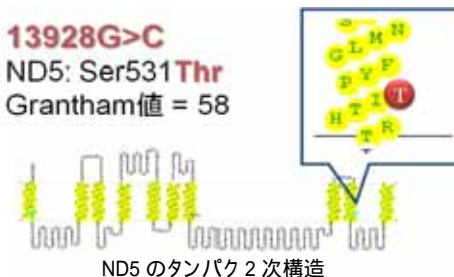


図 2-2.ハプログループ F に特異的なアミノ酸置換

IV. まとめ

日本人において特定の mtDNA 多型が一流競技者の競技能力に関連している可能性が示唆された。