

# 論 文 要 旨

Epigenetic mechanism controls *PDK4* gene activation before and after exercise therapy  
following artificial knee arthroplasty

(人工膝関節置換術後での運動療法前後における *PDK4* 遺伝子活性のエピ  
ジェネティクス制御機構)

関西医科大学健康科学教室  
(指導：木村 穰 教授)

加 茂 智 裕

## 【はじめに】

変形性膝関節症 (OA 膝) は日常生活の質を低下させる原因の一つである。OA 膝患者は疼痛からの体動困難で、体重や脂肪量が増加しているため、術後の運動療法が必要となる。しかしその効果は個人差を認める。これら運動効果の差異の要因として考えられるのが、先天的な遺伝子である「ジェネティクス」と後天的な環境の変化により遺伝子にメチル基が付加されたり、外れたりすることにより表現される「エピジェネティクス」がある。先行研究では、健常人に運動負荷を与えることで脂質代謝能に関連する Pyruvate dehydrogenase kinase-4(*PK4*)遺伝子が短期的に低メチル化を認め、脂質代謝が向上することを報告している。このことは「DNA メチル化」の存在が、骨格筋脂肪代謝の重要な要因となっている可能性を示す。しかし「DNA メチル化」の詳細については十分に解明されてはいない。

## 【研究目的】

末期変形性膝関節症患者の術後の運動療法による術前後の筋力と体組成の変化と、次世代シーケンサー(NGS)を用いて高齢者の脂肪代謝を制御する *PK4* 遺伝子のメチル化率を求め、関係性を検討することを目的とした。

## 【研究方法】

対象は関西医科大学附属病院整形外科外来を受診し、2017 年 4 月から 6 月末までに人工膝関節置換術を受けた末期変形性膝関節症患者 6 名 7 膝(男/女 4/2 名、平均年齢 75.7 歳、BMI25.1kg/m<sup>2</sup>)。

入院時と術後 5 ヶ月に DXA(Dual-energy X-ray absorptiometry)と InBody を用いて体組成を測定した。リハビリテーションは術後 3 ヶ月までは人工膝関節置換術後のクリニカルパスに準じて行い、以降 2 ヶ月はレジスタンストレーニングとエルゴメーターを用いて 40~50%強度 (カルボーネン法) の有酸素運動を 20 分、週 2 回行った。筋生検は手術時に筋採取し、術後 5 ヶ月時に生検針で検体を採取した。検体は DNA 抽出後に Bisulfite 処理を行い、NGS からメチル化率を算出した。

## 【結果】

InBody による体重(58.4±7.7kg→57.4±7.9kg, P=0.046)、DXA による総重量(58.5±7.8kg→56.5±8.8kg, P=0.027)、全身脂肪量(17.1±3.2kg→15.6±3.3kg, P=0.028)は有意に減少した。*PK4* 遺伝子の CpG island 領域にある 77 箇所の CpG サイトが配列決定できた。CpG island 転写開始点上流 185bp(83.67±2.23%→78.83±1.26%, P=0.028)、転写開始点下流 188bp(18.55±1.05%→15.94±0.95%, P=0.046)、205bp(26.80±0.34%→24.22±0.74%, P=0.027)、228bp(9.23±0.28%→8.07±0.42%, P=0.028)、261bp(4.88±0.51%→4.07±0.66%, P=0.046)、317bp(8.21±0.61%→7.67±0.24%, P=0.046)、366bp(6.68±0.66%→4.29±0.72%, P=0.028)、420bp(70.74±2.03%→65.84±1.70%, P=0.028)の 8 ヶ所/77 ヶ所で有意に低メチル化

を認めた。promoter 領域と CpG island 全体での total メチル化率では有意な低メチル化は認めなかった。しかし promoter 領域での変化量は、体重変化量との間に有意な正の相関( $r=0.880$ ,  $P=0.021$ )を認めた。また total メチル化率の変化量は、体重変化量との間に有意な正の相関( $r=0.829$ ,  $P=0.042$ )を認め、体脂肪変化量と正の相関傾向( $r=0.812$ ,  $P=0.050$ )を認めた。

### 【考察】

体重および総重量、全身脂肪量は術前後で有意に減少した。*PDK4* 遺伝子は、non-promoter 領域での 8 ヶ所で有意に低メチル化を認めたが、promoter 領域と CpG island 全体の total メチル化率は有意な変化を認めなかった。Cameron らは non-promoter 領域にも重要な役割があると報告しており、promoter 領域だけでなく、non-promoter 領域の低メチル化が表現型である体組成への影響を検討することは臨床的意義が高いと考えられた。また、本研究は *PDK4* 遺伝子の DNA メチル化をヒトの筋組織で検証しており、NGS を用いて CpG island を網羅的に「メチル化率」で評価した初めての報告である。

術前後の promoter 領域の低メチル化は認めなかったが、promoter 領域のメチル化率の変化量と体重変化量が有意な正の相関を認め、total メチル化率の変化量も体重変化量と有意な正の相関および体脂肪変化量と正の相関傾向を認めた。Constantin らによると *PDK4* 遺伝子の転写が活性化され、PDC によりピルビン酸からアセチル CoA への代謝が抑制される。そして  $\beta$  酸化による脂肪酸酸化の活性化を介して体重減少や体脂肪量の低下に寄与した可能性が考えられた。さらに、運動療法が DNA メチル化を引き起こすことで、エピジェネティックにミトコンドリア機能が活性化し、体重や体脂肪に影響を及ぼした可能性があり、promoter 領域での低メチル化が個々における運動療法の新たな効果の指標になる可能性も示唆された。我々は、筋組織で検証した「メチル化率」を末梢血でも評価できることを確認し、現在投稿中である。

以上の結果から、OA 膝術後の運動療法によって *PDK4* 遺伝子の低メチル化による脂肪代謝活性からの体組成に関与する可能性が示唆された。