

高齢者のトレーナビリティを引き出すエピジェネティクス制御機構の解明

吉原利典¹, 棗寿喜²

¹順天堂大学, ²東海大学

1. はじめに

介護・寝たきりの予防・改善にはレジスタンストレーニングが有効であることが知られているが、トレーニングに対する身体の適応（トレーナビリティ）には個体差が認められる。特に高齢者では、対象者の様々な背景が原因となり、その個人差は若年者と比較してより大きなものとなり得る。つまり、高齢者では同様の内容・頻度でトレーニングを行ったとしても、トレーニングの効果を十分に引き出せない可能性があると考えられる。一般的に、トレーナビリティの個人差を規定する要因としては、強度・時間・頻度などの運動実施条件や、疾病・体調等のコンディショニングの違いの他に、遺伝的要因がしばしば挙げられる。しかしながら、遺伝的要因がトレーナビリティの決定に与える影響は加齢に伴い低下することが知られており、トレーナビリティを規定する要因については明らかではない。すなわち、『いかにして高齢者のトレーナビリティを最大限に引き出すのか』という問いに対しては、現代の科学的エビデンスを持ってしても未だ明確な解答を持ちえない。興味深いことに、トレーニングによって得られた効果は、その中止によって容易に失われてしまうが、再び運動を開始すると以前よりも速やかな応答が認められることがある。これは、身体には適応する過程で運動刺激や運動効果を何らかの形で記憶し、再び刺激が与えられた際に速やかに適応する仕組みが備わっていることを示唆しており、過去の運動経験は高齢者のトレーナビリティを左右する重要な決定因子であると考えられる。

そこで我々は、過去の運動経験がいかにしてトレーナビリティに影響を与えるのかについて、生育環境や栄養などの環境要因による DNA 配列の変化を伴わない後天的なゲノム修飾（DNA のメチル化やヒストンのアセチル化など）、すなわちエピジェネティクス制御機構に着目し、そのメカニズムの解明に取り組んできた。これまで予備研究データとして、若年期に継続的な自発走運動経験のあるマウスでは、中年期に実施する同様のトレーニングに対して、運動経験を持たないマウスと比較して有酸素能力の向上が顕著に生じることを見出している。つまり、過去の運動経験は、遺伝子情報として記憶され（エピジェネティックメモリー）、その後のトレーナビリティにポジティブな影響を与えられ得る。さらに、近年の解析技術の発展によって、ヒトにおいても血中のエピジェネティクス修飾マーカーを簡便に測定できるようになり、このような血中のヒストン修飾状態とトレーナビリティとの関連を明らかにすることで、現場や臨床にも応用可能な生化学マーカーとなり得る。過去の運動経験が高齢期におけるトレーナビリティに関与していることを明らかにできれば、若年期における運動の重要性に関する説得力のある証拠を示すことができる。さらに、中高齢者においては加齢による骨格筋萎縮（サルコペニア）の予防の観点から、個人のトレーナビリティを最大限に引き出すためのトレーニングプログラムの確立が求められており、超高齢社会を悩ませる多くの加齢性・多因子疾患の進行に歯止めをかけるための第一歩となり得る。

以上のことから、本研究は、過去の運動経験によるヒストン修飾状態の違いがトレーナビリティに影響を与えているとの仮説を設定し、どのようなエピジェネティックな修飾がその後のトレーナビリティに貢献するのかを明らかにする。

2. 研究方法

2.1 対象者

対象者は、健康な地域在住の日本人高齢者（62～78歳）とし、広報誌に掲載された広告を通じてこの研究への参加を募集した。本研究の参加に先立ち、全ての対象者に対して本研究の内容、研究方法、手順および生じる可能性のあるリスクについて説明し、書面によるインフォームドコンセントを得た。なお、自体重を利用したレジスタンストレーニングプログラムに参加する能力が制限されるような病状等のある対象者は除外した。最終的に67.9±4.7歳の21名（男性5名、女性16名）が本研究への参加に同意した。

本研究の全てのプロトコルは、ヘルシンキ宣言に従って実施され、順天堂大学の研究等倫理委員会によって承認された（承認番号：27-52）。

2.2 実験デザイン

同意の得られた対象者は、まずトレーニングプログラムに参加する前に、身長、体重、筋厚（MT）、血液パラメーターの測定、ならびに等尺性最大膝伸展筋力、30秒椅子立ち上がりテスト等の身体のカテスト、日本整形外科学会より考案されたロコモ度テスト（立ち上がりテスト、2ステップテスト、ロコモ25）を実施した。対象者は、事前測定の次週より、自分の体重とゴムバンドを使用した低負荷の筋力トレーニングプログラムに参加し、計12週間実施された。トレーニングプログラムを終えた次の週に事後測定を実施し、事前測定と同時刻に同様の測定項目について評価を行った。

2.3 トレーニングプログラム

全ての参加者は、自分の体重とゴムバンドを使用した低負荷の筋力トレーニングプログラムに参加した。プログラムは12週間実施され、スクワット、スプリットスクワット、腕立て伏せ、ヒールレイズ、クラッチ、ヒップリフト、シートロー、ショルダープレス、アームカールの9つのエクササイズで構成された。最初の6つのエクササイズは参加者自身の体重を使用し、残りの3つのエクササイズは市販のゴムバンド（Thera-Band®; The Hygenic Corporation, Akron, OH, USA）を使用して実施された。トレーニング期間の最初の2週間のプログラムは、スクワット、腕立て伏せ、クラッチ、ヒップリフトの4つのエクササイズのみで構成され、参加者は各セットの間に60秒の休憩を入れて8回の繰り返しを3セット実施した。それぞれの繰り返しでは、彼らは曲げ伸ばしの両方で3秒を費やすように指示された。3週間目より、セッションあたりの種目数、反復数、セット数を徐々に増加させ、休憩間隔はトレーニング期間の12週間を通して2週間ごとに徐々に減少させた。なお、本トレーニングプログラムは、我々の研究室において確立されたプログラムであった（Ozaki et al. 2020）。

2.4 測定項目

ベースライン時（つまり、プログラム開始の約1週間前）（PRE）および12週間のプログラムの終了時（POST）、全ての参加者は大学の近隣の市にある保健センターを訪問した。参加者は、30分間の座位安静を維持した後、身体組成、ロコモ度、大腿部前面および腹部の筋厚、最大等尺性筋力および身体機能を評価した。全ての測定は、結果変数への日内変動の影響を考慮するために、全ての測定はプログラム前後でほぼ同じ時刻に実行された。なお、全ての測定項目の再現性については、先行研究において既に十分な再現性を有することを確認している（Yoshihara et al. 2018, Ozaki et al. 2020）。

2.4.1 身体組成

トレーニングプログラムの後、全ての対象者について、身長、体重、骨格筋量および体脂肪率（%Fat）

を測定した。体組成は、体組成分析器 (InBody720; InBody Co., Ltd, CA, USA) を使用した生体電気インピーダンス分析によって決定された。

2.4.2 ロコモティブシンドローム (運動器症候群、以下ロコモ) リスクテスト

ロコモ度テスト (立ち上がりテスト、2 ステップテスト、およびロコモ 25) を使用して、ロコモの発症リスクを評価した (Yoshihara et al. 2018 & 2019)。

1) 立ち上がりテスト

立ち上がりテストでは、高さの異なる4つの台 (40、30、20、および10 cm) から片方または両方の脚で対象者を立たせることにより、脚の強度を評価した。Ogata らの先行研究に従い、立ち上がることできた台の難易度から0~8のスコアがパフォーマンスとして割り当てた (Ogata et al. 2015)。

2) 2 ステップテスト

対象者はスタートラインに両足のつま先合わせた状態で立ち、片足ずつできる限り大股で2歩歩き、両足を揃えた。スタートラインからつま先の先までの長さを記録として測定し、次式を使用してスコアを算出した: 2歩幅の長さ (cm) / 身長 (cm)。測定値は、各対象者の両脚について2回ずつ測定を行い、最高値をスコアとして採用した。

3) ロコモ 25

Seichi らによって開発された25問の質問を用いて質問指標によるロコモ度を評価した (Seichi et al. 2012)。これは、この1ヶ月の身体の痛み、日常生活動作、メンタルヘルスに関する質問を含む25項目からロコモ度を評価する方法であった。これらの25項目は、0点 (痛みや困難なし) から4点 (重度の痛みや困難さがある) までの5段階で評価され、合計スコアを算出した。なお、スコアが高いほど将来的にロコモを発症するリスクが高くなる。

4) ロコモ度の診断基準

日本整形外科学会の定義に従い、3つのロコモ度テストの結果に応じて2つの段階を評価した (Nakamura K & Ogata T. 2016)。ロコモ度1: (1) 立ち上がりテスト (どちらかの脚) で片足を使用して高さ40 cmの座席から立ち上がれない、(2) 2ステップテストスコアが1.3未満、または(3) ロコモ25スコアが7以上。対象者がこれらの基準のいずれかを満たしている場合、ロコモ度1に該当し、移動機能の低下が始まっている状態であると診断される。ロコモ度2: (1) 立ち上がりテストで両足を使用して高さ20 cmの台から立ち上がることができない、(2) 2ステップテストスコアが1.1未満、または(3) ロコモ25スコアが16以上。対象者がこれらの基準のいずれかを満たす場合、移動機能の低下が進行している状態であると診断される。なお、本研究では10/21名の対象者がベースラインでロコモ度1または2に該当すると判断された。

2.4.3 筋厚および最大等尺性膝伸展筋力の評価

1) 筋厚の評価

超音波 B モード法 (Noblus, Aloka, Tokyo, Japan) により、大腿部前面 (大腿長の50%の部位) と腹部の筋厚を仰臥位にて測定した。

2) 最大等尺性膝伸展筋力の評価

最大膝伸展筋力は、等尺性筋力測定器 (Takei、東京、日本) を用いて測定された。各対象者は、股関節角度が90° 屈曲 (0° =完全な股関節伸展) された状態で台座に座り、足首を固定して等尺性膝伸展筋

力を約5秒間2、3回測定した。記録された最大値を記録として採用し、体重で除した体重負荷指数（WBI [膝伸展筋力 (kg) / 体重 (kg)]）として評価した。

2.4.4 身体機能テスト

身体機能は、握力、歩行速度、30秒椅子立ち上がりテストおよび上体起こしにより評価した。

1) 30秒チェアスタンドテスト (CS-30テスト)

CS-30テストでは、対象者が30秒間に腕を使わずに座った状態（高さ40cm）から完全に立ち上がることができる回数を測定した。

2) 上体起こし

上体起こしでは、対象者はマットの上で仰臥位を取り、両腕を胸の前で交差させた状態で30秒間にできる限り多くの腹筋運動を行った。測定中、各対象者の両膝を90°の角度で安定させた。

3) 10m歩行テスト

各対象者は、10mの距離を歩行するのに要する時間を測定した。歩行する幅は1mとし、まっすぐなコースを走らずにできるだけ速く歩くように指示された。2回の測定を実施し、歩行時間はデジタルストップウォッチ（LC058; CITIZEN、東京、日本）を使用して測定した。最適な時間は10mの歩行時間から歩行速度を算出した。

4) 握力

握力は、アナログダイナモメーター（竹井機器工業、新潟、日本）を使用し、右手と左手を交互に2回ずつ測定した。最大値を測定値として採用した。なお、グリップの長さはトレーニングプログラム前後で同じ長さを使用した。

2.4.5 血液検査

対象者から安静空腹時において前腕静脈より血液を採取した。得られた血液は、血算および生化学的成分の分析のために使用した。生化学的成分分析用の血液は、室温で30分間静置した後、4°C、3000回転で10分間遠心分離した。上清を血清サンプルとして回収し、分析まで-80°Cで凍結保存した。

血液性状の検査については、一般的な検査項目について、スペシャル・レファレンス・ラボラトリー（SRL）社に依頼した。検査項目は、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、総タンパク質濃度、中性脂肪（TG）、LDLコレステロール、HDLコレステロール、LDL/HDL、インスリン、ヘモグロビンA1c、AST（GOT）、ALT（GPT）、LAP、 γ -GTPであった。なお、HOMA-IRは以下の等式を用いて算出した：空腹時インスリン値（ μ U/mL） \times 空腹時血糖値（mg/dL）/405。

2.4.6 血中修飾ヒストンマーカー

得られた血清から血中の修飾ヒストンマーカーを評価するために、血中循環ヒストン定量キット（EpiQuik Circulating Histone Assay Kit、アセチル化ヒストンH3K9ac（P-3132）およびH3K27ac（P-3134）、メチル化ヒストンH3K9me3（P-3118）およびH3K27me3（P-3124）、フナコシ）を用いた。簡潔に述べると、30 μ lの血清を各ウェルにアプライし、37°Cで60分間インキュベートした。ウェルを洗浄した後、検出用の抗体と室温で60分間反応させた。再びウェルを洗浄した後、反応基質を添加し、450 nmにおける吸光度を、スペクトロメーターを用いて記録し、スタンダードを用いた標準曲線から各修飾ヒストンマーカーの濃度を算出した。

2.4.7 統計処理

全てのデータは平均値±標準偏差で示した。トレーニングプログラム前後における平均値の差の検定には、対応のあるt検定を用いた。2変数間の相関については、ピアソンの積率相関係数を用いて評価した。統計処理はGraph Pad Prism 8を用いて実施した。

3. 結果

3.1 被験者の特徴

表1に、トレーニングプログラム前後の対象者の身体組成を示した。トレーニングプログラム前後で体重、BMI および骨格筋量に有意な変化は認められなかったが、体脂肪率には有意な改善が認められた ($p=0.0212$)。

3.2 筋厚、筋力および身体機能の変化

トレーニングプログラム前後における大腿部前面 ($p=0.0080$) および腹部 ($p<0.0001$) の筋厚は有意に増加し、本研究における低強度レジスタンストレーニングプログラムの効果が確認された(表1)。一方、最大等尺性膝伸展筋力および身体機能 (CS-30、上体起こし、10m 歩行速度および握力) には有意な変化は認められなかった。

3.3 ロコモ度診断

表2は、トレーニングプログラム前後の対象者の各ロコモ度テストの測定結果およびロコモ度の変化を示したものである。立ち上がりテストおよびロコモ25には有意な変化は認められなかったが、2ステップテストのスコアは、トレーニングプログラムにより有意に向上した ($p<0.05$)。また、本研究では、21名の対象者のうち10名 (47.6%) がトレーにイング介入前にはロコモ度1または2に該当していたが、介入後には、該当者は7名 (33.3%) となり、ロコモ度の改善が認められた。

3.4 血液マーカーの変化

12週間の低強度レジスタンストレーニングプログラムを実施した結果、インスリン濃度 ($p=0.0046$) およびHOMA-IR ($p=0.0238$) が有意に低下し、インスリン抵抗性の改善が認められた(表3)。また、白血球数 ($p<0.0001$) および肝臓のLAP (ロイシンアミノペプチダーゼ) ($p=0.0023$) はトレーニングプログラム後に有意に低下したが、いずれも基準値の範囲内であった。一方、LDL コレステロール値には有意な増加が認められた ($p=0.0322$)。

3.5 血中修飾ヒストンマーカーの変化

表4に、トレーニングプログラム前後の血中修飾ヒストンマーカーの変化を示した。K9ac ($p=0.7813$)、K9me3 ($p=0.8900$)、K27ac ($p=0.3354$) およびK27me3 ($p=0.3506$) のいずれにおいてもトレーニングプログラムによる変化は認められなかった。また、アンケートにより調査した過去の運動習慣、ウォーキングの実施や低強度のレジスタンストレーニングの実施によるヒストン修飾状態の違いを検討したが、いずれにおいても有意な違いは認められなかった。

一方、介入前におけるK27ac および腹部の筋厚には有意な正の相関 ($r=0.4854$, $p<0.05$) が認められた(図1)。また、K27ac はインスリン ($r=-0.4854$, $p<0.05$, 図2) およびHOMA-IR ($r=0.4854$, $p<0.05$, 図3) の変化量と有意な負の相関が認められた。

4. 考察

近年、血中循環ヒストンによる修飾状態の評価は、エピジェネティックな疾患バイオマーカーとして注目されてきている。クロマチンの構成単位であるヌクレオソームは、DNA とヒストン 8 量体で構成されており、健康状態に関わらず細胞死などによってヌクレオソームは血中に放出され、セルフリーDNA と共に循環することが知られている (Van den Ackerveken P et al. 2021)。この循環ヌクレオソームや循環ヒストン濃度は、一部の疾患患者の血清において上昇することが確認されていることから (Li e al. 2017, Buzova et al. 2020)、このような各種修飾ヒストンが血中バイオマーカーとして注目され始めている。

本研究は、このような血中におけるヒストンの修飾状態が、過去の運動経験やその後のトレーニング効果の獲得に影響を与えているとの仮説について、血清中のヒストン修飾状態と低強度のレジスタンストレーニング効果との関連について検証を行った。本研究に参加した対象者 21 名は、大学近隣在住で広報誌に掲載された広告を通じて集められた日本人高齢者であり、そのうち 11 名は週に 2~7 日程度のウォーキングの習慣を有する者、7 名は週 1~7 日程度低強度のレジスタンストレーニングを実施しているものが含まれていた。そこで、それぞれの運動習慣を持つ対象者と持たない対象者の血中ヒストン修飾状態を比較したが、K9ac ($p=0.7813$)、K9me3 ($p=0.8900$)、K27ac ($p=0.3354$) および K27me3 ($p=0.3506$) のいずれの修飾マーカーについても有意な差は認められなかった：ウォーキング習慣有り vs. 無し (K9ac 0.594 vs. 0.476 ng ; K9me3 0.312 vs. 0.285 ng ; K27ac 0.733 vs. 0.564 ng ; K27me3 0.214 vs. 0.154 ng) またはレジスタンストレーニング習慣有り vs. 無し (K9ac 0.474 vs. 0.561 ng ; K9me3 0.282 vs. 0.306 ng ; K27ac 0.524 vs. 0.727 ng ; K27me3 0.148 vs. 0.202 ng)。本研究ではサンプル数の限界から統計的な有意性を検出するには至らなかった可能性があるため、今後サンプル数を増やし、詳細に検討を行っていく必要であると考えられる。

興味深いことに、本研究の結果は、ベースライン測定時の血中 K27ac レベルと腹部の筋厚との間には有意な正の相関関係が認められ、血中 K27ac レベルが加齢とともに失われやすい腹部の筋肉量を評価するためのスクリーニングツールとして使用できる可能性を示唆している。また、骨格筋量と血中ヒストン修飾レベルとの関連についての検討は見られないことから、両者の関連が生理学的に意味のある関係なのかどうかは明らかではない。今後、これらの血中マーカーが過去の運動経験や高齢期におけるトレーナビリティに關与していることを明らかにできれば、中高齢者における加齢による骨格筋萎縮 (サルコペニア) の予防の観点から、個人のトレーナビリティを最大限に引き出すためのトレーニングプログラムの確立に応用できる可能性がある。

さらに、本研究では、週 2 日程度の頻度で 12 週間、自体重およびチューブを利用した低強度のレジスタンストレーニングプログラムを実施することで、インスリンおよび HOMA-IR の値に改善が認められた。介入前における本研究の対象者の血中インスリン濃度および HOMA-IR は、それぞれ $17.0 \mu\text{U/mL}$ および 5.3 であり、正常値となる $2\sim 10 \mu\text{U/mL}$ および 1.6 以下 (2.5 以上がインスリン抵抗性を示す) を大きく上回る数値であった。一般的に、人体の最大の代謝器官である骨格筋の量が低下すると、インスリンの感受性が低下する、つまりインスリン抵抗性が増すため (Petersen MC & Shulman GI. 2018)、レジスタンストレーニングによる骨格筋量の増加は、インスリン抵抗性に対抗する作用を有する。本研究における各対象者の筋厚と一般的な値を比較してはいないが、対象者の半数程度がロコモに該当する対象者であったことから、骨格筋量については平均的な高齢者と同等または低いレベルであったことが推察される (Yoshihara et al. 2019)。重要なことは、本研究の結果、血中の K27ac 濃度が高い者ほど、レジスタンストレーニングに対する血中インスリン濃度および HOMA-IR の低下が大きかったことから、血中 K27ac 濃度は高齢者

におけるレジスタンストレーニングに対するインスリン抵抗性の改善効果に関連していることが示唆される。インスリン抵抗性の改善は運動療法における主要な目的の一つであり、運動・トレーニングによるインスリン抵抗性の改善は、糖尿病だけでなく、高血圧や脂質異常症、非アルコール性脂肪性肝疾患など、様々な生活習慣病に起因した多因子疾患と密接に関連している (Iaccarino et al. 2020)。以上のことから、本研究で提案するような血中におけるヒストン修飾状態 (K27ac) の評価は、今後、運動に対するインスリン抵抗性の改善効果を予測する上での重要なバイオマーカーとなり得る可能性がある。

5. まとめ

本研究は、血中ヒストン修飾状態の違いがトレーナビリティを予測する因子となるか否かについて検討を行った。その結果、過去の運動習慣と血中のヒストン修飾状態に有意な関連は認められなかった。しかしながら、血中の K27ac 濃度が高い者ほど、レジスタンストレーニングに対する血中インスリン濃度および HOMA-IR の低下が大きく、インスリン抵抗性に対するトレーナビリティを予測するバイオマーカーとして提案できる可能性を見出した。近年の解析技術の発展によって、ヒトにおいても血中のエピジェネティクス修飾マーカーを簡便に測定できるようになり、このような血中のヒストン修飾状態とトレーナビリティとの関連を明らかにすることは、スポーツ現場のみならず臨床においても貢献すると考えられる。今後、更に詳細な分析を行いどのようなエピジェネティックな修飾が、過去の運動習慣やその後のトレーナビリティを反映するマーカーとなり得るのかについて明らかにする必要があると考えられる。一方、本研究での検証の結果、血清中に含有される修飾ヒストンのレベルは僅かなものであり、サンプル採集後の処理などに課題があると考えられる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を頂きました公益財団法人ミズノスポーツ振興財団の皆様には心より深く感謝申し上げます。

参考文献

Buzova D, Mageri A, Liguori A, Napodano C, Lo Re O, Oben J, Alisi A, Gasbarrini A, Grieco A, Cervený J, Miele L, Vinciguerra M. Circulating histone signature of human lean metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD). *Clin Epigenetics*. 12(1):126, 2020.

Iaccarino G, Franco D, Sorriente D, Strisciuglio T, Barbato E, Morisco C. Modulation of Insulin Sensitivity by Exercise Training: Implications for Cardiovascular Prevention. *J Cardiovasc Transl Res*. 14(2):256-270, 2021.

Li W, Zhang X, Lu X, You L, Song Y, Luo Z, Zhang J, Nie J, Zheng W, Xu D, Wang Y, Dong Y, Yu S, Hong J, Shi J, Hao H, Luo F, Hua L, Wang P, Qian X, Yuan F, Wei L, Cui M, Zhang T, Liao Q, Dai M, Liu Z, Chen G, Meckel K, Adhikari S, Jia G, Bissonnette MB, Zhang X, Zhao Y, Zhang W, He C, Liu J. 5-Hydroxymethylcytosine signatures in circulating cell-free DNA as diagnostic biomarkers for human cancers. *Cell Res*. 27(10):1243-1257, 2017.

Nakamura K, Ogata T: Locomotive Syndrome: Definition and Management. *Clin Rev Bone Miner Metab*,

14: 56–67, 2016.

Ogata T, Muranaga S, Ishibashi H, Ohe T, Izumida R, Yoshimura N, Iwaya T, Nakamura K. Development of a screening program to assess motor function in the adult population: a cross-sectional observational study. *J Orthop Sci.* 20(5):888–895, 2015.

Ozaki H, Sawada S, Osawa T, Natsume T, Yoshihara T, Deng P, Machida S, Naito H. Muscle Size and Strength of the Lower Body in Supervised and in Combined Supervised and Unsupervised Low-Load Resistance Training. *Journal of Sports Science and Medicine.* 19, 721–726, 2020.

Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev.* 98(4):2133–2223, 2018.

Seichi A, Hoshino Y, Doi T, Akai M, Tobimatsu Y, Iwaya T. Development of a screening tool for risk of locomotive syndrome in the elderly: the 25-question geriatric locomotive function scale. *J Orthop Sci.* 17(2):163–172. 2012.

Van Den Ackerveken P, Lobbens A, Turatsinze JV, Solis-Mezarino V, Volker-Albert M, Imhof A, Herzog M. A novel proteomics approach to epigenetic profiling of circulating nucleosomes. *Sci Rep* 11: 7256, 2021.

Yoshihara T, Ozaki H, Nakagata T, Natsume T, Kitada T, Ishihara Y, Sawada S, Ishibashi M, Kobayashi H, Machida S, Naito H. Association between Locomotive Syndrome and blood parameters in Japanese middle-aged and elderly individuals: A cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord.* 20: 104, 2019.

Yoshihara T, Ozaki H, Nakagata T, Natsume T, Kitada T, Ishihara Y, Deng P, Osawa T, Ishibashi M, Ishijima M, Kobayashi H, Machida S, Naito H. Effects of a progressive walking program on the risk of developing locomotive syndrome in elderly Japanese people: a single-arm trial. *J. Phys. Ther. Sci.* 30(9): 1180–1186, 2018.

Table 1. Characteristics of participants

Variables	PRE	POST	<i>p</i> value
Age (years)	67.9±4.7	68.1±4.5	0.0010*
Height (cm)	158.5±8.3	158.3±8.4	0.0099*
Weight (kg)	59.6±9.9	59.6±9.7	1.0000
BMI (kg/m ²)	23.6±2.9	23.7±2.9	0.1375
Total skeletal muscle mass (kg)	21.6±4.2	21.8±4.1	0.2888
Body fat percentage (%)	32.0±7.5	31.7±7.6	0.0212*
Muscle thickness AT (mm)	28.48±5.89	30.56±5.40	0.0080*
Muscle thickness AB (mm)	7.50±1.69	8.49±1.76	<0.0001*
KE WBI (kg/kg Weight)	0.67±0.13	0.69±0.13	0.2173
CS-30 (number)	23.4±5.9	24.8±5.9	0.0502
Sit-up test (number)	11.3±7.2	11.1±6.8	0.7481
10-m walking (m/s)	1.82±0.20	1.87±0.17	0.0992
Grip strength (kg)	28.3±6.9	29.3±7.1	0.1047

Values are means ± standard deviation (SD). LS: locomotive syndrome; non-LS: without locomotive syndrome; BMI: body mass index; MT: muscle thickness; AT: anterior thigh; AB: abdominal; KE: knee extension; WBI: weight bearing index; CS-30: 30-sec repeat sit-to-stand test. * $p < 0.05$

Table 2. Effects of the low-load resistance training on the risk of locomotive syndrome and the number of participants with a locomotive syndrome.

	PRE	POST
Stand-up test	4.29±1.06	4.57±1.03
stage 2	2 (1,1)	1 (0,1)
stage 1	6 (1,5)	5 (1,4)
Two-step test	1.35±0.11	1.41±0.10*
stage 2	0	0
stage 1	6 (2,4)	3 (0,3)
GLFS	4.52±6.11	2.90±2.43
stage 2	1 (0,1)	0
stage 1	3 (1,2)	2 (0,2)
LS stage 2	3 (1, 2)	1 (0, 1)
LS stage 1	7 (2, 5)	6 (2, 4)
Non-LS	11 (2, 9)	14 (3, 11)
LS (%)	47.6	33.3

GLFS: a 25-question geriatric locomotive function scale, LS: locomotive syndrome; non-LS: without locomotive syndrome. Values are shown as the mean ± standard deviation (SD). * $p < 0.05$ vs PRE. n (male, female).

Table 3. Comparison of blood parameters between pre and post of the training.

Variables	PRE	POST	<i>p</i> value
WBC (cells/ μ L)	6033 \pm 1529	5614 \pm 1333	<0.0001*
Hb (g/dL)	13.8 \pm 1.0	13.8 \pm 1.1	0.6919
Hct (%)	41.4 \pm 3.2	41.6 \pm 3.2	0.3836
TP (g/dL)	7.51 \pm 0.43	7.50 \pm 0.45	0.8705
TG (mg/dL)	159.6 \pm 11.0	165.2 \pm 114.7	0.8071
LDL-C (mg/dL)	199.0 \pm 40.3	205.1 \pm 44.4	0.0322*
HDL-C (mg/dL)	68.7 \pm 20.6	69.5 \pm 19.5	0.5304
LDL/HDL	1.97 \pm 0.73	1.97 \pm 0.81	0.9985
Insulin (μ U/mL)	17.0 \pm 10.7	9.6 \pm 7.7	0.0046*
HOMA-IR	5.3 \pm 5.0	2.7 \pm 3.0	0.0238*
HbA1c (%) NGSP	5.49 \pm 0.60	5.45 \pm 0.54	0.2459
AST/GOT (U/L)	25.0 \pm 7.0	24.2 \pm 7.4	0.4068
ALT/GPT (U/L)	22.9 \pm 10.8	21.7 \pm 9.3	0.3595
ALP (U/L)	227.6 \pm 54.2	218.1 \pm 60.5	0.2611
LAP (U/L)	53.6 \pm 9.1	49.1 \pm 4.7	0.0023*
γ -GTP (U/L)	28.3 \pm 26.7	24.6 \pm 13.6	0.3362

Values are expressed as means \pm standard division (SD). WBC: white blood cell; Hb: hemoglobin; Hct: Hematocrit; TP: Total protein; TG: Triglyceride; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program; AST/GOT: aspartate amino transferase;

ALT/GPT: alanine amino transferase; ALP: alkaline phosphatase; LAP: leucine aminopeptidase; γ -GTP: γ -glutamyl transpeptidase. * $p < 0.05$

Table 4. Circulating histone H3 concentration.

Variables	PRE	POST	<i>p value</i>
K9ac (ng)	0.52±0.19	0.50±0.11	0.7813
K9me3 (ng)	0.29±0.05	0.29±0.04	0.8900
K27ac (ng)	0.62±0.29	0.54±0.20	0.3354
K27me3 (ng)	0.17±0.11	0.15±0.09	0.3506

Values are means ± standard division (SD). K9ac: acetylated lysine 9; K9me3: trimethylated lysine 9; K27ac: acetylated lysine 27; K27me3: trimethylated lysine 27.

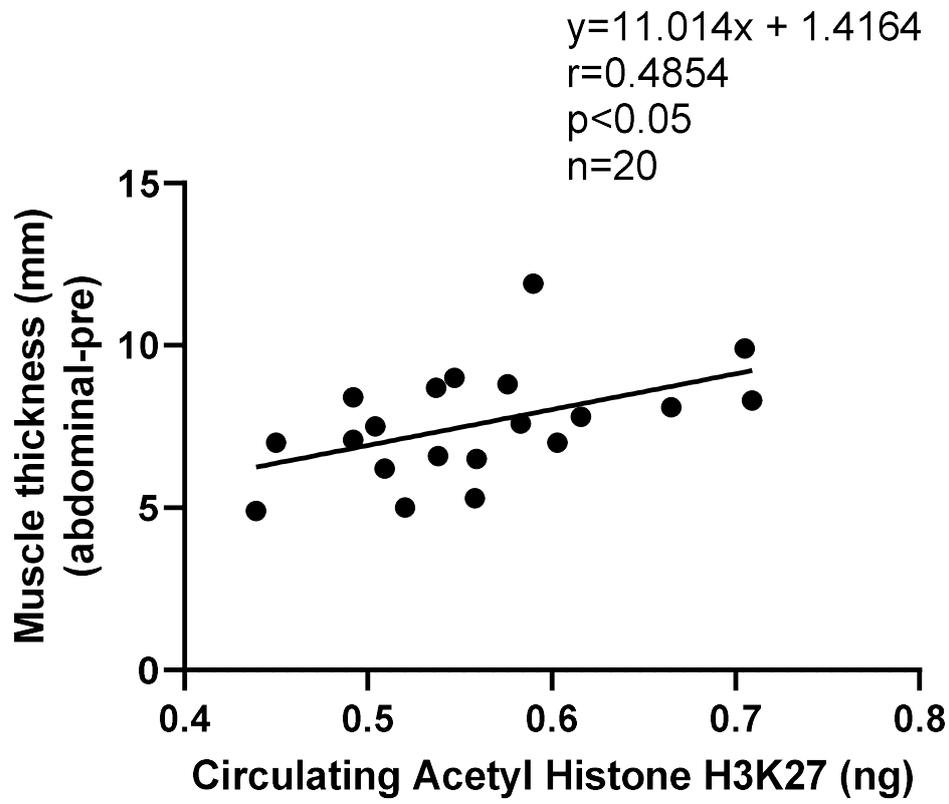


Figure 1 The relationship between circulating acetyl histone H3K27 and muscle thickness of abdominal (PRE).

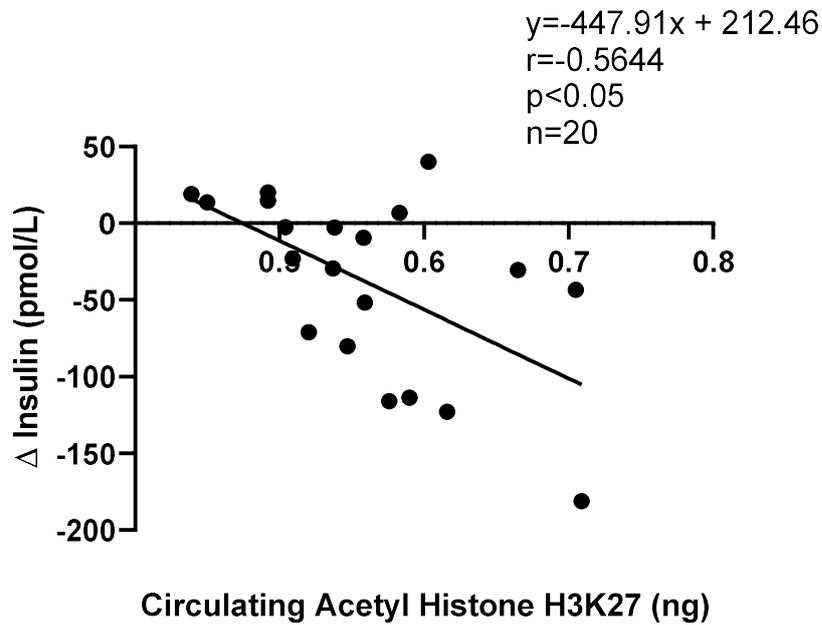


Figure 2 The relationship between circulating acetyl histone H3K27 and delta Insulin concentration (POST-PRE).

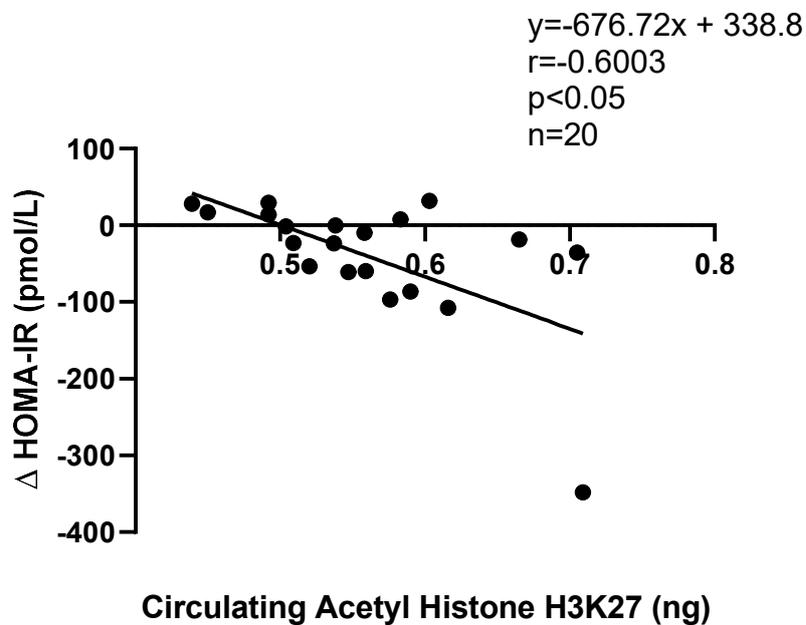


Figure 3 The relationship between circulating acetyl histone H3K27 and delta HOMA-IR (POST-PRE).