

Original article

Hot yoga increases SIRT6 gene expression, inhibits ROS generation, and improves skin condition

Takahiro Ishikawa^{1,2)}, Eri Ito¹⁾, Takumi Okada¹⁾, Takahiko Sumi¹⁾

1) LAVA International, Inc. Tokyo, Japan.

2) River City Clinic, Tokyo, Japan.

Glycative Stress Research 2021; 8 (3): 123-135

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

ホットヨガによるSIRT6遺伝子の発現増加、ROS生成抑制、肌の状態の改善

石川貴大^{1,2)}、伊藤江里¹⁾、岡田拓海¹⁾、鷺見貴彦¹⁾

1) 株式会社LAVA International

2) リバーシティクリニック

抄録

ヨガが健康寿命を促進することは多くの研究が実証してきた。一方、ヨガがどのようなメカニズムで老化を抑制するのかはよくわかってない。適度な運動による血流上昇はサーチュインファミリー遺伝子を活性化させ老化を抑制することが明らかになっている。ホットヨガは高温でヨガをすることで通常のヨガより血行を上昇させる可能性が考えられる。そこで我々はホットヨガによりサーチュインファミリー遺伝子が活性化されるのではないかと考えた。この研究ではホットヨガプログラムの完了前後の48人の健康な女性被験者(20~59歳)の体組成と血液生化学指数を評価することにより、ホットヨガが加齢の特徴に与える影響を調査した。12週間のホットヨガプログラムを完了後、被験者たちのSIRT6の発現は有意に増加しており、それに伴いROSレベルは有意に減少していた。さらに、ホットヨガプログラムの完了後の被験者たちは、角質層の水分含有量と弾力性が向上し、肌のキメが改善されていた。これらの結果は、ホットヨガは老化機能を改善することにより老化を抑制できる可能性を示唆している。

KEY WORDS: ホットヨガ、アンチエイジング、活性酸素種、サーチュイン、テロメラーゼ

はじめに

近年、糖尿病、動脈硬化症、心筋梗塞、脳卒中、癌などの生活習慣病や加齢に伴う医学的問題の増加が多く、国で深刻な問題となっている¹⁻⁴⁾。老化は高血糖、脂質異常症、高血圧などの生活習慣病を引き起こすことが明らかとなっている⁵⁾。そのため、生活習慣病の発症を抑制するには老化のメカニズムを解明することが不可欠である。

呼吸を意識しながら姿勢を維持するヨガは、激しく体を動かすことなく不安や運動不足を解消できるため、若い女性から関心を集めている。定期的なヨガは、精神疾患（うつ病や不安を含む）だけではなく、加齢に伴う糖尿病、心血管疾患、アルツハイマー病などに効果があることが実証されている⁶⁻⁹⁾。また、ヨガに関わらず適度な運動は皮膚の血流を促進し生活習慣病の改善につながるということが明らかになっている¹⁰⁻¹³⁾。適切な熱ストレスと高湿度条件下での運動は、皮膚温とともに皮膚の血流を促すと考えられる¹⁴⁻¹⁶⁾。このことから、高温かつ高湿度で行うホットヨガは、老化抑制に効果的なのではないかと我々は考えた。

カテコールアミンとコルチゾールの増加は不安とうつ病の主な要因の一つだと考えられている。近年、ヨガによりカテコールアミンとコルチゾールが抑制されることが報告された¹⁷⁾。アドレナリンやノルアドレナリンはβ-アドレナリン受容体シグナル伝達システムの持続的な活性化を通して、活性酸素種（ROS）を産生することが示唆されている^{18, 19)}。カテコールアミンとコルチゾールは皮膚の老化を加速すると考えられている^{20, 21)}。また老化による血管内皮の損傷は細胞内のROS増加を促し、脂質、タンパク質、及び核酸の酸化障害によるアポトーシスを誘導する²²⁾。

運動やカロリー制限は、抗老化遺伝子であるサーチュインファミリーやテロメラーゼの発現を促し、抗酸化効果を高めることで老化を抑制することが知られている²²⁻²⁶⁾。ヨガによりテロメラーゼ活性とサーチュイン発現を促進することは以前の報告で証明されている⁹⁾。

サーチュインファミリーは多くの研究者たちにより盛んに研究されており、サーチュインの詳細な老化抑制機構が明らかにされてきている²³⁾。

サーチュインファミリーの1つであるSIRT1はNAD依存性ヒストンデアセチラーゼであり、p53、FOXO1、NF-κB、そしてPGC-1αなどの様々な転写因子の脱アセチル化を介してSIRT1は細胞の老化を抑制する²⁷⁾。以前の報告では、運動やカロリー制限はSIRT1の活性化を介して加齢関連疾患を予防することが示されている²⁸⁾。また、赤ワインに豊富に含まれるレスベラトロールがSIRT1の活性化を促し老化を遅らせることが実証されている²⁹⁾。

SIRT6はサーチュインファミリーの中でSIRT1について盛んに研究されている遺伝子であり、糖尿病、心臓肥大、癌、そして早期老化症候群の治療標的として着目されて

いる²⁹⁻³³⁾。遺伝子欠損実験によると、SIRT6ノックアウト（KO）マウスは成長遅延、リンパ球減少症、皮下脂肪の減少、後弯症と脊柱前弯症、及び発達中の重度の代謝障害を発症し、最終的には4週間後に死亡することが実証されている³³⁾。また筋肉特異的SIRT6 KOマウスはワイルドタイプ（WT）に比べ持久力が低下していることが実証されている³⁴⁾。

テロメアは細胞が分裂するたびに徐々に短くなる性質からサーチュインと同様に盛んに研究されており、テロメアの短縮の抑制により細胞の寿命延長が期待されている³⁵⁾。テロメアの短縮を抑制するにはテロメラーゼが必要であり、この酵素はRNA成分（TERC）、逆転写酵素成分（TERT）、及びその他の調節サブユニットで構成されている^{36, 37)}。TERTは癌細胞で過剰発現している酵素で、正常な細胞では非常に低いレベルで発現しているか、まったく発現していないと考えられている³⁸⁾。一方、いくつかの研究グループは、継続的な運動が正常組織でのTERTの発現を促進することを示しており、TERTの活性が正常細胞の老化抑制に関わっていることを示唆している³⁹⁻⁴¹⁾。

我々は48人の女性被験者にホットヨガプログラムに参加して頂き、老化の指標として、副腎ホルモン、酸化ストレスマーカー、抗老化遺伝子、及び皮膚の状態に焦点を当て研究を行った。過剰な運動はカテコールアミンの活性化を促し、運動効果を妨げる可能性があるため、我々は初心者コースと基本コースを設定し参加者に最適なものを選択するように依頼した。

方法

被験者の募集と管理

ホットヨガトライアルの被験者の募集は株式会社SOUKEN（東京）に依頼した。被験者にはトライアルに参加する前にインフォームドコンセントに署名して頂いた。気温が約35°C、湿度が60%の室内環境でヨガのレッスンをを行った（ホットヨガ）。20～59歳の健康な日本人女性56人が週2回12週間にわたり（2019年4月から2019年7月まで）60分間のホットヨガレッスンをを行った。この研究は適度で快適な運動の効果を調べることを目的としているため、被験者間での疲労度を調整する必要が生じる。そのため被験者にはプログラム初日の個々の体調に応じて初級プログラムまたは基本プログラムのいずれかを選択して頂いた。インストラクターの指導の下、被験者にはホットヨガスタジオLAVAでTable 1に示すプログラムを受けて頂いた。

試験期間中、被験者には試験前とほぼ同じ睡眠、食事、及びその他の生活水準を維持して頂き、追加のスキンケア製品、化粧品、もしくは健康補助食品の使用は控えて頂いた。試験開始時の56人の被験者のうち8人は自己都合で中断された。そのため48人の参加者（39.2 ± 8.7歳、平均 ± 標準誤差）を本研究の研究対象とした。試験開始一

Table 1. Hot yoga programs. The volunteers were asked to participate in a beginner or basic yoga program according to their individual physical condition on the first day of the program.

■ Yoga beginner			
Block of Yoga sequence		Yoga Poses Names (Asanas) in Sanskrit & English	Duration
1	Session preparation instructions	Session preparation instructions	1.5 min
2	Warm-up	Warm-up -Breath -Shoulder joint -Spine	6.5 min
3	Asana-Prone	Dandayamna Bharmanasana/Balancing Table Pose sequence including a preparatory pose (hip stretch) and follow-up pose (child pose)	7 min
4	Asana-Sitting	Anjaneyasana/Low lunge sequence including a preparatory pose (twist pose) and follow-up pose (half split).	6 min
5		Phalakasana/plank pose	0.5 min
6		Bhujangasana/cobra pose	0.5 min
7		Salabhasana/Locust pose	0.5 min
8		Balāsana/Child's pose	0.75 min
9		Adho Mukha Shvānasana/Downward-facing dog	0.75 min
10		Asana-Standing	Uttanasana/Standing Forward Bend
11	Utthita Trikonasana/Extended triangle pose sequence including four preparatory Poses (high lunge, eagle pose, wild-legged forward bend, and Squat)		14 min
12	Asana-Sitting	Phalakasana/plank pose	0.75 min
13		Ardha Bhujangasana/Half cobra pose	0.75 min
14		Dhanurasana/Bow pose	0.75 min
15		Balāsana/Child's pose	0.75 min
16		Upavistha konasana/Wide-angle seated forward bend	6 min
17	Cool-down	Ardha Setubandhasana/half bridge pose	0.75 min
18		Eagle twist with hip stretch	3.5 min
19		Pawanmuktasana/Wind-relieving pose	0.75 min
20	Relaxation	Shavasana/Corpse Pose	5 min
21		Breath	1 min
22		Session closing instructions	1 min
total			60 min

■ Yoga basic			
Block of Yoga sequence		Yoga Poses Names (Asanas)	Duration
1	Session preparation instructions	Session preparation instructions	1 min
2	Warm-up	Breath	1 min
3		Jathara Parivartanasana / Revolved belly pose	2 min
4		Pawanmuktasana / Wind-relieving pose	1 min
5		Kapalabhati / Skull-shining breath	2 min
6		Marjarasana / Cat cow pose	1.5 min
7		Parsva balasana / Thread the needle	1.5 min
8		Uttana Shishosana / Extended Puppy Pose	1 min
9		Balasana / Child's pose	1 min
10		Anjaneyasana / Low lunge	2 min
11		Parighasana / Gate pose	2 min
12		Balasana / Child's pose	1 min
13	Asana-Standing	Utkatasana / Chair pose	4 min
14		Ardha chandrasana / Half moon pose	1.5 min
15		Parivrtta utkatasana / chair twist pose	1.5 min
16		Tadasana / Mountain pose	1 min
17		Garudasana / Eagle pose	1.5 min
18		Parsvottanasana / Intense side stretch pose	1.5 min
19		Parivrtta Sanchalanasana / Low lunge twist pose	1 min
20		Virabhadrasana II / Warrior II Pose	1 min
21		Utthita Trikonasana / Extended triangle pose	1 min
22		Prasarita Padottanasana / Wide Legged Forward Bend	1.5 min
23		Natarajasana / Lord of the dance pose	2 min
24		Vrksansana / Tree pose	1.5 min
25		Tadasana / Mountain pose	2 min
26	Asana-Prone	Phalakasana / plank pose	1 min
27		Bhujangasana / cobra pose	1 min
28		Dekasana / Airplane pose	1 min
29		Dhanurasana / Bow Pose	1 min
30		Balasana / Child's pose	1 min
31		Ustrasana / Camel pose	1 min
32		Sasanasana / Rabbit pose	1 min
33	Asana-Sitting	Upavistha konasana / Paschimottanasana	2 min
34		Krounchasana / Heron pose	1 min
35		Ardha Matsyendrasana / Half lord of the fishes Pose	1 min
36		Paschimottanasana / Seated forward bend	1 min
37	Cool-down	Ardha Setubandhasana / half bridge pose	1 min
38		Pawanmuktasana / Wind-relieving pose	1 min
39		Pawanmuktasana / Wind-relieving pose	2 min
40	Relaxation	Shavasana / Corpse Pose	5 min
41		Session closing instructions	1 min
total			60 min

週間前と、終了して一週間後に SOUKEN の臨床検査室で被験者の血液サンプルを採取した。EDTA-2NA を含む採血管 (ファルコバイオシステムズ、京都) を使用し、12 mL の全血サンプルを採取した。得られた血液のうち、1 mL をそのまま -80°C で全血サンプルとして保存し、3 mL を 4°C 、3,000 g で 20 分間遠心分離、得られた上清を血漿サンプルとして保存した。残りの 8 mL の血液はドライアイス上で凍結保存し、株式会社 SRL (東京) に生化学検査を依頼した。

芝パレスクリニック倫理審査委員会 (#142621-26161) の承認後に本研究は開始された。

体構造測定

試験開始一週間前と、終了して一週間後に SOUKEN の臨床検査室で被験者の体重、肥満度指数 (BMI)、筋肉量、脂肪量、そして体脂肪率を InBody 3.2 (インボディ・ジャパン、東京) を使用して評価した。

カテコールアミンとコルチゾール濃度の測定

血液中のアドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、コルチゾールの分析は株式会社 SRL に依頼した。

ROS アッセイ

ROS レベルは、血漿サンプル (50 μL) を用いて OxiSelect™ In Vitro ROS/RNS アッセイキット (コスモ・バイオ、東京) で測定した。簡単に説明すると、酸化反応を加速する触媒とともに血漿サンプル、もしくは標準溶液をウェルに添加し、5 分間インキュベーション後、調製した DCFH プローブを加えて酸化反応を開始した。最後に、調製したサンプルを Fluoroskan マイクロプレート蛍光光度計 (Thermo Fisher Scientific、横浜) で、480 nm の波長で励起し 530 nm の蛍光波長を検出することにより、2', 7'-ジクロロフルオレセイン (DCF) を検出した。血漿サンプルのフリーラジカル含有量は DCF 標準曲線と比較することによって決定した。

8-OHdG アッセイ

Microsep Advance Centrifugal Device 10K (日本ポール、東京) で血漿サンプル (500 μL) を限外濾過し、

8-OHdG (8-oxo-2'-deoxyguanosine) レベルを 8-OHdG 用の高感度 ELISA キット (日研ザイル、静岡) で評価した。簡単に説明すると、50 μL の 8-OHdG 標準溶液または限外ろ過サンプルを各ウェルに分注し、次に 50 μL の一次抗体溶液を各ウェルに添加後、混合物を 37°C で 1 時間反応させた。反応終了後、ウェルの反応液を除去し、洗浄液 250 μL で洗浄し、一次抗体と反応させたウェルに二次抗体溶液 100 μL を加え、 37°C で 1 時間反応させた。反応終了後、ウェル内の反応液を除去した。洗浄液 250 μL で洗浄した後、発色剤溶液 100 μL をウェルに分注し反応を行った。反応は室温で 15 分間行い、最後に 100 μL の反応停止液をウェルに加えて反応を停止させた。調製したサンプルは、Varioskan プレートリーダー (Thermo Fisher Scientific) で、450 nm の波長を吸光度で測定した。

リアルタイム PCR

RNAiso (タカラバイオ、大津) で全血 (250 μL) から RNA を抽出した。逆転写とリアルタイム PCR は Thunderbird SYBR qPCR/RT Set (東洋紡、大阪) を使用し StepOnePlus™ リアルタイム PCR システム (Applied Biosystems, Foster City, 米国カリフォルニア州) で測定した。得られた結果はスタンダード法で定量化し、GAPDH (グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ) で補正した。使用したプライマー配列は [Table 2](#) ⁴²⁻⁴⁵ に示した。

肌の水分量と弾力性の評価

試験開始一週間前と、終了して一週間後に SOUKEN の臨床検査室で被験者の肌を評価した。Corneometer CM825 (KOKO Kosmetikvertrieb、ケルン、ドイツ) を使用して、頬骨の上の 3 点、及び点の左右 5 mm の領域内で皮膚の水分含有量を評価した。耳朶下の付根と唇端とを結んだ直線上の、耳朶下の付根から 4 cm の部位を 3 MPA580 システム (Courage + Khazaka Electronic、ケルン、ドイツ) で 3 回測定し、皮膚の弾力性の 3 つのパラメーター (振幅最大値、振幅最小値、戻り率) を評価した。全ての測定は、一定の温度と湿度 (室温: $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度: $50 \pm 10\%$) の部屋で行われた。

Table 2. qRT-PCR primer nucleotide sequence.

Gene	Forward	Reverse	Reference
GAPDH	5'-ATGACATCAAGAAGGTGGTG-3'	5'-CATACCAGGAAAATGAGCTTG-3'	57
SIRT1	5'-TCGCAACTATACCCAGAACATAGACA-3'	5'-CTGTTGCAAAGGAACCATGACA-3'	57
SIRT6	5'-CCACCAAGCACGACCGCCAT-3'	5'-CGCCCTCTCCAGCACACGG-3'	58
hTERT	5'-CGGAAGAGTGTCTGGAGCAA-3'	5'-TGACCTCCGTGAGCCTGTC-3'	59
hTERC	5'-GTGGTGGCCATTTTTTGTCTAAC-3'	5'-TGCTCTAGAATGAACGGTGGAA-3'	60

キメレプリカ画像・数値解析

キメレプリカの測定は上記の肌の測定と同時に同条件で行われた。キメレプリカの測定方法は以前の報告を参考にした⁴⁶⁾。耳朶下の付け根と小鼻を結んで、耳朶下の付け根から7 cmの部分でレプリカを採取した。得られた画像はASA-03RXDシステム（アサヒバイオメッド、東京）で解析した。

統計解析

全ての結果は平均 ± SE 値で表示した。マンホイットニー U 検定で統計的有意差を計算した。有意差は、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 及び *** $p < 0.001$ に設定した。

結果

体構造測定

ホットヨガプログラムの完遂によっても、体脂肪以外の体組成には大きな変化は認められなかった。最初に、体構造の測定によりヨガが健康に与える影響を調査した。体重とBMIは試験後にわずかに低下したが有意差はなかった (*Fig. 1-a, b*)。筋肉量は変化しなかった (*Fig. 1-c*)。試験後の体脂肪量と体脂肪率は有意に低下した ($p < 0.05$; *Fig. 1-d, e*)。

カテコールアミンとコルチゾール値

ホットヨガプログラムへの参加前後で、被験者の血漿中のアドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、及びコルチゾール値を測定した。ドーパミンとコルチゾール値に試験前後で有意差はなかった。一方、アドレナリンとノルアドレナリン値は試験前より試験後のほうが有意に低下していた (*Fig. 2*)。

ホットヨガ後の酸化ストレスマーカーの減少

血漿中のROSレベルはDCFを指標として評価した。試験前と比べて試験後のROSレベルは有意に減少した。 (*Fig. 3-a*)。続いてROSによる酸化的DNA損傷の程度を比較するため、血漿中8-OHdGを測定した。ROSの結果と同様、試験前より試験後で8-OHdGは有意に減少していた (*Fig. 3-b*)。

ホットヨガ後の血中の老化関連マーカーの発現低下

テロメラーゼとサーチュインは老化を抑制することが明らかになっている^{23,35)}。したがって、老化に対するホットヨガの影響を検討するため、血液サンプルの *hTERT*、*hTERC*、*SIRT1*、及び *SIRT6* の発現レベルをリアルタイムPCRで測定した。その結果、試験前と比較し試験後の *SIRT6* の mRNA 発現レベルは有意に増加した。一方、*hTERT*、*hTERC*、*SIRT1* の発現レベルに有意な差は認められなかった (*Fig. 4*)。

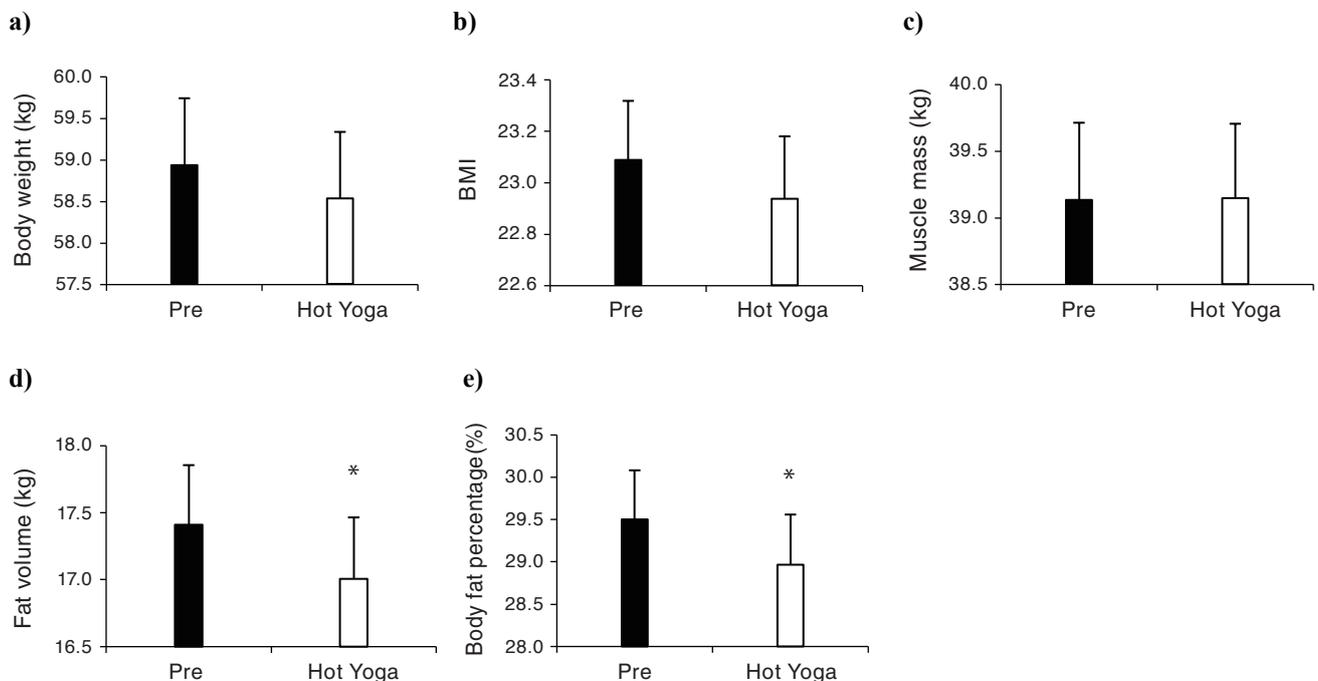


Fig. 1. Evaluation of body composition in volunteers before and after hot yoga.

Each participant individually participated in 60-minute hot yoga lessons twice weekly for 3 months. No significant changes in body weight (a), BMI (b), or muscle mass (c) were observed when comparing results from individuals before and after hot yoga, but the fat volume (d) and body fat percentage (e) differed significantly before and after hot yoga. The results were analyzed using the Mann-Whitney U test and are expressed as the mean ± SE, $n = 48$, * $p < 0.05$. BMI, body mass index; SE, standard error.

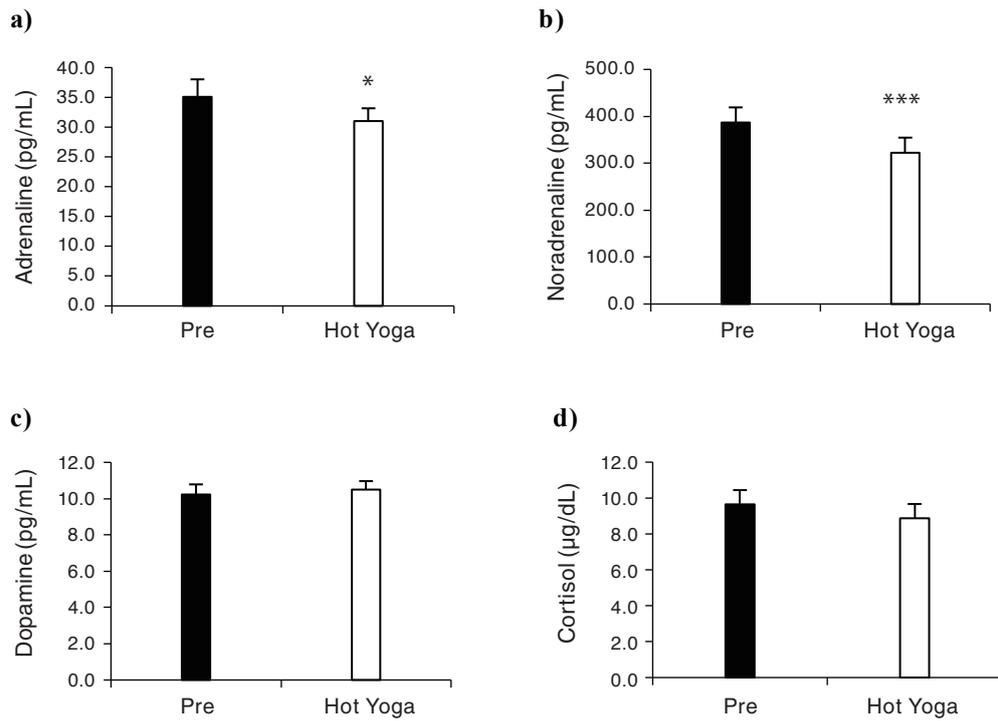


Fig.2. Changes in plasma catecholamine and cortisol concentrations before and after hot yoga lessons.

Changes in plasma catecholamine and cortisol concentrations before and after hot yoga lessons. Plasma was obtained from subjects before initiation of the hot yoga program and after. The concentrations of adrenaline (a) and noradrenaline (b) were significantly higher after hot yoga than before individuals began the hot yoga program, but the concentrations of dopamine (c) and cortisol (d) did not change significantly. The results were examined by Mann-Whitney U test and are expressed as the mean \pm SE values, $n = 48$, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$. SE, standard error.

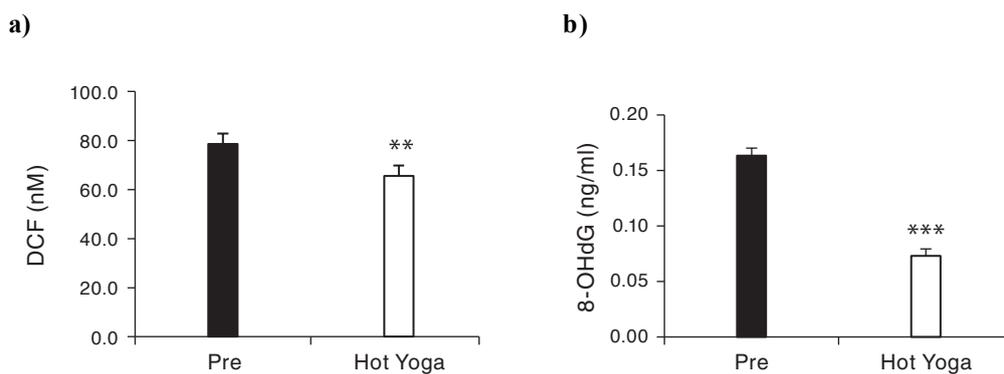


Fig.3. Effect of hot yoga on oxidative stress.

(a) DCF. After completion of the hot yoga program, plasma ROS levels were significantly decreased compared to the levels observed before the program started. (b) 8-OHdG. The percentage of oxidized DNA damage in plasma from the different groups was evaluated by quantifying 8-OHdG levels. Hot yoga significantly decreased the level of 8-OHdG compared to the levels observed before the program. The results were analyzed using the Mann-Whitney U test and are expressed as the mean \pm SE, $n = 48$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. ROS, reactive oxygen species; DCF, 2',7'-dichlorofluorescein; 8-OHdG, 8-oxo-2'-deoxyguanosine; SE, standard error.

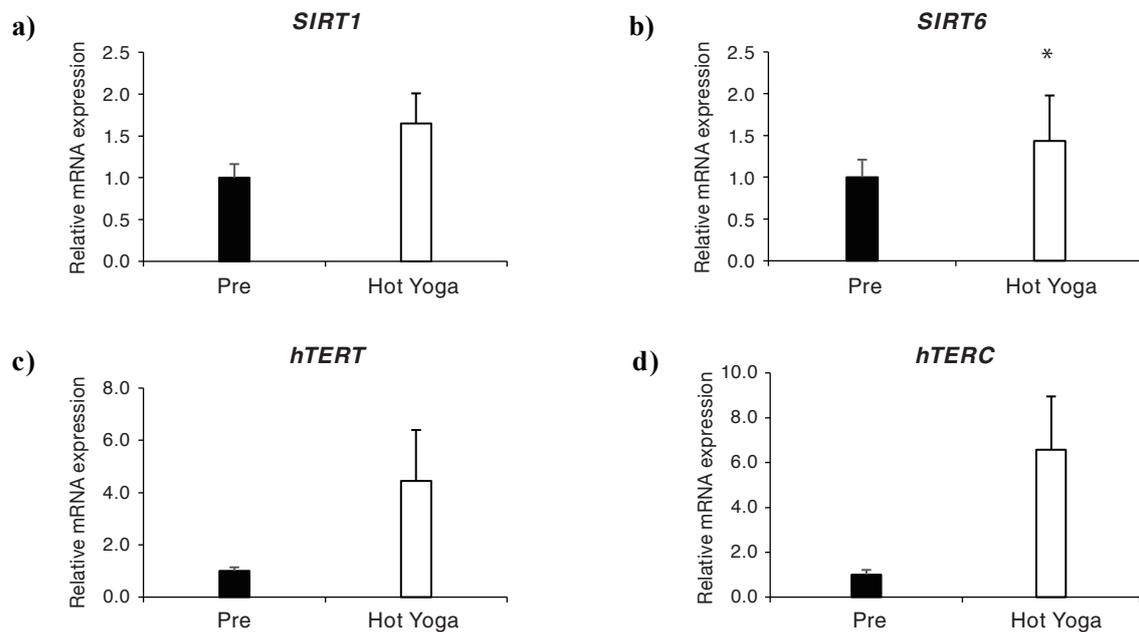


Fig. 4. SIRT6 expression is changed by hot yoga.

Blood was collected from subjects before beginning and after completing the hot yoga program. The mRNA expression levels of *SIRT6* (b) in individual samples were significantly higher after completing the hot yoga program than they were prior to its initiation; however, no differences were seen in the *SIRT1* (a), *hTERT* (c) and *hTERC* (d) mRNA expression levels between the two groups of samples. The expression levels of the analyzed genes were normalized to that of *GAPDH*. The mRNA expression levels in the hot yoga group (white bars) are presented relative to the levels before beginning hot yoga (represented as 1.00; black bars). The results were analyzed using the Mann-Whitney U test and are expressed as the mean \pm SE, $n = 48$, * $p < 0.05$. *GAPDH*, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; SE, standard error.

ホットヨガ後の肌の老化指標の改善

年を取るにつれ見た目とともに皮膚の機能は徐々に衰える⁴⁷⁾。そのため皮膚機能の重要な指標である水分量と弾力性の測定を行った。試験終了後に角質層の水分含有量は有意な増加を示した (Fig. 5-a)。振幅最大値は皮膚がどれだけ引っ張られたかを示し、振幅最小値は引っ張られた皮膚がどれだけ戻ったかを示し、両方の値が大きいほど、皮膚の弾力性が高くなる。戻り率は最大振幅と最小振幅の比率であり、高い値は弾力性のある皮膚を示している。試験終了後に振幅最大値と幅最小値の両方で皮膚の弾力性は有意に増加した (Fig. 5-b, c)。一方、皮膚が元の状態に戻る力を示す戻り率に有意な変化は認められなかった (Fig. 5-d)。

皮膚の機能低下に伴い肌のキメも加齢とともに徐々に劣化していく⁴⁸⁾。肌のキメの修復の程度を評価するためキメレプリカ分析を行った。

シリコン系印象剤で皮膚表面形状を転写したレプリカ

に 30°C の平行光を照射し、得られた陰影を CCD カメラで撮影し皮膚のキメを解析した。緑は盛り上がっていると認識された領域を示し、茶色は深いと認識された領域を示す (Fig. 6-a)。キメの体積率は、1 ミリ平方メートル当たりのキメと認識された体積を 100 で割った数であり、キメ平均深度は単位面積 (エリア) 内でのキメの平均的な深さを示している。またキメ個数は 1 ミリ直線状あたりの個数を示す。皮膚老化の見地から体積率と平均深度の値は高いほうが良く、平均深度の値は低いほうが良いとされている。

試験後、体積率と個数は有意に増加し、平均深度は有意に減少した (Fig. 6-b, c, d)。これらの結果は、ホットヨガによりキメが改善されたこと示す所見である。試験結果は加齢に関連するいくつかの特性が改善されたことを示しており、ホットヨガが老化の側面を抑制する役割を果たしている可能性があることを示唆された。

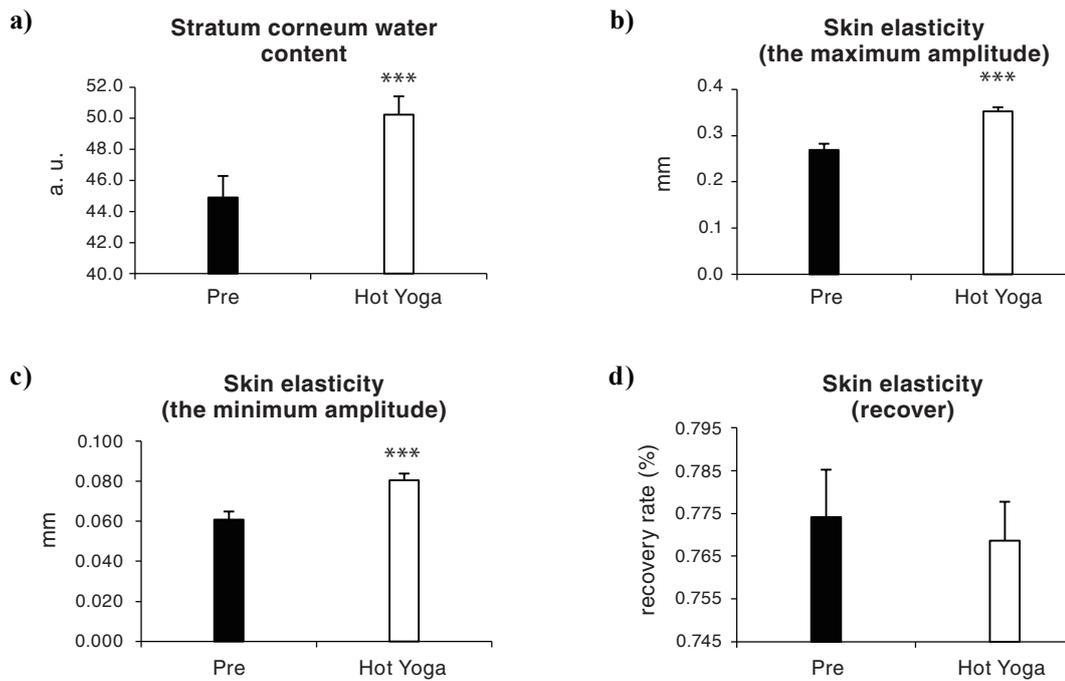


Fig. 5. Protective effect of hot yoga against skin aging.

(a) Skin corneum water content: The amount of water in the corneum. (b) Skin elasticity (the maximum amplitude): Height of the skin drawn into the opening when sucked and released at a negative pressure of 300 mbar (mm). (c) Skin elasticity (the minimum amplitude): Height of the skin drawn into the opening after 2 seconds of suction and release with a negative pressure of 300 mbar (mm). (d) Skin elasticity (recover): Ratio of the maximum amplitude to the minimum amplitude value (%). The moisture content of the stratum corneum was measured before and after completion of the hot yoga program. The moisture content in individuals who completed the hot yoga program was significantly higher than it was for them prior to beginning hot yoga. The skin elasticity was estimated in individuals before beginning and after completing the hot yoga program. The maximum and minimum amplitude of skin elasticity was significantly higher in individuals after completion of the hot yoga program than it was before starting it. The results were analyzed using the Mann-Whitney U test and are expressed as the mean \pm SE, $n = 48$, *** $p < 0.001$. SE, standard error.

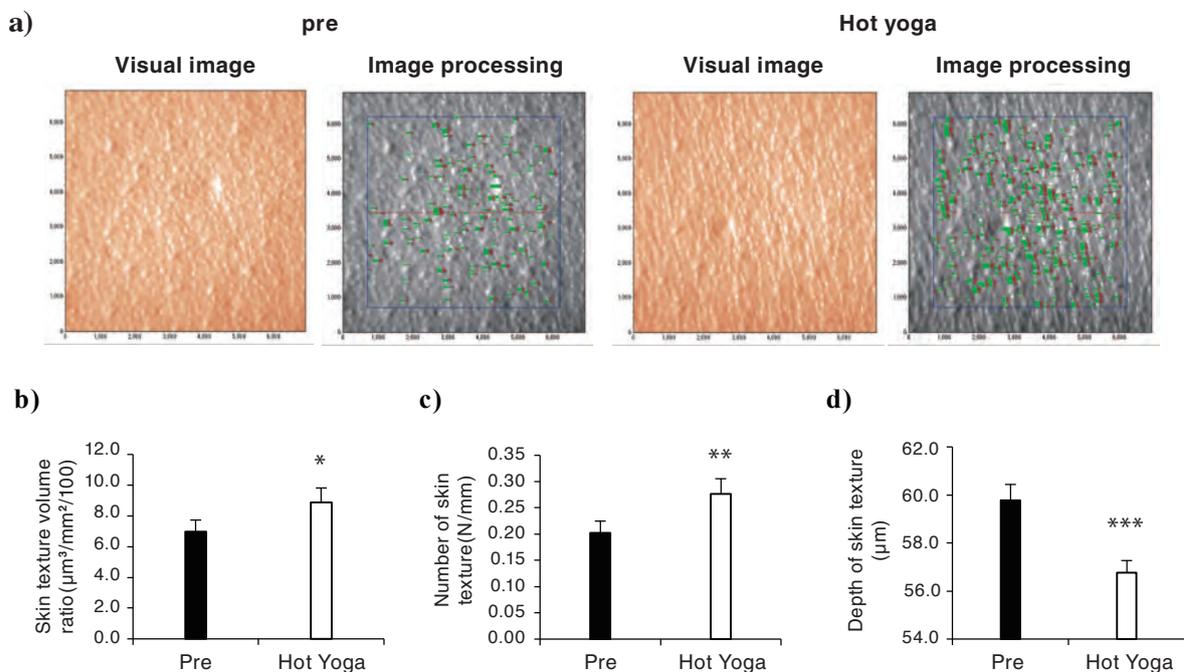


Fig. 6. The skin texture improving effect of hot yoga.

a) Skin texture visual image. Visual images of skin replicas and image analysis of the skin texture before and after hot yoga. b) Skin texture volume ratio: The number of perceived skin textures divided by 100 per millisquare meter. c) Number of skin texture: The average depth of skin texture within the unit area. d) Depth of skin texture: The number of skin texture per millimeter straight line. Green indicates areas that are recognized as high, and brown indicates areas that are recognized as deep. The volume, number, and depth of skin texture points in three-dimensional skin replicas was evaluated by image analysis. Quantification of the volume, number, and apparent depth of skin texture points. The volume and number of skin texture points after hot yoga were significantly larger than they were before the lesson program began. The apparent depth of the skin was smaller in the skin replicas after the hot yoga trial period than it was before the trial period. The results were analyzed using the Mann-Whitney U test and are expressed as the mean \pm SE, $n = 48$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$.

考察

ヨガは加齢関連疾患を抑制することが報告されている。一方、高温多湿の環境で行われるホットヨガについてはほとんど研究されていない。高温多湿条件で行われるため、ホットヨガは通常のヨガより体にかかる負荷が大きくなる。したがって、ホットヨガは体構造の変化、副腎ホルモン、酸化ストレスの軽減、そしてアンチエイジング遺伝子の発現増加に効果的ではないかと我々は考えた。

12週間のホットヨガが加齢に関連する要因にどのように影響するかを検討したところ、ホットヨガが体脂肪の量と割合の両方を減少させることが明らかになった。この結果は、二重エネルギーX線吸収測定法(DXA)でホットヨガ試験終了後の体組成の変化を測定した以前の研究と一致している⁴⁹⁾。体脂肪量の増加は、肥満、動脈硬化症、糖尿病、そして癌などの様々な加齢関連疾患に影響を及ぼしている^{30, 50, 51)}。高温多湿環境で運動すると血流が促進されるため⁵²⁾、体脂肪の燃焼に効果的であることが考えられる。したがって、この研究結果は、脂肪の蓄積によって引き起こされる病気を予防するのにホットヨガが効果的である可能性を示唆している⁵³⁾。

カテコールアミンとコルチゾールの増加は血管収縮作用を促すため血流が減少することが知られている^{20, 21)}。そのため我々はアドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、及びコルチゾールの濃度変化に対するホットヨガの影響を調べた。その結果、ホットヨガによりアドレナリンとノルアドレナリンの減少を介して血管拡張を促進することで血流が増加する可能性が示唆された。またホットヨガによる亢進が見られなかったことからドーパミンはホットヨガによる血流調節に関与しないことが示唆された。アドレナリンまたはノルアドレナリンによる血管収縮は高血圧を引き起こし、心臓肥大、冠状動脈アテローム性動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞、心理的障害などの危険な疾患につながる危険性がある⁵⁴⁾。そのためホットヨガはこれらの疾患の予防に効果的である可能性が示唆される。

アドレナリンとノルアドレナリンは β -アドレナリン受容体を介してROSの産生を促すため^{18, 19)}、ホットヨガは酸化ストレスの抑制に効果的である可能性がある。

年齢を重ねるにつれて、細胞のROSレベルは徐々に蓄積し、脂質、タンパク質、及び核酸の酸化を引き起こすことで生活習慣病を促すことが報告されている²²⁾。そこでホットヨガによるROSレベル及び8-OHdGを検討したところ、ホットヨガはROSを抑制することが明らかになった。運動により血流が増加することで、血管内皮細胞にずり応力がかかり抗酸化反応を促されることが明らかになっている⁵⁵⁾。またずり応力によりサーチュインが活性化され、ミトコンドリアのROSの産生を抑制し、血管を保護することも実証されている⁵⁴⁾。ずり応力は、転写

因子Nrf2の核移行を促進することも証明されており⁵⁶⁾、サーチュインはNrf2のコアクチベーターとして機能することが示唆されている⁵⁷⁾。以上のことから我々はホットヨガによりSIRT1とSIRT6の発現が誘導されるのではないかと考えた。その結果、試験後にSIRT6のmRNA発現が増加していることがわかった。上記の調査結果とここで提示した結果に基づきホットヨガはずり応力によって生じるメカニズムを介してSIRT6発現を促したのではないかと我々は考える。SIRT6は長寿遺伝子として知られている⁵⁸⁾。よって本研究により、SIRT6の活性化を促すホットヨガは健康寿命の促進に効果的であることが可能性が示唆された。一方、この仮説を立証するためには、より長期的に行った場合のホットヨガの効果の検討など、さらなる研究が必要である。

サーチュインファミリーと同様、テロメラーゼの活性化も血流の促進に関連しており、テロメラーゼの活性化がヒト及び他の哺乳動物の寿命の延長に繋がることが実証されている³⁵⁾。興味深いことに、SIRT6を過剰発現させたトランスジェニックマウスの寿命は、オスでは延長されるが、メスのマウスでは延長されないことが示されている⁵⁸⁾。しかし、これらの実験動物はストレスのない快適な環境で飼育されているが、人間は、男女ともに、排気ガス、粒子状物質、紫外線(UV)などの様々な環境ストレスに曝されている。紫外線暴露によりROSが生成されるが、Sirt6発現が増加すれば、酸化ストレスによる皮膚老化が緩和される可能性がある。

この研究では、試験前後でhTERTとhTERCの両方の遺伝子で有意な差は見られなかった。一方、試験前と比較し試験後ではhTERTとhTERCの両方の遺伝子は顕著な増加傾向を示していた。したがって、今後の研究でサンプル数を増やし、ホットヨガによるテロメラーゼの活性化を再度検討したい。

肌の水分と弾力性の低下が原因で生じる乾燥肌、肌荒れ、かゆみ、しわなどの肌表面の変化は、老化の最も目に見える兆候の1つである⁵⁹⁾。本研究では、ホットヨガプログラムを完了した後、試験前と比較して、皮膚の水分含有量と弾力性が大幅に増加していた。これらの変化は、加齢に伴うしわの形成に対して予防的に作用する可能性がある。

また、本研究により、ホットヨガを行った後、被験者の肌のキメが改善されることが実証された。若い人は年配の人よりも肌のキメが細かいことが知られている⁶⁰⁾。我々は、皮膚老化に関与する機構の制御に加えて、ホットヨガが皮膚の外観を若返らせる効果があると仮定した。この仮説を検証するにはさらに多くの検証試験が必要である。今回は短期間の介入により効果を示したが、ホットヨガの抗加齢効果を明確に示すには、今後さらに長期的な観察が不可欠である。

結語

我々は、ホットヨガの継続によりカテコールアミンが抑制され、血流を促進することを示した。SIRT6の発現調節によってROS誘発性退行性変化から保護する効果が期待される (Fig. 7)。ホットヨガとSIRT6活性化を結ぶ老化抑制の伝達経路については不明な点が多く、詳細なメカニズムを実証するためには、さらなる研究が必要である。

利益相反申告

本研究は著者が所属するLAVA International, Incの研究資金で実施された。

謝辞

多数のサンプルの分析に迅速に対応してくれたLAVA International スタッフに感謝する。

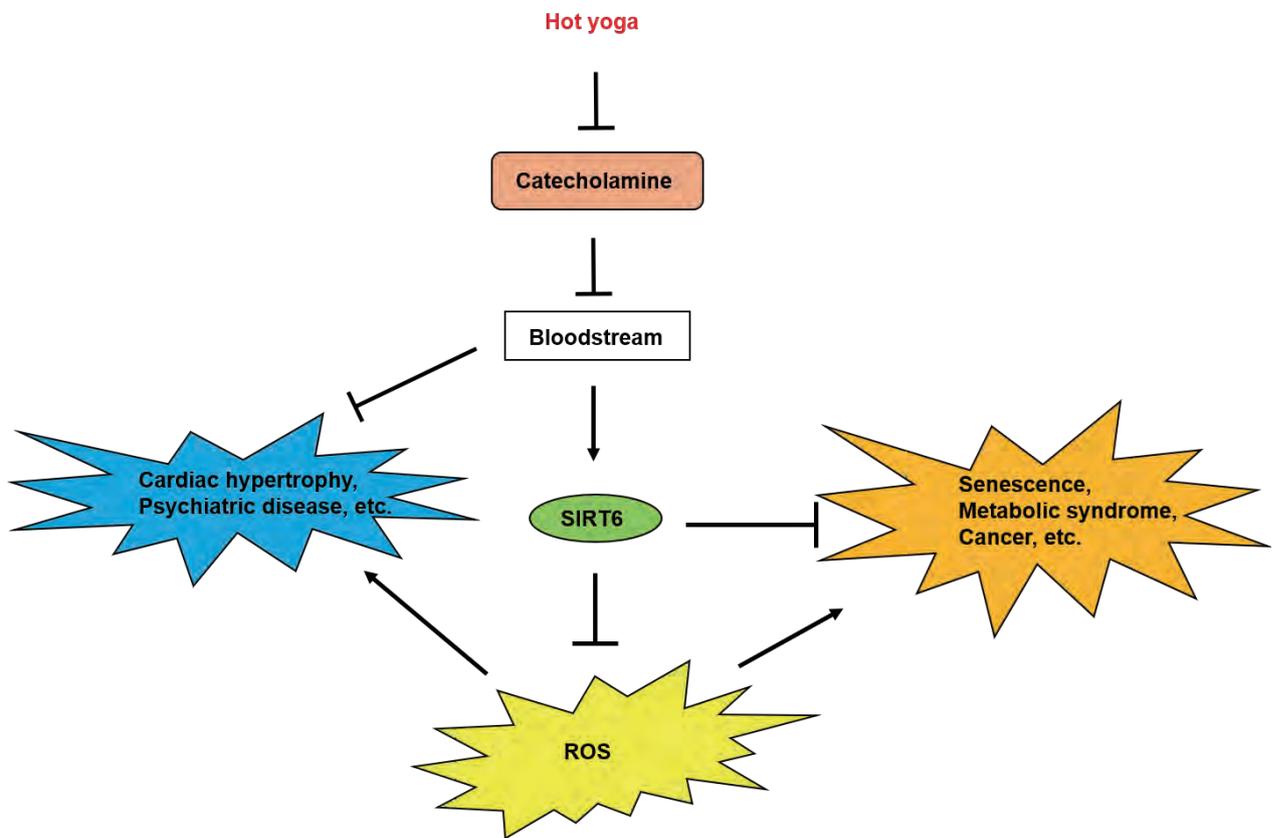


Fig. 7. Schematic diagram showing the mechanism of hot yoga action.

ROS, reactive oxygen species.

参考文献

- 1) Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001; 414: 782-787.
- 2) Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: Mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circ Res*. 2012; 111: 245-259.
- 3) Soriano-Tárraga C, Giralt-Steinhauer E, Mola-Caminal M, et al. Biological age is a predictor of mortality in ischemic stroke. *Sci Rep*. 2018; 8: 4148.
- 4) Childs BG, Durik M, Baker DJ, et al. Cellular senescence in aging and age-related disease: From mechanisms to therapy. *Nat Med*. 2015; 21: 1424-1435.
- 5) Higashi Y, Kihara Y, Noma K. Endothelial dysfunction and hypertension in aging. *Hypertens Res*. 2012; 35: 1039-1047.
- 6) Guddeti RR, Dang G, Williams MA, et al. Role of yoga in cardiac disease and rehabilitation. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2019; 39: 146-152.
- 7) Danucalov MA, Kozasa EH, Afonso RF, et al. Yoga and compassion meditation program improve quality of life and self-compassion in family caregivers of Alzheimer's disease patients: A randomized controlled trial. *Geriatr Gerontol Int*. 2017; 17: 85-91.
- 8) Gallagher A, Kring D, Whitley T. Effects of yoga on anxiety and depression for high risk mothers on hospital bedrest. *Complement Ther Clin Pract*. 2020; 38: 101079.
- 9) Tolahunase M, Sagar R, Dada R. Impact of yoga and meditation on cellular aging in apparently healthy individuals: A prospective, open-label single-arm exploratory study. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017: 7928981.
- 10) Tabara Y, Yuasa T, Oshiumi A, et al. Effect of acute and long-term aerobic exercise on arterial stiffness in the elderly. *Hypertens Res*. 2007; 30: 895-902.
- 11) Brown BM, Peiffer JJ, Martins RN. Multiple effects of physical activity on molecular and cognitive signs of brain aging: Can exercise slow neurodegeneration and delay Alzheimer's disease? *Mol Psychiatry*. 2013; 18: 864-874.
- 12) Santos-Parker JR, LaRocca TJ, Seals DR. Aerobic exercise and other healthy lifestyle factors that influence vascular aging. *Adv Physiol Educ*. 2014; 38: 296-307.
- 13) Tanaka H. Antiaging effects of aerobic exercise on systemic arteries. *Hypertension*. 2019; 74: 237-243.
- 14) Gonzalez-Alonso J. Human thermoregulation and the cardiovascular system. *Exp Physiol*. 2012; 97: 340-346.
- 15) Sawka MN, Cheuvront SN, Kenefick RW. High skin temperature and hypohydration impair aerobic performance. *Exp Physiol*. 2012; 97: 327-332.
- 16) Rowell LB, Brengelmann GL, Murray JA, et al. Human metabolic responses to hyperthermia during mild to maximal exercise. *J Appl Physiol*. 1969; 26: 395-402.
- 17) Gallagher A, Kring D, Whitley T. Effects of yoga on anxiety and depression for high risk mothers on hospital bedrest. *Complement Ther Clin Pract*. 2020; 38: 101079.
- 18) Sun F, Ding XP, An SM, et al. Adrenergic DNA damage of embryonic pluripotent cells via β 2 receptor signalling. *Sci Rep*. 2015; 5: 15950.
- 19) Corbi G, Conti V, Russomanno G, et al. Adrenergic signaling and oxidative stress: A role for sirtuins? *Front Physiol*. 2013; 4: 324.
- 20) Romana-Souza B, Santos Lima-Cezar G, Monte-Alto-Costa A. Psychological stress-induced catecholamines accelerates cutaneous aging in mice. *Mech Ageing Dev*. 2015; 152: 63-73.
- 21) Terao M, Katayama I. Local cortisol/corticosterone activation in skin physiology and pathology. *J Dermatol Sci*. 2016; 84: 11-16.
- 22) Redman LM, Smith SR, Burton JH, et al. Metabolic slowing and reduced oxidative damage with sustained caloric restriction support the rate of living and oxidative damage theories of aging. *Cell Metab*. 2018; 3: 805-815.
- 23) Imai S, Guarente L. It takes two to tango: NAD⁺ and sirtuins in aging/longevity control. *NPJ Aging Mech Dis*. 2016; 2: 16017.
- 24) Balan E, Decottignies A, Deldicque L. Physical activity and nutrition: Two promising strategies for telomere maintenance? *Nutrients*. 2018; 10: 1942.
- 25) Done AJ, Traustadóttir T. Nrf2 mediates redox adaptations to exercise. *Redox Biol*. 2016; 10: 191-199.
- 26) Gordon LA, Morrison EY, McGrowder DA, et al. Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. *BMC Complement Altern Med*. 2008; 8: 21.
- 27) Lavu S, Boss O, Elliott PJ, et al. Sirtuins: Novel therapeutic targets to treat age-associated diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2008; 7: 841-853.
- 28) Boily G, Seifert EL, Bevilacqua L, et al. SirT1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. *PLoS One*. 2008; 3: e1759.
- 29) Baur JA, Pearson KJ, Price NL, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006; 444: 337-342.
- 30) Kuang J, Chen L, Tang Q, et al. The role of Sirt6 in obesity and diabetes. *Front Physiol*. 2018; 9: 135.
- 31) Sundaresan NR, Vasudevan P, Zhong L, et al. The sirtuin SIRT6 blocks IGF-Akt signaling and development of cardiac hypertrophy by targeting c-Jun. *Nat Med*. 2012; 18: 1643-1650.
- 32) Lerrer B, Gertler AA, Cohen HY. The complex role of SIRT6 in carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2016; 37: 108-118.
- 33) Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB, et al. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell*. 2006; 124: 315-329.
- 34) Cui X, Yao L, Yang X, et al. SIRT6 regulates metabolic homeostasis in skeletal muscle through activation AMPK. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2017; 313: E493-E505.
- 35) Tzanetakou IP, Nzietchueng R, Perrea DN, et al. Telomeres and their role in aging and longevity. *Curr Vasc Pharmacol*. 2014; 12: 726-734.
- 36) Cong Y, Shay JW. Actions of human telomerase beyond telomeres. *Cell Res*. 2008; 18: 725-732.
- 37) Savage SA, Bertuch AA. The genetics and clinical manifestations of telomere biology disorders. *Genet Med*. 2010; 12: 753-764.
- 38) Leão R, Apolónio JD, Lee D, et al. Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: Clinical impacts in cancer. *J Biomed Sci*. 2018; 25: 22.
- 39) Werner C, Hanhoun M, Widmann T, et al. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52: 470-482.

- 40) Ludlow AT, Zimmerman JB, Witkowski S, et al. Relationship between physical activity level, telomere length, and telomerase activity. *Med Sci Sports Exerc.* 2008; 40: 1764-1771.
- 41) Laye MJ, Solomon TP, Karstoft K, et al. Increased shelterin mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells and skeletal muscle following an ultra-long-distance running event. *J Appl Physiol.* 2012; 112: 773-781.
- 42) Yamamori T, DeRicco J, Naqvi A, et al. SIRT1 deacetylates APE1 and regulates cellular base excision repair. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38: 832-845.
- 43) Chilton WL, Marques FZ, West J, et al. Acute exercise leads to regulation of telomere-associated genes and microRNA expression in immune cells. *PLoS One.* 2014; 9: e92088.
- 44) Patel PL, Suram A, Mirani N, et al. Derepression of hTERT gene expression promotes escape from oncogene-induced cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016; 113: E5024-5033.
- 45) Rubtsova M, Naraykina Y, Vasilkova D, et al. Protein encoded in human telomerase RNA is involved in cell protective pathways. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46: 8966-8977.
- 46) Shiratsuchi E, Nakaba M, Yamada M. Elastin hydrolysate derived from fish enhances proliferation of human skin fibroblasts and elastin synthesis in human skin fibroblasts and improves the skin conditions. *J Sci Food Agric.* 2016; 96: 1672-1677.
- 47) Wang AS, Dreesen O. Biomarkers of cellular senescence and skin aging. *Front Genet.* 2018; 9: 247.
- 48) Czajka A, Kania EM, Genovese L, et al. Daily oral supplementation with collagen peptides combined with vitamins and other bioactive compounds improves skin elasticity and has a beneficial effect on joint and general wellbeing. *Nutr Res.* 2018; 57: 97-108.
- 49) Hunter SD, Laosiripisan J, Elmenshawy A, et al. Effects of yoga interventions practised in heated and thermoneutral conditions on endothelium-dependent vasodilatation: The Bikram yoga heart study. *Exp Physiol.* 2018; 103: 391-396.
- 50) Lee J, Jung S, Kim N, et al. Myocardial metabolic alterations in mice with diet-induced atherosclerosis: Linking sulfur amino acid and lipid metabolism. *Sci Rep.* 2017; 7: 13597.
- 51) Khandekar MJ, Cohen P, Spiegelman BM. Molecular mechanisms of cancer development in obesity. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11: 886-895.
- 52) Petrofsky J, Berk L, Alshammari F, et al. The effect of moist air on skin blood flow and temperature in subjects with and without diabetes. *Diabetes Technol Ther.* 2012; 14: 105-116.
- 53) Petrofsky JS, McLellan K, Prowse M, et al. The effect of body fat, aging, and diabetes on vertical and shear pressure in and under a waist belt and its effect on skin blood flow. *Diabetes Technol Ther.* 2010; 12: 153-160.
- 54) Ferrari R, Camici PG, Crea F, et al. Expert consensus document: A 'diamond' approach to personalized treatment of angina. *Nat Rev Cardiol.* 2018; 15: 120-132.
- 55) Cunningham KS, Gotlieb AI. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest.* 2005; 85: 9-23.
- 56) Satta S, Mahmoud AM, Wilkinson F, et al. The role Nrf2 in cardiovascular function and disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 9237263.
- 57) Pan H, Guan D, Liu X, et al. SIRT6 safeguards human mesenchymal stem cells from oxidative stress by coactivating NRF2. *Cell Res.* 2016; 26: 190-205.
- 58) Kanfi Y, Naiman S, Amir G, et al. The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice. *Nature.* 2012; 483: 218-221.
- 59) Choi JW, Kwon SH, Huh CH, et al. The influences of skin visco-elasticity, hydration level and aging on the formation of wrinkles: A comprehensive and objective approach. *Skin Res Technol.* 2013; 19: e349-355.
- 60) Lagarde JM, Rouvrais C, Black D. Topography and anisotropy of the skin surface with ageing. *Skin Res Technol.* 2005; 11: 110-119.