

厚生労働科学研究研究費補助金

長寿科学総合研究事業

運動・栄養による骨量減少予防効果に関する縦断的疫学研究－
骨粗鬆症予防への遺伝子多型別のストラテジー

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 安藤 富士子

平成16(2004)年 3月

目 次

I. 総括研究報告書

運動・栄養による骨量減少予防効果に関する疫学研究 －骨粗鬆症予防への遺伝子多型別のストラテジー	安藤 富士子	7
--	--------	---

II. 分担研究報告書

ゲノム多型による骨粗鬆症の遺伝因子の解明	山田 芳司	17
----------------------	-------	----

運動の骨量減少予防効果と遺伝子の関与に関する研究	安藤 富士子	21
--------------------------	--------	----

栄養摂取の骨量減少予防効果と遺伝子の関与に関する研究	下方 浩史	39
----------------------------	-------	----

転倒歴と骨密度に関する研究	新野 直明	65
---------------	-------	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

75

IV. 研究成果の刊行物・別刷

81

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

運動・栄養による骨量減少予防効果に関する疫学研究
－骨粗鬆症予防への遺伝子多型別のストラテジー

主任研究者 安藤 富士子

長寿医療センター疫学研究部長期縦断疫学研究室長

研究要旨 「老化に関する長期縦断疫学研究（NILS-LSA）」の第1次調査参加者を対象として運動・栄養による骨量減少予防効果を骨粗鬆症関連候補遺伝子に着目して検討した。本年度、新たに測定した骨粗鬆症関連候補遺伝子11種のうち、Klotho 遺伝子-395G→A 多型が閉経後女性において、androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型が男性および閉経前女性において骨密度と有意な関連を示した。体力、日常生活活動度などの運動機能およびカルシウム摂取は従来の報告の通り、骨密度と有意な正の関連を示した。ビタミンD受容体遺伝子多型別に運動、栄養の骨密度との関係を検討したところ、男性のT2CのCC型、A-3731GのGA/AA型では、それ以外の型に比べて、運動、カルシウム摂取の骨密度への影響がより大きかった。これらの遺伝子多型を有する男性では、運動・栄養介入による骨量減少予防効果がより高い可能性が示唆された。また転倒経験の有無と骨密度との関係を検討したところ、60歳以上女性において転倒歴のある人に骨密度が低い傾向が見られ、転倒による骨折リスクが高いと考えられた。

分担研究者

山田芳司（三重大学生命科学研究支援センター 教授）

下方浩史（国立長寿医療センター疫学研究部 部長）

新野直明（国立長寿医療センター疫学研究部 室長）

すことは重要ではあるが、その多型を持っていても疾患を発症しない要因を見つけ出すことを同時にしていかなければ予防に結びつかない。骨粗鬆症予防のためには関連する遺伝形質を特定するとともに、運動や食事などの生活要因や環境要因の骨量減少予防効果が遺伝子多型でどのように異なるかについて検討することが重要である。

A. 研究目的

特定疾患に関連する遺伝子多型を見出

また実際に中高年者のADL、QOLに影響

を与えるのは骨粗鬆症そのものよりも、それに伴う疼痛や転倒後の骨折である。骨粗鬆症性骨折予防のための転倒予防は昨今注目を浴びているが、骨折しやすい転倒の規定要因、特に骨密度と転倒との関連についての研究はいまだ十分に行われていない。骨折、骨量減少予防を念頭におきながら、転倒と骨密度の関係を検討することは、骨折しやすい転倒の減少につながる貴重な研究になると期待される。

本研究は国立長寿医療センターで平成9年から2年ごとに行われている「老化に関する長期縦断疫学調査(NILS-LSA)」での約2300人規模の詳細な栄養・運動・転倒ならびに老年病関連候補遺伝子多型(SNP)のデータベースを元に中高年の骨粗鬆症予防のための総合的研究を進めることを目的としている。

平成15年度にはNILS-LSA第一次調査の結果をもとに①新たにタイピングしたSNP11種の骨密度関連候補SNPと骨密度・骨代謝マーカーとの関連を検討し、②第一次調査データを用いて骨密度・骨代謝マーカーと運動(体力、身体活動度、万歩計による一日の歩行量など)、栄養(3日間食事調査およびサプリメント・医薬品調査から得られた98項目の栄養素や乳製品、大豆製品の摂取量など)との関連を背景要因を調整して横断的に検討し、③骨密度関連遺伝子多型ごとに骨密度と栄養・運動との関係の評価した。また、④骨折しやすい転倒の規定要因としての骨密度と転倒との関連についても検討した。

B. 研究方法

1. 対象

対象は、「国立長寿医療研究センター老化に関する長期縦断疫学研究(NILS-LSA)」の第1次調査参加者2267名である。調査参加者は愛知県大府市および知多郡東浦町の40歳から79歳までの住民から年齢、性別に層化し無作為抽出されて選ばれている。

2. 骨密度検査

1) pQCT

末梢骨骨定量CT(pQCT)はスイスScanco社のDensiscan 1000を使用して測定を行った。スキャンは橈骨遠位端で10スキャン、橈骨骨幹部で6スキャン、合計16スキャンである。スキャン厚は1mm、スキャンの間隔は1.5mmである。橈骨遠位端は海綿骨と皮質骨から成り、全断面の骨密度D100と、中央部の海綿骨部の骨密度D50を計算している。また橈骨骨幹部は皮質骨であり、全断面の骨密度P100を計算している。

2) DXA

米国Hologic社の二重X線吸収装置(DXA)QDR4500にて全身骨、左右の大腿骨(頸部、大転子部、ワード三角)、腰椎の計4スキャンの各測定を行った。

3. 栄養調査

秤量法と写真記録法を併用した3日間の食事調査によって、食物摂取量および栄養素摂取量を推定した。

4. 運動調査

運動関連要因としては握力、脚伸展パワー、脚筋力、上体起こし、体前屈、閉眼片足立時間、重心動揺、全身反応時間、10m歩行における歩行速度・歩幅・ピッ

子、1週間の万歩計装着による1日平均歩数・運動量・総消費エネルギー、聞き取り調査による日常生活活動度や青年期の定期的運動の有無を検討項目とした。

5. 転倒調査

自記式の調査票により、過去1年間の転倒経験の有無を調べた。

6. 遺伝子検査

新規の遺伝子多型の測定として本年度は adiponectin 遺伝子-11377C→G 多型、adiponectin 遺伝子 G→T 多型 (intron 2, SNP-276)、androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型、 β 2-adrenergic receptor 遺伝子 79C→G (Gln27Glu)多型、 β 3-adrenergic receptor 遺伝子 190T→C (Trp64Arg) 多型、insulin receptor substrate-1 遺伝子 3494G→A (Gly972Arg)多型、insulin-like growth factor 2 receptor 遺伝子 5002A→G (Arg1619Gly) 多型、Klotho 遺伝子 -395G→A 多型、peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 遺伝子 34C→G (Pro12Ala)多型、steroid 5 α -reductase type II 遺伝子 G→C (Val89Leu)多型、Werner helicase 遺伝子 T→C (Cys1367Arg)多型の10遺伝子11多型について fluorescence-based allele-specific DNA primer assay system (東洋紡ジーンアナリシス)を測定した。また、NILS-LSA 第1次調査のデータベースからビタミンD受容体(VDR)の exon2 における T2C 多型とプロモーター領域の A-3731G 多型を運動・栄養との関連を検討するのに用いた。

5. 解析方法

(1) 骨粗鬆症関連 SNP の抽出

pQCT、DXA で測定した各部位の骨密度と新規に測定した11遺伝子多型との関連について、男性全体、女性全体、閉経前・閉経後女性に分けて、各部位の骨密度とそれぞれの多型との関連解析を行った。さらに年齢と body mass index で補正した関連解析を行い、有意な関連を示す多型を選択した(山田)。

(2) 運動・栄養による骨量減少予防効果の検討

pQCT、DXA で測定した各部位の骨密度と運動・栄養関連項目との関係について年齢、BMIなどの背景要因を調整して偏相関係数を求めた(下方、安藤)。

(3) 運動・栄養による骨量減少予防が効果的である SNP の抽出

ビタミンD受容体遺伝子多型 T2C および A-3731G について、運動・栄養と骨密度との関係が遺伝子多型によって異なるかどうかを一般線形モデルを用いて検討した(下方、安藤)。

(4) 骨折しやすい転倒の規定要因としての骨密度と転倒との関連の検討

性、年齢別(60歳未満と60歳以上)に転倒歴の有無により骨密度の平均値に差があるかを検討した(新野)。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立中部病院における倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、基幹施設調査の対象者全員からインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

1. 骨粗鬆症関連 SNP の抽出

検討した多型群の中で、Klotho 遺伝子-395G→A 多型は女性全体の橈骨遠

位部・近位部および腰椎骨密度と有意な関連を示し、G アリルが低骨密度を呈した。さらに女性を閉経前と閉経後に分けて検討した結果、閉経後女性の橈骨および腰椎骨密度と有意な関連を示した。男性では Klotho 遺伝子 -395G→A 多型と転子部骨密度との関連を認めたが、女性に比較し関連は弱かった。Androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型は、男性では <21 repeats が低骨密度と有意に関連し、特にワード三角で著明であった。閉経前女性では >24 repeats が低骨密度と有意に関連し、全身骨、腰椎、大腿骨頸部、転子部、ワード三角で顕著であったが、閉経後女性では骨密度との関連は認められなかった。他の遺伝子多型群については骨密度と有意な関連を認めなかった。

2. 運動・栄養と骨密度との関連

骨密度との関連が多く認められた運動関連要因は握力、脚筋力、上体起こし、歩幅、歩行による総消費エネルギー、総余暇活動時間、4.5Mets 以上の余暇活動時間、4.5Mets 以上の労働時間、青年期の定期的運動（以上骨密度と正の関連）、全身反応時間（負の関連）であった。男性のほうがより多くの運動関連要因と骨密度との有意な関係を認めた。

骨塩量と食物摂取量との関係では男性で乳製品、野菜、果実類、女性でキノコ類、嗜好飲料類が正の相関を、卵類が骨塩量と負の相関を示した。男女ともにエネルギー摂取量は骨密度と強く相関していた。男性ではカルシウム、リン、カリウム、食物繊維、ビタミン類と、女性では脂質およびビタミン類と骨密度が正相

関し、女性では炭水化物摂取量が骨塩量と負の相関を示した。

3. 運動・栄養の骨密度減少予防効果に対する SNP の影響

男性において T2C の CC 型群は多くの運動関連要因で CT/TT 型群よりも骨密度との間により強い関連を示した。女性では一定の傾向は得られなかった。

A-3731G 遺伝子多型別では、男性において GA/AA 型群では多くの運動関連要因で GG 型群よりも骨密度との関連がより強かった。女性でも上体起こし、脚筋力、歩行による総消費エネルギー、総余暇活動時間では同様の結果が得られたが、その他の運動関連項目では、一定の傾向は必ずしも認められなかった。

カルシウム摂取量の骨塩量への影響が男性では T2C の CC 型が CT/TT 型よりも、A-3731G 多型では GA/AA 型が GG 型よりも強かった。女性では T2C 多型および A-3731G 多型の影響はほとんど認められなかった。

ビタミンDの摂取量と骨塩量との関連については VDR の多型による影響は男女ともに認められなかった。

4 骨密度と転倒との関連

60 歳未満では、男女ともに、転倒した人と転倒しなかった人の骨密度には有意な差が見られなかった。60 歳以上でも男性では D50 以外に転倒歴と骨密度には有意な関係はなかった。しかし、女性では、9 個の骨密度測定値の中の 5 個の測定値において、転倒歴のある人の数値が有意に低かった。

D. 考察

Klotho 遺伝子 -395G→A 多型が閉経後

女性の骨密度と関連し、G アリルが低骨密度と関連するという今回の結果は Kawano らの報告とアリルが逆であった。また、androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型では男性と閉経前女性とでアリルの長さとの関係が逆であった。

運動やカルシウム摂取と骨密度の関係を遺伝子多型に着目して検討したところ、いずれも、男性の VDR SNP の TC2 における CC 型、A-3731G における AG/GG 型でその影響はより大きかった。

VDR と骨密度については多くの報告がなされているがその結果は必ずしも一致しない。今回の VDR の検討でも A-3731G 多型は全体として骨密度との関連は認められなかった。しかし、今回の研究で明らかになったように、SNP 多型によって、運動・栄養の影響は異なることから、運動量あるいはカルシウム摂取量の多い集団と少ない集団とでは、骨密度と SNP との関係が異なってくる可能性がある。今回の研究で Klotho 遺伝子多型と骨密度の関係が他の報告と逆であったことや、androgen receptor 遺伝子と骨密度との関係が男女で異なったことは、生活習慣や環境要因の違いによって説明できるかもしれない。

本研究で骨粗鬆症候補遺伝子多型を検討する際には、生活主観や環境要因を十分に考慮する必要があることが明らかになった。また、古典的な骨密度関連要因である運動や栄養の骨密度への影響が遺伝子多型によって異なるということは、遺伝子多型により骨粗鬆症予防のための生活習慣改善方法が異なってくることを

示唆している。今後、個人の遺伝的背景を考慮することでより効率的な骨粗鬆症予防施策をとることができると期待される。

転倒歴の有無と骨密度の関係を調べたところ、60 歳以上の女性において、転倒歴のある人に骨密度が低い傾向が見られた。骨密度が低い場合には、転倒時の外力による骨折の危険性が高くなると考えられる。転倒歴は、将来の転倒を予測する要因の一つとされる。今回の結果を見ると、高齢女性では、転倒の既往は、単なる転倒だけではなく、骨折など重度の怪我をもたらす injurious fall の予測要因としても有力である可能性が考えられた。

E. 結論

本年度検討した 10 遺伝子 11 多型のうち、Klotho 遺伝子-395G→A 多型が閉経後女性において、Androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型が男性および閉経前女性において骨密度と有意な関連を示した。

骨密度は多くの運動関連要因やカルシウム摂取と関係しており、日常の運動や栄養が骨密度減少予防に寄与している可能性が示された。運動やカルシウム摂取と骨密度との関連は特に男性の VDR SNP の TC2 の CC 型ならびに A-3731G の GA/AA 型で強く、これらの遺伝子多型を持った人では運動・カルシウム摂取による介入効果が上がりやすい可能性が示唆された。

転倒経験の有無と骨密度との関係を検討したところ、60 歳以上女性において転倒歴のある人に骨密度が低い傾向が見られ、こ

の世代での骨密度減少予防、転倒予防が重要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H Association of polymorphisms of interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3372-3378, 2003.
- 2) Yamada Y, Ando F, Niino N, Miki T, Shimokata H: Association of Polymorphisms of Paraoxonase 1 and 2 Genes with Bone Mineral Density in Community-Dwelling Japanese. *J Hum Genet.* 48 (9) :469-475, 2003.
- 3) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of polymorphisms of the osteoprotegerin gene with bone mineral density in Japanese women but not men. *Mol Genet Metab.* 80:344-349, 2003.
- 4) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a polymorphism of the dopamine receptor D4 gene with bone mineral density in Japanese men. *J Hum Genet.* 48:629-633, 2003.
- 5) Yamada Y. Molecular genetics and epidemiology of osteoporosis. *Curr Pharmacogenomics* 2003;1:139-149.
- 6) Shimokata H, Ando F, Fukukawa Y: Interactions between health and psychological changes in Japanese - the NILS-LSA. *Geriatrics and Gerontology International* (in press)
- 7) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a polymorphism of the matrix metalloproteinase -9 gene with bone mineral density in Japanese men. *Metabolism* 53:135-137, 2004.
- 8) 下方浩史、安藤富士子:日本人の長寿要因. *日本医事新報.* 4119:100, 2003.
安藤富士子、下方浩史:加齢変化と老年症候群. *総合臨床.* 52 (7) :2060-2065, 2003.
- 9) 下方浩史、安藤富士子:生理的老化と病的老化. *Medicina.* 40 (10) :1636-1637, 2003.
- 10) 下方浩史、安藤富士子:日本の老化・老年病疫学への新たなストラテジー. *日本老年医学会雑誌.* 40 (6) :569-572, 2003.
- 11) 安藤富士子:在宅介護における予防医学—要介護度の悪化を防ぐ—. *日本老年医学会雑誌.* 41 (1) :61-64, 2004.
- 12) 安藤富士子:縦断的研究. 祖父江逸郎監修 *長寿科学事典.* 医学書院. 2003, 287-288.
- 12) 安藤富士子:寝たきり. 祖父江逸郎監修 *長寿科学事典.* 医学書院. 2003, 233-235.
- 13) 下方浩史、安藤富士子:老化に関する長期縦断疫学研究. *日本老年医学会編 老年医療史と展望.* メディカルビュー社. 2003, 218-221.
- 14) 新野直明:歩行障害/転倒. *総合臨床.* 52, 2121-2125, 2003

15) 新野直明、他：在宅高齢者における転倒の疫学. 日老医誌、40、484-486、2003

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

研究協力者

小坂井留美（長寿医療センター疫学研究部流動研究員）

道用亘（長寿医療センター疫学研究部流動研究員）

今井具子（長寿医療研究センター疫学研究部）

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合 研究事業）
分担研究報告書

ゲノム多型による骨粗鬆症の遺伝因子の解明

分担研究者 山田芳司 三重大学生命科学研究支援センター 教授

研究要旨 骨リモデリングへの関与が推定される 10 遺伝子 11 多型と骨密度との関連を、長寿医療研究センター長期縦断研究（NLS-LSA）参加者において検討した。Klotho 遺伝子-395G→A 多型が閉経後女性において、androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型が男性および閉経前女性において骨密度と有意な関連を示した。これらの遺伝子多型が骨密度を規定する遺伝因子である可能性が明らかになった。

A. 研究目的

本研究の目的は、骨リモデリングへの関与が推定される遺伝子群に存在する多型群と骨密度との関連について長寿医療研究センター長期縦断研究（NLS-LSA）参加者において検討し、骨密度に関わる遺伝子多型群を同定することにより、骨粗鬆症およびそれに起因する骨折の予防に貢献することである。

B. 研究方法

対象は NLS-LSA 参加者 2240 名で、橈骨遠位部・近位部の骨密度は peripheral quantitative computed tomography (pQCT) で測定し、全身骨、腰椎（L2-L4）、大腿骨頸部、転子部、ワード三角の骨密度は dual-energy x-ray absorptiometry (DXA) で測定した。遺伝子多型は、adiponectin 遺

伝子-11377C→G 多型、adiponectin 遺伝子 G→T 多型 (intron 2, SNP-276)、androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型、β2-adrenergic receptor 遺伝子 79C→G (Gln27Glu)多型、β3-adrenergic receptor 遺伝子 190T→C (Trp64Arg)多型、insulin receptor substrate-1 遺伝子 3494G→A (Gly972Arg)多型、insulin-like growth factor 2 receptor 遺伝子 5002A→G (Arg1619Gly)多型、Klotho 遺伝子 -395G→A 多型、peroxisome proliferator-activated receptor-γ2 遺伝子 34C→G (Pro12Ala)多型、steroid 5α-reductase type II 遺伝子 G→C (Val89Leu)多型、Werner helicase 遺伝子 T→C (Cys1367Arg)多型の 10 遺伝子 11 多型について fluorescence-based allele-specific DNA primer assay system（東

洋紡ジーンアナリシス)により検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立療養所中部病院・長寿医療研究センター倫理委員会で承認されており、対象者全員から書面でインフォームドコンセントを得ている。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)」を遵守し研究を行った。

C. 研究結果

男性全体、女性全体、閉経前・閉経後女性に分けて、各部位の骨密度とそれぞれの多型との関連解析を行った。さらに年齢と body mass index で補正した関連解析を行い、有意な関連を示す多型を選択した。検討した多型群の中で、Klotho 遺伝子-395G→A 多型は女性全体の橈骨遠位部・近位部および腰椎骨密度と有意な関連を示し、G アリルが低骨密度を呈した。さらに女性を閉経前と閉経後に分けて検討した結果、閉経後女性の橈骨および腰椎骨密度と有意な関連を示した。男性では Klotho 遺伝子-395G→A 多型と転子部骨密度との関連を認めたが、女性に比較し関連は弱かった。Androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型は、男性では<21 repeats が低骨密度と有意に関連し、特にワード三角で著明であった。閉経前女性では>24 repeats が低骨密度と有意に関連し、全身骨、腰椎、大腿骨頸部、転子部、

ワード三角で顕著であったが、閉経後女性では骨密度との関連は認められなかった。他の遺伝子多型群については骨密度と有意な関連を認めなかった。

D. 考察

Klotho 遺伝子-395G→A 多型が閉経後女性の骨密度と関連し、G アリルが低骨密度と関連した。本結果は、A アリルが低骨密度と関連するという Kawano ら (J Bone Miner Res 2002;17:1744-1751) の報告とアリルが逆であったが、その原因は不明である。また、androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型が男性および閉経前女性において骨密度と有意な関連を示したが、男性では21 repeats より短いアリルが低骨密度と関連し、女性では24 repeats より長いアリルが低骨密度と関連した。男女で低骨密度と関連するアリルが長短逆であった理由は不明である。これらの問題点を明らかにするために、多型の機能について分子レベルでの解析を行う必要がある。さらに今後はできるだけ多くの候補遺伝子多型群と骨密度との関連を検討することにより関連の強い多型を抽出し、環境因子との相互作用を含めた骨粗鬆症の遺伝要因を解明する予定である。

E. 結論

本年度検討した10遺伝子11多型のうち、Klotho 遺伝子-395G→A 多型が閉経後女性において、Androgen receptor 遺伝子 CAG repeat 多型が男性および閉経前女性

において骨密度と有意な関連を示した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yamada Y, Ando F, Niino N,
Shimokata H.

Association of polymorphisms in the interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men.

J Clin Endocrinol Metab
2003;88:3372-3378.

2) Yamada Y, Ando F, Niino N,
Shimokata H.

Association of polymorphisms of the osteoprotegerin gene with bone mineral density in Japanese women but not men.

Mol Genet Metab 2003;80:344-349.

3) Yamada Y, Ando F, Niino N, Miki T,
Shimokata H.

Association of polymorphisms of paraoxonase 1 and 2 genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese.

J Hum Genet 2003;48:469-475.

4) Yamada Y, Ando F, Niino N,
Shimokata H.

Association of a polymorphism of the

dopamine receptor D4 gene with bone mineral density in Japanese men.

J Hum Genet 2003;48:629-633.

5) Yamada Y.

Molecular genetics and epidemiology of osteoporosis.

Curr Pharmacogenomics 2003;1:139-149.

6) Yamada Y, Ando F, Niino N,
Shimokata H.

Association of a polymorphism of the matrix metalloproteinase-9 gene with bone mineral density in Japanese men.

Metabolism 2004;53:135-137.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

運動の骨量減少予防効果と遺伝子の関与に関する研究

分担研究者 安藤 富士子

長寿医療センター疫学研究部長期縦断疫学研究室長

研究要旨 地域在住中高年者 2238 名を対象として体力、日常生活活動度などの運動機能と骨密度との関係にビタミン D 受容体(VDR)多型が及ぼす影響について検討した。男女ともに多くの運動関連要因が骨密度、とくに全身骨、大腿骨（頸部、大転子、ワード三角）、腰椎骨密度と関連していた。VDR の T2C 多型では男性で CC 型が CT/TT 型に比して骨密度が高かったが、A-3731G 多型では変異による骨密度の差は男女とも認められなかった。しかし運動と骨密度の関係を遺伝子多型に着目して検討すると男性では T2C においても A-3731G においても、遺伝子多型により骨密度への運動の影響は異なっており、T2C の CC 型、A-3731G の GA/AA 型で運動の影響がより強かった。これらの遺伝子多型を有する男性では、運動介入による荷重骨の骨量減少予防効果がより高い可能性が示唆された。女性では必ずしも一定の結果は得られなかった。収縮により骨に刺激を与える筋肉の量や運動量そのものが女性で少ないこと、さらに閉経時期やホルモンによる複雑な影響が女性での関係を不明瞭にしている可能性があり、今後さらなる検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

骨粗鬆症の発症には運動や栄養などの生活習慣や環境要因、遺伝要因など多くの要因が互いに複雑に関連しあっている。遺伝形質が生来獲得されているものに対して、運動・栄養などの生活習慣は骨粗鬆症予防のために介入可能な要因である。

また生活習慣が骨密度に及ぼす影響は

遺伝子形質によって異なる可能性がある。しかし運動の骨量減少予防効果が遺伝子多型でどのように異なるかについての大規模な調査研究は世界的に見てもまだ行われていない。

我が国では 2001 年に Kitagawa が運動と骨密度との関係に VDR 遺伝子が及ぼす影響について 18-19 歳の若年女性 120 人を対象にした研究でその可能性に

ついて報告している。しかし、実際に骨粗鬆症予防対策が急務である中高年者で、運動などの生活習慣の骨密度への関わりやその遺伝子多型との関連について検討した研究はほとんどない。

本分担研究の目的は日常の生活活動度や体力などの運動関連要因が骨密度に及ぼす影響についてどのような運動がより影響が強いかを検討するとともに遺伝子多型によって、運動と骨量との関係が異なるかどうかを検討することである。

B. 研究方法

1. 対象

対象は国立長寿医療センターで行われている「老化に関する長期縦断疫学調査(NILS-LSA)」の第1回調査参加者の中で研究対象遺伝子多型が同定された40-79歳の男女2238名(男性1130名、女性1108名、平均年齢 59.2 ± 10.9 歳)である。

2. 骨密度

末梢骨骨定量CT(pQCT, Scanco社, Densiscan 1000)を用いて非利き腕の橈骨遠位端骨密度(D50, D100, P100)(mg/cm^3)を測定した。また二重X線吸収装置(DXA, Hologic社, QDR4500)を用いて全身骨、左右大腿骨(頸部、大転子部、ワード三角)、腰椎の骨密度(g/cm^2)を測定した。

3. 骨代謝マーカー

血中オステオカルシン、骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)、尿中NTx、尿中DPD(ともにクレアチニン換算値)を測定した。

4. 運動関連要因

運動関連要因としては握力、脚伸展パワー、脚筋力、上体起こし、体前屈、閉眼片足立時間、重心動揺、全身反応時間、10m歩行における歩行速度・歩幅・ピッチ、1週間の万歩計装着による1日平均歩数・運動量・総消費エネルギー、聞き取り調査による日常生活活動度や青年期の定期的運動の有無を検討項目とした。これらの項目の詳細については<http://www.nils.go.jp/index-e.html>に掲載のNILS-LSA Monograph the First Waveを参考にされたい。

5. 遺伝子検査

ビタミンD受容体(VDR)のexon2におけるT2C多型とプロモーター領域のA-3731G多型を蛍光法によるアレル特異DNAプライマー測定システム(東洋紡)を用いてタイピングした。

6. 解析方法

(1)運動関連要因と骨密度の関係に関しては性別に、年齢及びBMIで調整した偏相関が有意であるかどうかを検討した。

(2)遺伝子多型はT2CについてはCC型群とCT/TT群の2群にまたA-3731GについてはGG群とGA/AA群の2群に分けて解析した。

(3)各遺伝子多型群間で骨密度の違いについてt検定を用いて検討した。

(4)運動と骨密度との関連が遺伝子多型により異なるかどうかについては年齢、BMIを調整した一般線形モデルを用いて検定した。骨密度に対する運動の回帰係数を各遺伝子多型群で求め、有意に0でないかどうかの検定を行うことによって、各群で運動と骨密度との間に有意な

関係があるかどうかについて検討した。また 2 群間で回帰係数に有意差があるかどうかについても検討した。

(5) 統計処理には SAS ver8.2 を用い、 $p < 0.05$ を統計的有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立長寿医療センターにおける倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、対象者全員からインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

1. 運動関連要因と骨密度

男女別の骨密度・骨代謝マーカーと体力・日常生活活動度との関係を表 1—表 4 に示した。運動関連要因との関係が多く認められたのは骨密度の中でも全身骨、大腿骨(頸部、大転子、ワード三角)、腰椎骨密度であった。また、骨密度との関連が多く認められた運動関連要因は握力、脚筋力、上体起こし、歩幅、歩行による総消費エネルギー、総余暇活動時間、4.5Mets 以上の余暇活動時間、4.5Mets 以上の労働時間、青年期の定期的運動(以上骨密度と正の関連)、全身反応時間(負の関連)であった。男性のほうがより多くの運動関連要因と骨密度との有意な関係を認めた。

2. VDR 遺伝子多型と骨密度

VDR の T2C 多型では男性では CC 型が CT/TT 型に比して骨密度が有意に高かった(表 5)が、女性では有意差は認められなかった。A-3731G 多型では多型群間で骨密度の差は男女とも認められな

った(表 6)。

3. 運動と骨密度との関連に VDR 遺伝子多型が及ぼす影響

T2C では男性において CC 型群は CT/TT 型群よりも全身反応時間、脚伸展パワー、上体起こし、歩幅、歩行による総消費エネルギー、総余暇活動時間、4.5Mets 以上の余暇活動時間、4.5Mets 以上の労働時間と骨密度との間により強い関連を示した(表 7-9、図 1-3)。女性では一定の傾向は得られなかった。

A-3731G 遺伝子多型別では、男性において GA/AA 型群では GG 型群よりも握力、全身反応時間、脚伸展パワー、上体起こし、脚筋力、歩幅、歩行による総消費エネルギー、総余暇活動時間、4.5Mets 以上の余暇活動時間と骨密度の関連がより強かった。女性でも上体起こし、脚筋力、歩行による総消費エネルギー、総余暇活動時間では同様の結果が得られたが、その他の運動関連項目では、一定の傾向は必ずしも認められなかった(表 10-12、図 4-6)。

D. 考察

男女とも体力・日常生活活動度の多くの指標が骨密度と関連していた。運動が骨密度を増加させるという従来 of 報告と矛盾しない結果である。骨密度と関連する運動関連要因には、男女で多少の差があり、関連する要因は男性でより多い観があった。運動と骨密度の関係を遺伝子多型に着目して検討すると男性では VDR SNP の TC2 においても A-3731G においても、遺伝子多型により骨密度への運動の影響は異なっており、TC2 の

CC 型、A-3731G の GA/AA 型で運動の影響がより強かった。しかし、女性では必ずしも一定の結果は得られなかった。運動量や筋肉そのものの量が女性で少ないことや閉経時期やホルモンによる複雑な影響が女性での関係を不明瞭にしている可能性が考えられた。

VDR と骨密度については多くの報告がなされているがその結果は必ずしも一致しない。今回の VDR の検討でも A-3731G 多型は全体として骨密度との関連は認められなかった。しかし、今回の研究で明らかになったように、SNP 多型によって、運動の影響は異なることから、運動量の多い集団と運動量の少ない集団とでは、骨密度と SNP との関係が異なってくる可能性がある。

骨粗鬆症の候補遺伝子研究の先駆けとなったビタミン D 遺伝子多型 Bsm I (Taq I) の場合、その骨密度への影響は 2.5% 程度と報告されている。運動、栄養などの生活習慣の骨密度への影響は従来から多く報告されていることから、それと同等あるいは同等以上の影響があると考えられる。従って骨粗鬆症候補遺伝子多型を検討する際には、生活主観や環境要因を十分に考慮する必要がある。また、古典的な骨密度関連要因である運動の骨密度への影響が遺伝子多型によって異なるということは、遺伝子多型により骨粗鬆症予防のための生活習慣改善方法が異なってくることを示唆している。今後、個人の遺伝的背景を考慮することでより効率的な骨粗鬆症予防施策をとることができると期待される。

E. 結論

骨密度は多くの運動関連要因と関係しており、日常の運動が骨密度減少予防に寄与している可能性が示された。運動と骨密度との関連は特に男性の VDR SNP の TC2 の野生型ならびに A-3731G の変異型で強く、これらの遺伝子多型を持った人では運動による介入効果が上がりやすい可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kohara K, Fujisawa M, Ando F, Tabara Y, Niino N, Miki T, Shimokata H: MTHFR Gene Polymorphism as Risk Factor for Silent Brain Infarcts and White Matter Lesions in Japanese General Population. NLS-LSA Study. Stroke. 34:1130-1135, 2003.
- 2) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H Association of polymorphisms of interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. J Clin Endocrinol Metab 88:3372-3378, 2003.
- 3) Okura T, Koda M, Ando F, Niino N, Ohta S, Shimokata H: Association of polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene with body fat distribution in middle-aged and older

- Japanese population. *Intern J Obes*. 27: 1020-1027, 2003.
- 4) Ohsawa I, Kamino K, Nagasaka K, Ando F, Niino N, Shimokata H, Ohta S: Genetic deficiency of a mitochondrial aldehyde dehydrogenase increases serum lipid peroxides in community-dwelling females. *J Hum Genet*. 48: 404-409, 2003.
- 5) Okura T, Koda M, Ando F, Niino N, Tanaka M, Shimokata H: Association of the mitochondrial DNA 15497G/A polymorphism with obesity in a middle-aged and elderly Japanese population. *J Hum Genet*. 113:432-436, 2003.
- 6) Yamada Y, Ando F, Niino N, Miki T, Shimokata H: Association of Polymorphisms of Paraoxonase 1 and 2 Genes with Bone Mineral Density in Community-Dwelling Japanese. *J Hum Genet*. 48(9):469-475, 2003.
- 7) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of polymorphisms of the osteoprotegerin gene with bone mineral density in Japanese women but not men. *Mol Genet Metab*. 80:344-349, 2003.
- 8) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a polymorphism of the dopamine receptor D4 gene with bone mineral density in Japanese men. *J Hum Genet*. 48:629-633, 2003.
- 9) Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Maruyama K, Niino N, Ando F, Shimokata H, Ohta S, Funakoshi A: Association of cholecysto-kinin-A receptor gene polymorphism with alcohol dependence in a Japanese population. *Alcohol & Alcoholism* 39(1):25-28, 2004.
- 10) Shimokata H, Ando F, Fukukawa Y: Interactions between health and psychological changes in Japanese - the NILS-LSA. *Geriatrics and Gerontology International* (in press)
- 11) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a polymorphism of the matrix metalloproteinase -9 gene with bone mineral density in Japanese men. *Metabolism* (in press)
- 12) 下方浩史、安藤富士子: 日本人の長寿要因. *日本医事新報*. 4119:100, 2003.
安藤富士子、下方浩史: 加齢変化と老年症候群. *総合臨床*. 52(7):2060-2065, 2003.
- 13) 下方浩史、安藤富士子: 生理的老化と病的老化. *Medicina*. 40(10):1636-1637, 2003.
- 14) Ohta S, Ohsawa I, Kamino K, Ando F, Shimokata H: Mitochondrial ALDH2 Deficiency as an Oxidative Stress. *Ann NY Acad Sci*. (in press)
- 15) 下方浩史、安藤富士子: 日本の老化・老年病疫学への新たなストラテジー. *日本老年医学会雑誌*. 40(6):569-572, 2003.
安藤富士子: 在宅介護における予防医学一 要介護度の悪化を防ぐ一. *日本老年医学会雑誌*. 41(1):61-64, 2004.
- 16) 安藤富士子: 縦断的研究. 祖父江逸郎監修 長寿科学事典. 医学書院. 2003,

287-288.

17) 安藤富士子:疾病と死亡の国際比較.
祖父江逸郎監修長寿科学事典. 医学書院.
2003, 295-296.

18) 安藤富士子:疾病と死亡の国内比較.
祖父江逸郎監修長寿科学事典. 医学書院.
2003, 296-298.

19) 安藤富士子:寝たきり. 祖父江逸郎
監修 長寿科学事典. 医学書院. 2003,
233-235.

20) 安藤富士子:栄養管理. 祖父江逸郎
監修 長寿科学事典. 医学書院. 2003,
269-270.

21) 下方浩史、安藤富士子:老化に関する
長期縦断疫学研究. 日本老年医学会編
老年医療史と展望. メディカルビュー社.
2003, 218-221.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定
を含む）

なし

研究協力者

下方浩史（長寿医療センター疫学研究
部長）

新野直明（長寿医療センター疫学研究
部予防疫学研究室長）

小坂井留美（長寿医療センター疫学研
究部流動研究員）

道用亘（長寿医療センター疫学研究部
流動研究員）