

200400285 A

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16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 安藤 富士子

平成17 (2005) 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	21
----------------------	-------	----

運動習慣・体力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	25
-------------------------------	--------	----

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	67
---------------	-------	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表		77
---------------------	--	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷		83
-----------------	--	----

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
ー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、新たに骨密度との関連を検討した16遺伝子17多型のうち3種の遺伝子多型で骨密度との有意な関連が新たに認められた。さらに本コホートで調査されている約120の遺伝子多型のうち本コホートで骨密度との有意な関連が認められた18種の遺伝子多型とそれに関連した候補遺伝子多型15種の計33遺伝子多型について運動、栄養の骨粗鬆症予防効果が遺伝子多型によって異なるかどうかを網羅的に検討した。運動と骨密度との関係には15種の遺伝子多型が影響を及ぼしており、また、栄養と骨密度との関係には16種の遺伝子多型が何らかの影響を及ぼしていた。9種の遺伝子多型は運動と栄養とで共通であった。

また同じコホートで測定した骨密度がその後の転倒歴に関係するかを縦断的に検討したところ、60歳以上女性において、骨折の危険性が高いと考えられる骨密度の低い人に将来転倒する可能性が高い傾向があった。

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（桜美林大学大学院老年学教授）

骨粗鬆症には食事・運動・喫煙・飲酒・カフェイン摂取などの生活習慣や糖尿病や腎不全などの疾病や薬剤、さらには人種・性別・年齢・体格・月経の有無など多くの要因が関連することが報告されている。また近年、ビタミンD受容体(VDR)遺伝子多型をはじめ、いくつかの遺伝子多型と骨密度減少との関連が報告されている。

A. 研究目的

遺伝的要因は骨代謝に直接関わるだけでなく、個体の危険因子への感受性や運動・栄養による骨粗鬆症の予防効果にも影響を及ぼしていると考えられる。しかし運動や栄養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。

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11種の骨密度関連候補SNPを測定し既存のSNPデータベース(約100種)とあわせ、新たに15種のSNPについて骨密度との関連を見だし、うち8種については論文とした。また、第1回調査結果の横断的解析をおこない、従来から報告されている筋力・カルシウム・ビタミンD以外に平衡感覚・全身反応時間・余暇活動や青年期のスポーツ経験、その他の電解質やビタミン、脂肪酸、アミノ酸等の運動・栄養要因が骨密度と関連することを確認した。さらにビタミンD受容体遺伝子多型について栄養・運動の骨粗鬆症予防効果が遺伝子多型によって異なることを新たに見出した。

本年度は新たに16遺伝子17多型の候補遺伝子多型と骨密度との関連を検討するとともに本コホートで調査されている約120の遺伝子多型のうち本コホー

トで骨密度との有意な関連が認められた18種の遺伝子多型とそれに関連した候補遺伝子多型15種の計33遺伝子多型について運動・栄養の骨粗鬆症予防効果が遺伝子多型によって異なるかどうかを網羅的に検討した。また4年間の縦断データを用いて運動・栄養の骨密度減少予防効果が出やすい遺伝子多型を検討した。さらに骨密度の減少が易転倒性と関連するかどうかについても縦断データを用いて検討した。

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。本年度は総エネルギー、カルシウム、ビタミンD、タンパク質摂取量について検討した。

4. 運動調査

運動関連要因としては第1次調査時のデータの中から昨年度の解析で骨密度と特に密接な関連を示した(1)握力、(2)脚筋力、(3)上体起こし、(4)青年期の定期的運動の有無、(5)速歩の歩幅、(6)万歩計計測での総消費エネルギー、(7)4.5Mets以上の余暇活動時間、(8)4.5Mets以上の労働時間、の8項目を検討項目とした。

5. 転倒とその関連要因に関する調査

第1回・第2回調査時の過去1年間の、転倒経験の有無、第1回調査時の主観的健康感および握力を検討項目とした。

6. 遺伝子検査

遺伝子多型の解析は fluorescence-based allele-specific DNA primer assay system またはその他の PCR-based method (東洋紡ジーンアナリシス)により行った。

骨リモデリングへの関与が推定される遺伝子多型を文献等から抽出し、本年度は以下の16遺伝子17多型について骨密度との関連を検討した。

(1) estrogen receptor α 遺伝子-1989T→G多型、(2) microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 遺伝子-493G→T多型、(3)

peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 遺伝子 G→A (Gly482Ser) 多型、(4) lipoprotein lipase 遺伝子 Ser447Ter 多型、(5) preproghrelin 遺伝子 Leu72Met 多型、(6) peroxisome proliferator-activated receptor γ 3 遺伝子 -681C→G 多型、(7) receptor of advanced glycation end products (RAGE) 遺伝子 1704G→T 多型、(8) RAGE 遺伝子 2184A→G 多型、(9) γ -subunit of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel 遺伝子-173G→A 多型、(10) 5-hydroxytryptamine receptor 1B 遺伝子 861G→C 多型、(11) low density lipoprotein receptor-related protein 5 遺伝子 2047G→A (Val667Met) 多型、(12) interleukin 1 receptor-associated kinase 遺伝子 587T→C (Phe196Ser) 多型、(13) cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1 (CYP17) 遺伝子-34T→C 多型、(14) reversion-induced LIM 遺伝子-3333T→C 多型、(15) interleukin 4 receptor 遺伝子 1902A→G (Gln576Arg) 多型、(16) very low density lipoprotein receptor (VLDLR) 遺伝子 CGG repeat 多型、(17) cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1 (CYP19A1, aromatase)多型

さらにこれらの遺伝子多型を含め、本コホートで今までに解析された約120の遺伝子多型のうち本コホートで骨密度との有意な関連が認められた遺伝子多型18種とそれに関連する遺伝子多型15種の計33遺伝子多型を抽出し(表1)、運動・栄養の骨粗鬆症予防効果との関連を検討した。

表1. 候補関連遺伝子

略号	遺伝子多型名と変異
MMP1	Matrixmetalloproteinase-1(1G/2Gat-1607)
MMP3	Stromelysinpromoter(5A/6Aat-1612)
MMP9	Matrixmetalloproteinase-9(C-1562T)
MMP12	Matrixmetalloproteinase-12(A-82G)
ACE	Angiotensinconvertingenzyme(D/I)
ADR	Androgenreceptor(CAGrepeat)
ESR1	EstrogenReceptor α (Pvu II)
ESR2	EstrogenReceptor α (Xba I)
CCR	Chemokinereceptor2(G190A(Val64Ile))
CASR	Calcium-sensingreceptor(Arg990Gly)
COL	Collagetype1(G-1997T)
OST	Osteocalcin(C298T)
OPG1-1	Osteoprotegerin-1(T245G)
OPG1-2	Osteoprotegerin-1(T-223C)
VDR1	VitaminDreceptor(T2C)
VDR2	VitaminDreceptor(A-3731G)
TGF1	Transforminggrowthfactor- β 1(T869C)
TGF2	Transforminggrowthfactor- β 1(C-509T)
IL1A	Interleukin-1 α (C-889T)
IL1B	Interleukin-1 β (C-511T)
IL4R	Interleukin-4receptor(G1902A(Q576R))
IL6	Interleukin-6(C-634G)
IL10	Interleukin-10(A-592C)
WNR	Wernerhelicase(c.4330TC(1367Cys/Arg))
KLOT	Klotho(G-395A)
PON1	Paraoxonase-1(Gln192Arg)
PON2	Paraoxonase-1(Met55Leu)
LEP	Leptin(A19G)
LEPR	Leptinreceptor(Gln223Arg)
VEGF1	Vascularendothelialgrowthfactor(C936T)
VEGF3	VascularendothelialGrowthfactor(C-2578A)
VEGF4	VascularendothelialGrowthfactor(G-1154A)
DRD4	DopamineD4Receptor(C-521T)

(太字は本コホートで骨密度との関係をすでに報告しているもの)

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 17 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) 運動による骨量減少予防効果に遺伝子多型が及ぼす影響の検討

表 1 の 33 遺伝子多型について男性、未閉経女性、閉経女性の 3 群で骨密度と 8 つの運動関連要因との関係が各遺伝子多型の野生型と変異型 (ヘテロおよびホモ変異) によってどのように異なるか一般線形モデルを用い、年齢、BMI を調整して検討した。

また第 1 次調査から第 3 次調査までの骨塩変化量を求め、この変化量と運動との関係に影響を及ぼす遺伝子多型を抽出した。男性、未閉経女性、閉経女性の 3 群、33 候補遺伝子、8 種類の運動関連要因、8 種類の骨密度、計 6336 の組み合わせについて網羅的に検討した (安藤)。

(3) 栄養による骨量減少予防効果に遺伝子多型が及ぼす影響の検討

同様に表 1 に示した 33 遺伝子多型について対象を男性、未閉経女性、閉経女性の 3 群に分けて、一般線形モデル GLM にて栄養素が骨密度に及ぼす影響について、各遺伝子多型の野生型と変異型 (ヘテロおよびホモ変異) で有意な差があるかどうかを年齢および肥満度、エネルギー摂取量について調整し、第 1 次調査について横断的に、また第 1 次から第 3 次調査までの変化について縦断的に検討した。男性、未閉経女性、閉経女性の 3 群、33 候補遺伝子、4 種類の栄養素、8 種類の骨密度、計 3168 の組み合わせの網羅的検討結果を図示し、遺伝子多型と栄養の相互作用についてのパターンを解析した (下方)。

(4) 骨密度と易転倒性に関する縦断的解析

第1回調査における骨密度と第2回調査における転倒歴の関係を、過去の研究で転倒の関連要因とされることの多い主観的健康感、握力を考慮しながら、性、年齢別（60歳未満と60歳以上）に分析した（新野）。

（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. 骨粗鬆症関連 SNP の抽出

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について解析を行った。さらに年齢、身長、体重で補正した解析を行い、有意な関連を有する多型を選択した。検討した多型群の中で、CYP17 遺伝子-34T→C 多型は閉経後女性の腰椎、大腿骨頸部およびワード三角の骨密度と有意な関連を示し、CC型が高骨密度を呈した。MTP 遺伝子-493G→T 多型は閉経前女性の橈骨遠位部・近位部、大腿骨頸部およびワード三角の骨密度と有意に関連し、TT型が高骨密度を示した。また、VLDLR 遺伝子 CGG repeat 多型は男性の腰椎、大腿骨頸部および転子部の骨密度と有意に関連し、リピート数の少ない (< 7 repeats) アリルを S、多いアリル (≥ 8 repeats) を L とした場合、LL型 (≥ 8 repeats の homozygote) が高骨密度と関連した。他の遺伝子多型については骨密度と有意な関連を認めなかった。

2. 運動の骨量減少予防効果に対する遺

伝子多型の影響

横断的検討では男性では MMP9、MMP12、OPG1、OPG2、VDR2、IL10、KLOT、VEGF4、閉経後女性では MMP12、ESR2、OPG2、VDR1、TGF1、IL6、IL10、LEPR、DRD4、未閉経女性では MMP3、MMP9、LEPR において骨密度と運動との関係は遺伝子多型によって有意に異なっていた。

横断的検討で骨密度との関連が特に示された運動項目は上下肢の筋力や青年期の運動経験の有無であった。

また骨密度の4年間の変化に対して運動が及ぼす影響が遺伝子多型によって異なるかどうかについて縦断的に検討したところ、男性では ESR1、ESR2、TGF2、IL10、LEPR、閉経女性では MMP1、MMP3、ADR、OPG1-1、OPG1-2、TGF1、LEP、VEGF4、

未閉経女性では MMP1、ACE、ESR1、OST、OPG1-1、VDR1、IL1B、IL6、IL10、KLOT、PON1、PON2、VEGF1、VEGF3 において骨密度の変化量と運動との関係は遺伝子多型によって有意に異なっていた。

骨密度の4年間の縦断的变化との関連が特に示された運動項目は歩行能力や歩行に伴う総消費エネルギーであった。

3. 栄養の骨量減少予防効果に対する遺伝子多型の影響

横断的解析では男性では VDR1 がエネルギーおよび蛋白質と、VDR2 がエネルギーおよび蛋白質、OST がカルシウムと、PON2 がエネルギーおよびカルシウムと、LEPR がエネルギー、蛋白質およびカルシウムと、OPG1、OPG2、LEP、ESR2 は腰椎骨密度のみにカルシウムとの間で相互作用が認められた。

未閉経女性では VDR1 がエネルギー

と、MMP9がカルシウムおよびビタミンDと、OPG2がビタミンDと、CASRがビタミンDと、IL1AがカルシウムおよびビタミンDと、ACEはビタミンDと、LEPRは腰椎骨密度のみビタミンDと骨密度との間に相互関係が認められた。

閉経女性では、MMP12がエネルギーと、OCRがビタミンDと、IL6がエネルギーおよびカルシウムと、WNRがエネルギー、蛋白質およびビタミンDと、LEPRは蛋白質と、MMP9は腰椎骨密度のみビタミンDと骨密度との間に相互関係が認められた。

また骨密度の年間の変化率に対して栄養摂取と遺伝子多型の相互作用が有意であるかどうか縦断的検討を行ったところ、男性ではMMP12がカルシウムおよびビタミンDと、ACEがカルシウムと、ESR2、CCRがエネルギーと、TGF1、TGF2がビタミンDと、VEGF3がカルシウムと骨密度の年間変化率との間で相互作用が認められた。

未閉経女性ではMMP9がビタミンDと、COLがエネルギー、蛋白質と、OPG2がエネルギーと、IL1Aが蛋白質と、IL4Rはエネルギー、カルシウム、ビタミンDおよび蛋白質と、IL10はビタミンDと、WNRがエネルギー、カルシウムと、KLOTはエネルギーと、LEPはカルシウムと、VEGF1はカルシウムと、VEGF4およびDRD4はビタミンDと骨密度との間に相互関係が認められた。

閉経女性では、ADRがエネルギー、カルシウムおよび蛋白質と、ESR2がカルシウムと、OPG1がエネルギー、カルシウムと、OPG2がエネルギー、蛋白質と、

VDR1がビタミンDと、VDR2がエネルギーおよび蛋白質と、WNRはエネルギー及びカルシウムと、KLOTはカルシウム、蛋白質と、DRD4はエネルギーと骨密度との間に相互関係が認められた。

4. 骨密度と易転倒性に関する縦断的解析

NILS-LSAの第1回調査、第2回調査とともに参加し転倒歴の調査が完了している対象者は1546名であった(60歳以上694名:男性369名、女性325名、60歳未満852人:男性438名、女性414名)。この中で2回目調査で転倒を経験した人の割合は、60歳以上が22.0%(男性20.9%、女性23.3%)、60歳未満が16.1%(男性12.6%、女性19.6%)であった。

8種類の1st骨密度の各々と2nd転倒歴の関係を検討した多重ロジスティック回帰分析の結果、男性では、60歳未満の全身骨を除いて、骨密度とその後の転倒歴には有意な関係は見られなかった。女性では、60歳未満で骨密度の高い人に転倒が起きる傾向があった。60歳以上では、骨密度が低い場合に転倒発生する危険性が高い結果であった。

D. 考察

本年度新たに骨密度との関連を解析した16遺伝子17多型の中でCYP17遺伝子-34T→C多型のCC型、MTP遺伝子-493G→T多型のTT型、VLDLR遺伝子CGG repeat多型のLL型(≥8 repeatsのhomozygote)においてそれぞれ閉経後・閉経前女性および男性で高骨密度と有意な関連が認められた。これらの遺伝子型は骨粗鬆症に対し防御的に働くと考えら

れた。

これらの遺伝子多型における内外での従来の報告は、我々の結果を支持するものもそうでないものもあり、必ずしも一定の傾向を示さない。これは各々のコホートにおける遺伝、文化、生活習慣の違いが見かけ上の食い違いを生じさせている可能性が考えられる。この点をさらに明らかにするために環境因子との相互作用を含めた解析および縦断的解析をさらに行う必要がある。我々は生活習慣の中で特に従来から骨密度との密接な関連が報告されている運動・栄養に着目し、運動・栄養の骨粗鬆症予防効果に対する遺伝子多型の影響について検討を進めた。

その結果、運動と骨密度との関係には15種の遺伝子多型が影響を及ぼしており、また、栄養（カルシウム、ビタミンD、タンパク質）と骨密度との関係には16種の遺伝子多型が何らかの影響を及ぼしていた。運動・栄養に共通して影響を受けやすい遺伝子多型は9種であった。

しかし、運動・栄養の骨粗鬆症予防効果と遺伝子多型との関係は

- (1) 遺伝子多型そのもの
- (2) 運動・栄養の構成要素
- (3) 性
- (4) 閉経の有無
- (5) 骨密度測定部位

により多彩を極めた。これはこれらの要因が、相互に関連しながら骨密度に密接に関わっていることを示していると考えられた。本コホートでは、今までに調べられた約120の遺伝子多型のうち、少なくとも18種の遺伝子多型が、運動（8項目）・栄養（4項目）の各構成要素と8カ

所の骨密度との関連に関係し、また、その関係のあり方が性、閉経の有無で異なることを考えると、 $18 \times 8 \times 4 \times 8 \times 3 = 13,824$ 通りの組み合わせにおけるさらなる綿密な解析が必要と考えられる。

また、横断的解析結果と中高年期の4年間の骨密度変化との関連を検討した縦断的解析結果とで、運動・栄養と骨密度との関連に影響を及ぼす遺伝子多型が一致しなかったことは、年齢によってこれらの関係が異なることを示唆しており、骨密度と遺伝子多型との関連は、年齢、性、ホルモン、運動・栄養などの生活習慣、骨密度測定部位との複雑な関係によって成り立っていると考えられ、多要因のそれぞれの重要度を個別に推定できるシステムの策定が必須であること、またそれが複雑なものになるであろうことが痛感された。

さらに運動・栄養の骨粗鬆症予防効果に対する遺伝子多型の影響の中には、従来報告されている遺伝子多型と骨密度との関係と比較して、より強い関係が認められたものがあった。たとえば MMP12 (Matrix metallo proteinase12 (A-12G)) 遺伝子多型の変異型 (AG/GG 群) で閉経女性の大転子部の骨密度を年齢・BMI を調整して推定すると脚筋力最低値の者と最高値の者では骨密度に約2倍の差があるなどの顕著な結果が得られた。運動や栄養の骨粗鬆症予防効果に着目して遺伝子多型の骨密度に対する影響を詳細に検討すれば従来報告されているよりも、遺伝子多型の影響がより強く、明らかになる可能性が示された。

分子疫学は現在隆盛を極め、骨粗鬆症

と遺伝子多型の関連についても内外で多くの報告があるが、従来の報告では個々の遺伝子多型の骨密度に対する影響は小さく、影響の有無、方向性についても必ずしも一定の見解が得られていないのが実情である。これは遺伝的背景、性、年齢分布、文化、環境、生活習慣などの要因が異なったコホートで個別の遺伝子多型について骨密度との見かけ上の関係を検討しているためと考えられ、真の結果が得られていない可能性がある。

骨粗鬆症は遺伝的要因とともに後天的要因の影響も強い疾患であることは明らかであり、本コホートのように、一つのコホートの中で、多くの遺伝子多型と背景要因を包括的に捉え、相互の関係を明らかにしながら、遺伝的背景に合致した効果的な骨粗鬆症の予防戦略を考えることが、今後のオーダーメイド医療の推進において欠くことができないと考えられた。

また、骨密度は骨粗鬆症のリスクの高い高齢女性で、易転倒性のリスクファクターであることが明らかになり、骨粗鬆症は単に骨密度の低下だけではなく、易転倒性によっても高齢女性の骨折やその後のADL低下に関連している可能性が示された。

E. 結論

「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、新たに骨密度との関連を検討した16遺伝子17多型のうち

3種の遺伝子多型で骨密度との有意な関連が新たに認められた。さらに本コホートで調査されている約120の遺伝子多型のうち本コホートで骨密度との有意な関連が認められた18種の遺伝子多型とそれに関連した候補遺伝子多型15種の計33遺伝子多型について運動、栄養の骨粗鬆症予防効果が遺伝子多型によって異なるかどうかを網羅的に検討した。運動と骨密度との関係には15種の遺伝子多型が影響を及ぼしており、また、栄養と骨密度との関係には16種の遺伝子多型が何らかの影響を及ぼしていた。9種の遺伝子多型は運動と栄養とで共通であった。

また同じコホートで測定した骨密度がその後の転倒歴に関係するかを縦断的に検討したところ、60歳以上女性において、骨折の危険性が高いと考えられる骨密度の低い人に将来転倒する可能性が高い傾向があった。

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 a polymorphism of the matrix metalloproteinase-9 gene with bone mineral density in Japanese men. *Metabolism* 53 (2):135-137, 2004.

2) Ohta S, Ohsawa I, Kamino K, Ando F, Shimokata H: Mitochondrial ALDH2 Deficiency as an Oxidative Stress. *Ann*

NY Acad Sci 1011; 36-44, 2004.

- 3) Koda M, Ando F, Niino N, Shimokata H, Miyashita K, Funakoshi A: Association of Colecystokinin 1 Receptor and β 3-Adrenergic Receptor Polymorphisms with Midlife Weight Gain. *Obec Res* 8(12):1212-1216,2004.
- 4) Suzuki Y, Fujisawa M, Ando F, Niino N, Ohsawa I, Shimokata H, Ohta S: Alcohol Dehydrogenase 2 Variant is Associated with Cerebral Infarction, Lacunae, LDL-Cholesterol and Hypertension in Community-dwelling Japanese Men. *Neurology* 63(9): 1711-1713, 2004.
- 5) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of polymorphisms of the androgen receptor and klotho genes with bone mineral density in Japanese women. *J Mol Med* 83(1): 50-57, 2005.
- 6) 小笠原仁美, 新野直明, 安藤富士子, 下方浩史: 中年期地域住民における転倒の発生状況. *保健の科学*, 47(3): 2-6, 2005.
- 7) Shimokata H, Ando F, Niino N, Miyasaka K, Funakoshi A: Cholecystokinin A receptor gene promoter polymorphism and intelligence. *Ann Epidemiol* 15(3): 196-201, 2005.
- 8) Shimokata H, Ando F, Fukukawa Y: Interactions between health and psychological changes in Japanese - the NILS-LSA. *Geriatrics and Gerontology International* 2004(4): S289-291.
- 9) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a -1997G \rightarrow T polymorphism of the collagen I α 1 gene with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Hum Biol*, 77:27-36,2004.
- 10) 西田裕紀子・新野直明・小笠原仁美・安藤富士子・下方浩史: 地域在住高齢者の転倒恐怖感に関連する要因の検討、日本未病システム学会雑誌、2004、10、97-99.
- 11) 新野直明: 高齢者の転倒防止. 福地義之助(編) 高齢者ケアマニュアル: 58-61, 2004、照林社
- 12) 新野直明: 転倒リスクの多因子評価、*Geriatr. Med*、2005、43、61-65.
- 13) Harada A, Matsui Y, Mizuno M, Tokuda H, Niino N, Ohta T: Japanese orthopedists' interest in prevention of fractures in the elderly from falls, *Osteoporos Int*. 2004, 15, 560-566
- 14) Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Shirakawa O, Shimokata H,

- Funakoshi A. Association of cholecysto-kinin-A receptor gene polymorphisms and panic disorder in Japanese. *Am J Med Genet.* 127B(1):78-80, 2004.
- 15) Iwao N, Iwao S, Muller DC, Koda M, Ando F, Shimokata H, Kobayashi F, Andres R: Differences in the relationship between lipid CHD risk factors and body composition in Caucasians and Japanese. *Int J Obes* 29(2); 228-235, 2005.
- 16) Koda M, Ando F, Niino N, Shimokata H, Miyasaka K, Funakoshi A: Association of cholecystokinin 1 receptor and beta3-adrenergic receptor polymorphisms with midlife weight gain. *Obes Res* 12(8); 1212-1216, 2004.
- 17) Tanaka M, Cabrera VM, González AM, Larruga JM, Takeyasu T, Fuku N, Guo L, Hirose R, Fujita Y, Kurata M, Shinoda K, Umetsu K, Yamada Y, Oshida Y, Sato Y, Hattori N, Mizuno Y, Arai Y, Hirose N, Ohta S, Ogawa O, Tanaka Y, Kawamori R, Shamoto-Nagai M, Maruyama W, Shimokata H, Suzuki R, Shimodaira H. Mitochondrial Genome Variation in Eastern Asia and the Peopling of Japan. *Genome Res* 14(10): 1832-1850, 2004.
- 18) 下方浩史：長寿科学の今後の展開。サクセスフルエイジングのための栄養ケア。臨床栄養 104(6);625-658, 2004.
- 19) 今井具子、安藤富士子、下方浩史：高齢者におけるサプリメントの利用状況。臨床栄養 104(6);769-772, 2004.
- 20) 下方浩史：高齢者の健康と栄養。人間の医学 40(2); 132-141, 2004.
- 21) 下方浩史：高齢者医療と栄養管理。治療学 38(7); 829, 2004.
- 22) 下方浩史：高齢者の健康と栄養～栄養の管理と評価～若さの栄養学 122; 2-10, 2004.
- 23) 下方浩史：高齢者の栄養と食生活。ウエルネス公衆栄養学 第5版（沖増哲編），pp.195-205, 医歯薬出版、東京、2004.
- 24) 下方浩史：栄養疫学の考え方と方法。ウエルネス公衆栄養学 第5版（沖増哲編），pp.35-47, 医歯薬出版、東京、2004.
- 25) 下方浩史：公衆栄養学における情報処理をどうおこなうか。ウエルネス公衆栄養学 第5版（沖増哲編），pp.64-70. 医歯薬出版、東京、2004.
- 26) 安藤富士子：高齢者の看護・介護。飯島節、鳥羽研二監修。老年医学テキスト。南江堂。東京、2005（印刷中）
- 27) Yamada Y, Ando F, Shimikata H: Association of polymorphisms in *CYP17*, *MTP*, and *VLDLR* with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men.

(in press)

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）

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

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 16 遺伝子 17 多型と骨密度との関連を、国立長寿医療センター研究所疫学研究部の長期縦断研究（NILS-LSA）参加者において検討した。cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1 (CYP17) 遺伝子-34T→C 多型の CC 型、microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 遺伝子-493G→T 多型の TT 型、very low density lipoprotein receptor (VLDLR) 遺伝子 CGG repeat 多型の LL 型（≥ 8 repeats の homozygote）はそれぞれ閉経後・閉経前女性および男性において高骨密度と有意な関連を示した。これらの遺伝子型が骨粗鬆症に対し防御的に働く可能性が示唆された。

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の多型と骨密度との関連について国立長寿医療センター研究所疫学研究部の長期縦断研究

（NILS-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オーダーメイドの予防に貢献することである。

B. 研究方法

対象は NILS-LSA 参加者約 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、estrogen receptor α 遺伝子-1989T→G 多型、microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 遺伝子-493G→T 多型、peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 遺伝子 G→A (Gly482Ser) 多型、lipoprotein lipase 遺伝子 Ser447Ter 多型、preproghrelin 遺伝子 Leu72Met 多型、peroxisome proliferator-activated receptor γ 3 遺伝子-681C→G 多型、receptor of advanced glycation end products (RAGE) 遺伝子 1704G→T 多型、RAGE 遺伝子 2184A→G 多型、 γ -subunit of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel 遺伝子-173G→A 多型、5-hydroxytryptamine receptor 1B 遺伝子 861G→C 多型、low density lipoprotein

receptor-related protein 5 遺伝子 2047G→A (Val667Met) 多型、interleukin 1 receptor-associated kinase 遺伝子 587T→C (Phe196Ser) 多型、cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1 (CYP17) 遺伝子-34T→C 多型、reversion-induced LIM 遺伝子-3333T→C 多型、interleukin 4 receptor 遺伝子 1902A→G (Gln576Arg) 多型、very low density lipoprotein receptor (VLDLR) 遺伝子 CGG repeat 多型、cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1 (CYP19A1, aromatase) の 16 遺伝子 17 多型について検討した。多型解析は fluorescence-based allele-specific DNA primer assay system またはその他の PCR-based method (東洋紡ジーンアナリシス) により行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立長寿医療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 文部科学省・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について解析を行った。さらに年齢、身長、体重で補正した解析を行い、有意な関連を有する多型を選択

した。検討した多型群の中で、CYP17 遺伝子-34T→C 多型は閉経後女性の腰椎、大腿骨頸部およびワード三角の骨密度と有意な関連を示し、CC 型が高骨密度を呈した。MTP 遺伝子-493G→T 多型は閉経前女性の橈骨遠位部・近位部、大腿骨頸部およびワード三角の骨密度と有意に関連し、TT 型が高骨密度を示した。また、VLDLR 遺伝子 CGG repeat 多型は男性の腰椎、大腿骨頸部および転子部の骨密度と有意に関連し、リピート数の少ない (< 7 repeats) アリルを S、多いアリル (≥ 8 repeats) を L とした場合、LL 型 (≥ 8 repeats の homozygote) が高骨密度と関連した。他の遺伝子多型については骨密度と有意な関連を認めなかった。

D. 考察

CYP17 遺伝子-34T→C 多型の CC 型は閉経後女性において高骨密度と関連した。当初、-34T→C 多型の C アリルは CYP17 遺伝子の転写を促進することが示唆されたが、その後 C アリルと転写活性は関連しないとする報告が複数出されており、転写活性への影響は否定的である。一方、CC 型が血清エストロゲン高値と関連することが相次いで報告されている。エストロゲンが骨吸収を抑制することにより骨量減少を防止し、骨リモデリングに重要な役割を果たしていることを考えると、本研究の CC 型が閉経後女性において高骨密度と関連するという結果はこれらの報告と一致する。

種々の実験的研究および臨床データから atherogenic lipid profile は骨粗鬆症と関連することが示唆されている。MTP 遺伝子-493G→T 多型の TT 型は閉経前女性において高骨密度と関連した。当初、-493G→T 多型の T アリルが MTP 遺伝子の転写活性を促進し、血清 LDL 低値と関連することが報告された。一方、-493G→T 多型が血清 LDL 濃度と関連しないという報告や、むしろ血清 LDL 高値と関連するという報告もされた。したがって、-494G→T 多型と血清 LDL 濃度との関連については未だ結論が出ていない。また血清脂質と骨密度との関連では、血清 LDL 高値と低骨密度が関連するとことが報告されている。したがって、当初の報告のように TT 型が血清 LDL 低値と関連すると仮定すれば、本研究の TT 型が閉経前女性において高骨密度と関連を示した結果と一致する。

VLDLR 遺伝子 CGG repeat 多型の LL 型は男性において高骨密度と有意な関連を示した。VLDLR 遺伝子 CGG repeat 多型の機能は明らかではないが、9 回リピートが血清 lipoprotein E:B 低値および血清 lipoprotein A-I 高値と関連することや、高脂血症で投薬を受けている人の頻度が 9 回リピートで低く、5 回リピートで高いことが報告されている。このことはリピート回数が少ないアリルが atherogenic lipid profile であることを示唆しており、本研究の CGG repeat 多型の LL 型が男性において高骨密度と関連を示した結果を

支持する。

以上の結果から、CYP17 遺伝子-34T→C 多型の CC 型、MTP 遺伝子-493G→T 多型の TT 型、VLDLR 遺伝子 CGG repeat 多型の LL 型が骨粗鬆症に対しそれぞれ防御的に働く可能性が示唆された。この点を明らかにするために環境因子との相互作用を含めた解析および縦断的解析をさらに行う必要がある。

E. 結論

本年度検討した 16 遺伝子 17 多型のうち、CYP17 遺伝子-34T→C 多型の CC 型、MTP 遺伝子-493G→T 多型の TT 型、VLDLR 遺伝子 CGG repeat 多型の LL 型はそれぞれ閉経後・閉経前女性および男性において高骨密度と有意な関連を示した。これらの遺伝子型が骨粗鬆症に対し防御的に働く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) Yoshiji Yamada, Fujiko Ando, Naoakira Niino, Hiroshi Shimokata.

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

Metabolism 2004;53:135-137.

2) Yoshiji Yamada, Fujiko Ando, Naoakira

Niino, Hiroshi Shimokata.

Association of polymorphisms of the androgen receptor and klotho genes with bone mineral density in Japanese women.

J Mol Med 2005;83:50-57.

3) Yoshiji Yamada, Fujiko Ando, Naoakira Niino, Hiroshi Shimokata.

Association of a -1997G→T polymorphism of collagen I α 1 gene with bone mineral density.

Hum Biol 2005;77:27-36.

4) Yoshiji Yamada, Fujiko Ando, Hiroshi Shimokata.

Association of polymorphisms in *CYP17*, *MTP*, and *VLDLR* with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men.

(submitted for publication)

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

運動習慣・体力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（「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遺伝子多型との関連を検討した。候補遺伝子多型は同コホートで調査されている約 120 の遺伝子多型のうち骨密度との有意な関連が認められた 18 種の遺伝子多型とそれに関連した候補遺伝子多型 15 種の計 33 遺伝子多型である。このうち 15 種の遺伝子多型が骨密度と運動との関連に何らかの影響を及ぼしていた。運動と骨密度の関係に影響を与える遺伝子多型は性別、閉経・未閉経で必ずしも一致しなかった。このことは骨密度と遺伝子多型との関係についても言えることで、骨代謝に関わる要因の多様さ、特に性ホルモンや年齢の影響が関連を複雑にしていると考えられた。また遺伝子多型の種類により、影響を受ける骨の部位が異なっており、骨量減少のリスクを判定するためには、多くの遺伝子多型について様々な検討を行って行く必要があると思われた。第 1 次調査と第 3 次調査との間の 4 年間の縦断的変動についても同様に遺伝子多型によって各栄養素摂取量が骨密度に与える影響について検討を行った。

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であるのに対して、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。

本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遺伝形質を考慮して検討することである。昨年度はビタミン