

ND受容体遺伝子多型について検討したが、本年度は本コホート内で骨密度との有意な関連が認められた18の遺伝子多型とそれに関連した候補遺伝子多型15の計33遺伝子多型について検討した。

## 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)」の調査参加者(初回調査時40-79歳)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。横断的研究では第1次調査の参加者2215名を対象に、縦断的研究では、第1次および第3次調査の両方に参加した1594名を対象に検討を行った。

### 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<sup>3</sup>)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<sup>2</sup>)を測定した。

### 3. 運動関連要因

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握力、脚筋力、上体起こし、青年期の定期的運動の有無、速歩の歩幅、万歩計計測での総消費エネルギー、4.5Mets以上の余暇活動時間、

4.5Mets以上の労働時間を検討項目とした。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。

## 4. 遺伝子検査

遺伝子多型についてはASP-PCR法やフラグメント法を用いてタイピングを行った。候補遺伝子多型33種の名称とその略号を表1に示す。

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 $\alpha$ (Pvu II)
ESR2	EstrogenReceptor $\alpha$ (Xba I)
CCR	Chemokinereceptor2(G190A(Val64Ile))
CASR	Calcium-sensingreceptor(Arg990Gly)
COL	Collagentype1(G-1997T)
OST	Osteocalcin(C298T)
OPG1-1	Osteoprotegerin-1(T245G)
OPG1-2	Osteoprotegerin-1(T-223G)
VDR1	VitaminDreceptor(T2C)
VDR2	VitaminDreceptor(A-3731G)
TGF1	Transforminggrowthfactor- $\beta$ 1(T869C)
TGF2	Transforminggrowthfactor- $\beta$ 1(C-509T)
IL1A	Interleukin-1 $\alpha$ (C-889T)
IL1B	Interleukin-1 $\beta$ (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

横断的解析：男性、未閉経女性、閉経女性の3群において、pQCTおよびDXAで測定した8カ所の骨密度と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を年齢、BMIを調整して検討した。

縦断的解析：同様に男性、未閉経女性、閉経女性の3群において、pQCTおよびDXAで測定した8カ所の骨密度について、第1次調査から第3次調査までの変化量を求め、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。

解析にはSASリリース8.2の一般線形化モデル（GLM）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. 横断的解析

運動と骨密度との関係が各々の遺伝子多型によって異なるかどうかを検討した。男性、閉経女性、未閉経女性の3群についてそれぞれ遺伝子多型33種×骨密度8部位×運動8種のすべてについて骨密度に対する各運動と遺伝子多型の交互作用を求めた。6336通りの解析結果の中には第1種の過誤により有意な結果が得られるものもあると考えられたので、同一遺伝子多型・同一運動の8骨密度の解析中少なくとも3部位が有意な交互作用を示

したものをここでは取り上げた（表2）。また具体的な例を図1-4に示した。

男性ではMMP9、MMP12、OPG1、OPG2、VDR2、IL10、KLOT、VEGF4において骨密度と運動との関連は遺伝子多型により有意に異なっていた。男性のMMP9(Matrix metallo proteinase 9(c-1562T))遺伝子多型の野生型(CC多型)では橈骨骨密度D50、D100、P100および全身骨密度が青年期に定期的な運動経験のある群では、ない群に比較して有意に高かった。たとえば運動経験あり群では全身骨骨密度が $34\text{mg}/\text{cm}^2$  (3.4%)高かった(図1)。変異群(CT/TT群)では両群に有意差は認められなかった。

男性のKlot(Klotho)遺伝子多型の変異型(GA/AA)群では全身骨、腰椎L2-L4、大腿骨頸部、ワード三角部骨密度は上体起こしの回数と有意な関連を示した。たとえば上体起こしが30回出来る者ではまったく出来ない者と比較して年齢・BMI調整後、全身骨骨密度が約 $145\text{mg}/\text{cm}^2$ 高かった。これは骨密度の約13%に相当した(図2)。一方Klotの野生型(GG群)では全身骨の骨密度と上体起こし回数との間に有意な関連を認めなかった。

閉経後女性ではMMP12、ESR2、OPG2、VDR1、TGF1、IL6、IL10、LEPR、DRD4において骨密度と運動との関連は遺伝子多型によって有意に異なっていた。MMP12(Matrix metallo proteinase12(A-12G))遺伝子多型の変異型(AG/GG群)では橈骨骨密度P100、全身骨、腰椎L2-L4、大腿骨頸部、大転子部、ワード三角部の骨密度が脚筋力と有意な関連を示した。本コホートでの閉経女性の脚筋力の分布は

10kg から 50kg であったが、年齢・BMI を調整してそれぞれの骨密度を推定すると 406mg/cm<sup>2</sup>、820mg/cm<sup>2</sup> であり、脚筋力の劣る者では優れた者に比して、約 50% まで大転子部の骨密度が低下する可能性を示した (図 3)。一方野生型でも大転子部骨密度と脚筋力との関係は有意ではあったが、その関係はより緩やかなものであり、脚筋力が 10kg、50kg それぞれの大転子部骨密度推定値は 521, 573mg/cm<sup>2</sup> であった。

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。未閉経女性の LEPR (Leptin Receptor (Gln223 Arg)) 遺伝子多型の変異型 (GA/AA 群) では全身骨、腰椎 L2-L4、大転子部骨密度が上体起こしの回数と有意な関連を示した。上体起こしの回数は未閉経女性では 0 回から 21 回の間に分布したが、変異型では、上体起こし 0 回の腰椎骨密度推定値は 890mg/cm<sup>2</sup> で、21 回の推定値は 1129mg/cm<sup>2</sup> であった (年齢・BMI 調整)。一方野生型 (GG 群) ではそれぞれの推定値は 1031, 1023mg/cm<sup>2</sup> で上体起こしの回数と腰椎骨密度との間に有意な関係は認められなかった (図 4)。

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。

## 2. 縦断的解析

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を検討した。横断的解析と同様な基準で骨密度変化量に対する各運動と遺伝子多型の交互作用が 8 カ所の骨密度

測定部位の中で少なくとも 3 カ所は有意であったものを表 3 に示した。

男性では ESR1、ESR2、TGF2、IL10、LEPR 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。たとえば男性において ESR2 の野生型 (AA 群) では万歩計で推定された歩行による総消費エネルギーは大転子骨密度低下に対する抑制効果を示したが、変異群では抑制効果は有意ではなかった。

閉経女性では MMP1、MMP3、ADR、OPG1-1、OPG1-2、TGF1、LEP、VEGF4 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。

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。

## D. 考察

横断的検討では検討した候補遺伝子多型 33 種の中で、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。また縦断的検討でも多くの遺伝子多型が骨密度の変化量と運動との関係に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

運動と骨密度との関係は横断的検討と縦断的検討とでは一致しなかった。横断的検討では年余にわたる様々な要因の影響が複雑に現れていると考えられた。運動の種類としては特に青年期の運動の

有無が関与しているのが特徴であった。一方、中高年期になってからの4年間の骨密度の変化量には主に歩行能力や歩行による総消費エネルギーが関連しており、中高年期における歩行が骨粗鬆症の予防に対して効果をあげる可能性が示唆された。

また骨密度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。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る。

昨今、内外で実に様々な遺伝子多型について骨密度との関係が検討されているが、一つのコホートで有意となったものが、別のコホートで有意ではなくなる、あるいは逆の結果が出る、といった混乱が続いている。我々の今回の研究結果によれば、たとえば運動量の多いコホートでは、運動により骨密度が増加しやすい遺伝子多型を持った群が見かけ上骨密度が高く示されるであろう。一方、運動量の低いコホートを用いれば、運動の影響を受けやすい群では骨密度は相対的に低く評価される可能性がある。民族による遺伝子多型分布の違いや生活習慣、文化による運動量の違いが、骨密度と遺伝子多型の見かけ上の関係を不安定にしている可能性がある。今後、個別の遺伝子多型について骨密度に影響を与える機序を考慮しながら、さらに詳細に検討する必要がある。また、遺伝子多型の組み合わせにより、骨密度に運動の影響を受けやすい者、受けにくい者がると考えられ、低骨密度者に対して運動による介入を進める際には年齢、性、閉経の有無や遺伝

子多型の組み合わせを考慮したオーダーメイドの予防医療が効果的であると考えられた。

## E. 結論

地域在住者約 2000 人のコホートで 4 年間の縦断的調査を行い、運動と骨密度の関連に対する遺伝子多型の影響について性別・閉経の有無別に検討した。骨粗鬆症の候補遺伝子の多型により運動が骨密度に及ぼす影響に差が認められたが、性別及び閉経の有無によって遺伝子多型の影響に違いがあった。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。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。横断的解析結果と縦断的解析結果は必ずしも一致せず、今後さらに追跡を行っての検討が必要と思われた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Maruyama K, Niino N, Ando F, Shimokata H, Ohta S, Funakoshi A Association of cholecystokinin-A receptor gene polymorphism with alcohol dependence in a Japanese population. Alcohol &

Alcoholism 39(1);25-28, 2004.

2) 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.

3) 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.

4) Koda M, Ando F, Niino N, Shimokata H, Miyashita K, Funakoshi A: Association of Cholecystokinin 1 Receptor and  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor Polymorphisms with Midlife Weight Gain. *Obec Res* 8(12):1212-1216,2004.

5) 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.

6) 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.

7) 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.

8) 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.

9) 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.

10) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a -1997G  $\rightarrow$ T polymorphism of the collagen I  $\alpha$ 1 gene with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Hum Biol*, 77:27-36, 2004.

11) 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)

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

小坂井留美

道用亘

(国立長寿医療センター疫学研究部)

表2. 骨密度に対して運動との交互作用が有意であった遺伝子多型とその運動の種類

	男性	閉経女性	未閉経女性
MMP3			握力
MMP9	脚筋力 青年期運動		握力
MMP12	青年期運動	脚筋力 上体起こし	
ESR2		握力	
OPG1-1	余暇活動時間		握力
OPG1-2	総消費エネルギー 労働時間	歩幅	
VDR1		労働時間	
VDR2	総消費エネルギー		
TGF1		余暇活動時間 青年期運動	
IL6		脚筋力	
IL10	青年期運動	労働時間	
KLOT	上体起こし		余暇活動時間
LEPR		労働時間	上体起こし
VEGF4	総消費エネルギー 脚筋力 余暇活動時間		
DRD4		青年期運動 握力	

男性、閉経女性、未閉経女性の3群についてそれぞれ遺伝子多型33種×骨密度8部位×運動8種のすべてについて骨密度の縦断的変化量に対する各運動と遺伝子多型の交互作用を求めた。この中で、同一遺伝子多型・同一運動の中で少なくとも3部位が有意な交互作用を示し、そのうち少なくとも一つの有意性が $p<0.01$ であるものをここでは取り上げた。

遺伝子多型の略号については表1参照のこと。

余暇活動時間;過去1年間に4.5Mets以上の強度の運動をした平均時間、労働時間;過去1年間に4.5Mets以上の強度の労働をした平均時間、青年期運動;青年期に少なくとも週1回、1年間行った定期的運動の有無、上体起こし;30秒間で腹筋を用いて体を起こした回数、総消費エネルギー;万歩計で推計した歩行による一日の総消費エネルギー

図1. Matrix metalloproteinase-9 (C-1562T) 遺伝子多型別の  
 青年期運動歴と全身骨密度との関連 (男性)

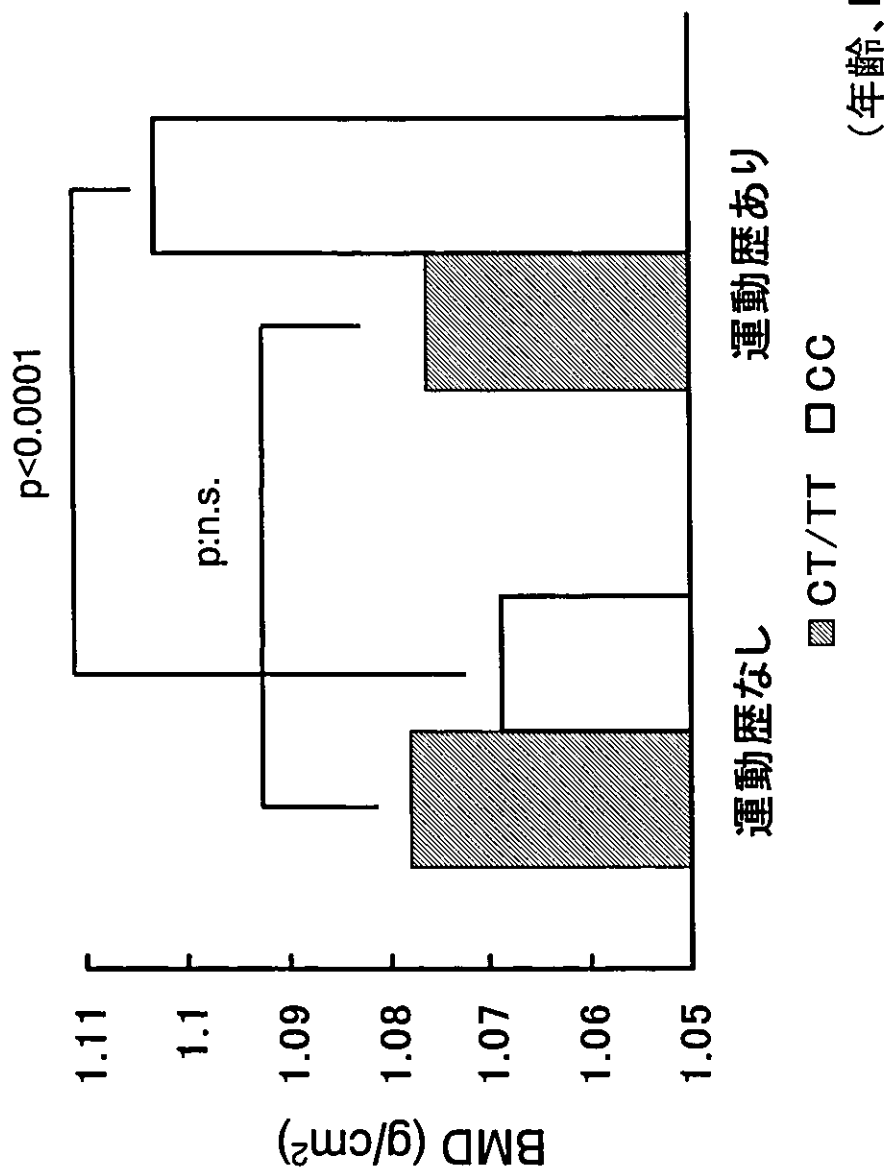
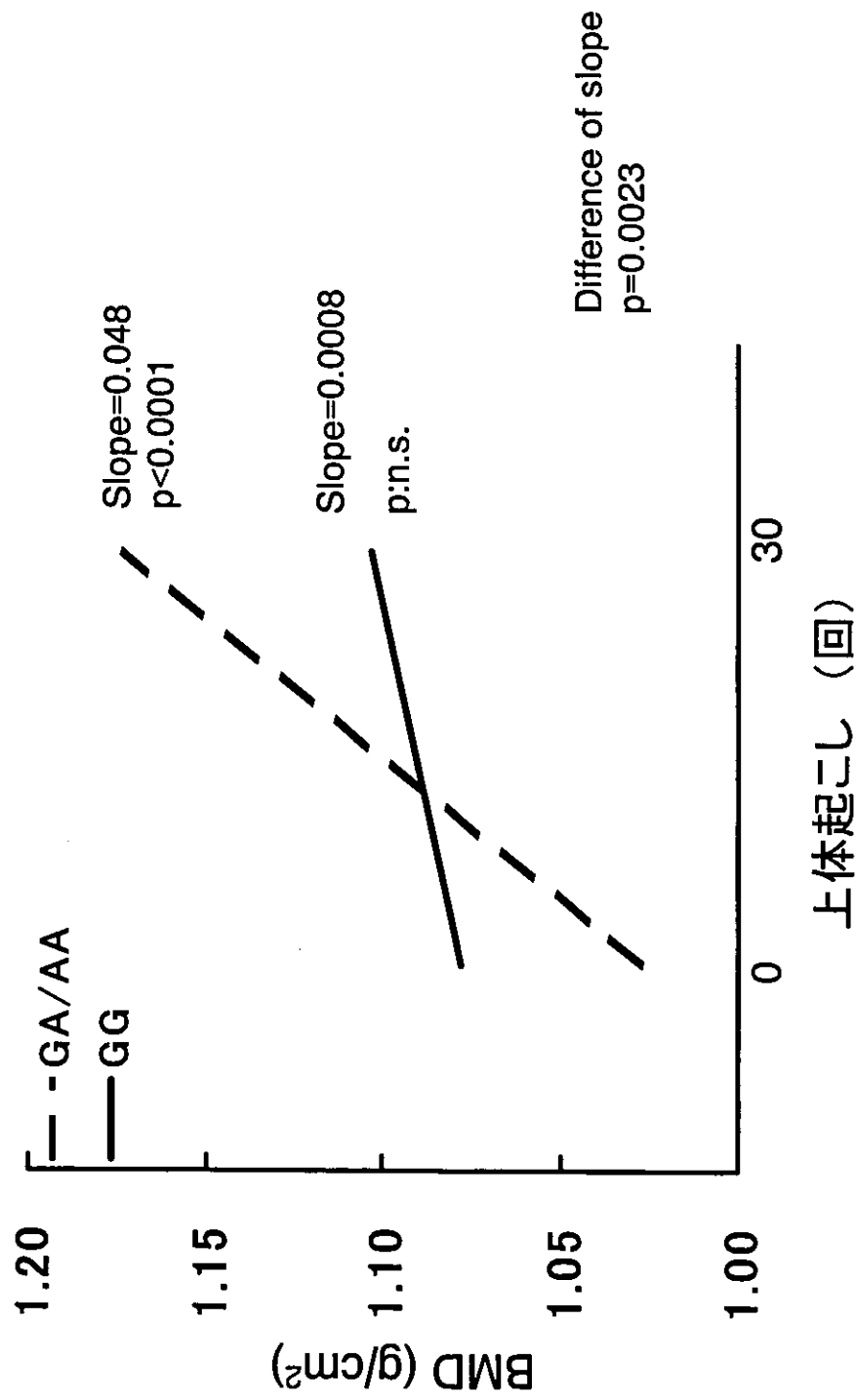




図2. Klotho (G-395A) 遺伝子多型別の  
 上体起こしと全身骨密度との関連 (男性)



(年齢、BMIで調整)

図3. Matrix metalloproteinase-12 (A-82G) 遺伝子多型別の  
脚筋力と大転子骨密度との関連 (閉経女性)

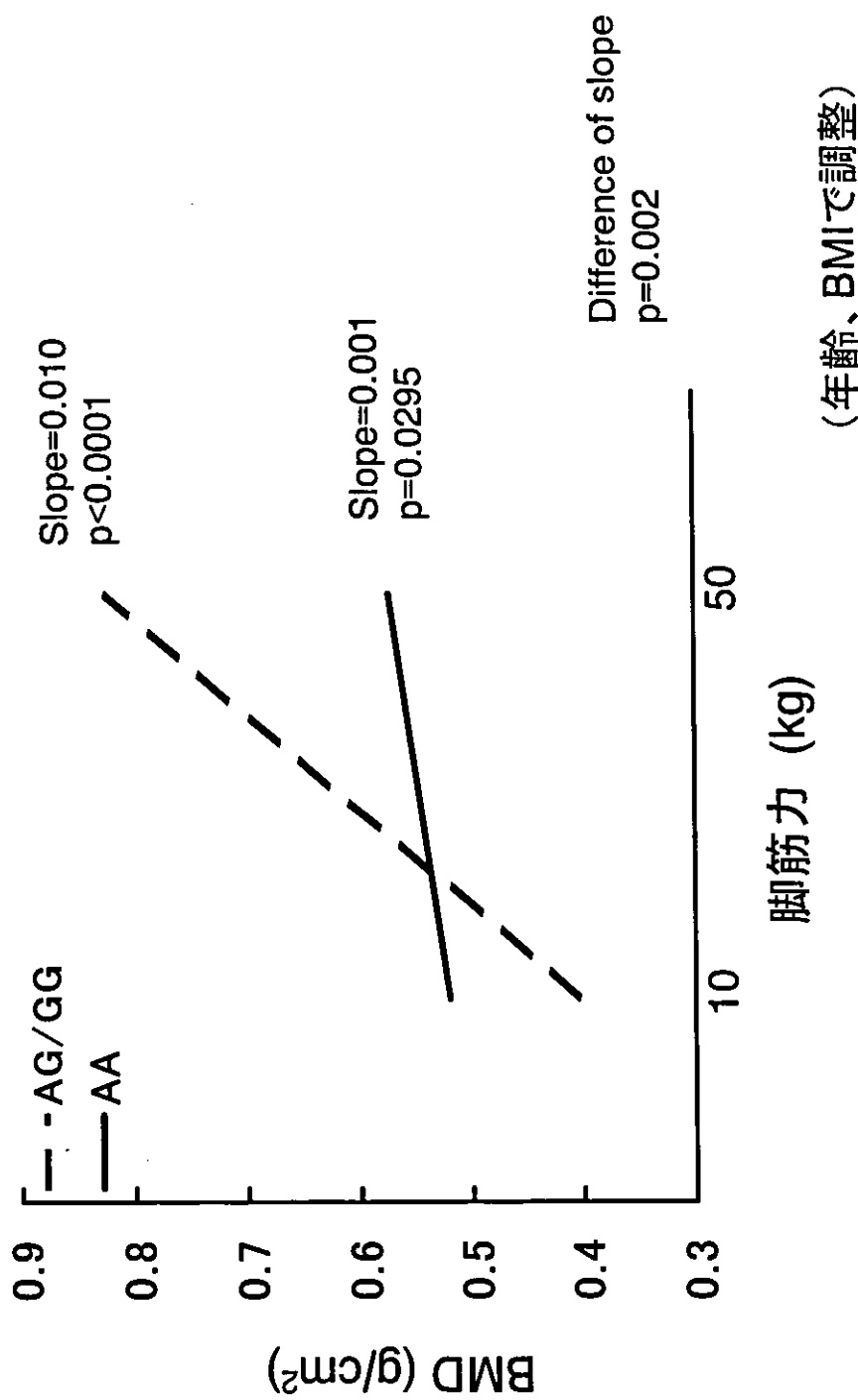
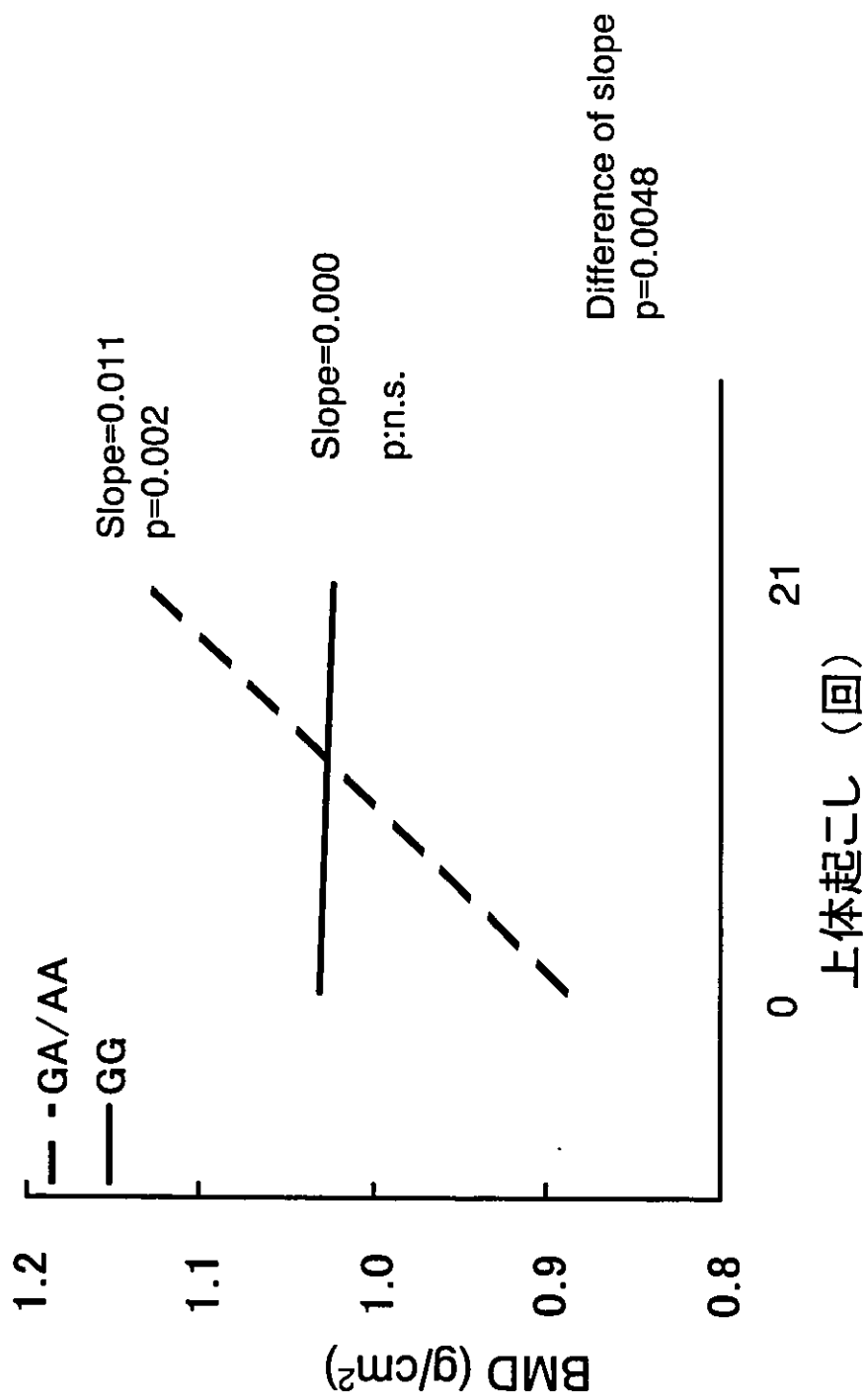


図4. Leptin Receptor (Gln223Arg) 遺伝子多型別の  
 上体起こしと腰椎(L2-L4)骨密度との関連 (未閉経女性)



(年齢、BMIで調整)

表3. 骨密度の縦断的变化に対して運動との交互作用が有意であった遺伝子多型とその運動の種類

	男性	閉経女性	未閉経女性
MMP1		余暇活動時間	上体起こし
MMP3		上体起こし	
ACE			総消費エネルギー 上体起こし
ADR		上体起こし	
ESR1	上体起こし		速歩歩幅
ESR2	総消費エネルギー		
OST			総消費エネルギー
OPG1-1		握力 総消費エネルギー	総消費エネルギー
OPG1-2		余暇活動時間	
VDR1			青年期運動
TGF1		握力	
TGF2	脚筋力		
IL1B			青年期運動
IL6			速歩歩幅
IL10	総消費エネルギー		速歩歩幅
KLOT			速歩歩幅
PON1			速歩歩幅 青年期運動
PON2			青年期運動 余暇活動時間
LEP		上体起こし	
LEPR	脚筋力		
VEGF1			速歩歩幅
VEGF3			速歩歩幅
VEGF4		総消費エネルギー	
DRD4			

男性、閉経女性、未閉経女性の3群についてそれぞれ遺伝子多型33種×骨密度8部位×運動8種のすべてについて骨密度の縦断的变化量に対する各運動と遺伝子多型の交互作用を求めた。この中で、同一遺伝子多型・同一運動の中で少なくとも3部位が有意な交互作用を示し、そのうち少なくとも一つの有意性が $p < 0.01$ であるものをここでは取り上げた。

遺伝子多型の略号については表1参照のこと。

余暇活動時間; 過去1年間に4.5Mets以上の強度の運動をした平均時間、労働時間; 過去1年間に4.5Mets以上の強度の労働をした平均時間、青年期運動; 青年期に少なくとも週1回、1年間行った定期的運動の有無、上体起こし; 30秒間で腹筋を用いて体を起こした回数、総消費エネルギー; 万歩計で推計した歩行による一日の総消費エネルギー

分担研究報告書

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

分担研究者 下方 浩史

国立長寿医療センター疫学研究部長

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に栄養摂取と骨密度の関連に対する遺伝子多型の影響について性別・閉経の有無別に横断的検討を行った。骨粗鬆症の候補遺伝子の多型によりエネルギー、蛋白質、カルシウム、ビタミンD摂取量が骨密度に及ぼす影響に差が認められたが、性別及び閉経の有無によって遺伝子多型の影響に違いがあった。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**

加齢に伴う骨密度の減少は、高齢者の骨粗鬆症や骨折の最も重要な要因であり、骨密度の減少に影響を与える因子についての検討、そしてその結果から予防医療への展開は老年医学の大きな課題のひとつである。骨粗鬆症は遺伝的な素因も重要であるが、素因があっても必ずしも発症するわけではない。遺伝的要素とともに環境因子や生活習慣など多くの要因が複雑に関与する。本研究の目的は生活要因のうちでも重要な要因のひとつである栄養摂取の骨密度との関連と、骨密度に

対する栄養と遺伝子と相互作用について明らかにすることである。

**B. 研究方法**

**1. 対象**

研究の対象は、「国立長寿医療センター研究所老化に関する長期縦断疫学研究（NILS-LSA）」の調査参加者である。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。横断的研究では第1次調査の参加者1962名を対象に、縦断的研究

では、第1次および第3次調査の両方に参加した1631名を対象に検討を行った。

## 2. 骨密度

### 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. 遺伝子検査

参加者の EDTA 採血血漿から DNA を分離し、凍結保存している。この保存 DNA を用いて、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を行った。現在までにタイピングの終了した約130種類の遺伝子多型のうち骨密度と

の関連があった17の遺伝子多型と、それに関連した候補遺伝子多型15の計33遺伝子多型について栄養摂取との関連を網羅的に検討した (表1)。

表1. 解析を行った候補遺伝子多型

略号	遺伝子変異
○ MMP1	Matrix metalloproteinase-1 (1G/2G at-1607)
	MMP3 Stromelysin promoter (5A/6A at-1612)
○ MMP9	Matrix metalloproteinase-9 (C-1562T)
	MMP12 Matrix metalloproteinase-12(A-82G)
	ACE Angiotensin converting enzyme (D/I)
○ ADR	Androgen receptor (CAG repeat)
○ ESR1	Estrogen Receptor II (PP/pp)
○ ESR2	Estrogen Receptor II (XX/xx)
○ CCR	Chemokine receptor 2 (G190A (Val64Ile))
	CASR Calcium-sensing receptor (Arg990Gly)
○ COL	Collagen type1(G-1997T)
○ OST	Osteocalcin (C298T)
○ OPG1	Osteoprotegerin (T245G)
○ OPG2	Osteoprotegerin (T-223C)
○ VDR1	Vitamin D receptor (T2C)
	VDR2 Vitamin D receptor (A-3731G)
○ TGF1	Transforming growth factor-β1(T29C)
	TGF2 Transforming growth factor-β1(C-509T)
	IL1A Interleukin-1β(C-889T)
	IL1B Interleukin-1β(C-511T)
	IL4R Interleukin-4 receptor (G1902A(Q576R))
○ IL6	Interleukin-6(C-634G)
	IL10 Interleukin-10 (A-592C)
	WNR Werner helicase(c.4330TC(1367Cys/Arg))
○ KLOT	Klotho(G-395A)
○ PON1	Paraoxonase-1 (Gln192Arg)
○ PON2	Paraoxonase-1 (Met55Leu)
	LEP Leptin (A19G)
	LEPR Leptin receptor(Gln223Arg)
	VEGF1 Vascular endothelial growth factor (C936T)
	VEGF3 Vascular endothelial Growth factor (C-2578A)
	VEGF4 Vascular endothelial Growth factor (G-1154A)
○ DRD4	Dopamine D4 Receptor (C-521T)

○は報告済み多型

## 5. 解析方法

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。解析にはSASリリース8.2を用いた。

#### (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、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. 横断的解析

骨密度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を検討した。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(表2)。

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(表3)。

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(表4)。

これらのうちの一部を図にて提示する。図1は男性でのLEPR多型別にみた蛋白質摂取量による大腿骨頸部骨塩量との関連を示している。変異型群では蛋白質摂取量が多ければ骨塩量も高いが、野生型群では蛋白質摂取量による骨塩量の有意な違いはない。遺伝子多型での二つの直線は一日の蛋白質摂取量の平均値に近い80グラム付近で交差しており、蛋白質摂取量が多い群では変異型の方が骨塩量が高いが、蛋白質摂取量が少ない群では野生型の方が骨塩量は高くなっており、逆転現象がみられる。

図2は未閉経女性におけるIL1A遺伝子多型別にみたカルシウム摂取量による大腿骨頸部骨塩量との関連である。同様に変異型群でカルシウム摂取量による骨密度の有意な違いがみられるが、野生型群ではカルシウム摂取による骨塩量の有意な差はない。

図3は閉経女性でのWNR遺伝子多型別にみたビタミンD摂取量による橈骨遠位部骨密度(pQCT D50)との関連である。変異型群ではビタミンD摂取量が多いと骨密度も有意に高くなっているが、野生型群ではビタミンD摂取による骨密度の違いはない。直線の交叉はビタミン

D 摂取量が 150  $\mu$ g と低い部分にあり、ビタミン D 摂取量が多くなるほど変異型群の骨密度が野生型群に比べて高くなっている。

## 2. 縦断的解析

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。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 (表 5)。

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 (表 6)。

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 (表 7)。

これらのうちの一部を横断的検討と同

様に図にて提示する。図 4 は男性での ACE 多型別にみたカルシウム摂取量による大腿骨頸部骨塩量との関連を示している。野生型群および変異型群とも骨塩量は低下している。野生型群ではカルシウム摂取量によって骨塩量の低下率に有意な違いはないが、変異群ではカルシウムの摂取が多いほど、低下率は小さくなっていた。

図 5 は未閉経女性における IL4R 遺伝子多型別にみたビタミン D 摂取量による橈骨皮質骨密度 (pQCT D100) 変化との縦断的関連である。同様に変異型群でビタミン D 摂取量による骨密度変化の有意な差がみられるが、野生型群ではビタミン D 摂取による骨塩量に差はない。

図 6 は閉経女性での OPG1 遺伝子多型別にみたエネルギー摂取量による橈骨皮質骨密度 (pQCT P100) 変化との縦断的関連である。変異型群ではエネルギー摂取量が多いと骨密度の低下率も有意に小さくなっており、2500kcal の摂取で骨塩量の低下はなくなるが、野生型群ではエネルギー摂取量による骨密度の違いはない。

## D. 考察

骨粗鬆症の候補遺伝子の多型によりエネルギー、蛋白質、カルシウム、ビタミン D 摂取量が骨密度に及ぼす影響に差が認められたが、性別及び閉経の有無によって遺伝子多型の影響に違いがあった。

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。

遺伝子多型と骨密度、骨粗鬆症との関連については、同じ多型であってもまったく、対象集団によって有意差があったり、なかったり、場合によってはまったく逆の結果が報告されることもある。

今回の結果で示されたように、遺伝子多型と疾病や疾病マーカーとの関連については栄養摂取など生活習慣の影響が強く、対象集団の設定によって、結果が大きく異なってしまう。例えばカルシウムの摂取量は乳製品を大量にとっている欧米と、乳製品の摂取が少なく、食事中的カルシウム量が少ない日本では、未閉経女性の IL1A と大腿骨頸部骨塩量との関連は欧米人では変異型の方が骨塩量は高いのに、日本人では逆に野生型の方が骨塩量が高い結果になる。

したがって、こうした詳細な栄養調査、さらには喫煙や飲酒、運動などの生活習慣について網羅的に相互作用についての検討を行っていかなければ、遺伝子多型を利用したテーラーメイドの医療や予防を進めていくことができない。

今回の検討では横断的な解析結果と縦断的な解析結果が必ずしも一致しなかった。縦断的な解析は第1次調査と第3次調査の間の4年間の変化についての検討であり、加齢変化をとらえるには十分な観察期間とはいえない。今後、さらに追跡調査を加えて、縦断的な検討を行っていく必要があるだろう。

## 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

対象に栄養摂取と骨密度の関連に対する遺伝子多型の影響について性別・閉経の有無別に横断的検討を行った。骨粗鬆症の候補遺伝子の多型によりエネルギー、蛋白質、カルシウム、ビタミンD摂取量が骨密度に及ぼす影響に差が認められたが、性別及び閉経の有無によって遺伝子多型の影響に違いがあった。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。横断的解析結果と縦断的解析結果は必ずしも一致せず、今後さらに追跡を行っての検討が必要と思われた。

## F.健康危険情報

なし

## G.研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Iwano M, Nomura H, Ando F, Niino N, Miyake Y, Shimokata H: Visual Acuity in a Community-Dwelling, Japanese Population and Factors Associated with Visual Impairment. *Jpn J Ophthalmol* 48, 37-43, 2004.
- 2) 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.

- 3) Fukukawa Y, Nakashima C, Tsuboi S, Niino N, Ando F, Kosugi S, Shimokata H: The impact of health problems on depression and activities in middle-aged and older adults: Age and social interactions as moderators. *J Gerontol B Psychol Sci* 59B(1); 19-26, 2004.
- 4) Nomura H, Ando F, Niino N, Shimokata H, Miyake Y. The relationship between intraocular pressure and refractive errors adjusting for age and central corneal thickness. *Ophthalmol Physiol Opt* 24; 41-45, 2004.
- 5) Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Maruyama K, Niino N, Ando F, Shimokata H, Ohta S, Funakoshi A: Association of cholecystokinin-A receptor gene polymorphism with alcohol dependence in a Japanese population. *Alcohol & Alcoholism* 39(1); 25-28, 2004.
- 6) Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Shirakawa O, Shimokata H, Funakoshi A. Association of cholecystokinin-A receptor gene polymorphisms and panic disorder in Japanese. *Am J Med Genet.* 127B(1):78-80, 2004.
- 7) 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.
- 8) 坪井さとみ、福川康之、新野直明、安藤富士子、下方浩史：地域在住の中高齢者の抑うつに関連する要因：その年齢差と性差。 *心理学研究* 75(2); 101-108, 2004.
- 9) Fukukawa Y, Nakashima C, Tsuboi S, Kozakai, R., Doyo W., Niino N, Ando F, Shimokata H: Age Differences in the Effect of Physical Activity on Depressive Symptoms. *Psychol Aging* 19(2); 346-351, 2004.
- 10) 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.
- 11) 内田育恵、中田誠一、植田広海、中島務、新野直明、安藤富士子、下方浩史：加齢及び全身性基礎疾患の歪成分耳音響反射に及ぼす影響。 *Otol Jpn* 14(2); 154-159, 2004.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) Uchida Y, Nakashima T, Ando F, Niino N, Shimokata H: Is there a relevant effect of noise and smoking on hearing? *Int J Audiol*, 2005 (in press).

- 15) Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H: Association of a C 1997G → T polymorphism of the collagen I $\alpha$ 1 gene with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Hum Biol*, 2005 (in press).
- 16) 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.
- 17) Yamamoto S, Mogi N, Umegaki H, Suzuki Y, Ando F, Shimokata H, Iguchi A: The Clock Drawing Test as a Valid Screening Method for Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 18: 172-179, 2004.
- 18) 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.
- 19) 高井佳子、五十嵐羊羽、佐藤慎、島本恵美、石子智士、木ノ内玲子、長南健太郎、野村秀樹、下方浩史、吉田晃敏：利尻島における高頻度の屈折異常。臨床眼科 58(9): 1673-1677, 2004.
- 20) 内田育恵、中島務、新野直明、安藤富士子、下方浩史：加齢及び全身性基礎疾患の聴力に及ぼす影響。Otol Jpn 14(5); 708-713, 2004.
- 21) 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.
- 22) 下方浩史：痴呆症学－本邦の疫学統計。日本臨床 63(増刊4); 121-126, 2004.
- 23) 下方浩史：老化と生活習慣病。からだの科学 233(11); 97, 2003.
- 24) Shimokata H, Ando F, Fukukawa Y: Interactions between health and psychological changes in Japanese - the NLS-LSA. *Geriatrics and Gerontology International* 2005 (in press).
- 25) 下方浩史、西田裕紀子、新野直明、安藤富士子：Klotho 遺伝子 G-395A 多型と認知機能障害 日本未病システム学会雑誌 10(1), 49-51, 2004.
- 26) 安藤富士子、藤澤道子、新野直明、下方浩史：Werner helicase の遺伝子変異と地域在住中高年者の血圧・心疾患。日本未病システム学会雑誌 10(1), 52-54, 2004.
- 27) 西田裕紀子、新野直明、小笠原仁美、福川康之、安藤富士子、下方浩史：地域在住高年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 10(1), 97-99, 2004.
- 28) 譽田英喜、新井康司、角保徳、藤澤道子、安藤富士子、新野直明、下方浩史：中高年者の口腔所見に関する研究。日本未病システム学会雑誌 10(1), 100-102, 2004.
- 29) 下方浩史、小坂井留美、北村伊都子、安藤富士子：体脂肪分布と合併症、身体活動量、フィットネスの関連。臨床スポ

ーツ医学 21(7); 733-739, 2004.

30) 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.

31) 安藤富士子, 下方浩史: 高齢者の抑うつと脂肪摂取. 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);724-727, 2004.

32) 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. 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);769-772, 2004.

33) 下方浩史: 高齢者の健康と栄養. 人間の医学 40(2); 132-141, 2004.

34) 下方浩史: 高齢者医療と栄養管理. 治療学 38(7); 829, 2004.

35) 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.

36) 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.

37) 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.

38) 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.

39) 下方浩史: 高齢者の定義および人口動態. 老年学. 標準理学療法・作業療法学. 専門基礎分野(改訂版). 大内尉義編 東京、医学書院、2005 印刷中.

40) 下方浩史: 高齢者の喫煙と生活習慣病. 老年病ガイドブック 第3巻 高齢

者の生活習慣病の診療の実際. 井藤英喜編 東京、メジカルビュー社、27-36, 2004.

## 2. 学会発表

1) Mori K, Imai T, Ando F, Niino N, Shimokata H: A study of sex difference in portion size for the development of semi-quantative food frequency questionnaire in Japan. The 16th International Congress of Dietetics. May.28-31, 2004 Chicago.

2) Koda M, Imai T, Okura T, Kitamura I, Ando F, Niino N, Shimokata H: Effects of dietary carbohydrate on intra-abdominal adipose tissue in Japanese men. The 13th European Congress on Obesity, May 26-29, 2004, Prague.

3) 小坂井留美, 道用亘, 都竹茂樹, 安藤富士子, 新野直明, 下方浩史: 中高年齢者における運動能力の縦断変化 一性・年齢との関連一. 第46回日本老年医学会. 千葉, 2004年6月16日.

4) 道用亘, 小坂井留美, 新野直明, 安藤富士子, 下方浩史: 歩行速度増加に伴う歩幅とピッチの変化 一性、年代による特徴一. 第46回日本老年医学会. 千葉, 2004年6月16日.

5) 安藤富士子, 小坂井留美, 道用亘, 藤澤道子, 新野直明, 下方浩史: 運動と骨密度との関連にビタミンD受容体遺伝子多型 T2C が及ぼす影響. 第46回日本老年医学会. 千葉, 2004年6月17日.

6) 福川康之, 西田裕紀子, 中西千織, 坪井さとみ, 新野直明, 安藤富士子, 下方浩史(疫学研究部) 中高年の活動性の変