

200400285 B

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・16年度 総合研究報告書

主任研究者 安藤 富士子

平成17 (2005) 年 3月

# 目 次

## I. 総合研究報告書

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. 研究成果の刊行に関する一覧表 35

III. 研究成果の刊行物・別刷 41

# I . 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総合研究報告書

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 地域在住の中高年男女約 2300 人を対象として運動・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多型に着目して検討した。2 年間の研究成果として①新たに骨粗鬆症関連候補遺伝子多型 28 種を解析しコホート内ですでに測定されている約 100 種の SNP データベースとあわせ、骨密度との関連解析を行った。18 種の SNP について骨密度との有意な関連が明らかになった（11 種については論文として公表）。②体力、日常生活活動度などの運動機能やカルシウム等の栄養は従来報告されているように骨密度と有意な正の関連を示した。③同コホート内で骨密度との関連が確認された遺伝子多型およびその関連遺伝子多型計 33 種について運動・栄養と骨密度との関連に遺伝子多型が及ぼす影響を検討した。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、栄養と骨密度との関係には 16 種の遺伝子多型が影響を及ぼしていた。④転倒と骨密度との関連について横断的・縦断的に検討し、高齢女性においては転倒歴の有る者では骨密度が低いこと、また骨密度が低い者は追跡調査で転倒しやすいことを明らかにした。

遺伝子多型によっては、運動・栄養の影響により骨密度が 50% 異なると推定されたものもあり、運動・栄養による骨量減少予防戦略上各個人の遺伝子多型を考慮したオーダーメイドシステムを構築することは重要であると考えられた。

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（桜美林大学大学院老年学教授）

A. 研究目的

特定疾患に関連する遺伝子多型を見出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生活習慣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。

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、糖尿病や腎不全などの疾病や服薬など、多くの要因が関連することが報告されている。遺伝的要因は骨代謝に直接関わるだけではなく、個体の危険因子への感受性や運動・栄養の骨粗鬆症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によって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。特に運動・栄養や転倒と骨密度低下との関連を遺伝子多型に着目して一つのコホートの中で詳細に検討することによって、遺伝子多型別の運動・栄養による骨粗鬆症予防ストラテジーの必要性を明らかにしようとするものである。

具体的な研究計画は以下の通りである。

(1)内外の文献から骨粗鬆症関連候補遺伝子を抽出し、NILS-LSA 第一次調査保存

DNAを用いて遺伝子多型を測定する。(2)同コホートの遺伝子多型既存データベースとあわせ、遺伝子多型と骨密度との関連について年齢、性、体格を考慮して検討する。(3)NILS-LSAの運動・栄養に関する膨大なデータベースから骨密度と関連が強い要因を抽出する。(4)これらの運動・栄養要因と骨密度との関係に影響を及ぼす遺伝子多型を明らかにし、その影響の大きさを検討する。(5)骨密度と共に高齢者の骨折の大きな要因である転倒についても、骨密度との関連を横断的・縦断的に検討する。

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、生活習慣などが異なるコホートで個々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る。本研究では一つのコホート内で多くの遺伝子多型と骨密度との関連を運動・栄養などの詳細な背景要因とともに解析することによって骨密度に関わる先天的・後天的要因を総合的に捉えることを特徴とする。

## 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、性別に層化後、無作為抽出に

より選ばれている。縦断的研究では、第1次調査および4年後の第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。

横断的検討には第1次調査時のpQCTおよびDXAの結果を、縦断的検討にはそれぞれの骨密度の4年間の変化量を用いて検討した。

## 3. 栄養調査

第1次調査における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第1次調査における握力、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。

## 5. 転倒とその関連要因に関する調査

第1次・第2次調査時の過去1年間の、転倒経験の有無、第1次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

本コホートではビタミンD受容体遺伝子多型など、従来から骨密度との関連が報告されている遺伝子多型のいくつかについては遺伝子多型の同定がすでになされているが、本研究では最近の文献から骨リモデリングへの関与が推定される遺伝子多型をさらに28種抽出し (表1)、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)により遺伝子多型の解析を行った。

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130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2)、運動・栄養の骨粗鬆症予防効果との関連を検討した。

## 7. 解析

解析にはSAS8.2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

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

第1次調査で測定した8カ所の骨密度と28種の候補遺伝子多型(表1)について男性全体、女性全体、閉経前・閉経後女性に分けて関連解析を行った。さらに年齢とbody mass index(BMI)で補正した関連解析を行い骨密度と有意な関連を示す多型を明らかにした。主な結果は以下の通りである。

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(J Mol Med,2005)。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(J Mol Med,2005)。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(Genomics, in press)。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(Genomics, in press)。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(Genomics, in press)。

### 2. 運動と骨密度との関連

骨密度と各運動関連要因との関係を性別に検討し骨密度と関連の強い運動要因を抽出した。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。

### 3. 運動の骨量減少予防効果に対する遺伝子多型の影響

運動関連要因の骨量減少予防効果が遺伝子多型の野生型と変異型(ヘテロおよびホモ変異)でどのように異なるかを第1次調査結果を用いて検討した。

解析には年齢、BMI を調整した一般線形化モデルを用い、男性、未閉経女性、閉経女性の3群、候補遺伝子33種(表2)、骨密度との関連が強かった運動関連要因8種(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)、骨密度8部位について、すなわち  $3 \times 33 \times 8 \times 8 = 6336$  の組み合わせ

について網羅的に検討した。統計的 1 種の過誤を考慮して骨密度 8 部位のうち少なくとも 3 部位以上で  $p < 0.05$  の有意な結果が得られた関係のみを抽出した。

横断的検討では男性で MMP9、MMP12、OPG1、OPG2、VDR2、IL10、KLOT、VEGF4、閉経後女性で MMP12、ESR2、OPG2、VDR1、TGF1、IL6、IL10、LEPR、DRD4、未閉経女性で 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。

具体的な例を図 1-4 に示した。

男性の MMP9 (Matrix metalloproteinase 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、ない群と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。

閉経女性の MMP12 (Matrix metalloproteinase12(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  $406\text{mg}/\text{cm}^2$ 、 $820\text{mg}/\text{cm}^2$  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、 $573\text{mg}/\text{cm}^2$  であった。

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  $890\text{mg}/\text{cm}^2$  で、21 回の推定値は  $1129\text{mg}/\text{cm}^2$  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、 $1023\text{mg}/\text{cm}^2$  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)。

これらの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同様に 6336 の組み合わせ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。

#### 4. 栄養と骨密度との関連

第1次調査の結果を用いて骨密度と食物・栄養素等摂取量との関係を男女別に摂取エネルギーを調整して検討した。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。

#### 5. 栄養の骨密度減少予防効果に対する遺伝子多型の影響

栄養素等摂取量と骨密度との関連が遺伝子多型によって異なるかどうかを運動と同様に検討した。すなわち対象を男性、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（総摂取エネルギー、ビタミンD、カルシウム、タンパク質）の栄養素摂取量、8種類の骨密度、計3168の組み合わせの網羅的検討結果について遺伝子多型と栄養の相互作用のパターンを解析した。

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。

具体的な例を図5-7に示した。

男性の蛋白質摂取量と大腿骨頸部骨塩量との関連はLEPR多型の変異型では蛋白質摂取量が多ければ骨塩量も高いという結果であったが、野生型群では蛋白質摂取量による骨塩量の有意差は認められ

なかった (図 5)。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、逆転現象がみられた。

未閉経女性のカルシウム摂取量と大腿骨頸部骨塩量との関連は IL1A 遺伝子多型別の変異型でカルシウム摂取量による骨密度の有意な違いが認められた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かった (図 6)。

閉経女性のビタミン D 摂取量と橈骨遠位部骨密度 (pQCT D50) との関連では WNR 遺伝子多型の変異型ではビタミン D 摂取量が多いと骨密度も有意に高いという結果であったが野生型ではビタミン D 摂取による骨密度の有意な差は認められなかった (図 7)。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った。

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 骨密度と転倒との関連

骨密度と転倒との関連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) に横断的、縦断的に検討した。

横断的解析の結果、60 歳未満では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 8 部位中 5 部位において転倒歴あり群では骨密度が低かった。

縦断的解析では男性では、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（表 3-表 7）。

#### D. 考察

骨密度との関連を解析した 28 遺伝子多型の中で新たに 18 種の SNP について骨密度との関連を見いだした。これらのうち 11 種については 2 年間の研究期間中に論文として公表した。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、生活習慣の違いにより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は遺伝と後天的要因との相互作用を考慮した解析を行う必要がある。我々は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。

本研究では検討した運動関連要因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、栄養と骨密度との関係には 16 種の遺伝子多型が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。

すなわち運動や栄養摂取による骨粗鬆症予防効果は個人の持つ遺伝的素因の組み合わせによって異なることが示された。

しかし、運動・栄養の骨粗鬆症予防効果と遺伝子多型は

- (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

により多様な関係を示した。これはこれらの要因が相互に関連しながら骨密度に影響を与え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 130 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、生活習慣の影響を受ける年齢によってこれらの関係が異なることを示唆している。このように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が確認されたがそのためにはさらに膨大な解析が必要となると考えられた。

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。このことから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いものとして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。今回の研究から、個人がもつ遺伝子多型の組み合わせによって運動・栄養の骨量減少予防効果の大きさは異なると考えられる。また、集団における平均運動量あるいは栄養摂取量が異なるコホートを比較した場合、遺伝子多型と骨密度との関係が見かけ上異なってくる可能性がある。あるいはこのことが従来報告で骨密度と遺伝子多型との関係が必ずしも一致しない原因の一つではないだろうか。

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。

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る。

また、骨粗鬆症のリスクの高い高齢女性において骨密度が易転倒性の独立した危険因子であることが明らかになった。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

地域在住の中老年男女約 2300 人を対象として骨密度と遺運動・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多型に着目して検討した。2 年間の研究成果として新たに骨粗鬆症関連候補遺伝子多型 28 種を測定し既存の SNP データベース(約 100 種)とあわせ、骨密度との関連解析を行い 18 種の SNP について骨密度との関連を見いだした。また運動・栄養と骨密度との関連に遺伝子多型が及ぼす影響を 33 種の遺伝子多型につ

いて検討した。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、栄養と骨密度との関係には16種の遺伝子多型が影響を及ぼしていた。遺伝子多型によっては、運動・栄養の影響により骨密度が50%異なると推定されるものもあり、遺伝子多型を考慮した上で運動・栄養を改善することによって従来考えられていた以上の骨粗鬆症予防効果を上げられる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) 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) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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
- 16) 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.
- 17) Koda M, Ando F, Niino N, Shimokata H, Miyashita K, Funakoshi A: Association of Colecystokinin 1 Receptor and  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor Polymorphisms with Midlife Weight Gain. *Obec Res* 8(12):1212-1216, 2004.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) Shimokata H, Ando F, Niino N, Miyasaka K, Funakoshi A: Cholecystokinin A receptor gene promoter polymorphism and intellig
- ence. *Ann Epidemiol* 15(3); 196-201, 2005.
- 22) Shimokata H, Ando F, Fukukawa Y: Interactions between health and psychological changes in Japanese - the NLS-LSA. *Geriatrics and Gerontology International* 2004(4): S289-291.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) 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
- 26) 新野直明: 転倒リスクの多因子評価、*Geriatr. Med.*、2005、43、61-65.
- 27) 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
- 28) 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.
- 29) 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.

30) 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.

31) 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.

32) 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.

33) 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.

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

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

36) 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.

37) 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.

38) 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.

39) 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.

40) 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)

41) Yamada Y, Ando F, Shimokata H: Association of polymorphisms in CYP17, MTP, and VLDLR with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. *Genomics*. (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

道用亘

今井具子

北村伊都子

西田裕紀子

(国立長寿医療センター疫学研究部)

表 1.骨密度との関連を検討した遺伝子多型

---

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
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 γ3 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)多型

---



表 2. 運動・栄養と骨密度との関連に及ぼす影響を検討した遺伝子多型

略号	遺伝子多型名と変異
<b>MMP1</b>	<b>Matrixmetalloproteinase-1(1G/2Gat-1607)</b>
MMP3	Stromelysinpromoter(5A/6Aat-1612)
<b>MMP9</b>	<b>Matrixmetalloproteinase-9(C-1562T)</b>
MMP12	Matrixmetalloproteinase-12(A-82G)
ACE	Angiotensinconvertingenzyme(D/I)
<b>ADR</b>	<b>Androgenreceptor(CAGrepeat)</b>
<b>ESR1</b>	<b>EstrogenReceptor <math>\alpha</math> (Pvu II)</b>
<b>ESR2</b>	<b>EstrogenReceptor <math>\alpha</math> (Xba I)</b>
<b>CCR</b>	<b>Chemokinereceptor2(G190A(Val64Ile))</b>
CASR	Calcium-sensingreceptor(Arg990Gly)
<b>COL</b>	<b>Collagentype1(G-1997T)</b>
<b>OST</b>	<b>Osteocalcin(C298T)</b>
<b>OPG1-1</b>	<b>Osteoprotegerin-1(T245G)</b>
<b>OPG1-2</b>	<b>Osteoprotegerin-1(T-223C)</b>
VDR1	VitaminDreceptor(T2C)
VDR2	VitaminDreceptor(A-3731G)
<b>TGF1</b>	<b>Transforminggrowthfactor- <math>\beta</math> 1(T869C)</b>
TGF2	Transforminggrowthfactor- $\beta$ 1 (C-509T)
IL1A	Interleukin-1 $\alpha$ (C-889T)
IL1B	Interleukin-1 $\beta$ (C-511T)
IL4R	Interleukin-4receptor(G1902A(Q576R))
<b>IL6</b>	<b>Interleukin-6(C-634G)</b>
IL10	Interleukin-10(A-592C)
WNR	Wernerhelicase(c.4330TC(1367Cys/Arg))
<b>KLOT</b>	<b>Klotho(G-395A)</b>
<b>PON1</b>	<b>Paraoxonase-1(Gln192Arg)</b>
<b>PON2</b>	<b>Paraoxonase-1(Met55Leu)</b>
LEP	Leptin(A19G)
LEPR	Leptinreceptor(Gln223Arg)
VEGF1	Vascularendothelialgrowthfactor(C936T)
VEGF3	VascularendothelialGrowthfactor(C-2578A)
VEGF4	VascularendothelialGrowthfactor(G-1154A)
<b>DRD4</b>	<b>DopamineD4Receptor(C-521T)</b>

(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)

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)

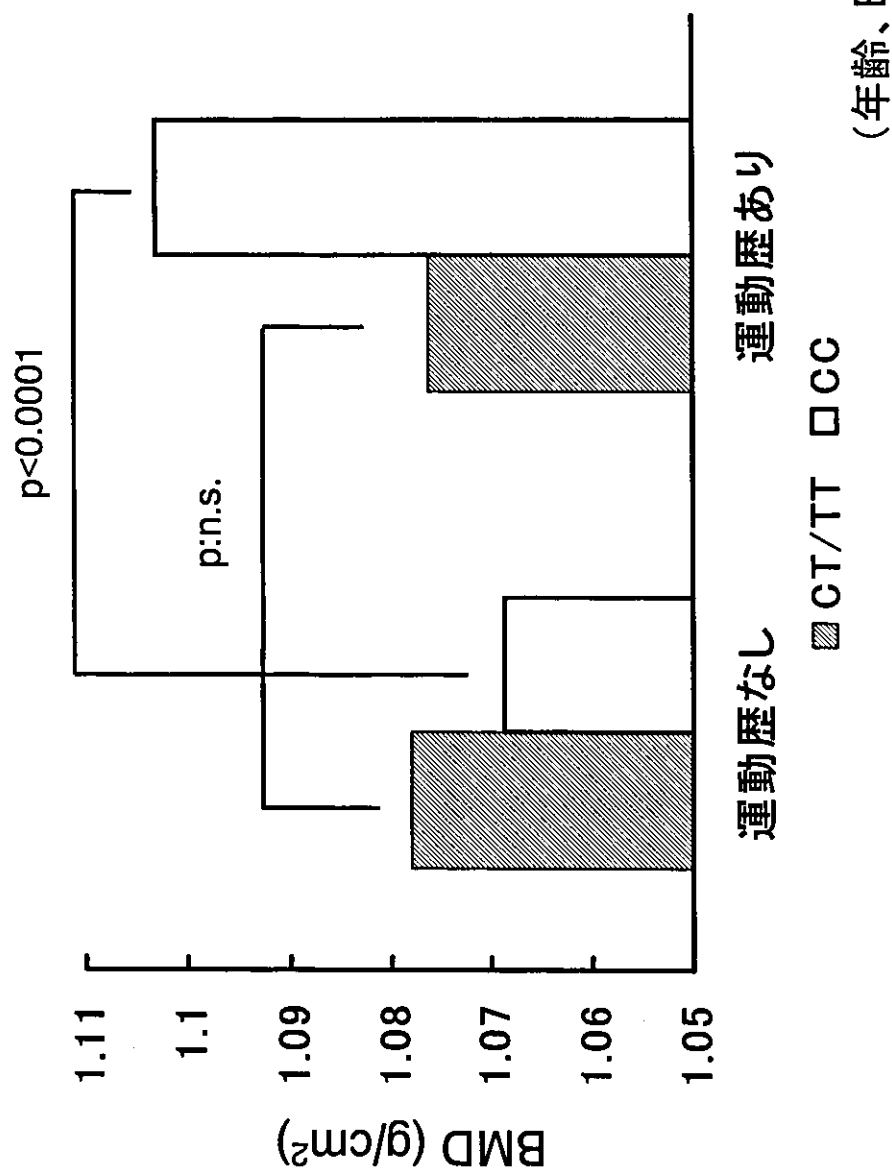
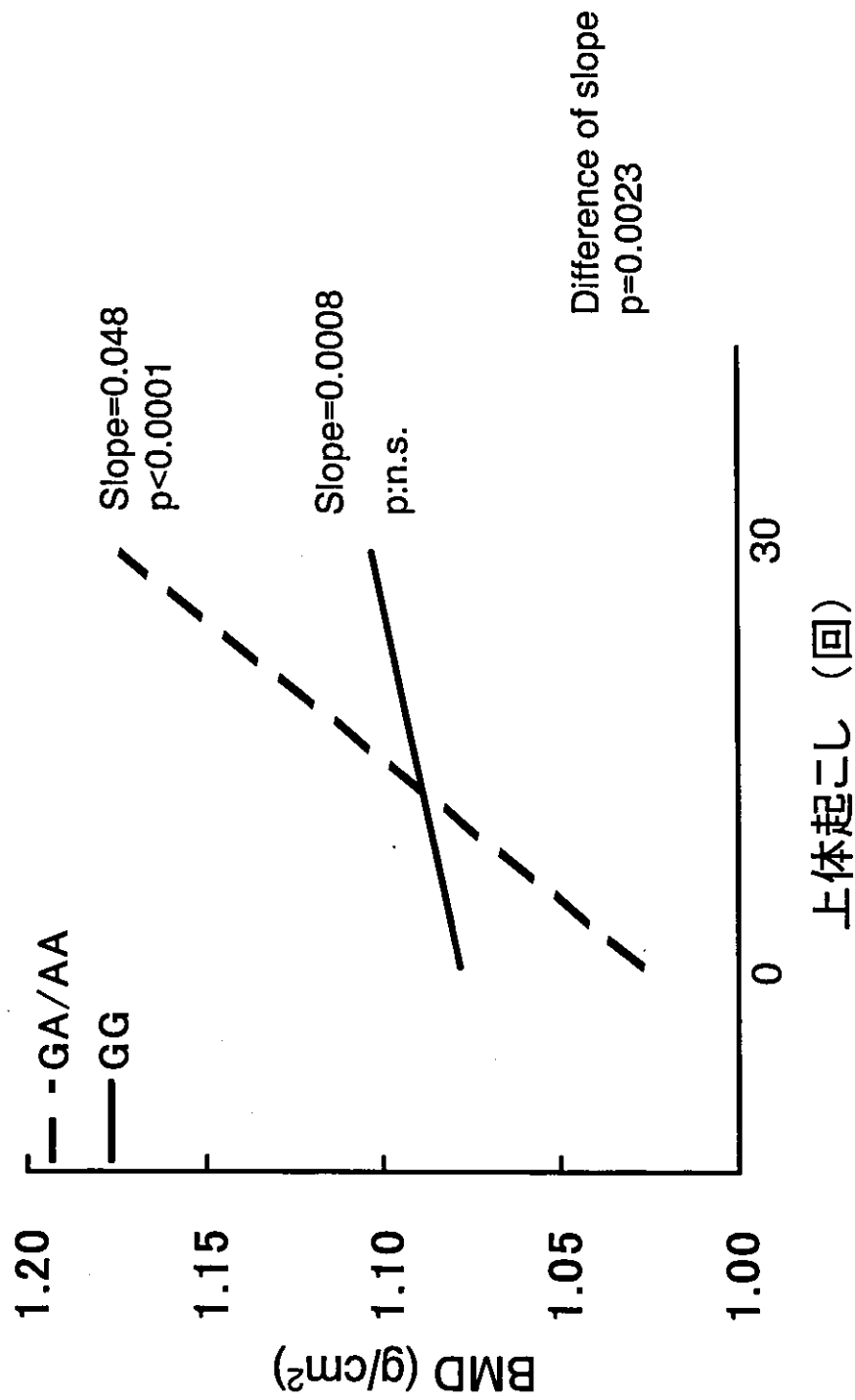


図2. Klotho (G-395A) 遺伝子多型別の  
 上体起こしと全身骨骨密度との関連 (男性)



(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)

