

表 3. 運動関連要因と骨密度との関係に遺伝子多型の関連の認められた項目 (未閉経女性)

未閉経女性		Alpha Adducin	Apoprotein A1	Muscarinic cholinergic 2 receptor	Catechol-o-methyltransferase	Dihydrolipoamide succinyltransferase	Forkhead box C2	Leptin receptor	Stromelysin promoter	Matrix metalloproteinase-9	Mitochondria C8794T	MT15524	Serotonin receptor 2A	TOM40 polymorphism SNP988 T5328C
		G460W	75A	A1880T	Met	T19183C	C-512T	Gln223Arg	T612	C-1562T	His90Tyr	A/G	T102C	
握力	B_L24		*						**	*				
	B_RFN	*	*	*					**	**			*	
	B_Rtro	*	*	**					*	**	*		*	
	B_Rward		**	**					*	*	*			
	B_TOT		*						*	*				
	D100	*							*				**	
脚筋力	B_L24				*									
	B_RFN				*							**		
	B_Rtro											**		
	B_Rward											**		
	B_TOT											*		
	D100													
上体起こし	B_L24							**						*
	B_RFN													
	B_Rtro							*						
	B_Rward													
	B_TOT							**						
	D100												*	
歩歩の歩幅	B_L24											*	*	**
	B_RFN						*						*	**
	B_Rtro												*	*
	B_Rward												*	*
	B_TOT			**					*				*	**
	D100													
青年期の運動経験	B_L24							*				**	*	
	B_RFN											*	*	
	B_Rtro							*				*	*	
	B_Rward											*	*	
	B_TOT											*	*	
	D100											*	*	
余暇活動時間	B_L24						*					*	*	
	B_RFN					**						*	*	
	B_Rtro					*						*	*	
	B_Rward					*						*	*	
	B_TOT						**					*	*	
	D100											*	*	
4.5METs以上の労働時間	B_L24													
	B_RFN													
	B_Rtro													
	B_Rward													
	B_TOT													
	D100													
万歩計の総消費量	B_L24					*		*				*	*	
	B_RFN					*						*	*	
	B_Rtro					*						*	*	
	B_Rward					*						*	*	
	B_TOT					**						**	**	
	D100		*		*	*								

\*=0.01-0.05, \*\*=0.0001-0.001, \*\*\*=0.0001未満

- 1.Alpha Adducin
- 2.Apoprotein A1
3. Muscarinic cholinergic 2 receptor
4. Catechol-o-methyltransferase
5. Dihydrolipoamide succinyltransferase
6. Forkhead box C2
7. Leptin receptor
8. Stromelysin promoter
9. Matrix metalloproteinase-9
10. Mitochondria C8794T
11. MT15524
12. Serotonin receptor 2A
13. TOM40 polymorphism SNP988 T5328C

表 4. 運動関連要因と骨密度との関係に遺伝子多型の関連の認められた項目 (閉経女性)

閉経女性		ATP-binding cassette	AF007153	$\beta$ 2 adrenergic receptor	Cholesteryl ester transfer protein	Dopamine D4 receptor	Estrogen receptor $\alpha$	Preproghrelin	Glycoprotein I ba	Glycogen Synthase	5-HT1B	Insulin-like growth factor 2	Interleukin-6	Interleukin-10	Leptin receptor	Melanocortin-4 receptor	Matrix metalloproteinase-12	Methylenetetrahydrofolate Redutase	NADH/NADPH p22phox	Osteoprotegerin	Gamma-subunit of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel	SH2-containing inositol phosphatase 2 Val-9A1a	Superoxide dismutase 2 Val-9A1a	T-cell immune regulator 1	Transforming growth factor $\beta$ 1	Tumor necrosis factor $\alpha$	Vitamin D receptor		
		rs223	unkno	Gln27	Asp44	C-	XX/xx	Leu72	C1018	M418	HTR1	A5002	C-	A-	Gln22	Mo-	a-82G	C677	242C/	T-	SGNN	G-	G-	T29G	G-	T2C			
握力	B_L24						**										*			*									
	B_RFN						*						*				*				*								
	B_Rtro						*						*				*				*								
	B_Rward						*						*				*				*					*			
	B_TOT						*	*					*	*			*				*					*			
	D100						***										*												
脚筋力	B_L24							*				**	*				**	*											
	B_RFN											*	*				**	*											
	B_Rtro											*	*				**	*											
	B_Rward							*				*	**				**	*											
	B_TOT							*				*	**				*	*											
	D100							*				*	*				*	*											
上体起こし	B_L24			**																			*				*	*	
	B_RFN			*																		*					**	*	
	B_Rtro			**																		*					**	*	
	B_Rward			*								*					*					*					**	*	
	B_TOT			*								*					*					*					**	*	
	D100																*					*							
散歩の歩幅	B_L24			*			**	**															*						
	B_RFN				**	**	**								*							*							
	B_Rtro				**	**	**								*							*							
	B_Rward				**	**	**								*							*							**
	B_TOT				**	**	**								*							*							**
	D100																			**	*	*	*	*	*	*	*	*	*
青年期の運動経験	B_L24						*										*										*	*	
	B_RFN						*										*										*	*	
	B_Rtro						*									**		*									*	*	
	B_Rward						*									**		*									*	*	
	B_TOT						*									**		*									*	*	
	D100																			*	*	*	*	*	*	*	*	*	
余暇活動時間	B_L24						*			**						*										*	*	*	
	B_RFN						*			**						*										*	*	*	
	B_Rtro	*				*	*	*	**						*	*	*					*				*	*	*	
	B_Rward					*	*	*	**						*	*	*					*				*	*	*	
	B_TOT					*	*	*	**						*	*	*					*				*	*	*	
	D100								*							*	*	*				*	*	*	*	*	*	*	
4.5METs以上の労働時間	B_L24			*	*				*	*					*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_RFN	*	*	*	*				*	*					*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_Rtro	**	**	**	**				*	*	**				*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	**	
	B_Rward	*	*	*	*				*	*	*				*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_TOT	**	**	**	**				*	*	**				*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	**	
	D100									*	*					*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	
万歩計の総消費量	B_L24								*	*		**				*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_RFN	*							*	*		**				*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_Rtro	**							*	*	**	**				*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_Rward	*						*	*	*	*	*				*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	B_TOT	*						*	*	*	*	*				*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	
	D100	***							*	*	*	*				*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	

\*=0.01-0.05, \*\*=0.0001-0.001, \*\*\*=0.0001 未満

1. ATP-binding cassette, sub-family A
2. AF007153
3.  $\beta$ 2 adrenergic receptor gene
4. Cholesteryl ester transfer protein A1324G
5. Dopamine D4 receptor
6. Estrogen receptor  $\alpha$
7. Preproghrelin
8. Glycoprotein I ba
9. Glycogen Synthase
10. 5-HT1B
11. Insulin-like growth factor 2 receptor
12. Interleukin-6
13. Interleukin-10
14. Leptin receptor
15. Melanocortin-4 receptor
16. Matrix metalloproteinase-12
17. Methylentetrahydrofolate Redutase
18. NADH/NADPH p22phox
19. Osteoprotegerin
20. Gamma-subunit of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel
21. SH2-containing inositol phosphatase
22. Superoxide dismutase 2 Val-9A1a
23. T-cell immune regulator 1
24. Transforming growth factor  $\beta$  1
25. Tumor necrosis factor  $\alpha$
26. Vitamin D receptor

Alpha Adducin 遺伝子多型別の握力と骨密度との関係(男性)

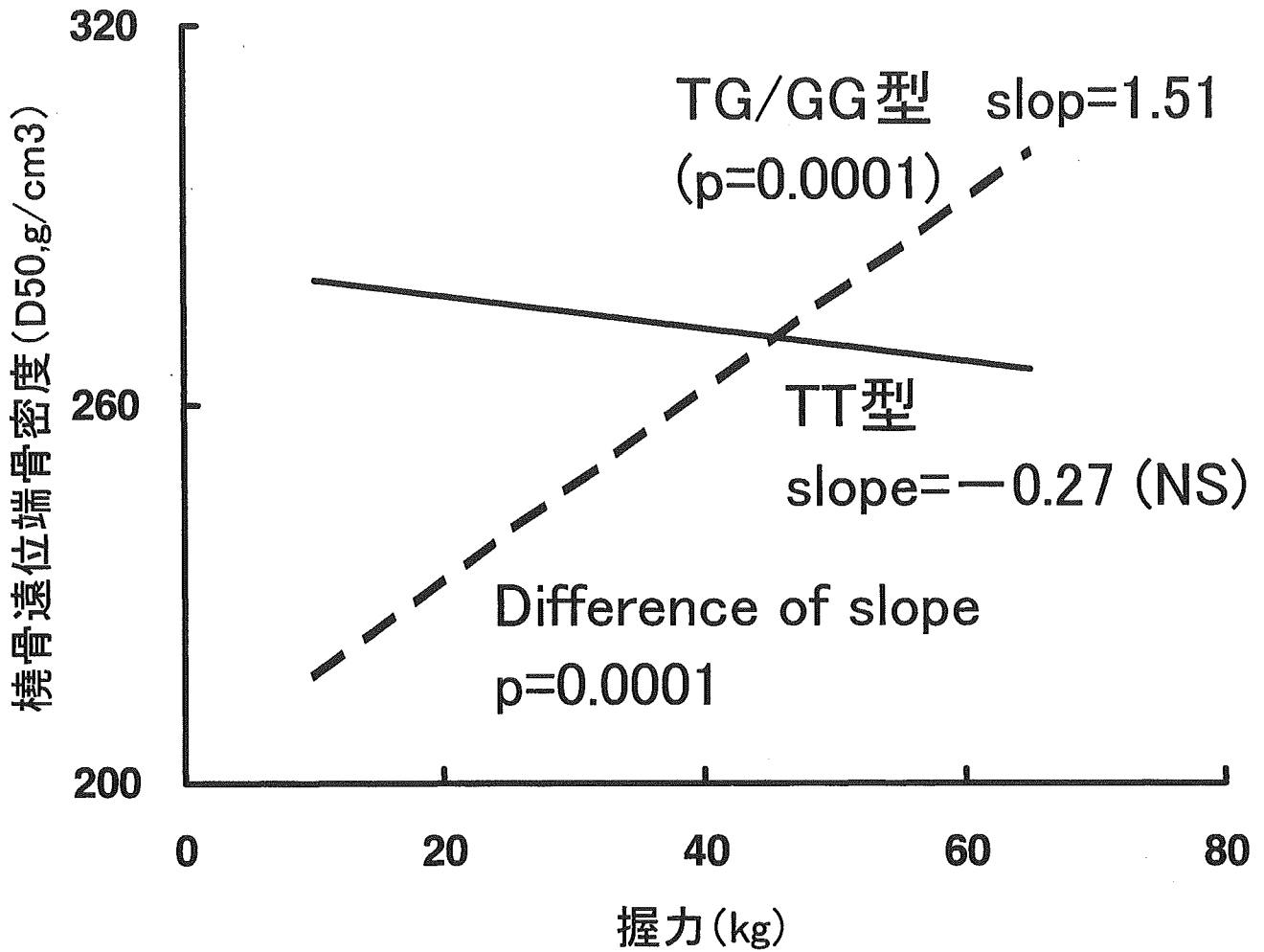


図 1. 握力と骨密度との関連と Alpha adducin 遺伝子多型(男性)

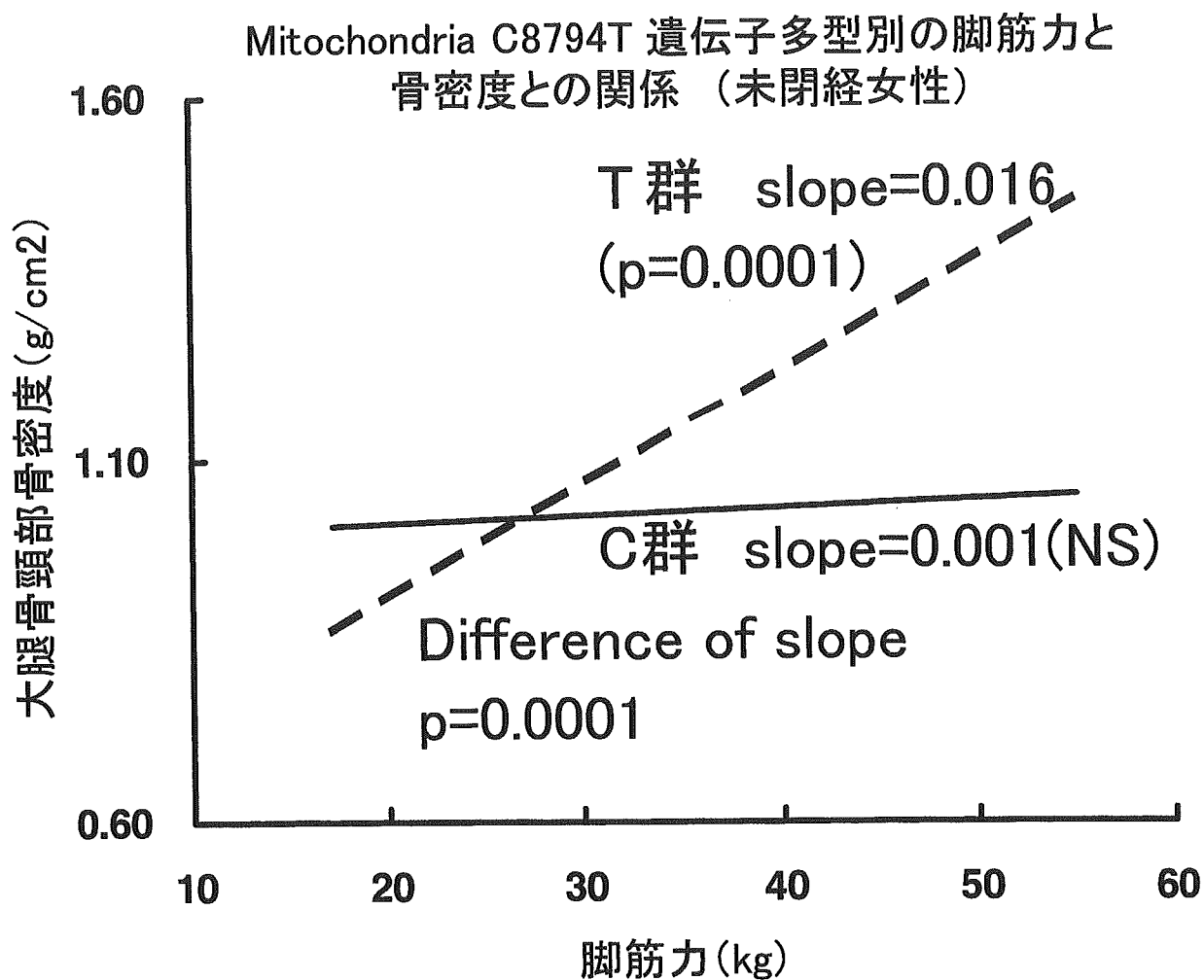


図 2. 脚筋力と骨密度との関連と Mitochondria C8794T 遺伝子多型 (未閉経女性)

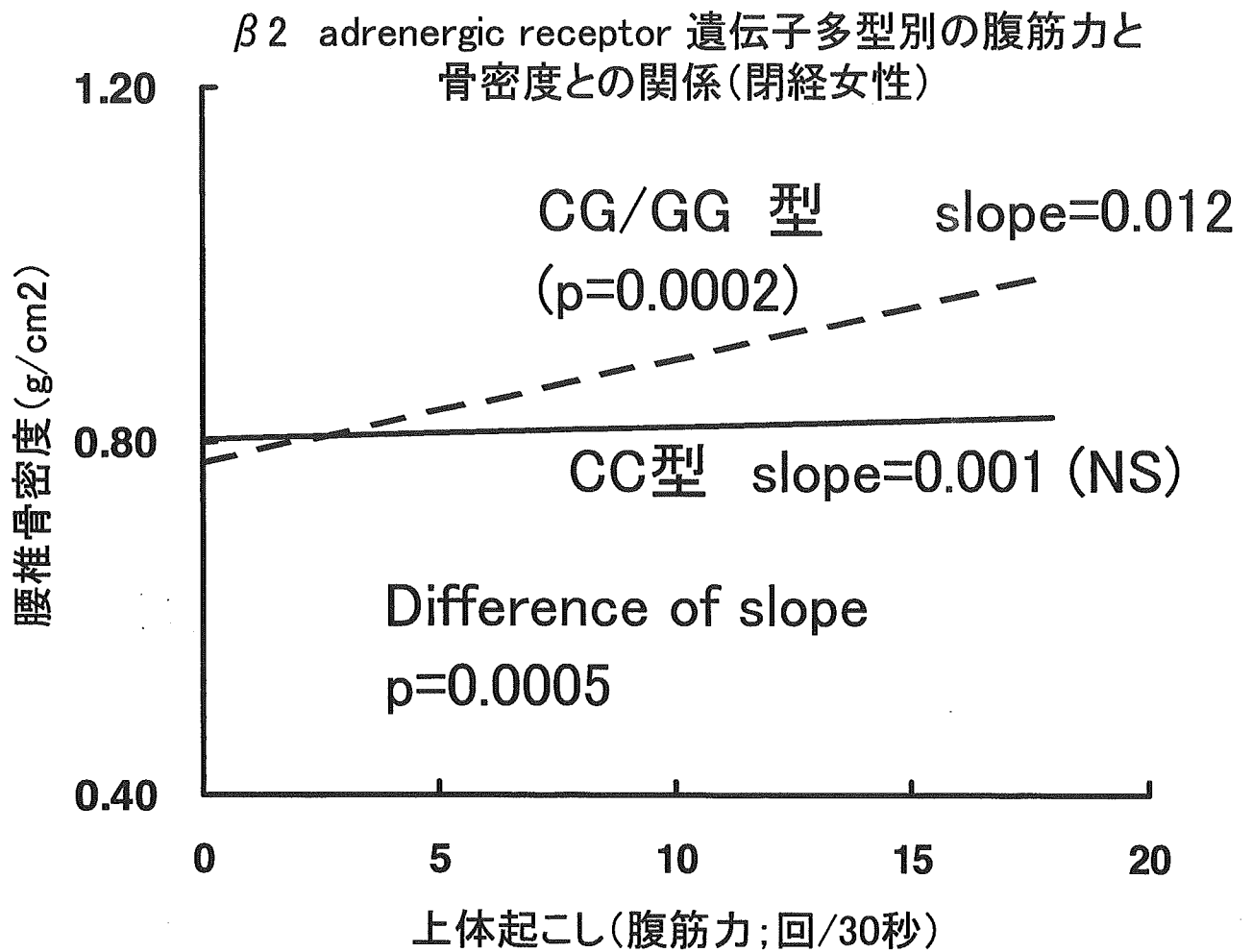


図 3. 上体起こし(腹筋力)と骨密度との関連と  $\beta 2$  adrenergic receptor 遺伝子多型(閉経女性)

分担研究報告書

形態学的項目と骨密度との関連性に影響を与える遺伝子多型の網羅的検索

分担研究者 大藏 倫博 筑波大学大学院人間総合科学研究科 講師

研究協力者 北村伊都子 国立長寿医療センター疫学研究部リサーチフェロント

研究要旨：本研究では、形態学的項目と骨密度との関連性に影響を与える遺伝子多型の網羅的検索をおこない、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング指標開発の基礎データに供することを目的とした。対象は、「老化に関する長期縦断疫学研究（NILS - LSA）」の第1次調査に参加した40歳から79歳までの男性1139名、閉経女性826名、未閉経女性284名である。体重・BMI・体脂肪量・除骨除脂肪量の4つを形態学的項目と定義した。遺伝子多型は全部で126種類であり、骨密度の測定部位は、DXAによる5部位（全身、腰椎、右大腿骨頸部、右大腿骨大転子、右大腿骨ワード三角）、およびpQCTによる3部位（橈骨遠位端全断面（D100）、橈骨遠位端中央部海面骨（D50）、橈骨骨幹部全断面皮質骨（P100））の合計8部位であった。8部位中3部位以上で、野生（XX）型と変異（XX/XY）型の間で形態学的項目と骨密度の回帰直線の傾きに有意差（ $p < 0.05$ ）が認められた場合を「形態学的項目と骨密度の関連性に有意な影響を与える遺伝子多型」と定義した。【結果】検索対象とした126種類の遺伝子多型のうち、男性で8種類、閉経女性で21種類、未閉経女性で14種類の多型が、形態学的項目と骨密度の関連性に有意な影響を与えることがわかった。異性間で同じ遺伝子多型が抽出されたのは ABCA、ESRA3、S2AR の3種類のみであり、閉経・未閉経間で同じ遺伝子が抽出されたのは AGTR5、MMP3、MMP9、MMP12 の4種類であった。【結論】閉経女性だけでなく、未閉経女性や男性の場合でも、形態学的項目と骨密度の関係に強く影響を与える遺伝子多型が存在することが明らかになった。しかし、異性間および閉経・未閉経間にまたがって骨密度に影響する遺伝子多型は少なかった。

A. 研究目的

骨密度の低下（骨粗鬆症）は高齢者における骨折原因の上位に位置することから、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング（予測）と予防的介入が必要である。骨密度は、性・年齢・食事・運動習慣・服用薬物ほか多くの因子によって影響を受けると

考えられるが、中でも形態学的項目（体重や体脂肪率）と骨密度の関連性、および遺伝子による骨密度への強い影響力が報告されている。本研究では、形態学的項目と骨密度との関連性に影響を与える遺伝子多型の網羅的検索をおこない、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング指標開発の基礎デ

一夕に供することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 対象

対象は、「老化に関する長期縦断疫学研究 (NILS - LSA)」の第 1 次調査に参加した 40 歳から 79 歳までの男性 1139 名、閉経女性 826 名、未閉経女性 284 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住民から年齢、性別に層化し無作為に抽出されて選ばれている。全ての参加者から、事前の説明会において文章による同意を得た。

### 2. 骨密度

骨密度の測定部位は、二重エネルギー X 線吸収法 (DXA, Hologic 社、QDR4500) による 5 部位 (全身、腰椎、右大腿骨頸部、右大腿骨大転子、右大腿骨ワード三角)、および抹消骨定量 CT (pQCT, Scanco 社、Densiscan1000) による 3 部位 (橈骨遠位端全断面 (D100)、橈骨遠位端中央部海面骨 (D50)、橈骨骨幹部全断面皮質骨 (P100)) の合計 8 部位であった。

### 3. 形態学的項目

本研究では、体重、BMI、DXA による体脂肪量と除骨除脂肪量の 4 つを形態学的項目と定義した。

### 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。本研究では、この保存された 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おこなった。現在までにタイピングした 126 種類の遺伝子多型について検討した。

### 5. 統計処理

男性、閉経女性、未閉経女性の 3 群に分けて、一般線形モデル GLM にて、8 部位の骨密度と 4 つの形態学的項目との関係が、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および体重 (体脂肪量と除脂肪量のみ) を共変量として検討した。本研究では、「形態学的項目と骨密度の関連性に有意な影響を与える遺伝子多型」とは、8 部位中 3 部位以上で、野生 (XX) 型と変異 (XY/YY) 型の間で形態学的項目と骨密度の回帰直線の傾きに有意差 ( $p < 0.05$ ) (交互作用) が認められた場合とした。

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研究所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ており、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

検索対象とした 126 種類の遺伝子多型のうち、男性 (表 1) で 8 種類 (ABCA, CAL, ESRA3, GNRH1, S1BR, S2AR, TNF, VEGF1)、未閉経女性 (表 2) で 14 種類 (ABCA, AF7153, AGTR, AGTR5, HTTLPR, MMP3, MMP9, MMP12, Mt8794, OPG1, OST, PAI, PONA2, TPH)、閉経女性 (表 3) で 21 種類 (ADH, ADR, AGTR5, ALDH, APM1, CCK2, ESR1, ESR2, ESRA3, FOXC2, GNB, GP1B, ILLB, MMP3, MMP9, MMP12, Mt6253, NOS3, OPG2, S2AR, VDR2) の多型が、形態学的項目と骨密度の関連性に有意な影響

を与えることがわかった。なお、異性間で同じ遺伝子多型が抽出されたのは ABCA、ESRA3、S2AR の 3 種類のみであり、閉経・未閉経間で同じ遺伝子が抽出されたのは AGTR5、MMP3、MMP9、MMP12 の 4 種類であった (表 4)。

男性においては serotonin receptor 2A (S2AR) の多型が体脂肪量と橈骨遠位端全断面骨密度 (D100) との関連性に強い影響 ( $p < 0.001$ ) を与えた (図 1)。体脂肪量が 30 kg の CC (野生) 型の男性は、CT/TT (変異) 型の男性に比べて、橈骨骨幹部全断面積骨密度が約 0.82 倍 (CC 427 mg/cm<sup>3</sup>、CT/TT 520 mg/cm<sup>3</sup>) であった。未閉経女性に関しても、これまで報告がなされていない PONA2 の多型が体重と右大腿骨頸部骨密度との関連性に特に強い ( $p < 0.001$ ) 影響を与えており、体重が 70 kg と肥満傾向の場合、TT (野生) 型の未閉経女性は、TA/AA (変異) 型の未閉経女性に比べて、右大腿骨頸部骨密度が約 1.18 倍 (TT 0.79 g/cm<sup>2</sup>、TA/AA 0.67 g/cm<sup>2</sup>) であった (図 2)。さらに、閉経女性に関しては、これまでに報告のない forkhead box C2 (FOXC2) の多型が BMI と右大腿骨ワード三角骨密度との関連性に特に強い ( $p < 0.001$ ) 影響を与えていることがわかった。すなわち、BMI が 18 kg/m<sup>2</sup> とやや痩せ気味の場合、CC (野生) 型の閉経女性は、CT/TT (変異) 型の閉経女性に比べて、右大腿骨ワード三角骨密度が約 1.15 倍 (CC 0.48 g/cm<sup>2</sup>、CT/TT 0.42 g/cm<sup>2</sup>) であった (図 3)。

#### D. 考察

遺伝子多型により体重、BMI、体脂肪量、除脂肪量が骨密度に与える影響に違い (交

互作用) がみられたが、性および閉経の有無によっても遺伝子多型の影響の仕方に違いがみられた。むしろ、異性間および閉経・未閉経間にまたがって (共通して) 骨密度に影響する遺伝子多型は少なかったと言える。また、遺伝子多型の種類によって影響を受ける骨密度の部位も異なっており、今後、骨粗鬆症リスク者の早期スクリーニング指標開発のためには、より多くの遺伝子多型についてさらに多角的に検討していく必要性が感じられた。

今回、特に影響力が強かったと思われる遺伝子多型を男性、未閉経女性、閉経女性ごとに 1 種類ずつ抽出した (図 1~3)。中でも閉経女性 (図 3) において forkhead box C2 (FOXC2) の遺伝子多型は BMI と右大腿骨ワード三角骨密度との関連性に強く影響を与えており、BMI が低下するにしたがって、変異 (CT/TT) 型の骨密度が野生 (CC) 型の骨密度より顕著に低下するというものであった。つまり、平均的な体重 (BMI) を維持していれば、変異 (CT/TT) 型を有していても骨密度への悪影響は少ないが、なんらかの原因で体重が減少した場合、骨密度の低下が加速する可能性を示唆している。ただし、今回は横断的な検討しかおこなっておらず、縦断的側面からの詳細な検討が今後の課題である。

#### E. 結論

閉経女性だけでなく、未閉経女性や男性の場合でも、形態学的項目と骨密度の関連性に強く影響を与える遺伝子多型が存在することが明らかになった。しかし、異性間および閉経・未閉経間にまたがって骨密度に影響する遺伝子多型は少なかった。



F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Okura T, Nakata Y, Lee DJ, Ohkawara K, Tanaka K. Effects of aerobic exercise and obesity phenotype on abdominal fat reduction in response to weight loss. *Int J Obes* 29: 1259-1266, 2005.

中田由夫、田中喜代次、大藏倫博、大河原一憲、李東俊. ADRB3 遺伝子多型が減量抵抗性に及ぼす影響: The SMART Study. *肥満研究* 11: 301-305, 2005.

魏丞完, 大藏倫博, 中田由夫, 大河原一憲, 沼尾成晴, 片山靖富, 田中喜代次. 肥満度と介入方法の違いが内臓脂肪型肥満者の減量効果に及ぼす影響. *肥満研究*. 印刷中

Shigematsu R, Okura T, Kumagai S, Hiyama T, Amagai H, Tanaka K. Intra-abdominal fat area for the prevention of metabolic disorders in pre- and post-menopausal obese women before and after weight reduction. *Circulation Journal*. In press

2.学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Nakata Y, Ohkawara K, Numao S, Okura T, Tanaka K. Weight rebound may not affect coronary heart disease risk factors: The Smart Study. The 8th Asian Federation of Sports Medicine Congress, Tokyo, 2005.5.10-13.

Nakata Y, Ohkawara K, Numao S, Okura T, Tanaka K. Effects of rebound after weight loss on coronary heart disease risk factors: The Smart Study. The 52nd annual meeting of American College of Sports Medicine, Nashville, 2005.6.1-4.

大藏倫博. 日本体力医学会モーニングセッション「生活習慣病予防のための至適運動強度 - 肥満者の減量介入研究による知見-」. 日本体力医学会, 岡山, 2005年9月25日.

Okura T. Made-to-order weight-loss prescription for obese men and women -The SMART Study-. 2005 International Academic Symposium. Family Health & Welfare Center Sungshin Women's University, Seoul, Korea June 21, 2005

Okura T. Weight loss program with exercise training and diet for treating obesity. Benefits of Exercise for Obese Patients The 8th Asian Federation Sports Medicine Congress (AFSMC). Tokyo, Japan. May 10-13, 2005.

中田由夫、大河原一憲、沼尾成晴、大藏倫博、田中喜代次. 減量後2年以上経過時における冠リスク保有数の変化: 内臓脂肪蓄積量との関連 - The SMART Study -. 第60回日本体力医学会、岡山、2005.9.23-25.

大藏倫博、中田由夫、大河原一憲、沼尾成晴、片山靖富、松尾知明、田中喜代次. 有酸素性運動と食事制限による体重減量が中年肥満男性の血清ホモシステイン濃度に与える影響. 第60回日本体力医学会、岡山、2005.9.23-25.

中田由夫、大河原一憲、大藏倫博、田中

喜代次. 減量介入による体重減少量と  
その後の体重リバウンド量との関係:  
The SMART Study. 第 26 回日本肥満学  
会、北海道、2005.10.13-14.

大藏倫博、中田由夫、大河原一憲、沼尾  
成晴、片山靖富、松尾知明、田中喜  
代次. 減量中の有酸素性運動が肥満男  
性の血清ホモステイン濃度に与える  
影響－The SMART Study－. 第 26 回日  
本肥満学会、北海道、2005.10.13-14.

大河原一憲、田中喜代次、中田由夫、片  
山靖富、中塘二三生、大藏倫博. 3 ヶ  
月間の減量介入による体幹・四肢別の体  
組成変化について. 第 12 回ボディ・コ  
ンポジションと代謝研究会、東京、  
2006.1.28.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

##### 1.特許取得

なし

##### 2.実用新案登録

なし

##### 3.その他

なし

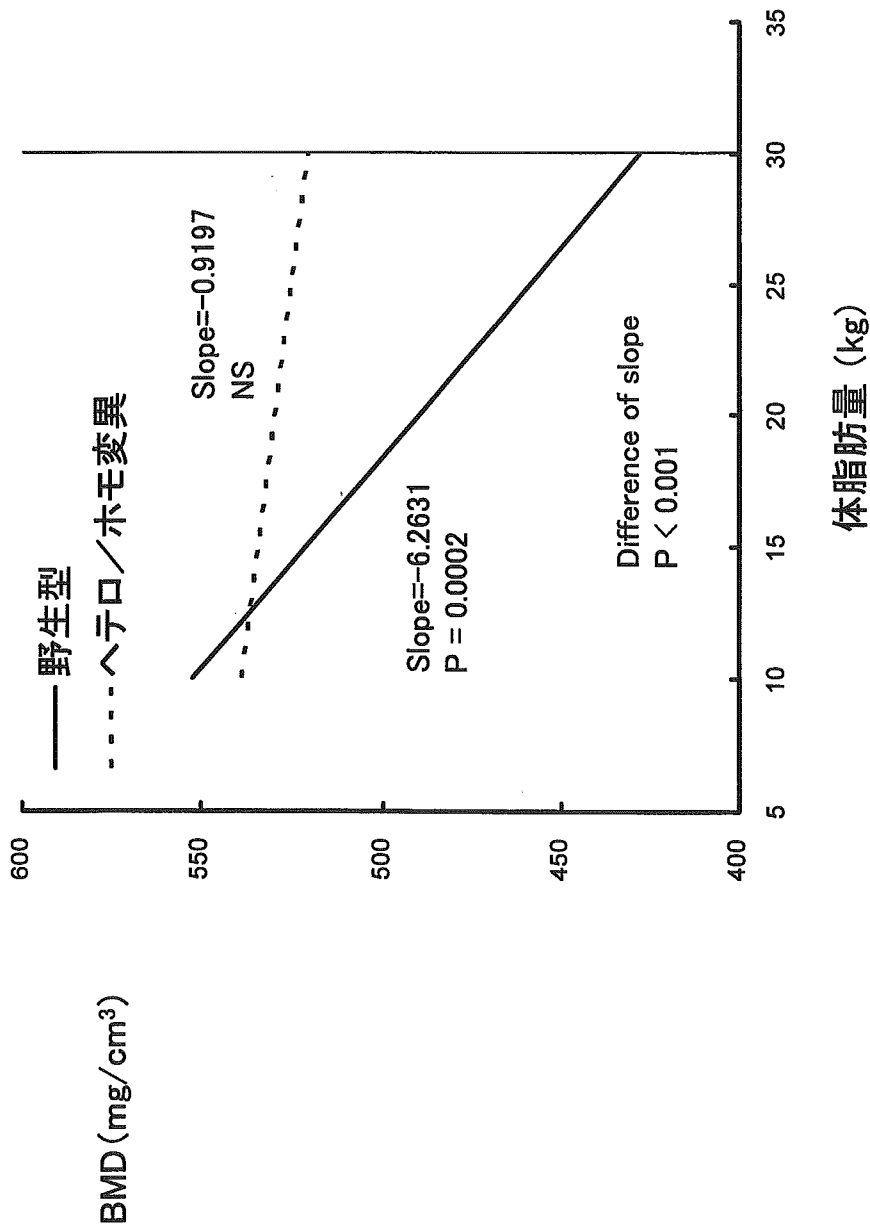


図1. Serotonin receptor 2A (S2AR) 多型(CC vs. CT/TT)が男性の体脂肪量と橈骨遠位端全断面骨密(D100)との関連性を与える影響  
 数値は年齢と体重で調整後の値を採用。体脂肪量が30 kgのCC(野生)型の男性は、CT/TT(変異)型の男性に比べて、橈骨骨幹部全断面積骨密度が約0.82倍(CC 427 mg/cm<sup>3</sup>、CT/TT 520 mg/cm<sup>3</sup>)となる。

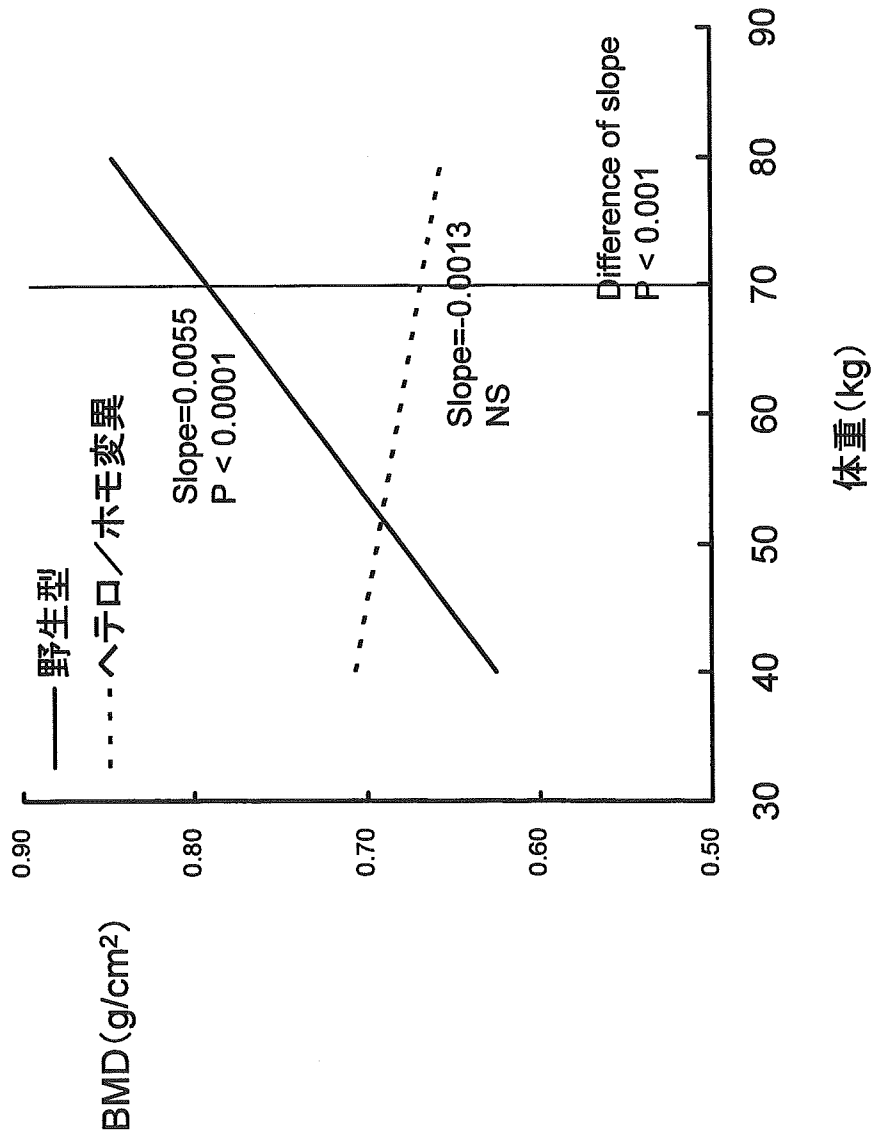


図2. Paraoxonase-1 (PONA2) 多型 (TT vs. TA/AA) が未閉経女性の体重と右大腿骨頸部骨密度との関連性を与える影響  
 数値は年齢で調整した値を採用。体重が70 kgと肥満傾向の場合、TT (野生) 型の未閉経女性は、TA/AA (変異) 型の未閉経女性に比べて、右大腿骨頸部骨密度が約1.18倍 (TT 0.79 g/cm²、TA/AA 0.67 g/cm²) となる。

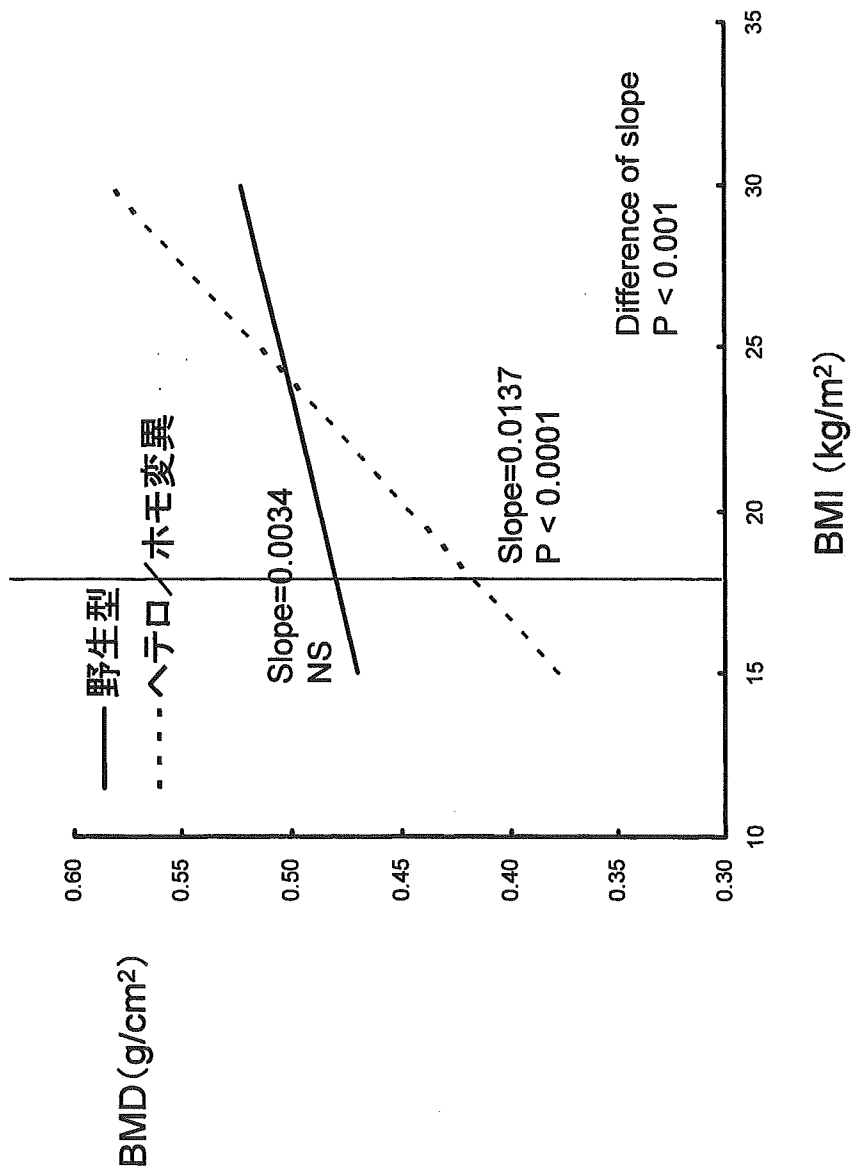


図3. Forkhead box C2 (FOXC2) 多型(CC vs. CT/TT)が閉経女性のBMIと右大腿骨ワード三角骨密度との関連性に与える影響  
 数値は年齢で調整した値を採用。BMIが18 kg/m<sup>2</sup>とやや痩せ気味の場合、CC (野生) 型の閉経女性は、CT/TT (変異) 型の閉経女性に比べて、右大腿骨ワード三角骨密度が約1.15倍 (CC 0.48 g/cm<sup>2</sup>、CT/TT 0.42 g/cm<sup>2</sup>)

表1. 骨密度と形態学的項目の関連性に与える遺伝子多型の影響 (男性)

	abca	adh	adr	af7153	agr	agrs5	aldh	apml	cal	ckk2	esr1	esr2	esra3	foxo2	gnb	gnh1	gpi1ba	hnt1pr	il1b	mmp3	mmp9	mmp12	mt6253	mt8794	nos3	opg1	opg2	ost	pai	pona2	s1br	s2ar	tnf	tph	vd2	vegfl						
筋量	B_L24																																									
	B_RFN					*																																				
	B_Rtro																																									
	B_Rwar				*																	*																				
	B_TOT																																									
	D100				*																																					
	D50															**				*																						
P100																																										
体脂肪量	B_L24																																									
	B_RFN						*																																			
	B_Rtro						*											*																								
	B_Rwar																																									
	B_TOT							**					*																													
	D100										*																															
	D50										*																															
P100																																										
BMI	B_L24																																									
	B_RFN																*																									
	B_Rtro																																									
	B_Rwar																																									
	B_TOT																																									
	D100																																									
	D50																																									
P100																																										
体重	B_L24																																									
	B_RFN						*																																			
	B_Rtro						*																																			
	B_Rwar																																									
	B_TOT																																									
	D100								*																																	
	D50								*																																	
P100																																										

筋量および体脂肪量は年齢と体重で調整した。BMIおよび体重は年齢で調整した。\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001  
 B\_L24 腰椎骨密度、B\_RFN 右大腿骨頸部骨密度、B\_Rtro 右大腿骨大転子骨密度、B\_Rward 右大腿骨ワード三角骨密度、B\_TOT 全身骨密度、D100 橈骨遠位端全断面の骨密度、D50 橈骨遠位端中央部海面骨密度、P100 橈骨骨幹部全断面皮質骨密度

8部位中3部位以上で有意な関連性を認めた遺伝子

表2. 骨密度と形態学的項目の関連性に与える遺伝子多型の影響 (未閉経女性)

	abca	adh	adr	az7153	agr	agr5	aldh	apml	cal	ckk2	esr1	esr2	esra3	foxc2	gmb	gnrh1	gp1ba	hthpr	il1b	mmp3	mmp9	mmp12	mt6253	mt8794	nos3	opg1	opg2	ost	pai	pona2	s1br	s2ar	tnf	tph	vdr2	wegfi			
筋量	B_L24	**							**															*															
	B_RFN	*																						*															
	B_Rtro	*																						*															
	B_Rwar	*																						*															
	B_TOT	**							*															*															
	D100	*																						*															
D50																																							
P100		*																																					
体脂肪量	B_L24																																						
	B_RFN																																						
	B_Rtro																																						
	B_Rwar																																						
	B_TOT	*																						*															
	D100																							*															
D50																																							
P100																																							
BMI	B_L24																																						
	B_RFN																																						
	B_Rtro	*																																					
	B_Rwar	*																																					
	B_TOT	*																																					
	D100																																						
D50																																							
P100																																							
体重	B_L24	*																																					
	B_RFN	*																																					
	B_Rtro	**																																					
	B_Rwar	*																																					
	B_TOT	*																																					
	D100																																						
D50																																							
P100																																							

筋量および体脂肪量は年齢と体重で調整した。BMIおよび体重は年齢で調整した。\* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001

B\_L24 腰椎骨密度、B\_RFN 右大腿骨頸部骨密度、B\_Rtro 右大腿骨大転子骨密度、B\_Rward 右大腿骨ワード三角骨密度、B\_TOT 全身骨密度、D100 橈骨遠位端全断面の骨密度、D50 橈骨遠位端中央部海面骨密度、P100 橈骨骨幹部全断面皮質骨骨密度

8部位中3部位以上で有意な関連性を認めた遺伝子

表 3. 骨密度と形態学的項目の関連性に与える遺伝子多型の影響 (閉経女性)

		abca	adh	adr	af7153	agr	agr5	alch	apm1	cal	col2	esr1	esr2	esr3	foxc2	gnb	gnh1	gp1a	htlpr	itlb	immp3	mmp9	mmp12	mt6253	mt8794	nos3	opgl	opg2	ost	pai	pona2	s1br	s2ar	tnf	tpn	vd2	vegfl					
筋量	B_L24																																									
	B_RFN																																									
	B_Rtro					*		*																										*								
	B_Rward					*		*																				*				*										
	B_TOT					**		**																				*				*								*		
体脂肪量	D100																																									
	D50																																									
	P100																						*																			
	B_L24		**																																							
	B_RFN		**																																							
BMI	B_Rtro						*								**																											
	B_Rward					*		*							*																		**									
	B_TOT					*		*							*												*				*	**										
	D100																																									
	D50		*					**																																		
体重	P100										*											*																				
	B_L24																																									
	B_RFN																									*																
	B_Rtro																																									
	B_Rward																											*				*										
B_TOT																					*																		*			
D100																										*																
D50																																										
P100																																										

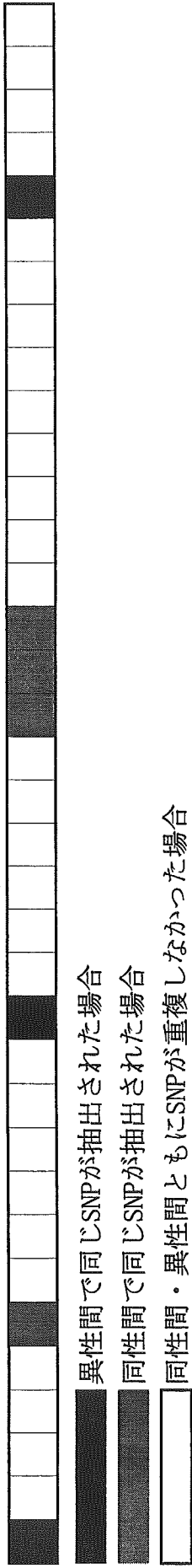
筋量および体脂肪量は年齢と体重で調整した。BMIおよび体重は年齢で調整した。\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$   
B\_L24 腰椎骨密度、B\_RFN 右大腿骨頸部骨密度、B\_Rtro 右大腿骨大転子骨密度、B\_Rward 右大腿骨ワーード三角骨密度、B\_TOT 全身骨密度、D100 橈骨遠位端全断面の骨密度、D50 橈骨遠位端中央部海面骨密度、P100 橈骨骨幹部全断面皮質骨骨密度

8部位中3部位以上で有意な関連性を認めた遺伝子



表 4. 骨密度と形態学的項目の関連性に与える遺伝子多型の影響に関する総括表 (男性、未閉経女性、閉経女性)

	abca	adh	adr	atf7l53	agr	agr5	aldh	apm1	cal	cck2	esr1	esr2	esra3	foxc2	gnb	gmhl	gp1ba	hdpr	il1b	mmp3	mmp9	mmp1	nm625	nm879	nos3	opg1	opg2	ost	pai	pona2	s1br	s2ar	tnf	tph	vdr2	vegfl			
男性	筋肉量																																						
	体脂肪量																																						
	BMI																																						
	体重																																						
閉経女性	筋肉量																																						
	体脂肪量																																						
	BMI																																						
	体重																																						
未閉経女性	筋肉量																																						
	体脂肪量																																						
	BMI																																						
	体重																																						



食習慣・嗜好とSNP、骨密度に関する研究

栄養と骨密度との関連に及ぼす遺伝子多型の影響：横断的検討

分担研究者 中村美詠子 国立長寿医療センター研究所疫学研究部栄養疫学研究室長  
研究協力者 今井具子 国立長寿医療センター研究所疫学研究部流動研究員

研究要旨

栄養素摂取量と骨密度との関連に及ぼす遺伝子多型の影響を明らかにすることを目的として、NLS-LSAの第1次調査データを用いて検討を行った。14項目の骨密度関連候補栄養素と126の遺伝子多型が、二重X線吸収装置および末梢骨骨定量CTにより測定した8部位の骨密度に及ぼす影響を一般線形モデルにより検討したところ、男性では49種、閉経女性では48種、未閉経女性では44種の遺伝子多型が、骨密度8部位のうち3部位以上で統計的有意性 ( $p < 0.05$ ) な交互作用を示した。特に骨粗鬆症との関連が注目されるInterleukin-6(C-634G)遺伝子多型は、閉経女性におけるカルシウム摂取量と骨密度との関連に影響を及ぼしており、野生型(CC)ではカルシウム摂取量が400mgと低い時の腰椎骨密度は810 mg/cm<sup>2</sup>、800mgと高い時の腰椎骨密度は847 mg/cm<sup>2</sup> (年齢60歳、BMI22kg/m<sup>2</sup>、エネルギー摂取量2000kcalで調整)であった。今後さらに検討をすすめ、骨粗鬆症リスク診断に有用な栄養素と関連する遺伝子多型を絞り込む予定である。

A. 研究目的

骨密度や骨代謝には遺伝、ホルモン、運動、食事等の様々な要因とこれらの要因間の相互作用が複雑に関連している。骨粗鬆症に対する予防的介入を意図した場合、運動や食事と骨密度との関連や、遺伝的要因との相互作用を明らかにしていくことは非常に重要である。

栄養と骨密度に関する研究は、主にカルシウムとビタミンDとの関連を中心にすすめられてきたが、他の栄養素との関連に関する研究は非常に少ない。また、骨密度や骨代謝との関連性が確立されて

いるカルシウム、ビタミンDについても、遺伝的要因との相互作用を考慮して骨密度との関連性を検討した研究知見は非常に少なく、個人個人の素因を考慮した予防対策をすすめる上で十分な知見が得られているとはいえない。

本研究は、低骨密度を予測するリスク診断を行い、高リスクの者に適切な介入を行う際に重要となる、栄養・食事要因について、遺伝子多型の影響を考慮して骨密度との関連性を検討し、栄養素摂取量と骨密度との関連に及ぼす遺伝子多型の影響を明らかにすることを目的とする。

## B. 研究方法

### 1. 対象

本研究は、国立長寿医療センター・老化に関する長期縦断疫学研究（NILS-LSA）の第1次調査データを用いて実施した。対象者は自治体の協力のもとに年齢別に層化無作為抽出された愛知県大府市及び知多郡東浦町在住の40～79歳の日本人である。

### 2. 栄養素摂取量

栄養素摂取量は写真法を併用した3日間食事秤量記録法により求めた1日の平均摂取量とした。栄養摂取量の算出には、四訂日本食品標準成分表および四訂日本食品標準成分表のフォローアップに関する調査報告（科学技術庁資源調査会編）を用いた。

今回検討した栄養素は4種のミネラル（カルシウム、リン、カリウム、マグネシウム）、9種のビタミン（カロテン、ビタミンB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>、C、D、E、K）と総食物繊維の計14項目の骨密度関連候補栄養素である。また、エネルギー摂取量は調整変数として用いた。

### 3. 骨密度

骨密度は二重X線吸収装置（DXA：Hologic社 QDR4500）によって測定された全身骨密度（B\_TOT）、腰椎(L24)骨密度（B\_L24）、右大腿骨頸部骨密度（B\_RFN）、右大腿骨大転子（B\_Rtro）、右大腿骨ワード三角骨密度（B\_Rward）、と、末梢骨骨定量CT（pQCT：Scanco社 Densiscan1000）によって測定された橈骨遠位端全断面骨密度（D100）、

橈骨遠位端中央部海面骨骨密度（D50）、橈骨骨幹部全断面皮質骨骨密度

（P100）の合計8部位について検討した。

### 4. 遺伝子多型

EDTA採血血漿から分離した凍結保存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（東洋紡ジーンアナリシス）を用いてタイピングを行った。本研究では現在までにNILS-LSAにてタイピングが終了した126の遺伝子多型について検討した。

### 5. 分析方法

対象を男性、未閉経女性、閉経女性の3群に分けて分析した。一般線形モデル（GLM）により、年齢、BMI、エネルギー摂取量を調整して、栄養素と遺伝子多型（野生型、ヘテロ+ホモ変異型）が骨密度に及ぼす影響、および栄養素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。解析にはSAS ver8.2を用いた。

（倫理面への配慮）

NILS-LSAは「疫学研究の倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づいて計画され、国立長寿医療センター倫理審査委員会の審査、承認を経て実施した。

対象者には約半日かけて遺伝子検査を含む調査に関する説明会を実施し、十分な説明の後に文書によるインフォームドコンセントが得られた者のみを調査対象とした。

### C. 研究結果

一般線形モデルによる分析結果のうち、栄養素と遺伝子多型の交互作用に関する結果を表1（男性）、表2（閉経女性）、表3（未閉経女性）に示した。表1～3に示したように、非常に多くの栄養素が多くの遺伝子多型と有意な交互作用を示していた。

検討した骨密度8部位のうち、3部位以上で統計的有意性（ $p < 0.05$ ）が得られた時に「影響あり」と判定した場合、検討した126種の遺伝子多型のうち、男性では49種、閉経女性では48種、未閉経女性では44種の遺伝子多型が骨密度と栄養素との関連に影響を及ぼしていた。

検討した骨密度8部位のうち、5部位以上で統計的有意性（ $p < 0.05$ ）が得られた時に「影響あり」と判定した場合、男性ではANP2（Atrial natriuretic peptide (NPPA)(C-664G)）とビタミンB<sub>1</sub>、DLST2（Dihydrolipoamide succinyltransferase (T19183C)）とビタミンB<sub>12</sub>、LEP（Leptin(A19G)）とビタミンB<sub>1</sub>、LEPR（Leptin receptor(Gln223Arg)）とリン、MMP3（Stromelysin promoter (5A/6A at -1612)）とカロテン、Mt15497（G/A）とビタミンB<sub>12</sub>、OPG1（Osteoprotegerin(T245G)）とビタミンB<sub>1</sub>、VEGF4（Vascular endothelial Growth factor(G-1154A)）とビタミンB<sub>12</sub>、SOD2（Superoxide dismutase 2 Val-9Ala）と総食物繊維、TNF（Tumor necrosis factor  $\alpha$  (C-863A)）とビタミンEの交互作用が骨密度に影響を及ぼしていた。

閉経女性で骨密度に影響を及ぼしていたのは、ACE（Angiotensin converting

enzyme(D/I)）とカロテン、ビタミンC、APM3（Adiponectin(C-11377G)）とビタミンE、CETP（Cholesteryl ester transfer protein A1324G(Asp442Gly)）とカリウム、カルシウム、ビタミンB<sub>2</sub>、ビタミンE、マグネシウム、リン、DLST2（Dihydrolipoamide succinyltransferase (T19183C)）とカロテン、DRD4

（Dopamine D4 Receptor(C-521T)）とビタミンB<sub>1</sub>、IL6（Interleukin-6(C-634G)）とカルシウム、MMP3とビタミンK、SRD5A（Steroid 5  $\alpha$ -reductase type II (V89L)）とカロテン、TNFとカロテン、TCIRG1（T-cell immune regulator 1(G-1102A)）とカリウム、ビタミンC、ビタミンE、マグネシウム、総食物繊維であった。

また閉経女性で影響を及ぼしていたのは、APOA1（apoprotein A1(APOA1)(G-75A)）とカロテン、APOE4（Apoprotein E(E2/E/E4)）とビタミンB<sub>2</sub>、CD14

（Lipopolysaccharide receptor CD14(C-260T)）とビタミンB<sub>2</sub>、AF7153

（AF007153(unknown cDNA:rs1595066)）とビタミンE、マグネシウム、PAI1（Plasminogen activator inhibitor 1 (4G/5G)）とビタミンK、RIL（Reversion-induced LIM(T-333C)）とカリウム、ビタミンB<sub>2</sub>、マグネシウム、SOD2（Superoxide dismutase 2 (Val-9Ala)）とビタミンB<sub>12</sub>であった。

特に骨粗鬆症との関連が注目される Interleukin-6(C-634G)遺伝子多型は、閉経女性におけるカルシウム摂取量と骨密度との関連に影響を及ぼしていた。即ち野生型(CC)ではカルシウム摂取量が