

## Association of genetic variants of *MAOA* and *SH2B1* with bone mineral density in community-dwelling Japanese women

YOSHII YAMADA<sup>1</sup>, FUJIKO ANDO<sup>2</sup> and HIROSHI SHIMOKATA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Human Functional Genomics, Life Science Research Center, Mie University, Tsu, Mie;

<sup>2</sup>Department of Epidemiology, National Institute for Longevity Sciences, Obu, Aichi, Japan

Received November 23, 2007; Accepted December 27, 2007

**Abstract.** Although bone mineral density (BMD) is a complex trait that is influenced by both genetic and environmental factors, heritability studies in twins and families have shown that genetic factors account for 60-85% of its variance. We examined the relation of the variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism of the monoamine oxidase A gene (*MAOA*) and the A-G (Thr484Ala) polymorphism of the SH2B adaptor protein 1 gene (*SH2B1*) to BMD in community-dwelling Japanese women and men. The 2235 subjects (1107 women, 1128 men) were aged 40-79 years and were randomly recruited for a population-based prospective cohort study of aging and age-related diseases in Japan. BMD at the distal and proximal radius was measured by peripheral quantitative computed tomography, and the BMD of the total body, lumbar spine (L2-L4), right femoral neck and right trochanter was measured by dual-energy X-ray absorptiometry. The genotypes of the VNTR polymorphism of *MAOA* were determined by DNA fragment analysis, and those of the A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* by melting curve analysis. The VNTR polymorphism of *MAOA* was associated with the BMD of the distal radius, total body, lumbar spine and trochanter in all women, and with the BMD of the total body and trochanter in postmenopausal ones, with the *L* (four repeats) and *S* (two or three repeats) alleles reflecting increased and decreased BMD, respectively. The A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* was associated with the BMD of the lumbar spine in all women, with the BMD of the proximal radius in premenopausal women and with the BMD of the lumbar spine, femoral neck and trochanter in postmenopausal women, with the variant *G* allele being related to increased BMD. These results suggest that *MAOA* and *SH2B1* are determinative loci for bone mass in Japanese women, especially in postmenopausal ones.

### Introduction

Osteoporosis, a major health problem of the elderly, is characterized by a reduction in bone mineral density (BMD) and a deterioration in the microarchitecture of the bone, both resulting in a predisposition to fractures (1). Although reproductive, nutritional and lifestyle factors influence BMD, family and twin studies have suggested that it is largely (60-85%) heritable and controlled by multiple genes (2-4). Personalized prevention of osteoporosis and osteoporotic fractures is an important public health goal and can be approached by identifying disease susceptibility genes. Although genetic linkage analyses (5-7) and candidate gene association studies (7-10) have implicated various loci and genes in the predisposition to osteoporosis or fractures, the genes that confer susceptibility to this condition have yet to be definitively identified. In addition, because of ethnic differences in gene polymorphisms as well as in lifestyle and other environmental factors, it is important to examine polymorphisms in relation to BMD in individual ethnic groups.

We have been attempting to identify, with a candidate gene approach, the genetic variants associated with BMD in Japanese women or men recruited for a population-based prospective cohort study. In the present study, we selected the monoamine oxidase A gene (*MAOA*) and SH2B adaptor protein 1 gene (*SH2B1*) as ones that might contribute to bone remodeling (Table I), and examined the relation between the polymorphisms of these genes and BMD, even though there is no apparent biological link between them. Our aim was to identify a single polymorphism significantly associated with BMD in each gene. Of the polymorphisms previously identified, we selected those that might be expected to affect gene function. We then examined the relation between these polymorphisms and BMD in community-dwelling Japanese women and men.

### Materials and methods

**Study population.** The National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging, is a population-based prospective cohort study of aging and age-related diseases, the details of which have been described previously (11-15). Individuals with disorders known to cause abnormalities of bone metabolism, including diabetes mellitus, chronic renal failure, rheumatoid arthritis, as well as thyroid, parathyroid,

**Correspondence to:** Dr Yoshiji Yamada, Department of Human Functional Genomics, Life Science Research Center, Mie University, 1577 Kurima-machiya, Tsu, Mie 514-8507, Japan  
E-mail: yamada@gene.mie-u.ac.jp

**Key words:** polymorphism, genetics, osteoporosis, bone density, *MAOA*, *SH2B1*



Table I. The two gene polymorphisms examined in the study.

Locus	Gene	Symbol	Polymorphism	NCBI database
Xp11.3	Monoamine oxidase A	<i>MAOA</i>	VNTR [(ACCGGCACCGGCACCACTACCCGCACCAGT) <sub>n</sub> ]	M89636 (nt 208-327)
16p11.2	SH2B adaptor protein 1	<i>SH2B1</i>	A-G (Thr484Ala)	rs7498665

adrenal and other endocrine diseases, or those who had taken drugs that affect bone metabolism such as estrogen, glucocorticoids, bisphosphonates and vitamin D, were excluded from the present study. We thus examined the relation between gene polymorphisms and BMD in 2235 individuals (1107 women, 1128 men). Individuals whose genotypes were not successfully determined were also excluded from the analysis. In addition, to uncover potential differences between women according to menopausal status, we conducted all determinations for associations in premenopausal and postmenopausal women separately. Menopausal status was evaluated by a detailed questionnaire, with menopause defined as complete cessation of menstruation. Because of their small number ( $n=17$ ), perimenopausal women were excluded from the study. The study protocol complied with the Declaration of Helsinki and was approved by the Committee on Ethics of Human Research of the National Institute for Longevity Sciences. Written and informed consent was obtained from each subject.

**Measurement of BMD.** BMD at the radius was measured by peripheral quantitative computed tomography (pQCT) with a Desiscan 1000 instrument (Scanco Medical, Bassersdorf, Switzerland) and was expressed as D50 (BMD for the inner 50% of the cross-sectional area of the distal radius, comprising mostly cancellous bone), D100 (BMD for the entire cross-sectional area of the distal radius, including both cancellous and cortical bone) and P100 (BMD for the entire cross-sectional area of the proximal radius, consisting mostly of cortical bone). The BMD of the total body, lumbar spine (L2-L4), right femoral neck and right trochanter was measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) with a QDR 4500 instrument (Hologic, Bedford, MA, USA). The coefficients of variation of the pQCT instrument for BMD values were 0.7% (D50), 1.0% (D100) and 0.6% (P100), and those of the DXA instrument 0.9% (total body), 0.9% (L2-L4), 1.3% (femoral neck) and 1.0% (trochanter).

**Determination of genotype.** Genotypes for the variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism in the promoter region of *MAOA* were determined by DNA fragment analysis. The polymorphic region of *MAOA* was amplified by polymerase chain reaction (PCR) with a sense primer (5'-CCCA GGCTGCTCCAGAAAC-3') labeled at the 5' end with 6-carboxyfluorescein and with an antisense primer (5'-GGA CCTGGGCAGTTGTGC-3'). The reaction mixture (25  $\mu$ l) contained 20 ng of DNA, 5 pmol of each primer, 0.2 mmol/l of each deoxynucleoside triphosphate, 2.5 mmol/l MgSO<sub>4</sub> and 1.25 U of rTaq DNA polymerase (Toyobo, Osaka, Japan) in polymerase buffer. The amplification protocol comprised initial denaturation at 95°C for 5 min, 35 cycles of denaturation at 95°C for 30 sec, annealing at 65°C for 30 sec and extension

at 72°C for 30 sec, and a final extension at 72°C for 2 min. The fragment size of VNTR was determined with a PRISM 3100 DNA sequencer and with GeneScan and Genotyper software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Genotypes for the A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* were determined by melting curve analysis (intercalator-mediated fluorescence resonance energy transfer probe method). The polymorphic region of *SH2B1* was amplified by PCR in a reaction mixture (25  $\mu$ l) containing 20 ng of DNA, 5 pmol each of sense (5'-TGGAACTGC TTCCCCCAGAGTTG-3') and antisense (5'-TACCTG TGGCTGTTTCCGGAGTGC-3') primers, 0.2 mmol/l of each deoxynucleoside triphosphate, 2 mmol/l MgCl<sub>2</sub> and 1.25 U of rTaq DNA polymerase in polymerase buffer. The amplification protocol comprised initial denaturation at 95°C for 5 min, 40 cycles of denaturation at 95°C for 30 sec, annealing at 65°C for 30 sec and extension at 72°C for 30 sec, and a final extension at 72°C for 2 min. A solution (2  $\mu$ l) containing 10 pmol of probe (5'-GAACTGTCCCTG CTGGGG-3') labeled at the 5' end with Texas red and 1/400 diluted SYBR Green I was added to the PCR products, which were then transferred to a PRISM 7700 instrument (Applied Biosystems) for measurement of melting temperature. The program for analytic melting comprised incubation at 95°C for 30 sec, 40°C for 1 min, and temperatures increasing to 80°C over 10 min. The fluorescence signals were detected at excitation and emission wavelengths of 485 and 612 nm, respectively.

**Statistical analysis.** Data were presented as means  $\pm$  SE or  $\pm$  SD, as indicated. Statistical analysis was performed with SAS software (SAS Institute, Cary, NC, USA). Data from three genotype groups were compared by one-way analysis of variance and the Tukey-Kramer post hoc test, and between two groups (dominant or recessive model) by the unpaired Student's t-test. The BMD values of genotypes for each polymorphism were compared with adjustment for age, height and body weight by the least squares method in a general linear model. The relation of the number of repeats in the VNTR polymorphism of *MAOA* to BMD was analyzed by multiple regression analysis with adjustment for age, height and body weight. Allele frequencies were estimated by the gene-counting method, and the  $\chi^2$  test was used to identify a significant departure from Hardy-Weinberg equilibrium. A P-value of <0.05 was considered statistically significant.

## Results

**Relation between the VNTR polymorphism of *MAOA* and BMD.** The number of repeats in the VNTR polymorphism of



Table II. BMD and other characteristics of all women (n=1099) according to *MAOA* genotype.<sup>a</sup>

Characteristic	SS	SL	LL	SS + SL	SL + LL
Number (%)	420 (38.2)	499 (45.4)	180 (16.4)	919 (83.6)	679 (61.8)
Age (years)	59.4±0.5	58.9±0.5	59.6±0.8	59.1±0.4	59.1±0.4
Height (cm)	150.8±0.3	151.5±0.3	152.1±0.5 <sup>b</sup>	151.1±0.2	151.6±0.2 <sup>c</sup>
Body weight (kg)	52.2±0.4	52.9±0.4	52.7±0.6	52.6±0.3	52.9±0.3
BMD measured with pQCT (mg/cm <sup>3</sup> )					
D50	181.2±3.0	187.7±2.8	191.1±4.7	184.7±2.0	188.5±2.4
D100	478.9±4.4	490.8±4.0	493.8±6.7	485.4±3.0	491.6±3.4 <sup>d</sup>
P100	1157.0±7.1	1154.8±6.5	1148.1±10.9	1155.8±4.8	1153.1±5.6
BMD measured with DXA (g/cm <sup>2</sup> )					
Total body	0.953±0.004	0.975±0.004 <sup>e</sup>	0.971±0.006	0.965±0.003	0.974±0.003 <sup>f</sup>
L2-L4	0.856±0.006	0.875±0.006	0.865±0.009	0.866±0.004	0.873±0.005 <sup>g</sup>
Femoral neck	0.672±0.004	0.681±0.004	0.684±0.006	0.677±0.003	0.682±0.003
Trochanter	0.564±0.004	0.574±0.004	0.582±0.006 <sup>h</sup>	0.569±0.003	0.576±0.003 <sup>i</sup>

<sup>a</sup>BMD is adjusted for age, height and body weight. Data are the means ± SE. <sup>b</sup>P=0.0434, <sup>c</sup>P=0.0270, <sup>d</sup>P=0.0235, <sup>e</sup>P=0.004, <sup>f</sup>P=0.0001, <sup>g</sup>P=0.0343, <sup>h</sup>P=0.0385, <sup>i</sup>P=0.0166 versus SS.

Table III. BMD and other characteristics of postmenopausal women (n=807) according to *MAOA* genotype.<sup>a</sup>

Characteristic	SS	SL	LL	SS + SL	SL + LL
Number (%)	319 (39.5)	347 (43.0)	141 (17.5)	666 (82.5)	488 (60.5)
Age (years)	63.4±0.5	64.4±0.5	63.7±0.7	63.9±0.3	64.2±0.4
Height (cm)	149.7±0.3	150.2±0.3	151.1±0.5	150.0±0.2 <sup>b</sup>	150.4±0.3
Body weight (kg)	51.5±0.5	52.2±0.4	52.5±0.7	51.9±0.3	52.3±0.4
BMD measured with pQCT (mg/cm <sup>3</sup> )					
D50	159.7±3.6	164.8±3.4	172.5±5.4	162.3±2.5	167.0±2.9
D100	436.9±5.2	446.6±4.9	453.1±7.7	441.9±3.6	448.5±4.2
P100	1084.6±8.5	1079.9±8.2	1071.7±12.7	1082.1±5.9	1077.5±6.9
BMD measured with DXA (g/cm <sup>2</sup> )					
Total body	0.907±0.005	0.926±0.005 <sup>c</sup>	0.931±0.007 <sup>d</sup>	0.917±0.003	0.927±0.004 <sup>e</sup>
L2-L4	0.799±0.007	0.818±0.007	0.814±0.011	0.809±0.005	0.817±0.006
Femoral neck	0.640±0.005	0.645±0.005	0.655±0.007	0.642±0.003	0.648±0.004
Trochanter	0.534±0.005	0.541±0.004	0.553±0.007 <sup>f</sup>	0.537±0.003 <sup>g</sup>	0.544±0.004

<sup>a</sup>BMD is adjusted for age, height and body weight. Data are the means ± SE. <sup>b</sup>P=0.0444, <sup>c</sup>P=0.0337 versus LL; <sup>d</sup>P=0.0103, <sup>e</sup>P=0.0169, <sup>f</sup>P=0.0009, <sup>g</sup>P=0.0454 versus SS.

*MAOA* was two, three or four for all women (mean ± SD, 3.4±0.5; n=2198 alleles) and men (3.4±0.5; n=1096 alleles). The number of repeats in this polymorphism was related to the BMD in terms of the distal radius (D100, P=0.0102), total body (P=0.0103) or trochanter (P=0.0210) in all women, whereas no relation was detected in men. At each of these sites, the BMD was greater in women with four repeats than in those with three repeats. Given that the mean number of repeats was 3.4 for men and women, we designated alleles containing two or three repeats as short (S) and those containing four repeats as long (L).

Age and body weight did not differ among all women (Table II), premenopausal women (data not shown), and postmenopausal women (Table III) with the SS, SL and LL genotypes of *MAOA*. Height was greater in individuals with the LL genotype and in the combined group of SL and LL genotypes than in individuals with the SS genotype for all women, and greater in individuals with the LL genotype than in the combined group of SS and SL genotypes for postmenopausal women. Height did not differ among the premenopausal women with *MAOA* genotypes. In all women, the BMD of D100 and the lumbar spine was greater in the combined



Table IV. BMD and other characteristics of all women (n=1107) according to *SH2B1* genotype.<sup>a</sup>

Characteristic	AA	AG	GG	AA + AG	AG + GG
Number (%)	820 (74.1)	272 (24.6)	15 (1.4)	1092 (98.6)	287 (25.9)
Age (years)	59.5±0.4	58.7±0.7	56.8±2.8	59.3±0.3	58.6±0.6
Height (cm)	151.2±0.2	151.5±0.4	153.3±1.6	151.3±0.2	151.6±0.4
Body weight (kg)	52.7±0.3	52.3±0.5	55.6±2.1	52.6±0.2	52.5±0.5
BMD measured with pQCT (mg/cm <sup>3</sup> )					
D50	184.7±2.2	186.1±3.7	192.3±15.6	185.1±1.9	186.5±3.6
D100	485.1±3.1	486.8±5.4	507.6±22.6	485.6±2.7	487.9±5.2
P100	1151.5±5.1	1157.8±8.6	1194.4±36.4	1153.1±4.4	1159.8±8.4
BMD measured with DXA (g/cm <sup>2</sup> )					
Total body	0.964±0.003	0.965±0.005	0.998±0.022	0.965±0.003	0.967±0.005
L2-L4	0.867±0.004	0.857±0.008 <sup>b</sup>	0.938±0.033	0.864±0.004 <sup>c</sup>	0.861±0.007
Femoral neck	0.676±0.003	0.680±0.005	0.711±0.022	0.677±0.003	0.682±0.005
Trochanter	0.569±0.003	0.573±0.005	0.601±0.021	0.570±0.002	0.575±0.005

<sup>a</sup>BMD is adjusted for age, height and body weight. Data are the means ± SE. <sup>b</sup>P=0.0432, <sup>c</sup>P=0.0260 versus GG.

group of *SL* and *LL* genotypes than in individuals with the *SS* genotype (Table II). BMD for the total body was greater in individuals with the *SL* genotype and in the combined group of *SL* and *LL* genotypes than in individuals with the *SS* genotype. BMD for the trochanter was greater in individuals with the *LL* genotype or the combined group of *SL* and *LL* genotypes than in individuals with the *SS* genotype. The differences in the BMD of D100, total body and lumbar spine between the combined group of *SL* and *LL* genotypes and individuals with the *SS* genotype (expressed as a percentage of the larger value) were 2.6, 2.2, and 1.9%, respectively, and the difference in the BMD of the trochanter between individuals with the *LL* genotype and those with the *SS* genotype was 3.1%. In postmenopausal women, the BMD of the total body was greater in individuals with the *LL* genotype, *SL* genotype and the combined group of *SL* and *LL* genotypes than in individuals with the *SS* genotype (Table III). The BMD of the trochanter was greater in individuals with the *LL* genotype than in those with the *SS* genotype or in the combined group of *SS* and *SL* genotypes. The differences in the BMD of the total body and trochanter between individuals with the *LL* and *SS* genotype were 2.6 and 3.4%, respectively. In premenopausal women or men, the BMD did not differ among the *MAOA* genotypes (data not shown).

**Relation of the A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* to BMD.** The distribution of A-G genotypes of *SH2B1* was in Hardy-Weinberg equilibrium. Age, height and body weight did not differ among genotype groups for all women (Table IV), premenopausal women (data not shown) or postmenopausal women (Table V). In all the women, the BMD of the lumbar spine was greater in individuals with the *GG* genotype than in those with the *AG* genotype or the combined group of *AA* and *AG* genotypes. The difference in the BMD of the lumbar spine between individuals with the *GG* genotype and the combined group of *AA* and *AG* genotypes was 7.9%. In premenopausal women, the BMD of P100 in individuals with

the *AG* genotype and in the combined group of *AG* and *GG* genotypes was greater than in individuals with the *AA* genotype (data not shown). In postmenopausal women, the BMD of the lumbar spine was greater in individuals with the *GG* genotype than in the combined group of *AA* and *AG* genotypes (Table V). The BMD of the femoral neck was greater in the combined group of *AG* and *GG* genotypes than in individuals with the *AA* genotype. The BMD of the trochanter was greater in individuals with the *GG* genotype than in the combined group of *AA* and *AG* genotypes, and greater in the combined group of *AG* and *GG* genotypes than in individuals with the *AA* genotype. The differences in the BMD of the lumbar spine and trochanter between individuals with the *GG* genotype and the combined group of *AA* and *AG* genotypes was 9.2 and 8.5%, respectively, and the difference in the BMD of the femoral neck between the combined group of *AG* and *GG* genotypes and individuals with the *AA* genotype was 2.4%. For men, the distribution of *SH2B1* genotypes was in Hardy-Weinberg equilibrium; there was no difference in BMD among *SH2B1* genotypes (data not shown).

## Discussion

We examined the relation of the VNTR polymorphism of *MAOA* and the A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* to BMD at various sites in community-dwelling Japanese women and men. Our results showed that the polymorphisms of *MAOA* and *SH2B1* were associated with BMD in women, especially in postmenopausal individuals, suggesting that *MAOA* and *SH2B1* are determinative loci for bone mass in Japanese women.

*MAOA* is an important catabolic enzyme that regulates levels of monoamine neurotransmitters, including serotonin, dopamine and noradrenaline, in the central nervous system. The VNTR polymorphism in the promoter region of *MAOA* consists of a 30-bp repeated sequence that is present in 3, 3.5, 4 or 5 copies (16), and has been shown to affect the tran-



Table V. BMD and other characteristics of postmenopausal women (n=814) according to *SH2B1* genotype.<sup>a</sup>

Characteristic	AA	AG	GG	AA + AG	AG + GG
Number (%)	605 (74.3)	198 (24.3)	11 (1.4)	803 (98.6)	209 (25.7)
Age (years)	64.0±0.3	63.6±0.6	60.5±2.6	63.9±0.3	63.4±0.6
Height (cm)	150.1±0.2	150.4±0.4	152.0±1.8	150.2±0.2	150.5±0.4
Body weight (kg)	52.1±0.3	51.7±0.6	54.5±2.4	52.0±0.3	51.8±0.6
BMD measured with pQCT (mg/cm <sup>3</sup> )					
D50	162.4±2.6	166.9±4.5	179.7±18.8	163.5±2.3	167.6±4.4
D100	441.6±3.7	446.3±6.4	481.8±26.9	442.8±3.2	448.2±6.3
P100	1079.0±6.2	1078.9±10.7	1057.1±44.6	1079.0±5.3	1083.1±10.4
BMD measured with DXA (g/cm <sup>2</sup> )					
Total body	0.916±0.004	0.925±0.006	0.963±0.026	0.918±0.003	0.927±0.006
L2-L4	0.808±0.005	0.810±0.009	0.890±0.038	0.808±0.004 <sup>b</sup>	0.814±0.009
Femoral neck	0.640±0.003	0.655±0.006	0.683±0.025	0.644±0.003	0.656±0.006 <sup>c</sup>
Trochanter	0.537±0.003	0.547±0.006	0.589±0.024	0.539±0.003 <sup>d</sup>	0.550±0.006 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>BMD is adjusted for age, height and body weight. Data are the means ± SE. <sup>b</sup>P=0.0335, <sup>c</sup>P=0.0418 versus GG; <sup>d</sup>P=0.0182, <sup>e</sup>P=0.0471 versus AA.

scriptional activity of the gene *in vitro* (16-18). Transcription of VNTR alleles with 3.5 or 4 repeats is more efficient than in the allele with 3 repeats in various cell lines and human male skin fibroblasts (16-18). This polymorphism was also shown to affect the expression and activity of MAOA in the brain of individuals with Alzheimer's disease (19). In addition, it has been associated with various pathological behavioral traits, such as mood disorders, autism, aggression and impulsivity (20-23). We have now shown that the VNTR polymorphism of MAOA was associated with BMD in postmenopausal women, with the L and S alleles reflecting increased and decreased BMD, respectively. As far as we are aware, this is the first demonstration of the association of this polymorphism of MAOA with BMD, although the underlying molecular mechanism remains to be elucidated. This association may be attributable, however, to the effects of the polymorphism on the neuroendocrine systems, given that neuroendocrine disorders can result in a decrease in the concentration of growth hormone and sex steroids and thus accelerate the development of osteoporosis (24).

SH2B1 is a widely-expressed cytoplasmic protein that simultaneously binds, via its Src homology 2 (SH2) domain, to both Janus kinase 2 (JAK2) and insulin receptor substrate 2 (IRS2), thereby promoting the leptin-induced activation of the phosphoinositide 3-kinase signaling pathway in cultured cells (25,26). SH2B1-deficient mice develop insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (27) as well as severe leptin resistance, hyperphagia and obesity (28). SH2B1 is thus a key cytoplasmic signaling molecule that acts as a positive regulator of leptin and insulin signal transduction in mice. The A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* (rs7498665) is a tag single nucleotide polymorphism (SNP) that represents five common SNPs in complete linkage disequilibrium within a 16-kb region encompassing *SH2B1* (29). This polymorphism was associated with the serum concentration of leptin, total body fat, waist circumference and body weight in Caucasian female twins,

although it is predicted to not affect protein structure or function and is likely in linkage disequilibrium with an as yet unidentified functional variant of *SH2B1* (29). We have now shown that the A-G (Thr484Ala) polymorphism of *SH2B1* is associated with BMD in women, especially in postmenopausal women, with the variant G allele being related to increased BMD. Given that leptin plays an important role in bone remodeling (30-32), the association of this polymorphism of *SH2B1* with BMD may be attributable to effects on leptin signaling.

Given the multiple comparisons of genotypes with BMD at various sites in the present study, it is not possible to exclude potential type I errors (false positives). It is also possible that the polymorphisms associated with BMD in our study are in linkage disequilibrium with other polymorphisms in the same gene or with polymorphisms of nearby genes that are actually the determinants of BMD. Furthermore, the relevance of the polymorphisms to gene transcription or to protein structure or function and their effects on bone remodeling were not determined in the present study.

In conclusion, our present results suggest that MAOA and *SH2B1* are determinative loci for BMD in Japanese women. Determination of genotypes for these polymorphisms may prove informative for the assessment of the genetic risk of reduced BMD. Given that multiple variants, each having a small effect, will likely be found to be responsible for a large fraction of the genetic component of osteoporosis, identification of additional osteoporosis susceptibility genes will allow for a more accurate assessment of the genetic component of this condition.

#### Acknowledgements

This work was supported in part by a Research Grant for Comprehensive Research on Aging and Health (H17-Choju-039) from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan.




## References

- Kanis JA, Melton LJ III, Christiansen C, Johnston CC and Khaltav N: The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 9: 1137-1141, 1994.
- Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN and Eberl S: Genetic determinations of bone mass in adults: a twin study. *J Clin Invest* 80: 706-710, 1987.
- Gueguen R, Jouanny P, Guillemin F, Kuntz C, Pourel J and Siest G: Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. *J Bone Miner Res* 10: 2017-2022, 1995.
- Ralston SH: Genetic determinants of susceptibility to osteoporosis. *Curr Opin Pharmacol* 3: 286-290, 2003.
- Johnson ML, Gong G, Kimberling W, Recker SM, Kimmel DB and Recker RB: Linkage of a gene causing high bone mass to human chromosome 11 (11q12-13). *Am J Hum Genet* 60: 1326-1332, 1997.
- Hsu YH, Xu X, Terwedow HA, *et al.*: Large-scale genome-wide linkage analysis for loci linked to BMD at different skeletal sites in extreme selected sibships. *J Bone Miner Res* 22: 184-194, 2007.
- Morrison NA, Qi JC, Tokita A, *et al.*: Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367: 284-287, 1994.
- Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, *et al.*: Relation of alleles of the collagen type I $\alpha$ 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 338: 1016-1021, 1998.
- Yamada Y, Ando F, Niino N and Shimokata H: Transforming growth factor- $\beta$ 1 gene polymorphism and bone mineral density. *JAMA* 285: 167-168, 2001.
- Xiong DH, Shen H, Zhao LJ, *et al.*: Robust and comprehensive analysis of 20 osteoporosis candidate genes by very high-density single-nucleotide polymorphism screen among 405 white nuclear families identified significant association and gene-gene interaction. *J Bone Miner Res* 21: 1678-1695, 2006.
- Shimokata H, Ando F and Niino N: A new comprehensive study on aging - the National Institute for Longevity Sciences, Longitudinal Study of Aging (NILS-LSA). *J Epidemiol* 10: S1-S9, 2000.
- Yamada Y, Ando F, Niino N and 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.
- Yamada Y, Ando F, Niino N and Shimokata H: Association of polymorphisms of androgen receptor and klotho genes with bone mineral density in Japanese women. *J Mol Med* 83: 50-57, 2005.
- Yamada Y, Ando F and Shimokata H: Association of polymorphisms in forkhead box C2 and perlecan genes with bone mineral density in community-dwelling Japanese individuals. *Int J Mol Med* 18: 119-127, 2006.
- Yamada Y, Ando F and Shimokata H: Association of candidate gene polymorphisms with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. *Int J Mol Med* 19: 791-801, 2007.
- Sabol SZ, Hu S and Hamer D: A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet* 103: 273-279, 1998.
- Deckert J, Catalano M, Sygailo YV, *et al.*: Excess of high activity monoamine oxidase A gene promoter alleles in female patients with panic disorder. *Hum Mol Genet* 8: 621-624, 1999.
- Denney RM, Koch H and Craig IW: Association between monoamine oxidase A activity in human male skin fibroblasts and genotype of the MAOA promoter-associated variable number tandem repeat. *Hum Genet* 105: 542-551, 1999.
- Wu YH, Fischer DF and Swaab DF: A promoter polymorphism in the monoamine oxidase A gene is associated with the pineal MAOA activity in Alzheimer's disease patients. *Brain Res* 1167: 13-19, 2007.
- Manuck SB, Flory JD, Ferrell RE, Mann JJ and Muldoon MF: A regulatory polymorphism of the monoamine oxidase-A gene may be associated with variability in aggression, impulsivity, and central nervous system serotonergic responsivity. *Psychiatry Res* 95: 9-23, 2000.
- Cohen IL, Liu X, Schutz C, *et al.*: Association of autism severity with a monoamine oxidase A functional polymorphism. *Clin Genet* 64: 190-197, 2003.
- Yu YW, Tsai SJ, Hong CJ, Chen TJ, Chen MC and Yang CW: Association study of a monoamine oxidase A gene promoter polymorphism with major depressive disorder and anti-depressant response. *Neuropsychopharmacology* 30: 1719-1723, 2005.
- Balcuniene J and Jazin E: Human monoamine oxidase: from genetic variation to complex human phenotypes. *Gene Funct Dis* 1: 26-37, 2001.
- Rehman HU and Masson EA: Neuroendocrinology of ageing. *Age Ageing* 30: 279-287, 2001.
- Rui L and Carter-Su C: Identification of SH2-beta as a potent cytoplasmic activator of the tyrosine kinase Janus kinase 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 7172-7177, 1999.
- Duan C, Li M and Rui L: SH2-B promotes insulin receptor substrate (IRS)1- and IRS2-mediated activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in response to leptin. *J Biol Chem* 279: 43684-43691, 2004.
- Duan C, Yang H, White MF and Rui L: Disruption of the SH2-B gene causes age-dependent insulin resistance and glucose intolerance. *Mol Cell Biol* 24: 7435-7443, 2004.
- Ren D, Li M, Duan C and Rui L: Identification of SH2-B as a key regulator of leptin sensitivity, energy balance, and body weight in mice. *Cell Metab* 2: 95-104, 2005.
- Jamshidi Y, Snieder H, Ge D, Spector TD and O'Dell SD: The SH2B gene is associated with serum leptin and body fat in normal female twins. *Obesity* 15: 5-9, 2007.
- Ducy P, Amling M, Takeda S, *et al.*: Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 100: 197-207, 2000.
- Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, *et al.*: Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 111: 305-317, 2002.
- Eleftheriou F, Ahn JD, Takeda S, *et al.*: Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature* 434: 514-520, 2005.

骨粗鬆症の発生率と骨代謝マーカー、  
内因性ホルモンとの関連

— 漁村コホート 10年間の追跡 —

吉村典子・岡 敬之・村木重之・阿久根 徹・馬淵昭彦  
川口 浩・中村耕三

 ライフサイエンス出版

TEL (03) 3664-7900 (代表)

【禁 無断転載・複製】



綿骨の骨密度が上昇して、海綿骨の荷重分担能が高くなり、より海綿骨全体で荷重を支えることができるようになって、応力の集中がなくなり、ひずみ分布が改善したものと考えられる。すなわち、ビスフォスフォネートの内服は、椎体内部の骨密度分布を改善し、脊椎の荷重支持構造を強固にさせることで、脊椎骨の構造的なひずみ分布を改善し、骨折予防につながるといえる。

NIH (National Institutes of Health) の骨粗鬆症の定義では、骨強度の低下によって骨折のリスクが高くなる骨障害が骨粗鬆症であり、骨強度は骨密度と骨質で決まるとされている。骨質には骨の微細構造、骨代謝回転、微小ダメージの蓄積、石灰化の程度、コラーゲンなどの器質的特性がある。今回の結果から、これらの要素に加えて、椎体内の骨密度分布(荷重支持構造)も骨強度を左右する重要な因子と考える。

骨折リスクを予想するには、骨強度の測定が理想的であるが、これまでは実際の患者で骨強度を測定することは不可能であり、骨密度や骨代謝マーカーを測定して骨折リスクを予測していた。しかし、骨折の危険性を評価するためには骨密度や骨代謝マーカーだけでは不十分であることが分かっている。今回用いた有限要素解析による骨強度の評価は、今後、より生体に近いモデルに改良されることで、骨粗鬆症治療への応用が期待される。

## 結 語

ビスフォスフォネートの内服は、骨粗鬆症性脊椎の骨密度を改善するのみならず、力学的に脊椎全体のひずみ分布を改善し、力学的強度を向上し、骨折を抑制する。

## 文 献

- 1) Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med* 1995;333:1437-43.
- 2) Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet* 1996;348:1535-41.
- 3) Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Barrett-Connor E, Musliner TA, et al. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *JAMA* 1998;280:2077-82.
- 4) Imai K, Ohnishi I, Bessho M, Nakamura K. Nonlinear finite element model predicts vertebral bone strength and fracture site. *Spine* 2006;31:1789-94.



## 骨粗鬆症の発生率と骨代謝マーカー、 内因性ホルモンとの関連

—漁村コホート 10年間の追跡—

吉村典子<sup>1)</sup>・岡 敬之<sup>1)</sup>・村木重之<sup>2)</sup>・阿久根 徹<sup>2)</sup>・馬淵昭彦<sup>3)</sup>  
川口 浩<sup>4)</sup>・中村耕三<sup>4)</sup>

### はじめに

平成 18 年版高齢社会白書によると<sup>1)</sup>、平成 17 年 10 月 1 日現在のおが国の人口は 1 億 2,776 万人と戦後初めて減少に転じたのに対して、65 歳以上の高齢者人口は過去最高の 2,560 万人となった。また高齢化率（総人口に占める 65 歳以上の高齢者の割合）が初めて 20%を超えたとも報告されており、わが国の高齢化はまさに世界に類のない早さで進行し続けている。

このように超高齢化が目前に迫る状況の中で、高齢者の生活の質（quality of life : QOL）を著しく阻害する骨粗鬆症とそれによる骨折の予防は、まさに焦眉の課題であるといえる。しかしながら骨粗鬆症の発生率や発生を予測する要因については、まだ明らかになっていない点も多く、骨粗鬆症予防対策遅延の原因となっている。

今回、われわれは、漁村在住中高年男女を対象としたコホートの 10 年間の追跡調査の解析を行い、漁村における骨粗鬆症の発生率を明らかにした。さらに発生率の予測因子としての骨代謝マーカーおよび内因性ホルモンの影響を検討したの

で報告する。

### 1 対象と方法

和歌山県一漁村 T 町では住民台帳に基づき 40～79 歳の全住民 2,261 人（男 1,028 人、女 1,233 人）を対象にコホートを設定し、1993 年から総合的健康管理を行っている。この集団から男女各年代 50 人、計 400 人をランダムに選んで、dual energy X-ray absorptiometry (DXA : Hologic QDR-1000) にて同年、腰椎および大腿骨近位部の骨密度を測定した（ベースライン調査）。さらに 3 年後、7 年後、10 年後に再度同対象者に同部位の骨密度を同機種 DXA で測定した。ベースライン調査時に採血した血清、尿を用い骨代謝マーカーを測定した。測定したのは骨形成マーカーとして、血清 intact-osteocalcin (i-OC, Osteocalcin IRMA kit, Mitsubishi Kagaku BCL), total osteocalcin (total OC, Elecsys N-MID Osteocalcin (Roche Diagnostics GmbH)), 骨型アルカリフォスファターゼ (bone-specific alkaline phosphatase ; BAP, enzyme immunoassay), I 型プロコラーゲン N 末端プロペ

### Association between Incidence of Osteoporosis and Bone Turnover Markers Parathyroid Hormone Levels and Endogenous Sex Steroids – 10 Years Follow up of Taiji Cohort –

Noriko Yoshimura : Department of Joint Disease Research 22nd Century Medical Center, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, et al.

**Key words :** 骨粗鬆症、発生率、骨代謝マーカー、副甲状腺ホルモン、内因性ホルモン

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院 22 世紀医療センター関節疾患総合研究講座 <sup>2)</sup> 東京大学医学部附属病院 22 世紀医療センター臨床運動器医学講座 <sup>3)</sup> 東京大学人類遺伝学 <sup>4)</sup> 東京大学医学部整形外科

表1 ベースライン調査および10年目の追跡調査参加者の性・年齢別分布

年代(歳)	男性		女性	
	ベースライン	10年後	ベースライン	10年後
40~49	50	43	50	47
50~59	50	46	50	47
60~69	50	41	50	44
70~79	50	23	50	31
総数	200	153	200	169

ブチド (N-terminal propeptide of type I procollagen; PINP, radioimmunoassay (Orion Diagnostica)) であり、骨吸収マーカーとしては血清 I 型プロコラーゲン C 末端プロペプチド (C-terminal propeptide of type I procollagen; PICP, radioimmunoassay (Orion Diagnostica)), I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (N-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen; NTX, Osteomark NTX serum (Ostex international. inc)), I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド (C-terminal crosslinking telopeptide of type I collagen; CTX) の  $\beta$  異性体 ( $\beta$ -CTX, Elecsys  $\beta$ -CrossLaps (Roche Diagnostics GmbH)), I 型コラーゲン C 末端テロペプチド (C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen generated by matrix metalloproteinase; ICTP, radioimmunoassay (Orion Diagnostica)), pyridinoline (PYR, high-performance liquid chromatography (HPLC)), deoxypyridinoline (DPD, HPLC) を測定した。さらに血清 intact parathyroid hormone (i-PTH, electrochemiluminescent immunoassay), および性ホルモンとして、血清フリーテストステロン (FT, DPC-free testosterone kit (Mitsubishi Kagaku)) およびエストラジオール (E2, 男性: DPC-free estradiol kit (Mitsubishi Kagaku), 女性: HPLC-immunoradiometric assay) を測定した。

骨粗鬆症の診断は WHO の診断基準<sup>2)</sup>に従い、Peak bone mass の 2.5SD 以上の低下をもって骨粗鬆症と判定した。

## 2 結 果

ベースライン調査時における対象者 400 人のうち、10 年後の調査に参加したものは 322 人 (80.5%) であった。これら対象者の性・年齢別分布を表 1 に示す。

この対象者の 10 年間の追跡結果を用いて、ベースライン時において骨粗鬆症と診断されたものを除き、骨粗鬆症の新規発生率を推定したところ、腰椎では男性で 23.8 (10,000 人年)、女性で 179.5 (10,000 人年) となり、大腿骨頸部では男性で 17.1 (10,000 人年)、女性で 114.5 (10,000 人年) となり、女性のほうが約 7 倍高率であった。骨粗鬆症の発生率を年代別にみると女性では、高齢者よりも閉経後に多かったのに対し、大腿骨頸部では高齢者に多かった。

次に、10 年間の腰椎、大腿骨頸部それぞれの新規骨粗鬆症発生と、骨代謝マーカー値、i-PTH, FT, E2 値との関連を求めた。まず対象者のベースライン時の骨代謝マーカー値の性別の平均値を表 2 に示す。i-PTH の平均値 (標準偏差) は男性 28.8 (28.4), 女性 28.8 (12.6) (ng/mL), FT は男性 9.45 (2.93), 女性 0.76 (0.30) (pg/mL) (ただし測定感度以下であった男性 1 人, 女性 141 人を除く), E2 値は男性 22.4 (7.6), 女性 12.5 (31.5) (pg/mL) であった。

骨粗鬆症発生の有無を目的変数とし、骨代謝マーカー値、i-PTH, FT, E2 値をそれぞれ説明変数として、ベースライン時の年齢、体格指数 (body mass index; BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )) を調整して、Cox の比例ハザードモデルによる解析を行った。その結



表2 ベースライン時における骨代謝マーカー値の平均値(標準偏差)

骨代謝マーカー		単位	男性	女性
血清	i-OC	ng/mL	3.60 (2.54)	5.60 (3.01)
	total OC	ng/mL	18.5 (11.1)	26.0 (11.6)
	BAP	U/L	26.5 (10.7)	28.6 (10.4)
	PINP	ng/mL	38.2 (19.5)	50.1 (21.9)
	PICP	$\mu$ g/L	119.3 (33.3)	126.4 (40.0)
	NTX	nmolBCE/L	13.6 (4.23)	15.2 (4.04)
	$\beta$ -CTX	ng/mL	0.187 (0.121)	0.234 (0.145)
	ICTP	$\mu$ g/L	2.96 (1.24)	3.16 (1.06)
尿	PYR	pmol/ $\mu$ molCr	19.3 (6.8)	27.5 (9.0)
	DPD	pmol/ $\mu$ molCr	3.06 (1.53)	4.76 (1.91)

i-OC: intact osteocalcin, total OC: total osteocalcin, BAP: bone-specific alkaline phosphatase, PINP: N-terminal propeptide of type I procollagen, PICP: C-terminal propeptide of type I procollagen, NTX: N-terminal crosslinking telopeptide of type I collagen,  $\beta$ -CTX: C-terminal crosslinking telopeptide of type I collagen, ICTP: C-terminal crosslinking telopeptide of type I collagen generated by matrix metalloproteinase, PYR: pyridinoline, DPD: deoxypyridinoline

果、腰椎では男性の PINP、女性の CTX、PYR、DPD は、骨粗鬆症のリスクを有意に上昇させていた。大腿骨頸部では、男性の PYR が ISD 高いと骨粗鬆症のリスクが 2 倍となっていた。骨粗鬆症の発生と i-PTH および女性ホルモン値との間に有意な関連は認められなかったが、男性の血清テストステロン値と大腿骨頸部骨粗鬆症の間には有意の負の関連が認められた。

### 3 考 察

わが国において、一般住民における骨粗鬆症の発生率についてはまだ報告がほとんどない。今回の研究で、われわれは、和歌山県漁村住民の 10 年間の追跡から骨粗鬆症の発生率を推定した結果、男性よりも女性に 7 倍多いこと、部位によって年齢別発生率に違いがみられることを明らかにした。

骨粗鬆症発生率のわが国における地域差についてはまだ明らかになっていないが、われわれは同じく山村住民の 10 年間の追跡調査から、山村住民の骨密度は漁村住民に比べて低い傾向にあることを報告してきた<sup>3)</sup>。今回の骨粗鬆症発生率

についても、山村住民の発生率<sup>9)</sup>と比べて低い傾向にある。しかしこの傾向が、地域特性など環境的な要因からきたものか、あるいは測定機器やサンプリングの違いの影響を受けているのかについてはさらなる検証が必要となる。

骨粗鬆症診断における骨代謝マーカーの意義について、日本骨粗鬆症学会骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会では、骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2006 年度版において、そのエビデンスレベルと臨床上の有用性のグレードを明らかにしている<sup>3)</sup>。それによると、骨代謝マーカーは、完全ではないにせよ骨折リスクの有用な代用指標としての意義が認められる<sup>6)</sup>とされている。今回の研究から、骨代謝マーカー値が、骨折だけではなく骨粗鬆症の発生そのもののリスクにも関連があることが明らかにされた。これは骨代謝マーカー値が、診断治療の指標としてのみならず、骨粗鬆症の予防の場でも活用される余地があることが示すものであると考える。

骨粗鬆症と血清 PTH レベルの関連については、Von Muhlen らは大腿骨頸部骨密度が、血清 PTH と有意な負の関連にあることを報告してい

る<sup>7)</sup>。また Deplas<sup>8)</sup>らも施設入所者において最も低いBMDの集団は二次性副甲状腺機能亢進症を合併していることを報告している<sup>8)</sup>。高齢者にビタミンD欠乏が起こりやすいことを考慮すると、血清PTH値が骨粗鬆症の予測要因となる可能性はあると考えられるが、今回の研究では、ベースライン時のi-PTH値と骨粗鬆症の発生については、明らかな関連を得ることができなかった。今後栄養調査の結果などを解析し、ビタミンD摂取量などを加味した検討が必要となると考える。

内因性女性ホルモンの低下が骨量低下に影響を及ぼしていることはさまざまな報告から明らかである<sup>9-17)</sup>。男性ホルモンも骨粗鬆症との関連が報告されている<sup>16,18,19)</sup>。男性骨粗鬆症の予防を目的として行われている国際共同研究であるMrOS studyでは、血清FTが大腿骨頸部骨密度の予測因子となり、さらに過去の骨折とも関連していたと述べている。今回の研究では、E2もFTは骨粗鬆症発生の有意なリスクとはなり得なかった。E2についてはその影響が最も大きい閉経前後の集団が少なかったこと、今回の目的変数を骨密度低下率ではなく骨粗鬆症の発生としたため、発生者が骨密度がもともと低い60歳以降の高齢女性に偏ったことが結果に影響を及ぼした可能性がある。またFTについては女性に感度以下の測定値を示すものが多かったこと、男性では骨粗鬆症の発生率が低かったことが関連を明確にしなかった要因の一つであるかもしれない。

今後観察期間をさらに延長し、骨密度よりも容易に変動をとらえやすいこれらマーカーの骨粗鬆症予測因子としての有用性について、有望なマーカーの閾値の設定まで視野に入れて検討を重ねていく予定である。

## 結 論

漁村地域における10年間の観察から中高年男女の骨粗鬆症発生率を推定し、骨代謝マーカー高値が骨粗鬆症発生の予測因子となる可能性を示した。

## 文 献


- 1) 内閣府：平成18年版高齢社会白書。http://www.8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2006/zenbun/18index.html
- 2) Kanis JA, Melton LJ III, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994;9:1137-41.
- 3) 吉村典子, 橋本勉. 骨密度の地域差—和歌山県の山村, 漁村におけるコホート調査より. *Osteoporosis Jpn* 1999;7:12-3.
- 4) 吉村典子, 岡敬之, 村木重之, 馬淵昭彦, 川口浩, 中村耕三. 骨粗鬆症の有病率の推移と発生率の推定. *Osteoporosis Jpn* 2006;14(suppl1):149.
- 5) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会(代表 折茂肇). 骨代謝マーカー測定. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン2006年版. 東京:ライフサイエンス出版;2006. p.25-7.
- 6) Miller PD, Hochberg MC, Wehren LE, et al. How useful are measures of BMD and bone turnover? *Curr Med Res Opin* 2005;21:545-53.
- 7) Von Muhlen DG, Greendale GA, Garland CF, Van L, Barrett-Connor E. Vitamin D, parathyroid hormone levels and bone mineral density in community-dwelling older women: The Rancho Bernardo Study. *Osteoporosis Int* 2005;16:1721-6.
- 8) Deplas A, Debiais F, Alcalay M, Bontoux D, Thomas P. Bone density, parathyroid hormone, calcium and vitamin D nutritional status of institutionalized elderly subjects. *J Nutr Health Aging* 2004;8:400-4.
- 9) Slemenda C, Longscope C, Peacock M, Hui S, Johnston CC. Sex steroids, bone mass and bone loss. *J Clin Invest* 1996;97:14-21.
- 10) Stone K, Bauer DC, Black DM, Sklarin P, Ensrud KE, Cummings SR for the study of osteoporotic fractures study group. Hormonal predictors of bone loss in elderly women: a prospective study. *J Bone Miner Res* 1998;13:1167-74.
- 11) Yoshimura N, Kasamatsu T, Sakata K, Hashimoto T, Cooper C. The relationship between endogenous estrogen, sex hormone binding globulin and bone loss in female residents of a rural Japanese community: The Taiji study. *J Bone Miner Metab* 2002;20:303-10.
- 12) Cauley JA, Gutai JP, Black Sandler R, La Porte RE, Kuller LH, Sashin D. The relationship of endogenous estrogen to bone density and bone area in normal postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1986;124:752-61.



- 13) Steinberg KK, Freni-Titulaer LW, DePuey EG, Miller DT, Sgoutas DS, Coralli CH, Phillips DL, Rogers TN, Clark RV. Sex steroids and bone density in premenopausal and perimenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;69:533-9.
- 14) Murphy S, Khaw KT, Sneyd MJ, Compston JE. Endogenous sex hormones and bone mineral density among community-based postmenopausal women. *Postgrad Med J* 1992;68:908-13.
- 15) Krahe C, Friedman R, Gross JL. Risk factors for decreased bone density in premenopausal women. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:1061-6.
- 16) Greendale GA, Edelstein S, Barrett-Connor E. Endogenous sex steroids and bone mineral density in older women and men: the Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res* 1997;12:1833-43.
- 17) Khosla S, Melton LJ III, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Klee GG, Riggs BL. Relationship of serum steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2266-74.
- 18) Center JR, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Hormonal and biochemical parameters in the determination of osteoporosis in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3626-35.
- 19) Melstrom D, Johnell O, Ljunggren O, Eriksson AL, Lorentzon M, Mallmin H, Holmberg A, Redlund-Johnell I, Orwoll E, Ohlsson C. Free testosterone is an independent predictor of BMD and prevalent fractures in elderly men: MrOS Sweden. *J Bone Miner Res* 2006;21:529-35.

中高年男女における血清性ホルモン値が  
その後の骨粗鬆症の発生に与える影響  
—長期住民コホート追跡調査—

村木重之 吉村典子

 ライフサイエンス出版

TEL(03)3664-7900(代表)

【禁 無断転載・複製】



## 中高年男女における血清性ホルモン値が その後の骨粗鬆症の発生に与える影響

—長期住民コホート追跡調査—

村木重之<sup>1)</sup> 吉村典子<sup>2)</sup>

### はじめに

内因性性ホルモン濃度と骨粗鬆症との関連、とくに女性ホルモンと骨粗鬆症の関連については多くの研究がなされ、閉経後急激に低下する血清エストロゲン値は、閉経後の急速な骨量減少の原因と考えられている<sup>1~3)</sup>。しかしながら、血清エストロゲン値が高齢女性や男性骨粗鬆症の予測因子となりうるかどうかについてはまだ一定の結論が得られていない。最近、男性にも骨粗鬆症の発生が少なからずみられ、その予後はむしろ女性より悪いとの報告も散見されるようになってきており<sup>4,5)</sup>、男性骨粗鬆症が注目を集めつつある。しかし男性ホルモンであるところのテストステロン値は、男性における骨粗鬆症に関連するとの報告もある<sup>6)</sup>が、エストロゲンよりも関与が薄いか関与がないとする報告もあり<sup>7,8)</sup>、まだその意義は明らかになっていない。わが国についてみると男性ホルモンと骨粗鬆症の関連についてはまだ十分な検討がなされていない。sex hormone binding globulin (SHBG)については、その血清値が骨量減少と関連するとの報告<sup>9,10)</sup>と、関連を認めないとする報告<sup>3)</sup>があり、骨粗鬆症と関連するかどうかについてまだ結論がついていない。

われわれは、和歌山県一漁村において40~79歳の全住民のなかから男女各年代50人、計400人をランダムに選び、1993年より骨粗鬆症

検診を行ってきた。今回骨粗鬆症の発生にどの程度性ホルモンが関与しているかを明らかにすることを目的として、検診対象者のベースライン時の血清サンプルより血清テストステロンおよびエストラジオール(E2)を測定した。

### 1 方法

われわれは、和歌山県太平洋岸に位置するT町(人口4,142人)において、1993年に40~79歳の全住民を対象にコホートを設定し、ベースライン調査として既往歴、食生活、運動習慣、飲酒、喫煙など130項目からなる生活習慣調査を行った。この集団から、40~79歳の男女各年代50名、計400人をランダムに選び、dual energy X-ray absorptiometry (DXA)を用いて、腰椎、大腿骨近位部の骨密度を測定した(骨粗鬆症検診)。検診参加者には採血を行い、一般血液検査として血清Alb, Tcho, TG, BS, GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP, BUN, Crおよび各種骨代謝マーカーの測定を行った。さらに女性には血清E2(HPLC-immunoradiometric assay), SHBG(HPLC-immunoradiometric assay)を測定するとともに、Percent SHBG-unbound fraction ratioをdextran-charcoal法で求めた。

これら対象については、1996, 2000, 2003年にも同機種のDXAで同部位の骨密度測定を行い、2000, 2003年には再度血液検査も実施した。

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院 22世紀医療センター臨床運動器医学講座 <sup>2)</sup> 東京大学医学部附属病院 22世紀医療センター関節疾患総合研究講座

採取された血液はいずれもただちに遠心分離を行い、血清は $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で保管された。

今回、本研究対象者のベースライン調査時のサンプルより、男女全員の血清テストステロン(DPC-free testosterone kit[Mitsubishi Kagaku])値を測定し、さらに男性の血清E2(DPC-free estradiol kit[Mitsubishi Kagaku])を測定した。この結果に現在まで蓄積してきた骨粗鬆症検診結果のデータリンクージュを行い、骨粗鬆症の累積発生率を求めた。骨粗鬆症の診断基準はWHOの診断基準を用い<sup>11)</sup>、わが国の成人男女の最大骨量<sup>12)</sup>-2.5SD未満であることを骨粗鬆症とした。骨粗鬆症診断における骨密度測定部位は腰椎L<sub>2-4</sub>を採用した。この結果を用いて、ベースライン調査時の内因性性ホルモン値が骨粗鬆症の発生にどのような影響を及ぼすかを検討した。

## 2 結 果

初回調査時における対象男女400人(男性200人、女性200人)の腰椎骨密度から骨粗鬆症の有病率を求めると、男性では40歳代0%、50歳代4%、60歳代4%、70歳代10%であり、女性では40歳代から順に0%、4%、36%、36%であった。

10年間の骨密度変化を追跡し得た322人(男性153人、女性169人)(80.5%)について、ベースライン時に骨粗鬆症であったものを除いたpopulation at risk 287人(男性148人、女性139人)のなかで、10年目に新たに骨粗鬆症と診断されたものの累積発生率を求めると、腰椎では男性40歳代0%、50歳代2.3%、60歳代0%、70歳代9.1%であり、女性では40歳代から順に6.4%、17.4%、25.0%、22.2%であった。

ベースライン時の血清テストステロン値を測定し得たのは総数257人(男性198人、女性59人)であった。女性はほとんどが測定感度( $<0.4\text{pg/mL}$ )以下であった。血清テストステロン値の年代別平均値をみると、男性では40歳代 $10.9\text{pg/mL}$ 、50歳代 $9.8\text{pg/mL}$ 、60歳代 $8.8\text{pg/mL}$ 、70歳代 $8.1\text{pg/mL}$ と年齢とともに低下傾向にあった( $p<0.001$ )。女性では測定し得た59人

の血清テストステロンの平均値は40歳代 $0.8\text{pg/mL}$ 、50歳代 $0.7\text{pg/mL}$ 、60歳代 $0.8\text{pg/mL}$ 、70歳代 $0.6\text{pg/mL}$ といずれの年代でも低値を示していたが、年代間では差を認めなかった。

男性の血清結合E2値を測定し得た178人について、その平均値を年代別にみると、40歳代 $22.1\text{pg/mL}$ 、50歳代 $22.2\text{pg/mL}$ 、60歳代 $23.1\text{pg/mL}$ 、70歳代 $22.3\text{pg/mL}$ となり年代間で差を認めなかった。一方測定方法は異なるが、HPLC法で測定した女性199人の血清結合E2値は40歳代 $43.8\text{pg/mL}$ 、50歳代 $5.2\text{pg/mL}$ 、60歳代 $1.2\text{pg/mL}$ 、70歳代 $0.6\text{pg/mL}$ となり、年齢とともに低下していた( $p<0.001$ )。

また女性のSHBG値の平均は40歳代 $71.5\text{nmol/L}$ 、50歳代 $60.3\text{nmol/L}$ 、60歳代 $78.6\text{nmol/L}$ 、70歳代 $92.1\text{nmol/L}$ となり、年代間では50歳代と60歳代、50歳代と70歳代のあいだに有意の差を認めた( $p<0.05$ )。

10年後の新規骨粗鬆症発生の有無を目的変数とし、血清テストステロン値、血清E2値を説明変数として、年齢を調整したロジスティック回帰分析の結果からは、男女とも骨粗鬆症の10年後の発生の有無と血清テストステロン値、血清E2値とのあいだに有意な関連は認められなかった。女性におけるSHBG値は骨粗鬆症の発生と有意に関連していた(オッズ比1.02、95%信頼区間1.00~1.03、 $p=0.03$ )。

## 3 考 察

われわれは、和歌山県T町において、地域代表性を有し、背景因子を十分に把握した地域コホートの住民をランダムサンプリングし、参加者の協力を得て、1993、1996、2000、2003年と過去4回の骨粗鬆症検診を行ってきた。そして、ベースライン調査時である1993年の残余血清を用いて、血清E2値、SHBG値を測定し、血清E2値は、閉経周辺期および閉経後女性において3年後の骨密度に関連することを報告してきた<sup>3)</sup>。今回、これら骨粗鬆症検診参加者のベースライン調査時の男性血清E2値、男女の血清テストステロン値を測定することにより、これ



ら性ホルモンが中高年男女のその後の骨粗鬆症発生を予測しうるかどうかを明らかにした。

今回の結果からは、女性のSHBG値には将来の骨粗鬆症発症を予測できる可能性が認められたが、血清SHBG値と骨粗鬆症の関連はまだ一定の結論が得られていない。Stoneらは、地域在住65歳以上の女性の血清性ホルモンとSHBGを測定し、ベースライン調査時においてエストロゲン値が低いとSHBG値が高いことは骨量減少に影響していると述べている<sup>9)</sup>。Slemendaらは、231人の若年～高齢女性の集団において月経状況別に骨量を追跡し、SHBG値は骨量とは負の関連を認めたと述べている<sup>10)</sup>。これらの結果は血清SHBG値が高いほど将来骨量が減少するリスクが高いことで一致している。今回のわれわれの結果も、血清SHBG値は骨粗鬆症のリスクをあげていた。しかし、われわれの先行研究では、血清SHBG値は、中高年女性の3年間の腰椎の骨密度減少とは関連を認めなかった<sup>3)</sup>。今回は10年間の追跡研究であるので、追跡期間の長さの影響したのかもしれないが、今後さらに月経状況別のカテゴリーわけや交絡があると思われる要因の調整を行うことにより、SHBG値の骨粗鬆症予測因子としての有用性を明らかにしていきたい。

その一方、血清テストステロン値、血清E2値は10年後の骨粗鬆症の発生を予測するのは困難であったが、骨粗鬆症の累積発生率、特に男性の骨粗鬆症の累積発生率が低く、その関連性が出にくかった可能性がある。女性においては、ベースライン調査時に骨粗鬆症と診断されたものはpopulation at riskから除外したため、統計パワーが減少した可能性も排除できない。今後さらに長期の追跡を行うことによって、これら内因性性ホルモンと骨粗鬆症の影響を明らかにしていく予定である。

## 文 献

- 1) Riis BJ, Rødbro P, Christiansen C. The role of serum concentrations of sex steroids and bone turnover in the development and occurrence of postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1986;38:318-22.
- 2) Slemenda C, Hui SL, Longcope C, Johnston CC. Sex steroids and bone mass. A study of changes about the time of menopause. *J Clin Invest* 1987;80:1261-9.
- 3) Yoshimura N, Kasamatsu T, Sakata K, Hashimoto T, Cooper C. The relationship between endogenous estrogen, sex hormone-binding globulin, and bone loss in female residents of a rural Japanese community: the Taiji Study. *J Bone Miner Metab* 2002;20:303-10.
- 4) Center JR, Nguyen TV, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA. Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet* 1999;353:878-82.
- 5) Seeman E. International Osteoporosis Foundation "Invest in your bones" publication 2004;1-16.
- 6) Fink HA, Ewing SK, Ensrud KE, Barrett-Connor E, Taylor BC, Cauley JA, et al. Association of testosterone and estradiol deficiency with osteoporosis and rapid bone loss in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3908-15.
- 7) Van Pottelbergh I, Goemaere S, Kaufman JM. Bioavailable estradiol and an aromatase gene polymorphism are determinants of bone mineral density changes in men over 70 years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3075-81.
- 8) Gennari L, Merlotti D, Martini G, Gonnelli S, Franci B, Campagna S, et al. Longitudinal association between sex hormone levels, bone loss, and bone turnover in elderly men. *J Clin Endocrinol* 2003;88:5327-33.
- 9) Stone K, Bauer DC, Black DM, Sklarin P, Ensrud KE, Cummings SR. Hormonal predictors of bone loss in elderly women: a prospective study. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J Bone Miner Res* 1998;13:1167-74.
- 10) Slemenda C, Longcope C, Peacock M, Hui S, Johnston CC. Sex steroids, bone mass, and bone loss. A prospective study of pre-, peri-, and postmenopausal women. *J Clin Invest* 1996;97:14-21.
- 11) World Health Organization (1994) Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO technical report series 843, Geneva:WHO.
- 12) Orimo H, Hayashi Y, Fukunaga M, Sone T, Fujiwara S, Shiraki M, et al. Research. Diagnostic criteria for primary osteoporosis: year 2000 revision. *J Bone Miner Metab* 2001;19:331-7.

今月の主題 内科医が診る骨粗鬆症  
防げる骨折を防ぐための骨粗鬆症診療

総論

## 骨粗鬆症発生頻度の動向

吉村 典子

medicina

第45巻 第3号 別刷

2008年3月10日 発行

医学書院



# 骨粗鬆症発生頻度の動向

吉村 典子

## ポイント

- 骨粗鬆症の発生率には50歳以上で年間男性2%、女性6%との報告があるが、まだ一定の見解は得られていない。
- 2002年の全国調査の結果、大腿骨頸部骨折の発生数は12万人と増加しており、年齢別発生率も依然として増加傾向にある。
- 脊椎椎体骨折の10年間の発生率は、70歳台で男性の約1割、女性の約2割であると報告されている。

平成18年度版高齢社会白書<sup>1)</sup>によると、2005年10月1日現在のわが国の人口は、1億2,776万人と戦後初めて減少に転じたのに対して、65歳以上の高齢者人口は過去最高の2,560万人となった。また高齢化率(総人口に占める65歳以上の高齢者の割合)が20.04%となり、初めて20%を超えたと報告されている。今後高齢者人口は増加が見込まれ、その一方で総人口の減少は続くと考えられることから、高齢化率は2015年に26.0%、2050年には35.7%となると予測されており、わが国の高齢化はまさに世界に類のない速さで進行し続けている。

このような状況のなかで、高齢者の生活の質(quality of life: QOL)を著しく阻害する骨粗鬆症とそれによる骨折の予防は、超高齢社会が目前に迫るわが国にとって焦眉の急であるといえる。しかしながら、骨粗鬆症やそれによる骨折の発生頻度については、まだ明らかになっていない点も多く、骨粗鬆症予防対策遅延の原因となっている。

そこで本稿においては、わが国において、現状で把握できる限りの骨粗鬆症および骨折の頻度の動向について述べることにする。

## 骨粗鬆症の発生率の動向

原発性骨粗鬆症とは、「骨量の低下、骨組織の微細構造の変化を特徴とし、骨の脆弱化とその結果骨折の危険の増大をきたした疾患<sup>2)</sup>」と定義されてきた疾患であるが、最近ではこれに骨質の概念を加え<sup>3)</sup>、「骨強度が低下することにより骨折のリスクが高くなる骨の障害」とする定義が一般的となりつつある。

骨粗鬆症の診断に必須となる低骨量を有する者は、ほとんどの場合が無症状であるため、医療機関での早期診断は困難であり、住民を対象とした集団検診などで発見することが必要となってくる。骨粗鬆症の発生率を求めるためには、地域代表性をもつ住民の骨量評価を少なくとも2回行う必要がある、この困難さのために、わ

よしむら のりこ：東京大学大学院医学系研究科関節疾患総合研究講座 〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1



図1 骨粗鬆症の発生率 (50歳以上) (文献4より改変して引用)

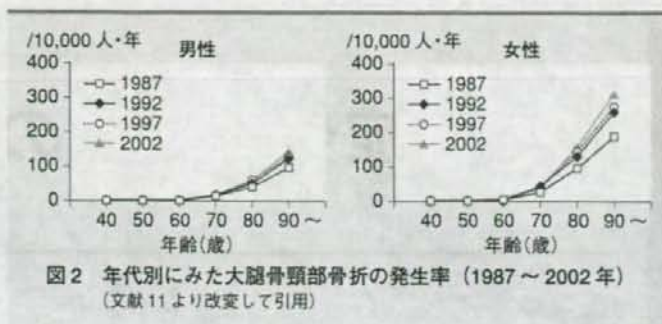


図2 年代別みた大腿骨頸部骨折の発生率 (1987～2002年) (文献11より改変して引用)

が国における骨粗鬆症の発生率の報告はきわめて少ない。筆者らは、和歌山県の山村での10年間における継続的な調査から、腰椎骨密度で診断した骨粗鬆症の発生率を推計した(図1)。この結果、50歳以上の男性においては1年間に約2%、女性では約6%に新規骨粗鬆症が発生することが明らかになった<sup>4)</sup>。しかし、この推計は全体数が少ない一地域での結果であり、今後、ほかのコホートでの検証が必要であると考える。

## 骨粗鬆症による骨折の発生率の動向

骨粗鬆症そのものがほとんど症状を伴わないとすれば、なぜ治療の必要性があるのか? それは、合併症である骨折が重大な結果をきたす場合が多いからである。そのため、骨粗鬆症の治療は、骨粗鬆症による骨折の発生予防のために行っていると考えるとよい。これは脳卒中や心筋梗塞発症予防のために高血圧を治療する構図と類似している。

骨粗鬆症によって骨折を起こす部位は、大腿骨頸部、脊椎椎体のほか、橈骨遠位端、上腕骨近位端、大腿骨頸部以外の大腿骨、肋骨、骨盤、鎖骨・肩甲骨・胸骨、下腿骨(脛骨、腓骨)などが挙げられる。これらの部位のなかで、発生率についての疫学的研究結果の蓄積が最も進

んでいるのが大腿骨頸部骨折であり、次いで脊椎椎体骨折である。

## ■ 大腿骨頸部骨折

大腿骨頸部骨折は、寝たきりの原因となり、高齢者のQOLを著しく阻害する疾患である。わが国における大腿骨頸部骨折の発生率については、厚生省(現厚生労働省)シルバーヘルスサイエンス研究老人性骨粗鬆症の予防および治療法に関する総合的研究班(1987年、班長:折茂 肇)<sup>5,6)</sup>、厚生省骨粗鬆症の予防に関する総合的研究班(1992年、班長:折茂 肇)<sup>7,8)</sup>、厚生省骨粗鬆症予防のための危険因子に関する研究班(1997年、班長:折茂 肇)<sup>9,10)</sup>、厚生労働科学研究長寿科学総合研究事業骨粗鬆症におけるテーラーメイド医療の確立に関する研究班(2002年、班長:折茂 肇)<sup>11,12)</sup>により、過去5年ごとに4回の全国規模の調査が行われてきた。最新の調査である2002年の結果からは、大腿骨頸部骨折発生数は117,900人(男性25,300人、女性92,600人)となり、これは初回(53,000人:男性13,500人、女性39,600人)、2回目(76,600人:男性18,700人、女性57,900人)、3回目(92,400人:男性20,800人、女性71,600人)の調査時の患者数を大きく上回っていることが報告された。年代別でも、大腿骨頸部骨折の発生率は年齢とともに上昇していた(図2)。さらに、女性は男性より約3倍患者