運動習慣と骨関連遺伝子多型が中高年者の超音波骨指標に及ぼす影響

大久保 寛之¹⁾ 中 田 由 夫¹⁾ 藤 村 透 子²⁾ 宮 内 卓¹⁾
家 光 素 行³⁾ 前 田 清 司¹⁾ 田 中 喜代次¹⁾

EFFECTS OF HABITUAL EXERCISE AND CANDIDATE GENE POLYMORPHISMS RELATED TO BONE ON CALCANEAL QUANTITATIVE ULTRASOUND IN MIDDLE-AGED AND ELDERLY JAPANESE

HIROYUKI OHKUBO, YOSHIO NAKATA, MICHIKO FUJIMURA, TAKASHI MIYAUCHI,
MOTOYUKI IEMITSU, SEIJI MAEDA and KIYOJI TANAKA

Abstract

The purpose of this study was to investigate the interaction of habitual exercise and candidate gene polymorphisms related to bone on osteo sono-assessment index (OSI) by quantitative ultrasound (QUS) in middle-aged and elderly Japanese. Participants were classified into exercise group (E; n=172, 62.3 ± 7.7 yr) and sedentary group (S; n=65, 58.6 ± 9.2 yr). The OSI was measured with AOS-100. DNA was extracted from blood, and single nucleotide polymorphism in vitamin D receptor, estrogen receptor α , and transforming growth factor- β 1 were genotyped by TaqMan assay. Group E had significantly lower body weight and body mass index (BMI) than Group S. In men, although Group E was older than Group S, Group E had significantly higher OSI rather than Group S. There was no significant interaction between habitual exercise and each gene polymorphism on OSI. These results essentially remained unchanged even when analysis of covariance was applied after adjustment for age, body weight, and BMI. These results suggest habitual exercise and genetic factors have no interaction on OSI in middle-aged and elderly Japanese. Further investigations are needed to prove the interaction of other gene polymorphisms and exercise.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 2009, 58: 421~430)

key word: habitual exercise, candidate gene polymorphism, quantitative ultrasound

I. 緒 言

高齢社会の進展に伴い、要介護あるいは寝たきりによる医療費増加が社会問題になっている。高齢者が寝たきりになる原因の一つとして、転倒による骨折が知られている¹⁾が、寝たきりを増やさないためには、転倒を予防すること、骨折を誘発する骨粗鬆症を予防することが有効であると考えられる。骨粗鬆症を予防するには、小児期から思春期にかけて²⁾、さらにその後の成人期に最大値を示す最大骨量を高めておく必要がある。また、飲酒、喫煙などを含む生活習慣、さらには性ホルモン分泌低下などの影響

も含めた加齢に伴う骨量減少を軽減する対応も重要である。これらのことから、骨粗鬆症を予防する際、最大骨量が得られる成長期と同等に、骨粗鬆症のリスクが高まる中高齢者を対象として検討することも重要であると考えられる。

運動を定期的実践すると、最大骨量が高まり³⁾、その後の加齢に伴う骨量低下を抑えることから骨粗鬆症予防に効果的であると言われている⁴⁾。一方、骨量および骨密度は遺伝の影響も受けていることが知られている⁵⁾。Morrison et al.⁶⁾は、ビタミンD受容体 (vitamin D receptor: VDR) 遺伝子多型が骨密度の個体差に対する遺伝的影響の75%を説明する

¹⁾ 筑波大学大学院人間総合科学研究科
〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1

²⁾ 福島学院大学短期大学部
〒960-0181 福島県福島市宮代乳児池1-1

³⁾ 環太平洋大学体育学部
〒709-0863 岡山県岡山市東区瀬戸町観音寺721

Graduate school of Comprehensive Human Sciences, University of
Tsukuba, 1-1-1 Tennohdai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577

Department of Nursery, Fukushima College, 1-1 Miyashiro Chigoike,
Fukushima, Fukushima 960-0181

Department of Physical Education, International Pacific University,
721 Setochou Kannonji, Higashi-ku, Okayama, Okayama 709-0863

と報告した。しかしながら, これらが過大評価であったとして後に訂正されている⁷⁾。また, Livshits et al.⁸⁾は骨密度に対して, 測定方法, 測定部位にかかわらず, 遺伝因子の影響がおよそ60%, その他の環境因子による影響が40%であると述べている。その他にも同様の報告が多数あることから, 遺伝因子が骨密度に対して何らかの影響を及ぼすものと考えられる⁹⁾。

運動と遺伝子多型の相互作用についても, Rankinen et al.¹⁰⁾によるシステムティックレビュー^{11~17)}の他, いくつか見受けられる^{18~20)}。これらの研究のうち, 閉経前女性を対象とした横断研究において, 運動習慣が骨量に及ぼす影響には VDR 遺伝子多型が関与する^{13, 20)}という報告がある。一方で, 運動介入による骨量変化を検討した縦断研究では, VDR 遺伝子多型は関与しない¹²⁾と報告するものもある。閉経後女性を対象とした介入研究でも, 運動による骨量変化に遺伝子多型が関与する¹⁷⁾という報告, 骨の部位によっては関与しなかった¹¹⁾という報告の両方がある。男性を対象とした検討もおこなわれているが^{14, 16)}, 運動と遺伝子多型の相互作用について, 人種間の違いや閉経の有無²¹⁾, 骨量の測定部位や年齢によって異なる¹¹⁾との報告がある。すなわち, 運動と遺伝子多型の相互作用に関しては, 未だ, 統一的な見解が得られていない⁹⁾。特に遺伝子多型の影響は, 思春期前においてのみ認められ²²⁾, また閉経後女性においては, 遺伝子以外の数多くの要因が影響を与えている²³⁾と報告されている。従って, 閉経後女性や高齢者において, 遺伝子多型と骨量の関係性を見いだすためには, 骨に影響を与える他の要因を補正して検討する必要があると考えられる^{6, 19)}。Morrison et al.⁶⁾の研究においても, 年齢などの環境要因を補正した上で VDR 遺伝子多型が骨密度へ及ぼす影響を報告している。また大益ら¹⁹⁾も, 閉経後女性を対象として検討する場合, 身長, 体重, 年齢, 閉経後年数などの影響を補正する必要があることを述べている。

一方, 超音波法を用いて骨指標を算出し, 遺伝子多型と運動の効果を検討した報告^{18, 19)}もいくつか見受けられる。超音波法は被曝がなく, 取り扱いが簡便である上に, 小型で持ち運びも容易であり, 測定時間が短い。X線を用いて測定される骨密度測定よりも人的, 経済的な負担が少ない測定方法である

と考えられる。大益ら¹⁹⁾は, 閉経後女性を対象として, 運動が踵骨の超音波骨指標に及ぼす効果に VDR 遺伝子多型が関与していると報告している。同様に閉経前女性を対象として, 過去および現在の運動歴と VDR 遺伝子多型および超音波骨指標を検討した結果, VDR 遺伝子多型よりも思春期における運動歴がその後の超音波骨指標に大きな影響を与える¹⁸⁾ことを報告している。

以上の報告^{18, 19)}は, 運動と遺伝子多型が骨に及ぼす影響を単独の遺伝子から検討したものであり, 運動と複数の遺伝子多型を検討した研究は Remes et al.¹⁵⁾の報告に限られる。骨粗鬆症の発症には多数の因子が関与し, 骨粗鬆症あるいは骨量に関連する候補遺伝子も多数, 報告されている^{24, 25)}ことから, その寄与率は均等ではなく, 影響が大きいものから小さいものまでさまざまであることが予測される。

そこで本研究では, 中高齢男女を対象として, 運動と骨関連遺伝子多型が超音波骨指標に及ぼす影響を年齢, 体重で補正することにより, 運動の有益性を検討することを目的とした。

Ⅱ. 方 法

A. 対象者

本研究の対象者は, 茨城県に在住する者で, なおかつ運動を実践している個人および集団に体力測定の参加を呼びかけ, これに同意した者であった。また, 運動は実践していないが体力測定を希望する個人および集団も対象者とした。さらに対象者を運動習慣の有無によって, 運動習慣のある中高齢者 (exercise group: E 群, 男性79名, 33歳から81歳, 平均年齢63.8 ± 9.2歳, 女性93名, 51歳から78歳, 平均年齢61.0 ± 5.8歳) と運動習慣のない中高齢者 (sedentary group: S 群, 男性27名, 34歳から75歳, 平均年齢55.1 ± 12.5歳, 女性38名, 51歳から74歳, 平均年齢60.9 ± 4.9歳) の2群に分類した。本研究における運動習慣とは, 健康・栄養情報研究会²⁶⁾による, 「週2回以上, 1回30分以上の運動を1年以上続けていること」を採用した。対象者のうち, 代謝性骨疾患の既往歴や超音波骨評価指標に影響を及ぼす可能性のある薬剤を服用している者はデータから除外した。すべての対象者に研究の目的, 測定内容を十分に説明した上で, 遺伝子解析のため

の血液提供について同意を得た。なお、本研究は、筑波大学に帰属する倫理委員会の承認を得ておこなった。

B. 測定項目および測定方法

a) 形態測定

身長、体重を測定し、体重 (kg) を身長 (m) の 2 乗で除すことにより body mass index (BMI) を算出した。

b) 超音波骨指標

本研究では、超音波骨指標として音響的骨評価値 (osteo sono-assessment index: OSI) を採用した。超音波法を採用した理由としては、超音波法は 1) X 線による放射線被曝を伴わない唯一の方法²⁷⁾であること、2) 骨微細構造や骨質を評価できる可能性があることから、骨の強度を反映する測定方法と考えられていること²⁸⁾、3) 大腿骨頸部骨折のリスク評価において、X 線を用いる二重エネルギー X 線吸収法 (dual energy X-ray absorptiometry: DXA) に劣らないこと^{28,29)}、4) 骨折の識別に有効であると報告されていること^{30,31)}、が挙げられる。その他にも測定が簡便であること、軽量であり持ち運びができること、測定時間が短いことが挙げられ³²⁾、X 線を用いる測定方法よりも人的、経済的な負担が少ない測定方法であると考えられた為であった。OSI は AOS-100 (ALOKA 社製) を用いて得られる透過指標 (transmission index: TI)、および音速 (speed of sound: SOS) から $OSI = TI \times SOS^2$ の式によって算出された。測定部位は右足の踵骨部とし、3 回測定した平均値を分析に用いた。また、DXA を用いて得られる骨密度と同様に超音波骨指標においても、その加齢変化に性差が存在することが考えられる。それゆえに全ての検討において性別に結果を検討することとした。

c) 遺伝子

本研究では運動習慣の有無と遺伝子多型が OSI に及ぼす影響を検討する際、骨に影響を与えるとされる骨関連遺伝子多型を同一集団において、単独の遺伝子多型だけでなく、3 つ選択して検討することとした。その際、遺伝子多型は、1) 遺伝子多型が NCBI (national center for biotechnology information) に登録されていること。2) 骨に関連する遺伝子多型として報告されていること。3) Liu et al³³⁾

のレビューで骨密度、超音波骨指標と関係が認められているものであり、そのうち報告数が多い上位 3 つの遺伝子多型を選択した。

遺伝子抽出のために、肘正中皮静脈から採血した 2 ml を EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid)-2Na 入りの真空採血管に注入した後、 -80°C で冷凍保存した。その後、QIAamp DNA Blood Midi Kit (QIAGEN 社製) を用いて遺伝子を抽出した。抽出した遺伝子を視覚的に確認するため、1 mg の DNA を 1.0% アガロースゲルで電気泳動した。遺伝子多型解析においては、目的とするそれぞれの遺伝子の塩基配列から、一塩基を含む TaqMan プローブと TaqMan プライマー (VDR sense primer: 5'-AGTGTG CAGGCG-ATTCGTA-3', VDR antisense primer: 5'-GCAAGA-GCAGAGCCTGAGTAT-3', ER α sense primer: 5'-TCTGTGTTGTCCATCAGTTCATCTG-3', ER α antisense primer: 5'-CTCAGGGT-CTCTGGGAA ACAG-3', TGF- β I sense primer: 5'-CGCGCTCTCGG CAGT-3', TGF- β I antisense primer: 5'-CCACAGCA GCGGTAGCA-3') を用いて、ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems 社製) で PCR (polymerase chain reaction) 増幅をおこなった。VDR 遺伝子多型は、GG, GA, AA 型に、またエストロゲン受容体 α (estrogen receptor α : ER α) 遺伝子多型とトランスフォーミング成長因子 β I (transforming growth factor- β I: TGF- β I) 遺伝子多型は AA, AG, GG 型の 3 つの遺伝子型に分類した。

C. 統計処理

各項目の測定結果は、平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。運動習慣がある群 (E 群) と運動習慣がない群 (S 群) の 2 群の比較においては、対応のない t 検定をおこなった。遺伝子型の出現頻度の算出は、Hardy-Weinberg の平衡式を基におこなった。Hardy-Weinberg の法則は、集団遺伝学で用いられる遺伝の法則であり、ある生物種の個体群における対立遺伝子の遺伝子頻度は世代が移り変わっても変化しないことを前提にして、個体群内の遺伝子型の構成について説明する法則である³⁴⁾。その後、本研究の集団が一般集団における遺伝子型の出現頻度と差がないかを、 χ^2 検定を用いて検討した。運動習慣と遺伝子多型の交互作用については、二元配置の分散分析を用いて検討した。その後、年齢、体重

およびBMIを共変量とした二元配置の共分散分析もおこなった。すべての検定において、統計学的有意水準を5%に設定し、統計解析にはSPSS12.0J (SPSS社製)を用いた。

Ⅲ. 結 果

A. 対象者の身体的特徴

本研究における対象者237名の身体的特徴をTable 1に示した。E群とS群の身体的特徴を比較すると、男性において年齢はE群で有意に高く、体重、BMIはS群で有意に高かった。また、OSIはE群で有意に高い値を示した。女性においても体重、BMIがS群で有意に高い値を示した。したがって、年齢、体重、BMIの影響については、共変量として解析に取り込むことにより補正した。

B. 各遺伝子多型における遺伝子型頻度

本研究の対象者(男女別)における各遺伝子多型(VDR, ER α , TGF- β 1)の遺伝子型頻度をTable 2に示す。各遺伝子多型において、計算された遺伝子型頻度と実際に観察された結果との間に有意差はな

く、Hardy-Weinbergの平衡にあることが確認できた。しかしながら、VDR遺伝子多型のAA型を有する者はわずか4名(男性2名、女性2名)であり統計解析をする上で人数が十分でないと考えられたため、GA型とAA型の2群を1つの群とみなして検討した。

C. 運動習慣と遺伝子型の違いがOSIに及ぼす影響

運動習慣の有無と遺伝子型の違いがOSIに及ぼす影響を二元配置の分散分析を施した結果をTable 3に示す。OSIについて、運動習慣による主効果がすべての遺伝子多型でみとめられたが、遺伝子型による主効果はみとめられなかった。さらに、各遺伝子多型(VDR, ER α , TGF- β 1)のいずれにおいても、運動習慣と遺伝子型による有意な交互作用は認められなかった。さらに、これらの交互作用を年齢、体重、BMIで補正して分析(二元配置の共分散分析)したが、結果に統計学的有意性は見られなかった。

Table 1. Physical characteristics of the participants.

		Exercise group	Sedentary group
<i>Total</i>		(n = 172)	(n = 65)
<i>Men</i>		(n = 79)	(n = 27)
	Age (yr)	63.8 $\pm$ 9.2	55.1 $\pm$ 12.5*
	Height (cm)	164.7 $\pm$ 4.5	167.8 $\pm$ 7.9
	Body weight (kg)	64.2 $\pm$ 8.8	73.0 $\pm$ 14.3*
	BMI (kg/m ²)	23.6 $\pm$ 2.6	25.8 $\pm$ 3.9*
	OSI (m ² /s $\cdot$ 10 ⁶)	2.816 $\pm$ 0.377	2.670 $\pm$ 0.417*
	Exercise year (yr)	13.0 $\pm$ 12.3	
	Exercise frequency (times/week)	4.3 $\pm$ 2.0	
	Exercise duration (min/session)	138.0 $\pm$ 117.5	
<i>Women</i>		(n = 93)	(n = 38)
	Age (yr)	61.0 $\pm$ 5.8	60.9 $\pm$ 4.9
	Height (cm)	152.8 $\pm$ 5.0	153.1 $\pm$ 6.0
	Body weight (kg)	52.4 $\pm$ 5.9	55.5 $\pm$ 10.1*
	BMI (kg/m ²)	22.4 $\pm$ 2.5	23.6 $\pm$ 3.6*
	OSI (m ² /s $\cdot$ 10 ⁶)	2.415 $\pm$ 0.335	2.321 $\pm$ 0.239
	Exercise year (yr)	6.4 $\pm$ 5.2	
	Exercise frequency (times/week)	4.2 $\pm$ 1.6	
	Exercise duration (min/session)	103.3 $\pm$ 77.6	

Values are presented as mean $\pm$ standard deviation; n: no. of subjects; BMI: body mass index; significant difference between the two groups (* $P < 0.05$).

IV. 考 察

本研究の目的は、中高齢男女を対象として、運動習慣の有無と複数の遺伝子多型 (VDR, ER α , TGF- β I) が OSI に及ぼす交互作用を検討することであった。その結果、男女共に運動習慣の有無による主効果はみとめられたものの、遺伝子多型による主効果はみとめられなかった。さらに、VDR 遺伝子多型, ER α 遺伝子多型, TGF- β I 遺伝子多型のいずれにおいても、運動習慣の有無と遺伝子型による有意な交互作用は認められなかった。この結果は、運動習慣が OSI に及ぼす影響に遺伝子多型の関与がないことを示唆している。

本研究の男性 E 群は、S 群と比較して、体重、BMI が有意に低く、年齢が高かった。さらに、女性 E 群においても S 群と比較して、体重、BMI が有意に低い結果となった。骨は加齢に伴い低下し³⁵⁾、体重による影響を強く受ける³⁶⁾ことから、本研究における E 群の OSI は S 群よりも低い値を示すことが予想された。しかしながら、男性 E 群の OSI は S 群より有意に高い値を示した (Table 1)。E 群の体

重が S 群より軽いという傾向は、定期的な運動実践が肥満の予防に効果的である³⁷⁾ことより広く知られており、本研究の E 群においても同様の影響があったのかもしれない。また、長距離走者が一般対象者と比較して高い超音波骨指標を示すという先行研究³⁸⁾と同様に、本研究の対象者においても、運動の効果を確認することができた。しかし、本研究で用いた対象者は母集団から無作為に抽出した集団とはいえず、何らかの偏りがあった可能性も否定できない。対象者の偏りは遺伝子出現頻度においても確認されるべき項目である。そこで、遺伝子多型ごとの遺伝子出現頻度を Hardy-Weinberg の法則に基づいて検討した (Table 2)。その結果、本研究の対象者 (男女別) における各遺伝子多型 (VDR, ER α , TGF- β I) の遺伝子型頻度は、Hardy-Weinberg の平衡にあることを確認することができた。先行研究によると日本人の VDR 遺伝子多型 AA 型の出現率は 1 ~ 6 % 程度であり^{18,39)}、Morrison et al.⁶⁾の 250 名を対象とした報告 (21.7%) と比べると非常に低く、人種の違いによる影響の大きさが伺える。本研究の対象者においても AA 型はわずかに 1 %

Table 2. Gene polymorphisms and genotype frequency in men and women.

	Gene polymorphism	Genotype	No. of subjects (n)	Genotype frequency	HWE	χ^2 test
Men	VDR	GG	86	0.81	0.80	n.s.
		GA	18	0.17	0.19	
		AA	2	0.02	0.01	
	ER α	AA	32	0.30	0.33	n.s.
		AG	57	0.54	0.49	
		GG	17	0.16	0.18	
	TGF- β I	AA	29	0.27	0.29	n.s.
		AG	57	0.54	0.50	
		GG	20	0.19	0.21	
Women	VDR	GG	106	0.81	0.80	n.s.
		GA	23	0.18	0.19	
		AA	2	0.01	0.01	
	ER α	AA	50	0.38	0.35	n.s.
		AG	56	0.43	0.48	
		GG	25	0.19	0.17	
	TGF- β I	AA	28	0.21	0.21	n.s.
		AG	65	0.50	0.50	
		GG	38	0.29	0.29	

VDR: vitamin D receptor; ER α : estrogen receptor α ; TGF- β I: transforming growth factor- β I; HWE: Hardy-weinberg's equilibrium; n.s.: not significant.

(4名)のみの出現頻度であり,日本人を対象とした先行研究と類似した出現頻度を示していることが明らかとなった (Table 2)。

VDR 遺伝子多型と骨密度の影響は,思春期前においてのみ認められ²²⁾,閉経後女性では,遺伝子以外の数多くの要因が影響を与えている²³⁾と報告されている。大益ら¹⁹⁾は,閉経後女性や高齢者を対象とする場合,身長,体重,年齢,閉経後年数などの影響を補正する必要があると述べている。そこで,本研究においても,運動習慣と遺伝子型の交互作用を年齢,体重およびBMIで補正して分析(二元配置の共分散分析)したが,有意な交互作用は認められなかった (Table 3)。先行研究によると,VDR 遺伝子多型と運動習慣の交互作用が骨量・骨密度と関連するという報告¹⁷⁾と,測定部位によっては関連しないという報告¹¹⁾があり,本研究では,後者を支持する結果になった。本研究と同じように日本人を対象とし,VDR 遺伝子多型と運動の交互作用を超音波骨指標で検討した先行研究¹⁹⁾では,

VDR 遺伝子多型が超音波指標に有意な主効果を及ぼしており,さらに運動と遺伝子多型による交互作用が存在した。本研究と先行研究の結果が異なる理由として,本研究で用いた超音波骨指標 (OSI) は先行研究のもの (Stiffness) とは異なること,また,本研究の集団はこの先行研究¹⁹⁾より若く,より大きな集団であったことが考えられる。遺伝子多型と骨の関係性が一致しない,その他の理由として,それぞれの研究における骨の測定原理が異なること¹⁹⁾,さらに,骨を測定する部位の違いも影響しているとも考えられる⁴⁰⁾。本研究では踵骨を測定部位としたが,踵骨は荷重骨であり,しかも90%が海綿骨によって構成されており,運動や体重による影響を受けやすい⁴¹⁾といわれている。本研究で共変量として用いた体重,年齢およびBMI以外にも身長や閉経後年数などがOSIにおよぼす因子として考えられるが,身長はE群とS群の間に有意差が認められなかったため,共変量として用いなかった。さらに女性における閉経後年数など他の要因が運動と遺伝子

Table 3. Interaction of habitual exercise with genotype on OSI in men and women.

	Gene polymorphisms	Genotype (n)	Exercise group (n)	Sedentary group (n)	Main effect		Interaction	
					Exercise	Genotype	ANOVA	ANCOVA
Men	VDR	GG (86)	2.789 ± 0.383 (65)	2.686 ± 0.370 (21)	$P < 0.05$	$P = 0.82$	$P = 0.28$	$P = 0.06$
		GA+AA (20)	2.943 ± 0.331 (14)	2.613 ± 0.593 (6)				
	ER α	AA (32)	2.768 ± 0.315 (23)	2.481 ± 0.472 (9)	$P < 0.05$	$P = 0.28$	$P = 0.33$	$P = 0.33$
		AG (57)	2.783 ± 0.307 (40)	2.767 ± 0.376 (17)				
		GG (17)	2.968 ± 0.56 (16)	2.718 ± 0.243 (1)				
	TGF- β I	AA (29)	2.780 ± 0.515 (25)	2.627 ± 0.785 (4)	$P < 0.05$	$P = 0.82$	$P = 0.40$	$P = 0.08$
		AG (57)	2.812 ± 0.290 (40)	2.580 ± 0.335 (17)				
		GG (20)	2.890 ± 0.317 (14)	2.955 ± 0.224 (6)				
Women	VDR	GG (106)	2.425 ± 0.351 (74)	2.347 ± 0.207 (32)	$P < 0.05$	$P = 0.26$	$P = 0.80$	$P = 0.64$
		GA+AA (25)	2.377 ± 0.268 (19)	2.245 ± 0.391 (6)				
	ER α	AA (50)	2.428 ± 0.302 (34)	2.330 ± 0.265 (16)	$P < 0.05$	$P = 0.87$	$P = 0.10$	$P = 0.10$
		AG (56)	2.450 ± 0.398 (40)	2.269 ± 0.189 (16)				
		GG (25)	2.317 ± 0.221 (19)	2.497 ± 0.253 (6)				
	TGF- β I	AA (28)	2.538 ± 0.450 (20)	2.303 ± 0.162 (8)	$P < 0.05$	$P = 0.17$	$P = 0.07$	$P = 0.09$
		AG (65)	2.363 ± 0.223 (43)	2.395 ± 0.214 (22)				
		GG (38)	2.408 ± 0.369 (30)	2.180 ± 0.320 (8)				

Values are mean ± standard deviation; n: no. of subjects; OSI: osteo sono-assessment index; VDR: vitamin D receptor; ER α : estrogen receptor α ; TGF- β I: transforming growth factor- β I; ANOVA: analysis of variance; ANCOVA: analysis of covariance; ANCOVA models were adjusted for age, body weight, and body mass index.

多型に影響を及ぼしている可能性があり、これらの課題に対して今後、詳細に検討する必要がある。また、閉経前の日本人女性を対象とした検討⁴²⁾では、 $ER\alpha$ 遺伝子多型の xx 型は Xx 型に比べて骨量が低かったが、閉経後女性では、その差が認められなかった。また、 $TGF-\beta I$ 遺伝子多型が骨量に及ぼす影響について Yamada et al.^{43,44)} は、CC 型が、TT 型および TC 型と比較して高い骨量を有しており、CC 型の腰椎骨折率は他の型と比較して有意に低かったことを報告している。このことから、 $TGF-\beta I$ 遺伝子多型は骨量に影響を及ぼす因子の一つであると考えられる。しかし、 $ER\alpha$ および $TGF-\beta I$ 遺伝子多型と運動習慣の交互作用についての検討は、未だ報告が見受けられず、それゆえ、本研究は新規性があるといえるが、超音波を用いた骨指標だけでなく骨量・骨密度との関係を明らかにする検討が必要であると言える。

本研究の限界として、対象者の選択バイアスの問題が挙げられる。本研究の対象者は無作為抽出ではないため、母集団を代表する集団とは言えない。また、本研究では閉経の有無に関する調査をしていなかった。日本人の平均閉経年齢が 50.5 歳である⁴⁵⁾ことを踏まえ、本研究では 50 歳以上の女性を対象として分析した。さらに、喫煙、飲酒あるいは食事に関する調査も実施していないので、カルシウム、ビタミン D 摂取量といった栄養面での要因を検討することができなかった。本研究で用いた運動習慣の定義²⁶⁾は「週 2 回以上、1 回 30 分以上の運動を 1 年以上続けていること」とした。この運動習慣の定義は、運動種目や運動強度の情報を定義しておらず、そのため健康づくりのための運動指針 2006⁴⁶⁾にあるような「週 23 エクササイズ以上の活発な身体活動(運動・生活活動)、そのうち 4 エクササイズ以上の活発な運動」を用いた検討なども重要であると考えられる。今後の課題として、OSI に影響を及ぼす因子として体重、年齢および BMI 以外にも他の要因が存在する可能性があり、今後は対象者を増やすとともにさらなる補正因子を検討する必要があると考えられる。さらに、対象者数を増やすと共に、本研究で用いた 3 つの遺伝子多型以外にも骨に影響を及ぼす遺伝子多型を選択し、さらなる検討も必要であると考えられる。

V. ま と め

本研究は、VDR、 $ER\alpha$ 、 $TGF-\beta I$ の 3 つの遺伝子多型に注目し、中高齢者男女を対象として、運動習慣とそれぞれの遺伝子多型が OSI におよぼす影響を検討することを目的とした。その結果、いずれの遺伝子多型においても運動習慣の有無が OSI に及ぼす影響に統計学的有意性を認めることができなかった。さらに、体重、年齢および BMI の影響を補正するために、これらを共変量として共分散分析をおこなったが、その結果においても運動習慣の有無と遺伝子型の違いによる交互作用を認めることはできなかった。この結果より、日本人中高年男女における運動習慣が OSI に及ぼす影響に遺伝子多型の関与がない可能性を示唆しており、運動実践が骨指標を良好な状態に保つという健康利益を再確認することができるものであったと言える。

(受理日 平成 21 年 5 月 25 日)

参 考 文 献

- 1) Nyberg, L., Gustafson, Y., Berggren, D., Brännström, B., Bucht, G. Falls leading to femoral neck fractures in lucid older people. *J. Am. Geriatr. Soc.* (1996), **44**, 156-160.
- 2) Zanchetta, J. R., Plotkin, H., Alvarez-Filgueira, M. L. Bone mass in children: normative values for the 2-20-year-old population. *Bone* (1995), **16**, 393S-399S.
- 3) Pettersson, U., Nordstrom, P., Alfredson, H., Henriksson-Larsen, K., Lorentzon, R. Effect of high impact activity on bone mass and size in adolescent females: A comparative study between two different types of sports. *Calcif. Tissue Int.* (2000), **67**, 207-214.
- 4) Engelke, K., Kemmler, W., Lauber, D., Beeskow, C., Pintag, R., Kalender, W. A. Exercise maintains bone density at spine and hip EFOPS: a 3-year longitudinal study in early postmenopausal women. *Osteoporos. Int.* (2006), **17**, 133-142.
- 5) Arden, N. K., & Spector, T. D. Genetic influences on muscle strength, lean body mass, and bone mineral density: a twin study. *J. Bone Miner. Res.* (1997), **12**, 2076-2081.
- 6) Morrison, N. A., Qi, J. C., Tokita, A., Kelly, P. J., Crofts, L., Nguyen, T. V., Sambrook, P. N., Eisman, J. A. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* (1994), **367**, 284-287.
- 7) Morrison, N. A., Qi, J. C., Tokita, A., Kelly, P. J., Crofts, L., Nguyen, T. V., Sambrook, P. N., Eisman, J. A. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* (1997), **387**, 106.

- 8) Livshits, G., Karasik, D., Otremski, I., Kobykiansky, E. Genes play an important role in bone aging. *Am. J. Hum. Biol.*(1998) **10**, 421-438.
- 9) 碓井外幸, 平加保彦, 釣谷伊希子, 勝木建一, 勝木道夫. ライフスタイルと骨代謝関連遺伝子多型性等が転倒による骨折予防の一助としての骨密度の長期的加齢変化に及ぼす影響. *デサントスポーツ科学*, (2004), **25**, 205-218.
- 10) Rankinen, T., Bray, M. S., Hagberg, J. M., Perusse, L., Roth, S. M., Wolfarth, B., Bouchard, C. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2005 update. *Med. Sci. Sports Exerc.*, (2006) **38**, 1863-1888.
- 11) Blanchet, C., Giguere, Y., Prud'homme, D., Dumont, M., Rousseau, F., Dodin, S. Association of physical activity and bone: influence of vitamin D receptor genotype. *Med. Sci. Sports Exerc.*(2002) **34**, 24-31.
- 12) Jarvinen, T. L., Sievanen, H., Heinonen, A., Tanner, M., Huang, X. H., Nenonen, A., Isola, J. J., Jarvinen, M., Kanus, P. Vitamin D receptor alleles and bone's response to physical activity. *Calcif. Tissue Int.*(1998) **62**, 413-417.
- 13) Kitagawa, I., Kitagawa, Y., Nagaya, T., Tokudome, S. Interplay of physical activity and vitamin D receptor gene polymorphism on bone mineral density. *J. Epidemiol.*(2001) **11**, 229-232.
- 14) Nakamura, O., Ishii, T., Ando, Y., Amagai, H., Oto, M., Imafujii, T., Tokuyama, K. Potential role of vitamin D receptor gene polymorphism in determining bone phenotype in young male athletes. *J. Appl. Physiol.*(2002) **93**, 1973-1979.
- 15) Remes, T., Vaisanen, S. B., Mahonen, A., Huuskonen, J., Kroger, H., Jurvelin, J. S., Penttila, I. M., Rauramaa, R. Aerobic exercise and bone mineral density in middle-aged finnish men: a controlled randomized trial with reference to androgen receptor, aromatase, and estrogen receptor alpha gene polymorphisms. *Bone*, (2003) **32**, 412-420.
- 16) Tajima, O., Ashizawa, N., Ishii, T., Amagai, H., Mashimo, T., Liu, L. J., Saitoh, S., Tokuyama, K., Suzuki, M. Interaction of the effects between vitamin D receptor polymorphism and exercise training on bone metabolism. *J. Appl. Physiol.*(2000) **88**, 1271-1276.
- 17) Tsuritani, I., Brooke-Wavell, K. S., Mastana, S. S., Jones, P. R., Hardman, A. E., Yamada, Y. Does vitamin D receptor polymorphism influence the response of bone to brisk walking in postmenopausal women? *Horm. Res.*(1998) **50**, 315-319.
- 18) Omasu, F., Kitagawa, J., Koyama, K., Asakawa, K., Yokouchi, J., Ando, D., Nakahara, Y. The influence of VDR genotype and exercise on ultrasound parameters in young adult Japanese women. *J. Physiol. Anthropol. Appl. Human Sci.*(2004) **23**, 49-55.
- 19) 大益史弘, 北川淳, 中原凱文. VDR 遺伝子型別に見た骨量に及ぼす歩行の影響. *体力科学*, (2001), **50**, 237-244.
- 20) Salamone, L. M., Glynn, N. W., Black, D. M., Ferrell, R. E., Palermo, L., Epstein, R. S., Kuller, L. H., Cauley, J. A. Determinants of premenopausal bone mineral density: the interplay of genetic and lifestyle factors. *J. Bone Miner. Res.*(1996) **11**, 1557-1565.
- 21) Mizunuma, H., Hosoi, T., Okano, H., Soda, M., Tokizawa, T., Kagami, I., Miyamoto, S., Ibuki, Y., Inoue, S., Shiraki, M., Ouchi, Y. Estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density at the lumbar spine of pre- and postmenopausal women. *Bone*(1997) **21**, 379-383.
- 22) Ferrari, S. L., Rizzoli, R., Slosman, D. O., Bonjour, J. P. Do dietary calcium and age explain the controversy surrounding the relationship between bone mineral density and vitamin D receptor gene polymorphisms? *J. Bone Miner. Res.*(1998) **13**, 363-370.
- 23) Kikuchi, R., Uemura, T., Gorai, I., Ohno, S., Minaguchi, H. Early and late postmenopausal bone loss is associated with BsmI vitamin D receptor gene polymorphism in Japanese women. *Calcif. Tissue Int.*(1999) **64**, 102-106.
- 24) Peacock, M., Turner, C. H., Econs, M. J., Foroud, T. Genetics of osteoporosis. *Endocr. Rev.*(2002) **23**, 303-326.
- 25) Rizzoli, R., Bonjour, J. P., Ferrari, S. L. Osteoporosis, genetics and hormones. *J. Mol. Endocrinol.*(2001) **26**, 79-94.
- 26) 健康・栄養情報研究会編: 国民栄養の現状. 平成12年厚生労働省国民栄養調査結果. 第一出版, 東京. (2000).
- 27) 友光達志. 骨粗鬆症の検査・診断: 踵骨超音波法. 日本臨床60増刊号3, (2002), 197-203.
- 28) Njeh, C. F., Fuerst, T., Diessel, E., Genant, H. K. Is quantitative ultrasound dependent on bone structure? A reflection. *Osteoporos. Int.*(2001) **12**, 1-15.
- 29) Marin, F., Gonzalez-Macias, J., Diez-Perez, A., Palma, S., Delgado-Rodriguez, M. Relationship between bone quantitative ultrasound and fractures: a meta-analysis. *J. Bone Miner. Res.*(2006) **21**, 1126-1135.
- 30) Cook, R. B., Collins, D., Tucker, J., Zioupos, P. Comparison of questionnaire and quantitative ultrasound techniques as screening tools for DXA. *Osteoporos. Int.*, (2005) **16**, 1565-1575.
- 31) Maggi, S., Noale, M., Giannini, S., Adami, S., Defeo, D., Isaia, G., Sinigaglia, L., Filipponi, P., Crepaldi, G., ESOP Study Group. Quantitative heel ultrasound in a population-based study in Italy and its relationship with fracture history: the ESOP study. *Osteoporos. Int.* (2006) **17**, 237-244.
- 32) 中弘志. QUS 定量的超音波法, 超音波骨密度測定装置: AOS-100. 日本臨床62増刊号2, (2004), 299-304.
- 33) Liu, Y. J., Shen, H., Xiao, P., Xiong, D. H., Li, L. H., Recker, R. R., Deng, H. W. Molecular genetic studies of gene identification for osteoporosis: a 2004 update. *J. Bone Miner. Res.*(2006) **21**, 1511-1535.

- 34) Hardy, G. H. Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, (1908) **28**, 49-50.
- 35) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *J. A. M. A.*(2001) **285**, 785-795.
- 36) Slemenda, C. W., Hui, S. L., Williams, C. J., Christian, J. C., Meaney, F. J., Johnston, C. C. Jr. Bone mass and anthropometric measurements in adult females. *Bone Miner.*(1990) **11**, 101-109.
- 37) Blair, S. N., Kohl, H. W. 3rd, Barlow, C. E., Paffenbarger, R. S. Jr., Gibbons, L. W., Macera, C. A. Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men. *J. A. M. A.*, (1995) **273**, 1093-1098.
- 38) Drysdale, I. P., Collins, A. L., Walters, N. J., Bird, D., Hinkley, H. J. Potential benefits of marathon training on bone health as assessed by calcaneal broadband ultrasound attenuation. *J. Clin. Densitom.*(2007) **10**, 179-183.
- 39) Yamagata, Z., Miyamura, T., Iijima, S., Asaka, A., Sasaki, M., Kato, J., Koizumi, K. Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in healthy Japanese women. *Lancet*(1994) **344**, 1027.
- 40) Viitanen, A., Karkkainen, M., Laitinen, K., Lamberg-Allardt, C., Kainulainen, K., Rasanen, L., Viikari, J., Valimaki, M. J., Kontula, K. Common polymorphism of the vitamin D receptor gene is associated with variation of peak bone mass in young finns. *Calcif. Tissue Int.*(1996) **59**, 231-234.
- 41) Suominen, H., Rakkila, P. Bone mineral density of the calcaneus in 70- to 81-yr-old male athletes and a population sample. *Med. Sci. Sports Exerc.*(1991) **23**, 1227-1233.
- 42) Mizunuma, H., Hosoi, T., Okano, H., Soda, M., Tokizawa, T., Kagami, I., Miyamoto, S., Ibuki, Y., Inoue, S., Shiraki, M., Ouchi, Y. Estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density at the lumbar spine of pre- and postmenopausal women. *Bone*(1997) **21**, 379-383.
- 43) Yamada, Y., Miyauchi, A., Goto, J., Takagi, Y., Okuizumi, H., Kanematsu, M., Hase, M., Takai, H., Harada, A., Ikeda, K. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J. Bone Miner. Res.*(1998) **13**, 1569-1576.
- 44) Yamada, Y., Harada, A., Hosoi, T., Miyauchi, A., Ikeda, K., Ohta, H., Shiraki, M. Association of transforming growth factor beta1 genotype with therapeutic response to active vitamin D for postmenopausal osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.*(2000) **15**, 415-420.
- 45) 一戸喜兵衛, 田中俊誠. 更年期の始まりと閉経齢について. *産婦人科の世界*, (1987), **39**, 841-849.
- 46) 運動所要量・運動指針の策定検討会: 健康づくりのための運動指針2006 ~生活習慣病予防のために~エクササイズガイド2006, (2006)