

《総合研究プロジェクト》

骨密度および身長に影響を及ぼす骨代謝関連遺伝子多型と
生活習慣（運動と栄養）の関連（第2報）

坂本友里*¹ 飯田薫子*² 小田宗宏*³ 佐川岳人*⁴ 田地陽一*¹

The Influence of the Vitamin D Receptor Polymorphisms and
Lifestyle on Peak Bone Mass and Height in Young Japanese Women

Yuri SAKAMOTO, Kaoruko IIDA, Munehiro ODA, Takehito SAGAWA, and Yoichi TACHI

1. 緒 言

本研究の目的は、若年女性（20～24歳）の骨密度および身長に及ぼす骨代謝関連遺伝子多型と生活習慣の関連についての検討である。

骨代謝関連遺伝子の中で最も代表的なビタミンD受容体（vitamin D receptor: VDR）遺伝子には約60個の遺伝子多型（single nucleotide polymorphism: SNP）が存在し、世界中でVDR上のSNPの遺伝子型と骨に関する研究はなされているが、一貫した結果は得られていない。研究によって結果に差が生じる理由として人種・性別・年齢・閉経後の経過期間・骨粗鬆症の有無などが挙げられている¹⁾。我々はこれまで、若年女性（20～24歳）において、VDR遺伝子の一つであるCdx2遺伝子多型によって、カルシウム摂取量と骨量の関係が異なることを明らかにした²⁾。また、VDR遺伝子の一つであるTaql, ApaI, FokI遺伝子多型は骨量および身長に影響を与えないことを明らかにしたが³⁾、SNPの直接的な影響のみであり、骨量に影響を与える要因の相互的な影響は一切考慮していない。よって、本研究においては、Cdx2遺伝子多型と同様に骨量に影響を与える要因の相互的な影響を考慮し、VDR遺伝子多型（Taql, ApaI, FokI）と骨量の関連を明らかにすることとした。

2. 実験方法

1) 対象者

本研究は、横断研究である。対象者は、東京家政大学および短期大学に通う20～24歳の女性555名とした。対象者には本研究の趣旨について書面および口頭で説明を行い、対象者の自由意志に基づく同意を得られた者のみ骨量測定、食物摂取頻度調査、アンケート調査、唾液採取を実施した。除外基準は産科治療を受けている者、データの

欠損がある者、エネルギーの過少申告、過大申告が疑われる者とし、499名を解析の対象とした。

本研究は遺伝子解析のガイドライン「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則っており、東京家政大学研究倫理委員会の承認を得ている（承認番号：板H26-04）。集めたデータは東京家政大学生活科学研究所により匿名化が行われ、個人名が公表されないよう厳重に注意がなされている。

2) 調査項目

(1) 骨量

骨量の測定は定量的超音波測定法で行った。日立アロカ株式会社AOS-100SAを用いて、右踵骨を測定した。超音波伝達速度（speed of sound: SOS）と透過指数（transmission index: TI）を測定し、骨量に相当する指標として用いる音響的骨評価値（osteo sono-assessment index: OSI）を算出した。定量的超音波測定法で測定した骨量は、二重エネルギーX線吸収測定法（dual-energy X-ray absorptiometry: DXA）で測定した骨密度と有意に相関した⁴⁾。

(2) BMI・運動習慣

アンケート調査による自己申告値を用いた。

body mass index (BMI) は体重 (kg) ÷ (身長 (m))² の式から算出し、小数点第二位以下を四捨五入した値を用いた。

運動習慣は中学校での体育以外の運動習慣を尋ね、運動習慣有群と運動習慣無群の2群に分けた。

(3) 食物摂取頻度調査

食物摂取頻度調査法の一つである food frequency questionnaire based on food groups (FFQg) を用いた。FFQgで算出したエネルギー、カルシウムは7日間の秤量記録法で算出したエネルギー、カルシウムと有意に相関した^{5,6)}。

エネルギー1,000 kcalあたりのカルシウム摂取量を用いて対象者を中央値で2群にわけ、中央値未満を低摂取である低群、中央値以上を高摂取である高群とした。

*¹ 東京家政大学 (Tokyo Kasei University)

*² お茶の水女子大学 (Ochanomizu University)

*³ 株式会社花かご (Co. Hanakago)

*⁴ エスビー食品株式会社 (S&B Foods Inc.)

(4) 遺伝子型

VDR 上の3種類の SNPs (*TaqI*, *ApaI*, *FokI*) における遺伝子型は、対象者の唾液から抽出した DNA をリアルタイム PCR にかけることによって判定した。

(i) DNA 抽出

DNA 抽出は、Oragene[®] DNA OG-500 (DNA Genotek Inc., Canada) を用いてプロトコールに従って行った。キットで採取した唾液は常温保存が可能であるため、DNA を抽出するまでは常温で保存した。抽出した DNA は 100 ng/ μ L 以下の濃度になるように滅菌 MilliQ で希釈し、 -20°C で保存した。

(ii) リアルタイム PCR

リアルタイム PCR は、Thermal Cycler Dicer[®] Real Time System (TaKaRa Bio Inc., Japan) を用いてプロトコールに従って行った。遺伝子多型検出用リアルタイム PCR 結果例は図1に示した。

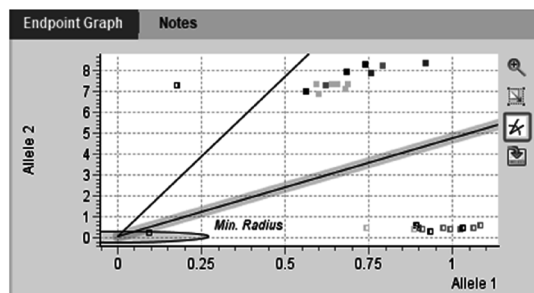


図1 遺伝子多型検出用リアルタイム PCR 結果例

3. 研究の遂行状況

これまでにも日本人の閉経前女性を対象とした研究はいくつか存在するが⁷⁻¹⁰⁾、16~44歳と年齢の幅が広く、生活習慣による骨量への影響にも変化が出ることが考えられる。本研究は被験者の年齢範囲が非常に狭く(20~24歳)、被験者の大半が20歳であった。日本では20歳未満のアルコール摂取と喫煙が法律で禁止されているため、骨量に影響を与える要因(アルコール摂取、喫煙、出産歴など)の影響を軽減することができたと考える。さらに、19~25歳の若年女性のアルコール摂取、喫煙、出産歴が骨密度に影響を与えないことも報告されている¹¹⁾。

本研究は、年齢範囲が狭い被験者において、骨量、VDR 遺伝子型、カルシウム摂取量の関連を、BMI と運動経験を考慮して明らかにすることであったが、その詳細は学術雑誌に投稿予定であり、記載を割愛する。これらの結果は、骨粗鬆症の一次予防をさらに導く可能性があると考えている。

謝 辞

本研究は生活科学研究所「総合研究プロジェクト」としての助成により実施したものであり、ご支援に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, Kalkwarf HJ, Lappe JM, Lewis R, O'Karma M, Wallace TC, Zemel BS: The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporos Int*, 27, 1281-1386 (2016).
- 2) Oono F, Sakamoto Y, Tachi Y, Mabashi-Asazuma H, Iida K: Effect of Cdx2 polymorphism on the relationship between dietary calcium intake and peak bone mass in young Japanese women. *Nutrients*, 12, 191 (2020).
- 3) 坂本友里, 飯田薫子, 小田宗宏, 佐川岳人, 田地陽一: 骨密度および身長に影響を及ぼす骨代謝関連遺伝子多型と生活習慣(運動と栄養)の関連. 東京家政大学生生活科学研究所研究報告, 第42集, 29-33 (2019).
- 4) Greenspan SL, Bouxsein ML, Melton ME, Kolodny AH, Clair JH, Delucca PT, Stek M, Faulkner KG, Orwoll ES: Precision and discriminatory ability of calcaneal bone assessment technologies. *J Bone Miner Res*, 12, 1303-1313 (1997).
- 5) 高橋啓子, 吉村幸雄, 開元多恵, 國井大輔, 小松龍史, 山本茂: 栄養素および食品群別摂取量推定のための食品群をベースとした食物摂取頻度調査票の作成および妥当性. *栄養学雑誌*, 59, 221-232 (2001).
- 6) 高橋啓子: 栄養素および食品群別摂取量を推定するための食物摂取状況調査票(簡易調査法)の作成. *栄養学雑誌*, 61, 161-169 (2003).
- 7) 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*, 23, 49-55 (2004).
- 8) Kurabayashi T, Matsushita H, Kato N, Nagata H, Kikuchi M, Tomita M, Yahata T, Honda A, Tanaka K: Effect of vitamin D receptor and estrogen receptor gene polymorphism on the relationship between dietary calcium and bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Metab*, 22, 139-147 (2004).
- 9) Funakoshi Y, Omori H, Katoh T: Relation of bone mineral density to Vitamin D Receptor gene polymorphism and lifestyle factors in Japanese female workers aged 22-44 years: A cross-sectional study. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 56, 27-33 (2010).
- 10) Lee SM, Meyer MB, Benkusky NA, O'Brien CA, Pike JW: The impact of VDR expression and regulation in vivo. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 177, 36-45 (2018).
- 11) Hirota T, Nara M, Ohguri M, Manago E, Hirota K: Effect of diet and lifestyle on bone mass in Asian young women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 55, 1168-1173 (1992).