

骨密度に及ぼす運動と遺伝的素因の相互作用

筑波大学 徳山 薫 平
(共同研究者) 同 石井 朝 夫
同 野村 武 男

Interaction of Effects of Exercise and VDR Polymorphism on Bone Mineral Density

by

Kumpei Tokuyama, Takeo Nomura
*Institute of Health and Sport Sciences,
University of Tsukuba*

Tomoo Ishii
*Institute of Clinical Medical Science,
University of Tsukuba*

ABSTRACT

The present study was designed to investigate the association between a polymorphism in vitamin D receptor (VDR) gene at the translation initiation site and mechanical loading on bone mineral density (BMD). In 237 young males, including 109 athletes engaged in weight-bearing sports, 48 competitive swimmers and 80 non-athletic controls, VDR genotypes were detected by endonuclease Fok I (FF, Ff and ff) and BMD of whole body, lumbar and femoral neck were measured. Interestingly, the differences in whole body BMD between athletes and controls depended on the VDR genotypes; enhanced BMD in weight-bearing athletes was found in FF and Ff but not in ff. When swimmers were compared with VDR genotype-matched controls, lower BMD was observed only in FF. These findings suggest that the polymorphism in VDR gene at translation initiation site may interact with mechanical loading

to influence BMD, implying a new notion that the FF genotype appears to respond more sensitive to difference in mechanical load in regulating whole body BMD rather than to be a prediction factor of the high bone density suggested in previous reports.

要 旨

ビタミンD受容体 (VDR) 遺伝子の翻訳開始部位に存在する多型 (Fok I) に着目し, 運動トレーニングに対する骨応答に及ぼす VDR 遺伝子型の影響を検討した. 重量負荷型運動トレーニングを行なっている競技者の全身骨密度を VDR 遺伝子型の一致する対照群と比較した場合の差異は FF型や Ff型の保有者間でのみ認められ, ff型保有者では VDR 遺伝子型群と対照群との間に有意差はなかった. 一方, 非重量負荷型運動と考えられる競泳選手の全身骨密度は FF型においてのみ対照群よりも低かった. これらの結果は, 重量負荷型運動競技者の全身骨密度の個体差に VDR 遺伝子型 (Fok I) が関わっており, FF型は高骨密度と関連する遺伝的素因ではなく, 重量負荷の増減に対する感受性が高い遺伝子型であることを示唆していると考えられた.

緒 言

「天性の素質」つまり遺伝的な要素が運動能力を左右する大きな因子であることは, 走行能力に基づいた選択交配を繰り返すことでサラブレッドが生産された例に端的に示されている. ヒトの運動能力においても遺伝因子の関与は十分に考えられ, その生理学的な根拠として最大酸素摂取量, 心臓容積, 筋線維タイプや体格などが遺伝因子の影響を受けていることが, 以前から双生児についての研究などによって示されてきた. 1990年代に入って, DNA レベルでの研究が本格化し¹⁷⁾, ヒトの運動能力や健康に関連する遺伝子地図の第一報が2001年に公表されている¹³⁾.

ビタミンD受容体 (VDR) 遺伝子多型は最初に骨密度との関連が確認された遺伝子マーカーであり¹¹⁾, 広く研究されてきた. また VDR 遺伝子には骨密度との相関が示唆されている多型がいくつか報告されている (図1)²⁾. 制限酵素 Fok Iで識別される多型は VDR 遺伝子の第2エクソン内の塩基配列の違いに起因しているが, 他の VDR 遺伝子多型 (Bsm I, Apa I, Taq I) とは異なり, VDR タンパクの一次構造に違いを生じる遺伝子多型であるという点で特に注目を集めている. この VDR 遺伝子型と骨密度との関係については FF型 > Ff型 > ff型という傾向があるといった報告が多いが^{1), 2), 4), 5), 6), 8), 10)}, 一致した結論には達していない.

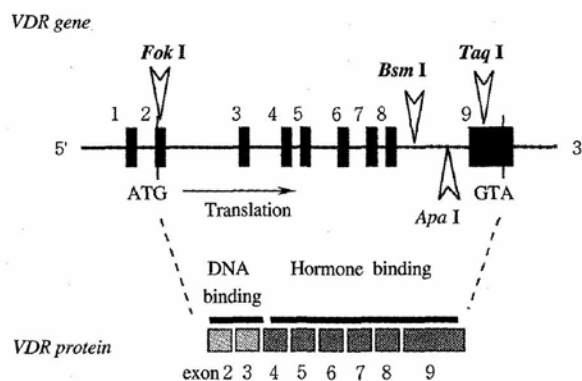


図1 VDR 遺伝子に存在する多型. おのおのを識別する制限酵素名 (Fok I, BSM I, Apa I, Taq I) で示した

骨粗鬆症をはじめとした生活習慣病においては複数の環境要因がその発症に関わっているが, 遺伝的素因の関与も指摘されており, 個人の遺伝的な体質にあわせた予防法や治療法が求められている⁷⁾. 従って, 遺伝子・環境相互作用についての理解を深めることは, 個人が薬物療法もしくは運動療法のどちらを選択するかを判断

する場合などにおいて有用な情報をもたらすことが期待される。本研究の目的は、運動トレーニング効果の個体差を規定する遺伝的背景のひとつとして、運動トレーニングに対する骨応答がVDR遺伝子型の違いによって異なるか否かを検討することである。

1. 研究方法

1.1 被検者

運動競技者157名および継続的な運動習慣を持たない非鍛練者80名を対象に行なった。なお、本研究は「筑波大学医の倫理特別委員会」の承認を受けて行なわれた。

1.2 VDR 遺伝子型解析

採取した末梢血からDNAを抽出し、PCR法により増幅した試料を制限酵素Fok Iを用いたRFLP法によってVDR遺伝子型をff型、FF型およびFf型の3タイプに分類した(図2)。

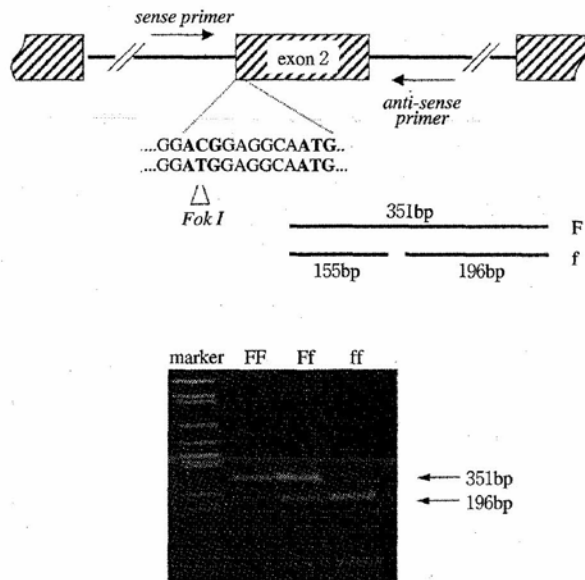


図2 RFLP法によるVDR遺伝子多型の識別。制限酵素Fok Iで認識されるDNA(ff型)は制限酵素処理によるDNAの断片長(196bp)がFF型(351bp)よりも短く、電気泳動度が大きい

1.3 骨密度および体組成測定

二重エネルギーX線吸収法(DXA: DCS3000; Aloka, Tokyo)にて腰椎(第2-第4椎骨の平均

値)、大腿骨頸部(左右の平均値)および全身の骨密度と身体組成を算出した。第3腰椎および大腿骨頸部については、次式から骨体積を概算した。なお、大腿骨頸部の骨幅(width)は前後投影面積(PA area)を前後投影の高さ(length)で除して算出した。

$$\text{腰椎:Volume} = (\text{PA area})^{3/2}$$

$$\text{大腿骨頸部:Volume} = \pi \times (\text{width}/2)^2 \times \text{length}$$

1.4 統計処理

骨密度に及ぼす体格差の影響を補正するために、ステップワイズ回帰分析を行ない、その結果に基づいて補正骨密度を算出し、対照群を基準として標準化したZ値に変換した。3群間の有意差については分散分析および多重分析によって有意差検定を行なった。加えて、VDR遺伝子型出現頻度について χ^2 検定による分割表分析を行なった。

2. 研究結果

80名の非鍛練者において、VDR遺伝子型による年齢、体格および骨密度の違いは認められなかった。骨密度に及ぼす体格の影響をステップワイズ回帰分析にて検討した結果、全身、腰椎および大腿骨頸部において身長と骨密度との相関は認められず、体重のみが各部位の骨密度との有意な相関を示していた。従って、骨密度は全ての測定部位において体重の影響を補正し、運動競技者と非鍛練者の比較をした。

2.1 運動トレーニングとVDR遺伝子型が骨密度に与える影響

6年以上の競技経験を有する競技者のうち109名が重量負荷型運動トレーニング(重量負荷型運動群; バレーボール, バasketボール, 陸上跳躍など), 48名が競泳選手(非重量負荷型運動群)であった。両運動群とも対照群と比較して除脂肪体重が有意に多く、十分にトレーニングに適応し

表1 被検者の特性

	対照群	重量負荷型運動競技者	競泳選手
被検者数	80	109	48
競技歴 (年)	2.3 ± 1.6	8.1 ± 1.2	7.3 ± 0.9
年齢 (年)	19.8 ± 1.2	21.2 ± 1.9	20.0 ± 1.7
身長 (cm)	172 ± 6	175 ± 5	174 ± 5
体重 (kg)	61.3 ± 8.4	68.6 ± 7.9	68.4 ± 6.1
除脂肪体重 (kg)	46.3 ± 5.1	54.2 ± 4.9	55.5 ± 5.5

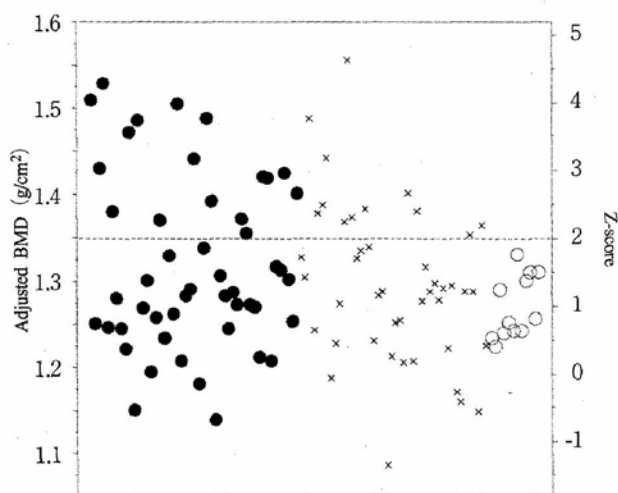


図3 重量負荷型運動競技者の全身の補正骨密度 (左軸) およびZ値 (右軸) をVDR遺伝子型別に示した。●はFF型, ○はFf型, ×はff型

ていると考えられた。また、両運動群間において体組成の差は認められなかった (表1)。

重量負荷型運動群において、体重補正した全身骨密度の平均値は対照群よりも7.2%高かったが、その範囲は-8.4~+26.5%にあった。また、29名の重量負荷型運動競技者がZ値 2.0以上であった (図3)。Z値 2.0以上であった重量負荷型運動競技者ではFF型保有者の割合が高く、Z値 2.0未満の運動競技者や対照群におけるVDR遺伝子型出現頻度とは明らかに異なっていた ($\chi^2=5.8, p=0.05$ および $\chi^2=7.0, p<0.05$)。

重量負荷型運動競技者の補正全身骨密度をVDR遺伝子型の一致する対照群と比較した場合の差はFF型やFf型の保有者間でのみ認められ、ff型保有者ではVDR遺伝子型群と対照群との間に有意差はなかった。加えて、対照群と重量負荷型運動群との補正全身骨密度の差異 (% difference) の程度はVDR遺伝子型に依存してお

り (ANOVA: $p<0.05$)、FF型を保有する重量負荷型運動競技者における全身骨密度の増大はff型よりも有意に大きかった (FF型 $8.2 \pm 7.3\%$ およびff型 $3.0 \pm 3.4\%$) (図4)。同様の傾向は腰椎においても認められFF型およびFf型においては重量負荷型運動群の補正腰椎骨密度は対照群よりも有意に高かったが、ff型においては重量負荷型運動群と対照群との間に差異は認められなかった。さらに、FF型を保有する重量負荷型運動競技者の腰椎骨密度増大 ($17.6 \pm 10.8\%$) はff型保有者で認められた差異 ($9.6 \pm 9.3\%$) よりも大きく、重量負荷型運動トレーニングによる腰椎骨密度の増大の程度はVDR遺伝子型によって異なる傾向が認められた (ANOVA: $p=0.06$)。しかし、大腿骨頸部においてはVDR遺伝子型に関わらず重量負荷型運動群では対照群よりも補正骨密度が有意に高く、骨密度増大の程度においてVDR遺伝子型の影響は認められなかった (ANOVA: $p=0.67$)。

一方、非重量負荷型運動群の全身骨密度のZ値

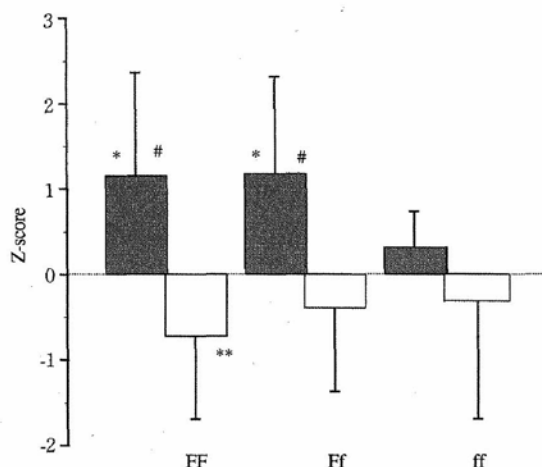


図4 重量負荷型運動競技者 (白) と非重量負荷型運動競技者 (競泳選手, 黒) の全身の補正骨密度のZ値

をVDR遺伝子型が一致している対照群と比較すると、FF型においてのみ、非重量負荷型運動群のZ値が対照群よりも有意に低いスコアを示した(図4)。これらの結果は、競技者の全身骨密度の個体差にVDR遺伝子型が関わっており、重量負荷の増減に対する感受性が高い遺伝子型であることを示唆していると考えられる。

2.2 重量負荷型運動トレーニングとVDR遺伝子型が骨形態に及ぼす影響

重量負荷型運動トレーニングに対する骨応答を骨塩量や骨の幾何学的指標(投影面積および体積)によって評価し、運動競技者の幾何学的骨構造とVDR遺伝子型との関連について横断的に検討した。被検者は、特に下半身に強い衝撃力の加わる重量負荷型の競技種目を6年以上継続しており、週5日以上専門的な運動トレーニングを行なっている競技者44名(競技歴 8.0 ± 0.9 年)および生涯競技歴の殆どない一般男子大学生44名(競技歴 1.1 ± 0.9 年)を対象とした。なお、ff型を有する被検者が2名(対照群1名、競技者群1名)と少数であったためff型を除くFF型とFf型の比較によって検討した。

重量負荷型運動競技者における腰椎骨体積の増大はFF型においてのみ認められ($p < 0.01$)、Ff型においては対照群と重量負荷型運動競技者群の間に有意な差は認められなかった。腰椎骨塩量については、FF型、Ff型とも重量負荷型運動競技者群が対照群と比較して有意に高い値を示していたが、FF型を保有する重量負荷型運動競技者ではFf型を保有する競技者よりも骨塩量が増大していた。重量負荷型運動競技者群の体格補正值をZ値に変換した結果は図5に示す通りであった。

大腿骨頸部をみると、競技者群ではVDR遺伝子型に関わらず骨体積、骨塩量ともに対照群よりも有意に増大しており、骨体積および骨塩量において遺伝子型による差異は認められなかった(図6)。

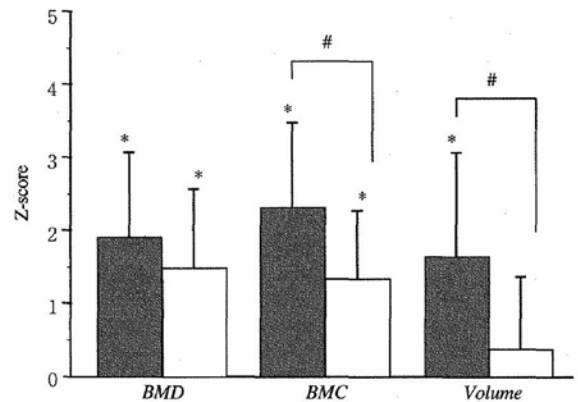


図5 重量負荷型運動競技者の腰椎の骨密度(BMD)、骨塩量(BMC)および骨体積(Volume)のZ値。FF型は黒、Ff型は白の棒グラフで示した

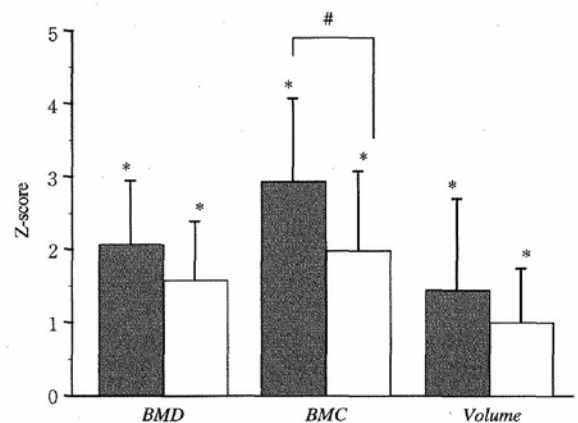


図6 重量負荷型運動競技者の大腿骨頸部の骨密度(BMD)、骨塩量(BMC)および骨体積(Volume)のZ値。FF型は黒、Ff型は白の棒グラフで示した

3. 考察

VDR多型に由来する骨量の調節機構の差異についてはほとんど解明されていないが、生活習慣に対する骨応答をVDR遺伝子型が媒介しているという結果も報告されている^{3), 9), 12), 14), 15)}。本研究は、運動トレーニングの効果の個体差における遺伝的多様性の関与について、その候補遺伝子の一つであるVDR遺伝子の翻訳開始部位に存在する多型(Fok I)に着目し、運動トレーニングに対する骨応答に及ぼすVDR遺伝子型の影響を検討することを目的に行なった。

予測されたように、十分にトレーニングされた運動競技者であっても運動トレーニングが骨密度に及ぼす影響は一様でなく、運動中の重量負荷レベルがもたらす機械的負荷の違いに対してVDR

遺伝子FF型保有者が他の遺伝子型保有者よりも敏感に応答し骨密度を適応させる可能性が示された。さらに、運動トレーニングに対する骨構造の応答を別の観点から、つまり、骨サイズや骨塩量とVDR遺伝子型との関連について検討を加えた。長期的な重量負荷型運動トレーニングは、特に腰椎の骨塩量や骨体積の変化をもたらすが、VDR遺伝子型は重量負荷型運動トレーニングに対するこれらの変化に影響を与えており、少なくとも重力方向の圧縮力に対する骨強度の増大はVDR遺伝子FF型を保有する者で顕著である可能性が示された。

機械的負荷は骨形成の増大や骨吸収の抑制、あるいはその両過程の変化という骨代謝の変動を引き起こし、結果的に骨量の維持・増加に関与していると考えられている。我々は先に、重量負荷型運動トレーニングに対する骨代謝マーカーおよび活性型ビタミンD血清濃度の変動をVDR遺伝子型の異なる被検者間で比較し、骨吸収を抑制する運動トレーニングの効果はVDR遺伝子F型（FF型）でf型（ff型、Ff型）よりも長く持続しており、VDR遺伝子FF型保有者の方がf型保有者よりも重量負荷型運動トレーニングによる骨吸収抑制効果を得やすいことを報告した¹⁶⁾。さらに、骨代謝調節ホルモンである活性型ビタミンDの血中濃度はf型でのみ上昇したにも関わらず、運動トレーニングに対する骨代謝応答はF型の方が敏感であるか、あるいはf型と同程度であったことから、VDR対立遺伝子（F型およびf型）において何らかの機能的な差異が存在している可能性が考えられた。VDR遺伝子型（Fok I）の違いは骨代謝レベルでの機械的負荷に対する応答の差異を介して部位特異的な骨形態や骨塩量の変化に関与し、結果として骨密度の違いとして顕在化すると考えられる。これまでのVDR遺伝子多型と骨密度に関しての研究は、運動条件を加味せず主に一般健常人を対象とした解析から、VDR遺伝子FF

型が高骨密度に関連していることを示すものであったが、本研究の結果は、FF型が機械的負荷に対してより骨強度の高い骨構造を再構築させる可塑性の程度に関連するという、遺伝子・環境相互作用の新しい見方の可能性を提示するものである。

VDRがビタミンD作用系を通して骨恒常性に関わっていることは事実であるが、骨応答の個体差が単独の遺伝子多型（Fok I）のみによって規定されるわけではない。また、骨密度の個体差に認められるVDR遺伝子型との関連は、VDR遺伝子多型（Fok I）と連鎖している別の遺伝子の影響による可能性も否定できない。ヒトゲノムにはおよそ142万ヶ所にもおよぶ一塩基多型（SNPs）が含まれており、こうした複数の遺伝子多型群が幾つかの異なった生理的な仕組みの違いを介して骨応答の調節に関与している可能性も十分に考えられる。遺伝的多様性が身体表現型に及ぼす影響についての研究は初期段階にあり、今後検討されるべき課題が多数残されているが、遺伝子多型と身体表現型に対する運動トレーニング効果の関連についての研究成果は将来の体育科学の分野において各個人の素質に応じたトレーニングや運動処方方の確立にも貢献することが期待される。

総括

運動トレーニングに対する骨応答は制限酵素Fok Iによって識別されるVDR遺伝子型によって異なり、FF型は重量負荷の増減に対する感受性が高い遺伝子型であることが示唆された。

謝辞

研究助成を賜りました財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚くお礼申し上げます。本研究実施に多大な御協力をいただきました筑波大学の仲村織絵氏（大学院体育科学研究科）、萬久博敏先生、椿本昇三先生（体育科学系）に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Ames S.K., Ellis K.J., Gunn S.K., Copeland K.C., Abrams S.A., Vitamin D receptor gene Fok I polymorphism predicts calcium absorption and bone mineral density in children. *J. Bone Miner. Res.*, **14**, 740-746 (1999)
- 2) Arai H., Miyamoto K., Taketani Y., Yamamoto H., Iemori Y., Morita K., Tonai T., Nishisho T., Mori S., Takeda E., A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: Effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J. Bone Miner. Res.*, **12**, 915-921 (1997)
- 3) Fujita Y., Katsumata K., Unno A., Tawa T., Tokita A., Factors affecting peak bone density in Japanese women. *Calcif. Tissue Int.*, **64**, 107-111 (1999)
- 4) Gennari L., Bencherini L., Mansani R., Masi L., Falchetti A., Morelli A., Colli E., Gonnelli S., Cepollaro C., Brandi M.L., Fok I polymorphism at translation initiation site of the vitamin D receptor gene predicts bone mineral density and vertebral fractures in postmenopausal Italian women. *J. Bone Miner. Res.*, **14**, 1379-1386 (1999)
- 5) Gross C., Eccleshall T.R., Malloy P.J., Villa M.L., Marcus R., Feldman D., The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J. Bone Miner. Res.*, **11**, 1850-1855 (1996)
- 6) Harris S.S., Eccleshall T.R., Gross C., Dawson-Hughes B., Feldman D., The vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok I) and bone mineral density in premenopausal American black and white women. *J. Bone Miner. Res.*, **12**, 1043-1048 (1997)
- 7) 檜垣靖樹, 身体活動と生活習慣病, 身体活動と遺伝子. *日本臨床*, **58**, 83-88 (2000)
- 8) Kanan R.M., Varanasi S.S., Francis R.M., Parker L., Datta H.K., Vitamin D receptor gene start codon polymorphism (Fok I) and bone mineral density in healthy male subjects. *Clin. Endocrinol.*, **53**, 93-98 (2000)
- 9) Kiel D.P., Myers R.H., Cupples L.A., Kong X.F., Zhu X.H., Ordovas J., Schaefer E.J., Felson D.T., Rush D., Wilson P.W.F., Eisman J.A., Holick M.F., The Bsm I vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (bb) influences the effect of calcium intake on bone mineral density. *J. Bone Miner. Res.*, **12**, 1049-1057 (1997)
- 10) Lucotte G., Mercier G., Burckel A., The vitamin D receptor Fok I start codon polymorphism and bone mineral density in osteoporotic postmenopausal French women. *Clin. Genet.*, **56**, 221-224 (1999)
- 11) Morrison N.A., Cheng Q.J., 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*, **367**, 284-287 (1994)
- 12) 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*, **50**, 237-244 (2001)
- 13) Rankinen T., Pérusse L., Rauramaa R., Pivera M.A., Wolfarth B., Bouchard C., The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **33**, 855-867 (2001)
- 14) Rubin L.A., Hawker G.A., Peltekova V.D., Fielding L.J., Ridout R., Cole D.E.C., Determinants of peak bone mass: Clinical and genetic analyses in a young female Canadian cohort. *J. Bone Miner. Res.*, **14**, 633-643 (1999)
- 15) 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.*, **11**, 1557-1565 (1996)
- 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.*, **88**, 1271-1276 (2000)
- 17) 徳山薫平, 仲村織絵, 奈良典子, 運動能力の素質に関連する遺伝子, 筑波大学体育科学系紀要, **4**, 39-45 (2001)