

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07593

研究課題名(和文)血管内皮細胞増殖因子(VEGF)が骨代謝の生理的多型性に及ぼす影響

研究課題名(英文)Effect of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) on physiological polymorphism of bone metabolism

研究代表者

安部 恵代 (ABE, Yasuyo)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授

研究者番号：90372771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の骨への影響を明らかにするため、2017年に調査に参加した地域在住中高年男性611名、女性1111名を対象に、VEGF遺伝子多型と、骨量・骨代謝マーカーなどを調査した。解析の結果、交絡因子を調整後、女性ではVEGF -583C/T多型と骨量・骨代謝マーカーに関連は見られなかったが、70歳未満の男性において、TT群で骨形成マーカーが高い傾向があり、70歳以上の男性において、CC群で骨量が高い傾向が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VEGF遺伝子多型は、女性では骨との関連は見られなかったが、男性において、Tアレルが骨に不利な影響を及ぼす可能性が示唆された。不明な点も多い男性の骨粗鬆症の病態生理の理解に寄与するものと考えられた。VEGF遺伝子多型と骨の関連をみた研究は、数少なく、日本ではまだない中、本研究はVEGF遺伝子多型と骨の関連の生理的多型性を、関連因子を考慮して検討したものであり、人類学的に意義がある。

研究成果の概要(英文)：The study objective was to elucidate the effect of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) on bone. The subjects were community-dwelling men (n=611) and women (n=1,111), whose VEGF gene SNP (-583C/T), bone mass, bone metabolism markers, and confounding factors were measured. After adjusting for confounding factors, VEGF SNP was not associated with bone mass or bone metabolism markers in women. However, in men of age <70, TT type showed a borderline association with higher bone turnover, whereas in men of age ≥70, CC type showed a borderline association with higher bone mass.

研究分野：骨代謝学、地域保健学

キーワード：血管内皮細胞増殖因子 骨量 骨代謝マーカー 生理的多型性 遺伝子多型

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は骨量減少、骨質の低下から、骨強度の低下をきたす疾患であり、それに伴う脆弱性骨折は、高齢者の日常生活動作を低下させ、寝たきりの原因にもなるため、社会的な問題となっている。

骨組織では、骨強度を保つため常に、破骨細胞による骨吸収とそれに続く、骨芽細胞による骨形成からなる、骨リモデリングが行われている。骨リモデリングは、様々な局所及び全身の因子により緻密にコントロールされている。骨格の形成、成長、及び骨リモデリングの全ての段階で、血管は重要な役割を果たしている。すなわち、骨組織には血管が入り込んでおり、骨芽細胞及び破骨細胞の前駆細胞、成長因子、分化誘導因子などは、血液を介して、骨組織に供給される。さらに、骨組織は、骨髄に接しており、骨組織と血液系は、切っても切れない関連があると考えられるようになった[1]。(Chim SM et al. Cytokine Growth Factor Rev 2013)

血管内皮細胞増殖因子(VEGF)は血管内皮細胞に働く強力な血管新生因子である。悪性腫瘍の予後因子としての役割や[2]、糖尿病性網膜症[3]、腎不全[4]などに重要な役割を果たしていることが報告されてきているが、一方で、近年、VEGFが、骨芽細胞、破骨細胞の分化を促進させることが報告され、骨代謝においても重要な役割を担うことが注目されてきた。

VEGFが、骨芽細胞・骨細胞で産生されており、その産生は、これまでわかっている、BMP、ビタミンD3、TGF- β などの、骨代謝調節因子により制御されていることが報告されている。さらに、VEGF受容体は、骨芽細胞、破骨細胞ともに発現しており、VEGFは骨芽細胞の分化・増殖を刺激、脂肪細胞への分化を抑制することが、マウスにおける実験で示唆された。またVEGFは破骨細胞形成を刺激し、その作用は、これまで破骨細胞形成に必須とされている液性因子、M-CSFの作用を代替できることが報告されており、骨芽細胞・破骨細胞双方の分化・増殖において、VEGFが重要な働きを示していることが示唆されている[5]。(Liu Y et al. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 2014)

しかし、生理的あるいは骨量減少に関わる状態において、VEGFが実際に骨量減少に対して、防御的に働いているのか否かについては未だ明らかでない。さらに一般住民におけるVEGF遺伝子多型に関する疫学的調査は、ほとんどなく、骨代謝との関連についての、日本人におけるエビデンスはない。

2. 研究の目的

血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の骨量・骨代謝に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。骨粗鬆症は、骨折から、日常生活動作の困難や生活の質の低下につながり、高齢社会における重要課題である。VEGFは、血管新生に関わる因子であり、様々な疾患における役割が研究されてきている。近年、VEGFが骨組織で産生され、骨代謝調節因子により制御されているという、実験レベルの報告がされており、骨代謝における役割が注目される中、VEGF遺伝子多型について、中高齢者を対象に疫学的に検討された研究はほとんどなく、骨代謝との関連についての報告は日本ではまだない。今回、40歳以上の男女を対象に、VEGF遺伝子多型と骨量、骨代謝マーカーなどの関連における生理的多型性を、体格、生活習慣などの要因を含めて検討することを目的とした。

3. 研究の方法

長崎県五島市における既存の多施設多目的コホート研究のうち、2017年度の参加者 1722名（男性 611名、女性 1111名）を対象とした。

末梢血単核球由来の DNA を採取し、血清 VEGF レベルに影響することが報告されている[6, 7]、VEGF 遺伝子の-583 C/T 多型：rs3025020 を検討した。

血清採取を行い、骨代謝マーカーである骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)・骨型酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRACP-5b)を測定。踵骨超音波法により、BUA (Broadband Ultrasound Attenuation/超音波減衰定数)および SOS (Speed of Sound/超音波伝播速度)を測定した。喫煙・飲酒の有無についての質問紙調査及び、身体測定（身長、体重）を行った。

欠損値のあるものを除外した 1084 名（男性 358 名、女性 726 名）を最終解析の対象とした。BAP は正規分布を示さなかったため、対数変換して解析した。解析には SPSS version 20.0 を用いた。

4. 研究成果

対象者の属性(n=1084)を表 1 に示す。男女別に比較したところ、男性では女性に比べて、有意に身長が高く、体重が重く、BMI が大きかった。SOS、BUA は男性で有意に高く、TRACP-5b は男性で有意に低かった。BAP は男女で有意差は見られなかった。喫煙あり、飲酒ありの割合は、男性で有意に高かった。

表1：対象者の属性

	男性 (n=358)	女性 (n=726)	p value
	平均 ± 標準偏差		
年齢 (歳)	68.1 ± 10.8	67.2 ± 10.5	0.183
身長 (cm)	164.5 ± 6.63	152.7 ± 6.02	<0.001
体重 (kg)	63.2 ± 9.82	51.5 ± 8.73	<0.001
BMI (kg/m ²)	23.3 ± 3.00	22.1 ± 3.39	<0.001
SOS	1544.3 ± 31.8	1526.3 ± 27.4	<0.001
BUA	110.8 ± 13.8	94.2 ± 12.2	<0.001
TRACP-5b	213.2 ± 153.1	277.0 ± 153.9	<0.001
log(BAP) (n=1013)	2.61 ± 0.31	2.63 ± 0.39	0.302
	人数 (%)		p value
喫煙あり	74 (20.7)	26 (3.6)	<0.001
飲酒あり	206 (57.5)	120 (16.5)	<0.001

t検定

VEGF 遺伝子の-583C/T 多型 (rs3025020) の分布を表 2 に示す。男性 358 名のうち、CC は 201 名 (56.1%)、CT は 127 名 (35.5%)、TT は 30 名 (8.4%)、女性 726 名のうち、CC は 375 名 (51.7%)、CT は 284 名 (39.1%)、TT は 67 名 (8.9%) であり、Hardy-Weinberg 平衡からの有意な逸脱を示さなかった。

表2：VEGF遺伝子多型の分布

	男性 (n=358)	女性 (n=726)	合計
	人数 (%)		
VEGF SNP CC	201 (56.1)	375 (51.7)	576 (53.1)
CT	127 (35.5)	284 (39.1)	411 (37.9)
TT	30 (8.4)	67 (9.2)	97 (8.9)

χ²検定

女性において、CC、CT、TT の三群を、一元配置分散分析 (ANOVA) を用いて比較したところ、TT 群で身長が高く、体重が重かった。年齢、BMI、SOS、BUA、TRACP-5b、BAP に有意差は見られなかった。また 2 検定の結果、三群における喫煙、飲酒有の割合に有意差は見られなかった。(表 3)

男性においては、SOS 及び BUA が、CT 群で CC 群に比べて低い傾向が見られた。年齢、身長、体重、BMI、TRACP-5b、BAP に有意差は見られなかった。また 2 検定の結果、三群における喫煙、飲酒有の割合にも有意差は見られなかった。(表 4)

表3: 女性におけるVEGF遺伝子多型と骨量・骨代謝マーカー、生活習慣

	CC (n=375)	CT (n=284)	TT (n=67)	p value
	平均 ± 標準偏差			
年齢 (歳)	67.8 ± 10.1	66.4 ± 11.1	66.8 ± 9.90	0.269
身長 (cm)	152.2 ± 5.87	153.0 ± 6.19	154.2 ± 5.87*	0.031
体重 (kg)	50.7 ± 8.76	52.1 ± 8.67*	53.5 ± 8.47*	0.019
BMI (kg/m ²)	21.9 ± 3.37	22.3 ± 3.41	22.5 ± 3.36	0.163
SOS	1525.3 ± 26.4	1528.3 ± 28.6	1523.3 ± 27.3	0.240
BUA	93.4 ± 12.1	95.4 ± 12.6	93.53 ± 10.6	0.105
TRACP-5b	278.6 ± 151.4	279.7 ± 157.9	256.1 ± 151.2	0.506
log(BAP) (n=698)	2.63 ± 0.39	2.64 ± 0.39	2.63 ± 0.36	0.881
	人数 (%)			p value
喫煙あり	10 (2.67)	15 (5.28)	1 (1.49)	0.110
飲酒あり	54 (14.4)	52 (18.3)	14 (20.9)	0.272

ANOVA, χ^2 検定

表4: 男性におけるVEGF遺伝子多型と骨量・骨代謝マーカー、生活習慣

	CC (n=201)	CT (n=127)	TT (n=30)	p value
	平均 ± 標準偏差			
年齢 (歳)	67.4 ± 10.7	69.0 ± 10.9	68.9 ± 10.1	0.376
身長 (cm)	164.6 ± 6.75	164.2 ± 6.64	164.2 ± 5.95	0.843
体重 (kg)	64.0 ± 10.2	62.5 ± 9.10	61.2 ± 9.87	0.179
BMI (kg/m ²)	23.6 ± 3.15	23.1 ± 2.66	22.6 ± 3.18	0.168
SOS	1547.0 ± 32.7	1538.6 ± 28.8*	1550.4 ± 35.4	0.035
BUA	112.5 ± 13.5	107.8 ± 13.3*	112.1 ± 16.2	0.010
TRACP-5b	200.3 ± 139.3	233.8 ± 162.2	212.6 ± 193.4	0.156
log(BAP) (n=315)	2.60 ± 0.30	2.60 ± 0.32	2.73 ± 0.29	0.119
	人数 (%)			p value
喫煙あり	34 (16.9)	34 (26.8)	6 (20.0)	0.245
飲酒あり	122 (60.7)	66 (52.0)	18 (60.0)	0.107

ANOVA, χ^2 検定

共分散分析を用いて VEGF 遺伝子多型と骨量、骨代謝マーカーの関連を検討した。男性において、年齢による交互作用が見られたため、70 歳未満と 70 歳以上にわけて解析した。女性において、70 歳未満、70 歳以上とも、モデル 1 (年齢、BMI で調整) モデル 2 (年齢、BMI、喫煙・飲酒の有無で調整) にて、VEGF 遺伝子多型と骨量、骨代謝マーカーに有意な関連は認められなかった。(表 5、表 6)

表5: 女性(70歳未満)におけるVEGF遺伝子多型と骨量

	CC (n=212)	CT (n=168)	TT (n=39)	モデル 1	モデル 2
	平均 ± 標準偏差			p value	p value
SOS	1533.9 ± 21.1	1535.9 ± 27.4	1531.9 ± 27.4	0.795	0.705
BUA	97.1 ± 12.5	98.7 ± 12.7	96.5 ± 10.8	0.737	0.789
TRACP-5b	258.3 ± 140.9	256.3 ± 166.1	245.2 ± 158.7	0.815	0.746
log(BAP) (n=397)	2.65 ± 0.39	2.66 ± 0.39	2.68 ± 0.34	0.660	0.579

表6: 女性(70歳以上)におけるVEGF遺伝子多型と骨量

	CC (n=163)	CT (n=116)	TT (n=28)	モデル 1	モデル 2
	平均 ± 標準偏差			p value	p value
SOS	1514.1 ± 20.7	1517.4 ± 26.8	1511.4 ± 22.6	0.164	0.148
BUA	88.7 ± 9.85	90.7 ± 11.0	89.4 ± 8.94	0.376	0.361
TRACP-5b	305.1 ± 160.8	313.7 ± 139.0	271.3 ± 141.2	0.412	0.437
log(BAP) (n=301)	2.59 ± 0.39	2.62 ± 0.38	2.58 ± 0.39	0.805	0.824

ANCOVA

表7: 男性(70歳未満)におけるVEGF遺伝子多型と骨量

	CC (n=112)	CT (n=63)	TT (n=16)	モデル 1	モデル 2
	平均 ± 標準偏差			p value	p value
SOS	1549.2 ± 32.1	1547.2 ± 23.6	1559.9 ± 37.9	0.295	0.291
BUA	113.4 ± 12.6	110.5 ± 11.7	116.7 ± 15.1	0.118	0.145
TRACP-5b	161.7 ± 121.8	175.1 ± 129.4	116.4 ± 99.5	0.242	0.217
log(BAP) (n=165)	2.57 ± 0.29	2.58 ± 0.33	2.76 ± 0.31	0.068	0.076

表8: 男性(70歳以上)におけるVEGF遺伝子多型と骨量

	CC (n=89)	CT (n=64)	TT (n=14)	モデル 1	モデル 2
	平均 ± 標準偏差			p value	p value
SOS	1544.3 ± 33.4	1530.1 ± 31.1*	1539.5 ± 30.0	0.042	0.040
BUA	111.5 ± 14.5	105.3 ± 14.3*	106.7 ± 16.2	0.080	0.085
TRACP-5b	249.0 ± 145.2	291.6 ± 171.2	322.6 ± 218.1	0.197	0.205
log(BAP) (n=160)	2.64 ± 0.31	2.62 ± 0.32	2.69 ± 0.29	0.742	0.719

ANCOVA

70 歳未満の男性において、モデル 1 (年齢、BMI で調整) モデル 2 (年齢、BMI、喫煙・飲酒の有無で調整) とも、血清 VEGF 高値と関連するとされる TT 群で BAP が高い傾向がみられた。VEGF 遺伝子多型と骨量には有意な関連は見られなかった。70 歳以上の男性では、CT 群で SOS が有意に低く、BUA が低い傾向がみられた。VEGF 遺伝子多型と骨代謝マーカーに有意な関連は認められなかった。(表 5、表 6)

VEGF が骨代謝において非常に重要な役割を担うことが、基礎的研究で示唆される中、一般集団において VEGF と骨量・骨代謝の関連を検討した疫学研究は数少ない。トルコの 35 名の閉経後骨粗鬆症の患者と 30 名の対照群において、患者対照研究が行われ、閉経後骨粗鬆症患者で、血清 VEGF レベルが低かったと報告した[8]。イギリスの 252 名の閉経後女性を対象とした研究では、遺伝子多型及びカルシウム摂取量と血清 VEGF の関連がみられたが、血清 VEGF と骨量の関連はみられなかった[9]。

本研究では、女性においては、VEGF 遺伝子の-583 C/T 多型と骨量・骨代謝の有意な関連は指摘できなかったが、男性では、70 歳未満において、TT 群で骨形成マーカーである BAP が高く、70 歳以上において、CC 群に比べ CT 群で超音波骨量指標 (SOS, BUA) が低かったことから、T アレルを有することが、骨量・骨代謝に不利な影響を及ぼす可能性が考

えられた。しかし、年齢との交互作用の存在や、性差がみられることから、VEGF の骨への影響は、複雑な生理的多型性を示していることが示唆される。今回検討していない関連因子（性ホルモン、血中ビタミン D レベルなど）の関連も、今後考慮すべきと考える。

今回、当初予定では血清 VEGF を測定する予定であったが、解析に耐えるデータが得られず断念した。要因としては、採取済みの検体の処理が、不適切であった可能性、対象が特定健康診査受診者であり、血清 VEGF レベルが低かった可能性などが考えられる。今回、VEGF 遺伝子-583 C/T 多型のうち、血清 VEGF 高値に関連すると報告されている T アレルを有することが、特に男性において骨代謝マーカー高値、骨量低下に関連していることが示唆された。本遺伝子多型と骨の関連をみた研究は他にないが、この関連が、血清 VEGF レベルの変化を介しているのかどうかは、不明であり、今後さらに研究をすすめるとともに、骨折発生なども含めて検討し、研究の発展につなげていきたい。

<引用文献>

1. Chim SM, Tickner J, Chow ST, Kuek V, Guo B, Zhang G, Rosen V, Erber W, Xu J (2013) Angiogenic factors in bone local environment. *Cytokine Growth Factor Rev* 24:297-310
2. Ishigami SI, Arie S, Furutani M, Niwano M, Harada T, Mizumoto M, Mori A, Onodera H, Imamura M (1998) Predictive value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in metastasis and prognosis of human colorectal cancer. *Br J Cancer* 78:1379-1384
3. Osaadon P, Fagan XJ, Lifshitz T, Levy J (2014) A review of anti-VEGF agents for proliferative diabetic retinopathy. *Eye (Lond)* 28:510-520
4. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Zeeuw D, Vriese AS (2004) The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int* 65:2003-2017
5. Liu Y, Olsen BR (2014) Distinct VEGF functions during bone development and homeostasis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 62:363-368
6. Al-Habboubi HH, Sater MS, Almawi AW, Al-Khateeb GM, Almawi WY (2011) Contribution of VEGF polymorphisms to variation in VEGF serum levels in a healthy population. *Eur Cytokine Netw* 22:154-158
7. Almawi WY, Gammoh E, Malalla ZH, Al-Madhi SA (2016) Analysis of VEGFA Variants and Changes in VEGF Levels Underscores the Contribution of VEGF to Polycystic Ovary Syndrome. *PLoS One* 11:e0165636
8. Senel K, Baykal T, Seferoglu B, Altas EU, Baygutalp F, Ugur M, Kiziltunc A (2013) Circulating vascular endothelial growth factor concentrations in patients with postmenopausal osteoporosis. *Arch Med Sci* 9:709-712
9. Costa N, Paramanathan S, Mac Donald D, Wierzbicki AS, Hampson G (2009) Factors regulating circulating vascular endothelial growth factor (VEGF): association with bone mineral density (BMD) in post-menopausal osteoporosis. *Cytokine* 46:376-381

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nishimura, T. Arima, K. Abe, Y. Kanagae, M. Mizukami, S. Okabe, T. Tomita, Y. Goto, H. Hasegawa, M. Sou, Y. Horiguchi, I. Aoyagi, K.	4. 巻 46
2. 論文標題 Relationship between bone turnover markers and the heel stiffness index measured by quantitative ultrasound in postmenopausal Japanese women	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Hum Biol	6. 最初と最後の頁 330-334
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/03014460.2019.1607552	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishimura, T. Arima, K. Abe, Y. Kanagae, M. Mizukami, S. Okabe, T. Tomita, Y. Goto, H. Horiguchi, I. Aoyagi, K.	4. 巻 97
2. 論文標題 Relationship between bone turnover markers and the heel stiffness index measured by quantitative ultrasound in middle-aged and elderly Japanese men	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e9962
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MD.00000000000009962	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka, N. Arima, K. Nishimura, T. Tomita, Y. Mizukami, S. Okabe, T. Abe, Y. Kawashiri, S. Y. Uchiyama, M. Honda, Y. Tsujimoto, R. Kanagae, M. Osaki, M. Aoyagi, K.	4. 巻 39
2. 論文標題 Vitamin K deficiency, evaluated with higher serum ucOC, was correlated with poor bone status in women	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Physiol Anthropol	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40101-020-00221-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Abe Y, Nishimura T, Mizukami S, Aoyagi K
2. 発表標題 Efficiency of the Combining Use of Osteoporosis Screening Tool (OST) and FRAX in Screening Women with Low Bone Mass.
3. 学会等名 ASBMR 2019 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安部恵代, 飯田 充瑛, 西村 貴孝, 富田 義人, 水上 諭, 有馬 和彦, 青柳 潔
2. 発表標題 地域在住中高年女性での低骨量スクリーニングにおけるFOSTAおよびFRAXの有用性
3. 学会等名 第29回九州農村医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯田 充瑛, 安部恵代, 西村 貴孝, 富田 義人, 水上 諭, 有馬 和彦, 青柳 潔
2. 発表標題 地域在住中高年齢女性における踵骨骨量とFOSTAおよびFRAXの関連
3. 学会等名 日本生理人類学会第79回大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	有馬 和彦 (ARIMA Kazuhiko) (30423635)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師 (17301)	
研究 分担者	西村 貴孝 (NISHIMURA Takayuki) (80713148)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教 (17301)	