

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18547

研究課題名(和文)ALDH2遺伝子多型におけるHR-pQCTを用いた骨微細構造と骨形成促進剤の関連

研究課題名(英文)The association between bone microarchitecture and bone anabolic agent assessed by HR-pQCT in ALDH2 polymorphism

研究代表者

田島 貴文(Tajima, Takafumi)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：40778156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：変異型アルデヒド脱水素酵素2(ALDH2)遺伝子は日本において45%の頻度で見られ、骨粗鬆症のリスクである。本研究の目的は、高解像度CT検査(HR-pQCT)を用いて橈骨および脛骨遠位部の骨微細構造のALDH2遺伝子多型における違いを明らかにすることである。ホモ正常型ALDH2遺伝子保有者と比較し、変異型ALDH2保有者では脛骨の海綿骨骨密度(Tb.vBMD)、骨梁体積密度(BV/TV)、骨梁幅(Tb.Th)が有意に低値であったが、脛骨皮質骨、橈骨海綿骨、橈骨皮質骨に違いはなかった。すなわち、変異型ALDH2保有者では、上肢より下肢の海綿骨の骨微細構造の低下がある可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人に多く認められる変異型ALDH2遺伝子保有者は骨粗鬆症や大腿骨近位部骨折を合併する頻度が高いが、その骨微細構造をHR-pQCTを用いて評価した報告はない。我々の過去の研究でAldh2ノックアウトマウスでは、荷重・非荷重環境において野生型マウスと異なる骨反応がみられたが、ヒトにおいても非荷重骨である橈骨では変化なく、荷重骨である脛骨のみで海綿骨の微細構造の劣化を認め、脛骨皮質骨には変化がなかった。本研究結果から、変異型ALDH2遺伝子保有者において、特に荷重骨の海綿骨劣化を予防することで骨折リスクの低減に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：The mutant aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) gene is found at a 45% frequency in Japanese and reported to be a risk for osteoporosis. The purpose of this study was to determine differences in ALDH2 gene polymorphisms in bone microstructure of the distal radius and tibia using high-resolution computed tomography (HR-pQCT). Compared to normal ALDH2 gene carriers, mutant ALDH2 gene carriers had lower trabecular volumetric bone mineral density (Tb.vBMD), trabecular bone volume (BV/TV), and trabecular thickness (Tb.Th) in the tibia, however no differences in the cortical bone of the tibia and trabecular and cortical bone of the radius. There might be a reduction in trabecular bone microstructure in the lower limb than in the upper limb in mutant ALDH2 gene carriers.

研究分野：整形外科学

キーワード：ALDH2遺伝子 高解像度CT検査 骨微細構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) はアルコール代謝の中でアセトアルデヒドを酢酸へ分解する酵素であり、ミトコンドリアマトリックスに発現するタンパク質である。ALDH2 が欠損すると、アルコールの摂取によりアセトアルデヒドの血中濃度が上昇し、顔が赤くなる。ALDH2 はアセトアルデヒドの代謝だけではなく、体内由来のアルデヒドである 4-hydroxynoneral (4HNE) や malondialdehyde (MDA) の代謝能を保持することや、酸化ストレスに対する防御機構の働きがあることが報告されている (A Matsumoto, Alcohol, 2007)。

ALDH2 は遺伝子多型が報告されており、正常型 ALDH2 遺伝子ホモ接合体、ヘテロ接合体、変異型 ALDH2 ホモ接合体が存在する。変異型 ALDH2 遺伝子は、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道癌、冠動脈疾患など様々な疾患との関連性が報告されている。欧米のコカソイドやアフリカのネグロイドでは変異型 ALDH2 遺伝子はほとんどみられず、アジア系人種であるモンゴロイドに特有な遺伝子欠損で、日本人の約 45% が変異型 ALDH2 遺伝子を保有すると報告されている。

近年、ALDH2 遺伝子と骨代謝に関して、ALDH2 遺伝子多型において骨粗鬆症の頻度が高いことが報告されている。地域住民を対象とした踵骨骨密度検診において、変異型 ALDH2 遺伝子保有者は、ホモ正常型 ALDH2 遺伝子保有者と比較して有意に低値であること (J Yamaguchi, Osteoporos Int, 2006)、また、大腿骨近位部骨折の発生率が有意に高く、また骨粗鬆症の発症とも有意に相関があったこと (K Takashima, Sci Rep, 2018) が報告されている。

我々は、マウスの研究と同様に、閉経後女性においても、変異型 ALDH2 遺伝子保有者では大腿骨骨幹部の皮質骨厚は大きい形態を示した。その一方、大腿骨遠位骨幹端部では、変異型 ALDH2 遺伝子保有者では皮質骨厚が小さい形態を示した。実際に一般的に骨折を起こす部位は、このような皮質骨が薄く、海綿骨が豊富な骨構造の部位であり、この形態の違いが変異型 ALDH2 遺伝子保有者において骨折の頻度が高い原因になることが推測された。しかし、そのより詳細な骨構造は不明である。すなわち、変異型 ALDH2 遺伝子保有者における骨折頻度の上昇の理由は、より解像度の高い画像でしか分からない皮質骨、および海綿骨の骨微細構造に違いがあるのではないかと「問い」を立てた。

また基礎研究において、PTH 受容体の発現が高い Aldh2KO マウスでは野生型マウスよりも有意に PTH 製剤による骨量増加効果が高いことがわかった (K Kosugi, Bone, 2020)。しかし、ヒトにおけるその効果は未だ未確認である。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、まずヒトの ALDH2 遺伝子多型と骨の構造に関して、通常の CT よりも 10 倍ほどの解像度を有する、HR-pQCT (high resolution peripheral quantitative CT) を用いて、ALDH2 遺伝子多型と、橈骨および脛骨の骨微細構造の関連性を調査することを目的とした。さらに、ヒトにおいても PTH 製剤の骨量増加効果を確かめるため、ALDH2 遺伝子多型と PTH 製剤投与による骨量増加効果の関連性を prospective に調査することを、目的の 2 つ目とした。

今回ヒトの骨構造で評価を行う画像は HR-pQCT である。この HR-pQCT は、ボクセルサイズ 61  $\mu\text{m}$  の高い解像度を持つ四肢用 CT であり、ヒト生体に対する骨微細構造の非侵襲的な解析が可能である。

### 3. 研究の方法

**対象:** 骨粗鬆症に対して治療を受ける閉経後女性で、ALDH2 活性型 20 例、ALDH2 低もしくは不活性型 20 例が対象である。さらに PTH 製剤による骨粗鬆症治療が望ましいと判断された症例に対しては、治療開始後 1 年後に再評価を行う。以下の項目の検討を行う。

#### (1) 患者背景

身長、体重、BMI、喫煙歴、既往歴 (DM、CKD、RA、骨折歴など)、骨粗鬆症治療歴 (過去・および現在の骨粗鬆症薬内服)

#### (2) 唾液による ALDH2 遺伝子判定

DNA 採取キット (Orangene DNA<sup>R</sup>, DNA genotek Inc., Canada) を使用、RT-PCR 法を用いて遺伝子決定

#### (3) HR-pQCT による橈骨遠位部および脛骨遠位部の皮質骨・海綿骨骨微細構造

1) 骨密度: 全領域骨密度 (Tt.vBMD, mg/cm<sup>3</sup>)、皮質骨骨密度 (Ct.vBMD, mg/cm<sup>3</sup>)、海綿骨骨密度 (Tb.vBMD, mg/cm<sup>3</sup>)、2) 皮質骨微細構造: 皮質骨厚 (Ct.Th, mm)、皮質骨多孔性 (Ct.Po, %)、3) 海綿骨微細構造: 骨梁体積密度 (BV/TV, %)、骨梁数 (Tb.N, 1/mm)、骨梁幅 (Tb.Th, mm)、骨梁間距離 (Tb.Sp, mm)

初診時に撮影した HR-pQCT を、正常型ホモ ALDH2 遺伝子保有者と、変異型 ALDH2 遺伝子保有者の 2 群間で、橈骨遠位部および脛骨遠位部の皮質骨・海綿骨骨微細構造の違いを比較検討して、骨微細構造の特徴を明らかにする。

#### (4) 骨代謝マーカーを含む血液検査

初診時: Ca, P, Alb, TRACP-5b, intact-P1NP (total P1NP), 25OHD

### 4. 研究成果

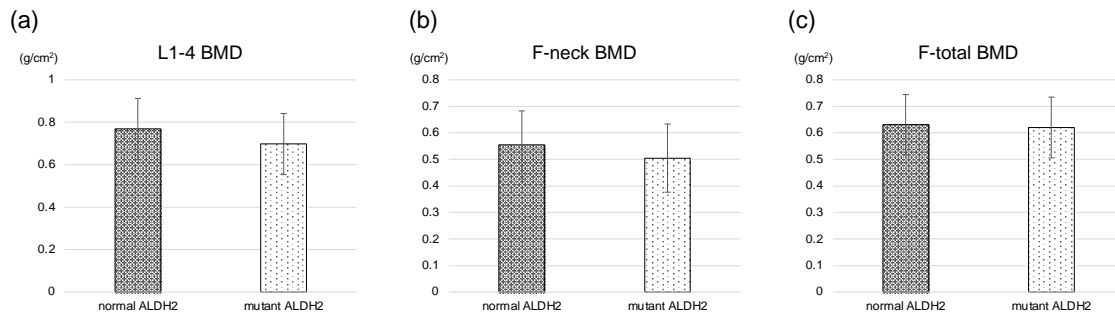
#### (1) 患者背景、血液検査

ALDH2 遺伝子型が RT-PCR 法で判明したのは 60 例で、ホモ正常型 ALDH2 遺伝子保有者は 30 例、変異型 ALDH2 遺伝子保有者は 30 例であった。各群の年齢、身長、体重、脆弱性骨折の既往、骨粗鬆症治療歴に有意差はなかった。血液検査においては、骨形成マーカーである total P1NP は変異型 ALDH2 遺伝子保有者で高い傾向にあり、骨吸収マーカーである TRACP-5b と血中ビタミン D 濃度を表す 25(OH)D は変異型 ALDH2 遺伝子保有者で有意に高値であった。その他、補正カルシウム値、リン値、eGFR は有意差はなかった。

		Normal ALDH2 gene (n=30)	Mutant ALDH2 gene (n=30)	p value
Age	(years)	71.6 ± 12.1	68.4 ± 11.9	0.15
Height	(cm)	151.6 ± 5.7	152.9 ± 5.8	0.20
Weight	(kg)	48.3 ± 7.7	48.7 ± 6.8	0.80
BMI	(kg/m <sup>2</sup> )	21.0 ± 3.2	20.9 ± 3.3	0.78
History of fragility fracture	(n, %)	5 (16.7)	6 (20.0)	0.74
History of osteoporosis treatment	(n, %)	2 (6.7)	3 (10.0)	0.64
Total P1NP	(µg/L)	54.3 ± 23.0	75.1 ± 52.2	0.07
TRACP-5b	(mU/dL)	391 ± 142	484 ± 215	0.04
25(OH) vitamin D	(ng/mL)	14.4 ± 4.4	17.6 ± 7.1	0.04
Corrected Calcium	(mg/dL)	9.2 ± 0.3	9.3 ± 0.4	0.15
Phosphate	(mg/dL)	3.7 ± 0.4	3.8 ± 0.4	0.28
eGFR	(mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	70.5 ± 13.8	71.9 ± 17.8	0.60

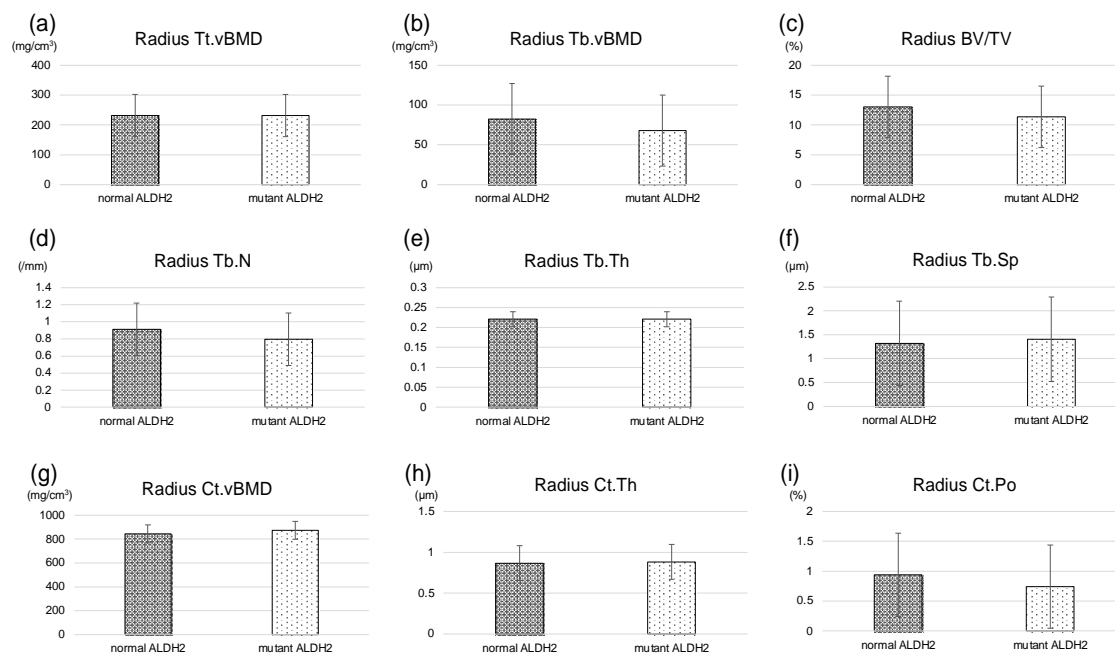
## (2) DXA 法による骨密度検査（腰椎、大腿骨近位部）

変異型 ALDH2 遺伝子保有者はホモ正常型 ALDH2 遺伝子保有者より腰椎と大腿骨頸部の骨密度は低い傾向にあったが、有意差はなかった。大腿骨全体の骨密度も有意差はなかった。



## (3) HR-pQCT による橈骨遠位部の骨微細構造

HR-pQCT により測定した橈骨遠位部の骨密度および骨微細構造は、ホモ正常型 ALDH2 遺伝子保有者と変異型 ALDH2 保有者で有意差のある項目はなかった。



## (4) HR-pQCT による脛骨遠位部の骨微細構造

HR-pQCT により測定した脛骨遠位部の骨密度について、全領域骨密度 (Tt.vBMD)、皮質骨骨密度 (Ct.vBMD) は有意差はなかったが、海綿骨骨密度 (Tb.vBMD) は変異型 ALDH2 遺伝子保有者において有意に低値であった。海綿骨の骨微細構造に関して、骨梁体積密度 (BV/TV) と骨梁幅 (Tb.Th) は変異型 ALDH2 遺伝子保有者において有意に低値であった。皮質骨の骨微細構造に関して、皮質骨厚 (Ct.Th) と皮質骨多孔性 (Ct.Po) は両群で有意差はなかった。

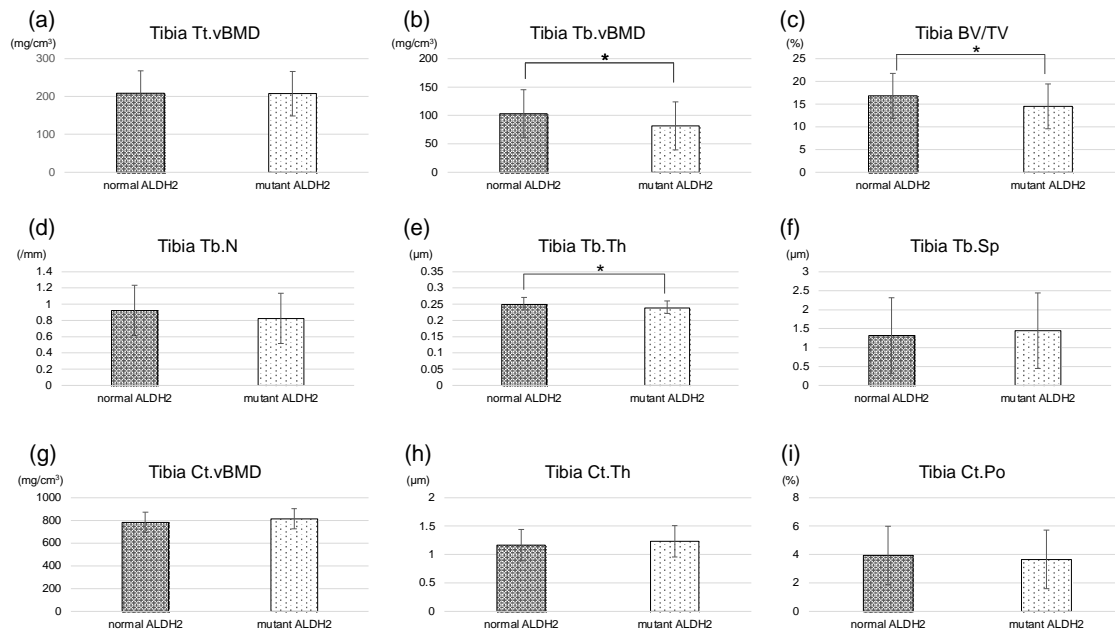


Figure 3. HR-pQCT による脛骨遠位部の骨微細構造

#### (5) PTH 製剤投与による骨密度と骨梁への効果

本研究の対象患者のうち PTH 製剤の適応となる症例は 1 例のみであったため、骨密度と骨梁への効果の違いを HR-pQCT で評価することは困難であった。

以上の結果から、ALDH2 遺伝子多型における HR-pQCT で評価した骨微細構造に関して、変異型 ALDH2 遺伝子保有者はホモ正常型 ALDH2 遺伝子保有者と比較して、脛骨遠位部の海綿骨骨密度、骨梁体積密度、骨梁幅が有意に低値であったが、脛骨遠位部の皮質骨、橈骨遠位部の海綿骨および皮質骨に有意な差はみられなかった。

現在この研究結果を英語論文雑誌に投稿準備中である。

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 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takafumi TAJIMA, Toshiharu MORI, Fumitaka HIRANO, Ken SABANAI, Makoto KAWASAKI, Yoshiaki YAMANAKA, Manabu TSUKAMOTO, Akinori SAKAI	4. 巻 42
2. 論文標題 Alpha-Defensin-1 in Synovial Fluid is Useful for Diagnosis of Joint Infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J.UOEH	6. 最初と最後の頁 167-173
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7888/juoeh.42.167.	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 該当する

1. 著者名 Kenji Kosugi, Takafumi Tajima, Kunitaka Menuki, Kayoko Furukawa Okuma, Kotaro Tokuda, Hokuto Fukuda, Yasuaki Okada, Manabu Tsukamoto, Yoshiaki Yamanaka, Yukichi Zenke, Akinori Sakai	4. 巻 136
2. 論文標題 Disruption of the aldehyde dehydrogenase 2 gene increases the bone anabolic response to intermittent PTH treatment in an ovariectomized mouse model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115370
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2020.115370. Epub 2020 Apr 20.	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 該当する

1. 著者名 Yuka Wakabayashi, Yuki Tamura, Karina Kouzaki, Naoki Kikuchi, Kenji Hiranuma, Kunitaka Menuki, Takafumi Tajima, Yoshiaki Yamanaka, Akinori Sakai, Keiichi I Nakayama, Toshihiro Kawamoto, Kyoko Kitagawa, Koichi Nakazato	4. 巻 318
2. 論文標題 Acetaldehyde dehydrogenase 2 deficiency increases mitochondrial reactive oxygen species emission and induces mitochondrial protease Omi/HtrA2 in skeletal muscle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol .	6. 最初と最後の頁 667-690
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpregu.00089.2019.	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田島貴文、小杉健二、山中芳亮、善家雄吉、目貫邦隆、酒井昭典
2. 発表標題 日本人閉経後女性の橈骨遠位端骨折患者における血清25(OH)D濃度と骨密度および握力との関連
3. 学会等名 第63回日本手外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田島貴文、山中芳亮、辻村良賢、小杉健二、善家雄吉、鈴木仁土、酒井昭典
2. 発表標題 日本人閉経後女性上腕骨近位端骨折患者の血清25(OH)D濃度と骨密度
3. 学会等名 第47回日本肩関節学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田島貴文、山中芳亮、辻村良賢、小杉健二、濱田大志、善家雄吉、酒井昭典
2. 発表標題 日本人閉経後女性橈骨遠位端骨折における血清25(OH)D濃度と骨密度：年齢をマッチさせた骨折既往のない症例対照研究
3. 学会等名 第42回九州手外科研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田島貴文、善家雄吉、小杉健二、岡田祥明、山中芳亮、鈴木仁土、酒井昭典
2. 発表標題 閉経後女性上腕骨近位端骨折の上腕骨皮質骨厚と骨粗鬆症の関連
3. 学会等名 第46回日本肩関節学会
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------