

機関番号：34517

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19300255

研究課題名（和文） 思春期女子における骨粗しょう症のリスク軽減と予防に関する遺伝栄養学的研究

研究課題名（英文） Genetic nutrition research regarding osteoporosis risk modification and prevention in pubescent girls

研究代表者

瀧井 幸男（TAKII YUKIO）

武庫川女子大学・生活環境学部・教授

研究者番号：70154937

研究成果の概要（和文）：思春期女子の骨量形成遺伝子型と骨評価値・体脂肪率に有意な相関性がみられた結果、体型は遺伝要因と生活習慣（食生活・運動習慣）の交互作用により決定されること、閉経後の骨量は生活習慣に影響を受けることが明らかとなった。骨評価値が高くても生活習慣が好ましくなければ骨粗しょう症を発症し、変異型のタイプであっても必ずしも骨粗しょう症発症に至るわけではない研究成果を基に思春期での食育を行うことが大切である。

研究成果の概要（英文）：

A significant correlation was observed between genotypes associated with osteogenesis and evaluation value for bone mass/body fat percentage in pubertal girls. Based on this fact, the following items were revealed: The interaction between genetic factors and living habits including dietary and fitness habits determines their somatotypes; and bone mass after menopause depends on living habits. Women with a high bone mass value can develop osteoporosis if they have a negative lifestyle. On the other hand, somatic variants do not necessarily lead to osteoporosis. It is important to provide dietary education to adolescent girls based on the research outcome.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010年度	0	0	0
年度			
総計	10,100,000	3,030,000	13,130,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：遺伝栄養学、骨粗しょう症、ストレス、運動、思春期女子、カルシウム摂取、爪遺伝子診断、インフォームドコンセント

## 1. 研究開始当初の背景

思春期女子は、自身の体型を過大視するいわゆる「やせ願望」をもつが、骨量や骨組織にはあまり関心をもちない傾向がある。中高年世代で発症しやすい女性に特有な骨粗し

ょう症は遺伝的な体質に加えて、食生活や運動習慣に関わる環境因子が交互し発症する典型的な多因子生活習慣病である。

女性の健全な体型形成にとって最も重要な時期、思春期にあつては強固な骨組織の形

成に務めるとともに、これに支えられた適切な体脂肪を構成する食環境の醸成が必須である。

## 2. 研究の目的

思春期女子が自身の遺伝的な体質に対する正確な情報を身につけ理解した上で、適切な食習慣及び運動習慣を体得することが将来、彼女らが中高年期に到達した際、骨粗しょう症や肥満の発症リスクを効果的に軽減できる。すなわち遺伝栄養学的アプローチの特性を活かしつつ、適切なカルシウム含有食摂取を指向した栄養指導を実施することを目的とした。

### (1) 遺伝栄養学的研究

骨量形成に関連する多型群と変異点検出に必要な SNP ID を表 1 に示した。

遺伝子多型		SNP ID
エストロゲン受容体	ESRX	rs9340799
	ESRP	rs2234693
LDL受容体タンパク 5	LRP5	rs376228
I型コラーゲン	CLA1	rs1800012

表 1 骨量形成遺伝子多型と ID 構成

それらの特徴については①～③に述べる。

#### ①ESRX と ESRP

エストロゲン受容体 (Estrogen Receptor: ER) を介して骨基質を吸収する細胞である破骨細胞の寿命を抑制し、骨量を維持する。骨芽細胞の増加、及び末梢血単球での骨吸収性サイトカイン発現の抑制等の骨保護作用を持つ。

#### ②LRP5

LRP5 変異は、Wnt 経路の正常な拮抗物質の作用を減弱する結果 Wnt シグナルを増大させることで肥厚した下顎骨と口蓋隆起を伴う高い骨密度を起す。LRP5・Wnt シグナルが骨代謝に加え、ノックアウトマウスの樹立・解析により脂質・糖代謝にも関与し、LDL 受容体はエストロゲンにより活性化され、LDL を除去する。

#### ③CLA1

I 型コラーゲンは骨の構成成分で、骨組織表面に存在する骨芽細胞は盛んにコラーゲン等の骨基質タンパク質を分泌しているが、その 90% は I 型コラーゲンからなる。骨芽細胞が分泌した I 型コラーゲン線維のまわりに、リン酸カルシウムが沈着しヒドロキシアパタイトとなり骨が形成されることから、石灰

化の過程で、I 型コラーゲンは重要な役割を果たしていると推定される。I 型コラーゲンは、遺伝的異常によりさまざまな骨疾患が惹起されていることが報告され、骨の基質タンパク質の遺伝子異常として知られる骨形成不全症 (osteogenesis imperfecta) が有名である。

### (2) 適切な食生活と運動習慣を含む食育

思春期女子の食生活におけるカルシウム摂取の問題点は、もともと吸収率の点で欠乏しやすく日本人全体でも不足しがちなミネラルであること、多量に含有する 4 つの食品 (海草、干しエビ、サクラエビ、ヒジキ: 五訂食品成分表) があまり歓迎されないこと、加工食品の利用増加から生じるリンの過剰摂取の影響である。18 歳以上の女子のカルシウム所要量は 600 mg とされ、本研究の食生活評価では、その給源と吸収率閾値を綿密に設定する。

## 3. 研究の方法

(1) 遺伝子 DNA の調製には、後述の文献② Yamamoto ら (2010) の手法に準拠し、難溶解性の爪ケラチン質を溶解した。すなわち 70°C で強アルカリ性条件 pH11 で、メロン果肉由来アルカリプロテアーゼを 30 分間作用させることによって行なった。

### (2) 被験者データ

インフォームドコンセントに同意した被験者学生 175 名の身体データ (n=175) は、以下の通りである。

- ①身長 158.1±5.5cm
- ②体重 51.2±7.1kg
- ③体脂肪率 26.1±4.7%
- ④BMI 20.7±2.2
- ⑤骨評価値 2.647±0.246

### (3) 変異部位の検出

①エストロゲン受容体 (ESRX と ESRP)  
②LRP5、I 型コラーゲン (CLA1) の判定は、表 1 に示した ID に対応した各プローブを用いるリアルタイム PCR 法によった。

(4) 食事内容及び運動習慣の統計判定には SPSS を採用した。

## 4. 研究成果

(1) 変異型分布は以下の通りである。

- ①ESRX は、XX:1.7%, Xx:30.9%, xx:67.4%
- ②ESRP は、PP:36.0%, Pp:47.4%, pp:16.6%
- ③LRP5 は、CC:50.3%, CT:39.4%, TT:10.3%
- ④CLA1 は全て AC ヘテロ型であった。

(2) 遺伝子型と骨評価値の相関

①ESRX

骨評価値は  $XX=2.93 \pm 0.30$ ,  $Xx=2.67 \pm 0.29$ ,  $xx=2.70 \pm 0.29$  となり、 $Xx$  型ヘテロにおいて、骨評価値が低いという結果が得られた。

②ESRP

骨評価値は  $pp=2.75 \pm 0.33$ ,  $Pp=2.66 \pm 0.29$ ,  $PP=2.72 \pm 0.28$  であり、 $Pp$  型ヘテロにおいて骨評価値が低い結果が得られた。

③LRP5

骨評価値は  $CC=2.74 \pm 0.28$ ,  $CT=2.65 \pm 0.29$ ,  $TT=2.66 \pm 0.35$  であり、 $CT$  型ヘテロ及び  $TT$  型変異ホモにおいて骨評価値が低い結果が得られた。

④単独因子以外に ESRP 及び VDR 両因子を抽出し掛け合わせ、Kruskal Wallis 検定をおこなったところ、図1のような結果が得られた。漸近有意確率は 0.021 であり、音響的骨評価値と ESRP/VDR 間では有意差がみられた。

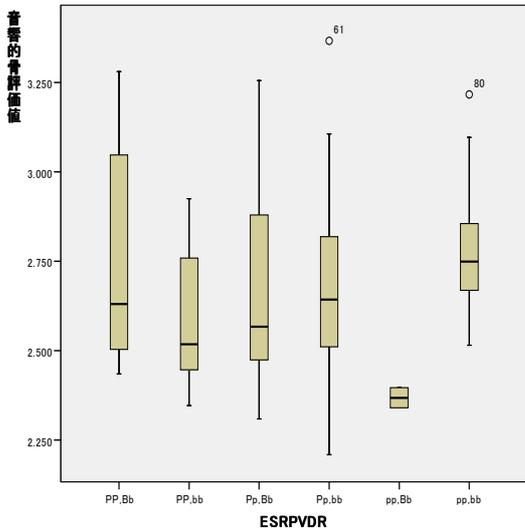


図1 骨量評価値と ESRP/VDR 間の相関関係

⑤ESRP/LRP5 と音響的骨評価値の相関関係について、Kruskal Wallis 検定を行なったところ、漸近有意確率は 0.607 であり、音響的骨評価値と ESRP/LRP5 間では顕著な有意差がみられなかった (図2)。

(3) 遺伝子型と体脂肪率の相関

①ESRX

体脂肪率  $XX=28.3 \pm 6.380$ ,  $Xx=25.3 \pm 5.89$ ,  $xx=26.4 \pm 2.53$  となり、 $Xx$  型ヘテロにおいて、骨評価値が低い結果が得られた。

②ESRP

体脂肪率  $pp=27.7 \pm 4.78$ ,  $Pp=25.2 \pm 5.72$ ,

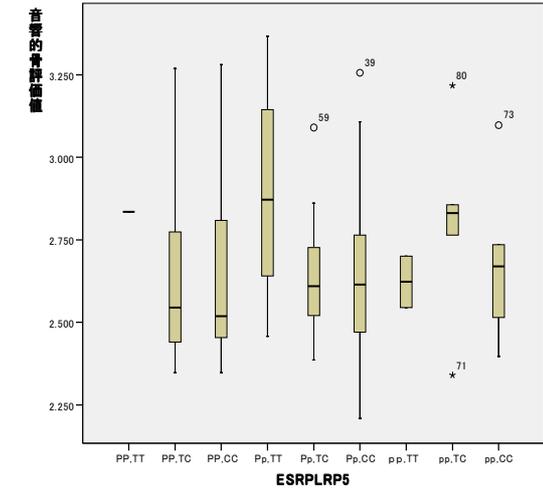


図2 骨量評価値と ESRP/LRP5 間の相関関係

$PP=26.6 \pm 4.46$  であり、 $pp$  型の野性ホモ及び  $Pp$  型ヘテロにおいて体脂肪率が低い結果が得られた。

③LRP5

体脂肪率  $CC=27.0 \pm 4.56$ ,  $CT=25.9 \pm 5.26$ ,  $TT=22.2 \pm 6.33$  であり、 $CC$  型野性ホモより  $TT$  型変異ホモにおいて体脂肪率が有意に低かった ( $p < 0.05$ )。また  $CT$  型ヘテロよりも  $TT$  型変異ホモにおいて体脂肪率が低い結果が得られた ( $p < 0.1$ )。

(4) 遺伝子型と BMI の相関

①ESRX

$BM$  については  $XX=20.7 \pm 2.17$ ,  $Xx=20.6 \pm 2.53$ ,  $xx=20.5 \pm 2.42$  となり、 $Xx$  型ヘテロにおいて、 $BMI$  値は全ての型においてほぼ同様の値になった。

②ESRP

$BMI$  について  $pp=21.3 \pm 2.32$ ,  $Pp=20.4 \pm 2.66$ ,  $PP=20.5 \pm 2.13$  の結果が得られ、 $Pp$  型ヘテロ及び  $PP$  型ホモにおいては  $BMI$  が低い値という結果となった。

③LRP5

$BMI$  については  $CC=21.0 \pm 2.50$ ,  $CT=20.3 \pm 2.44$ ,  $TT=19.6 \pm 1.61$  であり、 $CC$  型野性ホモより  $TT$  型変異ホモにおいて体脂肪率が有意に低かった ( $p < 0.05$ )。また  $CT$  型ヘテロよりも  $TT$  型変異ホモにおいて  $BMI$  が有意に低かった ( $p < 0.05$ )。

(5) 骨評価値に対する環境 (食事内容、運動習慣) 因子と遺伝型因子の掛け合わせ

①スナック摂取頻度と  $LRP5$  の相関では、摂取頻度が多く、 $TT$  ホモ変異型において骨評価

値が有意に低くなった ( $p < 0.05$ )。

②歩行習慣と LRP5 の相関では、歩行習慣がなく、TT ホモ変異型において骨評価値が有意に低くなった ( $p < 0.05$ )。

③乳製品摂取と骨評価値の相関：牛乳、ヨーグルト、チーズはカルシウム摂取がもっとも有効にできる食品群であるが、それらの摂取頻度と骨評価値間には有意な相関性はみられなかった。

以上の結果、特定の遺伝子型 (ESRP 及び VDR) と骨評価値との間に有意な相関性がみられたことから、骨量形成は遺伝因子のみから変化するものではなく、遺伝要因と生活習慣が重なり、遺伝因子と骨評価値、各遺伝因子と環境因子、運動習慣と骨評価値との相関性から導かれる結果が指摘された。

骨粗鬆症に関与する遺伝子多型等の遺伝素因は、最大骨量を決定するもので、閉経後の骨量は生活習慣に規定されることが明らかとなっている。したがって骨評価値が高くても、生活習慣が好ましくなければ、閉経後に骨粗鬆症になる可能性が高まる。閉経後の骨量が生活習慣に規定されることを十分に理解させ、生活習慣を改善する意識を持たせることが大切と考えられる。

変異型を持つものに対しては、変異型をもっているというだけで、将来骨粗鬆症になると決められるわけではないという事を、十分理解した上で、栄養教育を受ける事が必要である。年を経るごとに骨評価値は変化するため、各世代に応じた栄養指導ならびに食育を行っていくことが極めて大切である。

将来の骨量減少に備え、若年時からカルシウム含有食品摂取を心がける、運動習慣を身につける、定期的に骨評価値を計測するなどの適切な生活習慣を身につけ、閉経後の QOL を維持する基礎を作ることを提唱したい。

今回の研究調査結果により、食習慣や運動習慣など、生活習慣において様々な問題点があり、遺伝子型に関わらず改善の余地があることが明らかとなった。そのため全体での教育が不可欠であり、その中で個人対応をするために遺伝子診断の学問的な位置が確立されることが望まれる。

今後、最大骨量に関与する遺伝因子と環境因子を基に、若年時早期から最大骨量の増加に努め、骨粗鬆症予防を意識させる遺伝子診断法を活用することにより、個別で正確な栄養指導の実現に繋げていきたい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

①西村沙矢香、宮林沙希、瀧井幸男 若年女性の隠れ肥満を形成する食行動と遺伝的要因の検討 日本食生活学会誌 17, 227-230 (2010). 査読有

②S. Yamamoto, S. Nishimura, T. Okuno, M. Rakuman and Y. Takii. Efficient DNA extraction from nail clippings using the protease solution from Cucumis melo. Molecular Biotechnology 46: 41-48 (2010). 査読有

③S. Suzuki, M. Fukuoka, H. Ookuchi, M. Sano, K. Ozeki, E. Nagayoshi, Y. Takii, M. Matsushita, S. Tada, K. Kusumoto and Y. Kashiwabara. Characterization of Aspergillus oryzae hydrolase family 43 xylosidase expressed in Escherichia coli. Journal of Bioscience and Bioengineering 109: 115-117 (2010). 査読有

④瀧井幸男、西村沙矢香 女子高校生のビタミンD受容体遺伝子多型に対する意識と食生活調査 日本食品化学会誌 16, 163-173 (2009). 査読有

⑤瀧井幸男 米食と日本人の健康 FFI1 ジャーナル 214, 57-62 (2009). 査読有

⑥瀧井幸男 コメデンプンと日本人 食品・臨床栄養 5, 45-50 (2009). 査読有

⑦体組成と脈波伝播速度からみた思春期女性の生活習慣病危険因子の検討 相澤徹 10 名、2 番目、武庫川女子大学紀要自然科学編 56: 1-6 (2008) 査読有

⑧思春期女性の踵骨骨評価値に対する利き足の影響に関する検討 相澤徹他 10 名、2 番目 武庫川女子大学紀要自然科学編 56: 7-14 (2008) 査読有

⑨若年女性の生活習慣と脂質代謝の関連に関する検討 相澤徹他 11 名、3 番目 武庫川女子大学紀要自然科学編 56: 15-22 (2008) 査読有

⑩大学女子学生の運動習慣が骨密度に及ぼす影響に関する検討 相澤徹他 7 名、2 番目 武庫川女子大学紀要自然科学編 56: 23-28 (2008) 査読有

⑪最近の成人麻疹感染症に関する一考察 相澤徹他 9 名、9 番目 武庫川女子大学紀要自然科学編 56: 29-32 (2008) 査読有

⑫GER 合併の喘息で加療を受けていた症例に関する一考察 相澤徹他 9 名、9 番目 武庫川女子大学紀要自然科学編 56: 33-35 (2008) 査読有

〔学会発表〕(計 9 件)

①西村沙矢香、川崎彩、小林知未、瀧井幸男 抗菌性物質生産乳酸菌のスクリーニング 日本食品化学学会第 16 回大会 2010 年 6 月 9

日大阪

- ②水田容子、矢野めぐむ、坂出裕子、辻本紗也佳、長池亜紀、西村沙矢香、瀧井幸男 柿果皮由来キチナーゼ 日本食品化学学会第16回大会 2010年6月9日 大阪
- ③小林玲香、瀨川彩織、藤本寿々、西村沙矢香、瀧井幸男 未成年者飲酒予防の啓発 日本食品化学学会16回大会 2010年6月9日 大阪
- ④清重未来、楠田素子、栗花落美侑、藤本寿々、西村沙矢香、瀧井幸男 爪遺伝子診断法の紹介 日本食品化学学会第16回大会 2010年6月9日 大阪
- ⑤Yukio Takii Genotype detection of alcoholism using fingernail DNA: Identifying a single nucleotide polymorphism in the aldehyde dehydrogenase 2 gene. 13<sup>th</sup> International SHR symposium in Prague, Czech Republic 6/21 2008
- ⑥瀧井幸男 爪遺伝子診断と若年女性の食育 日本生物高分子学会 2008年度大会 2008年11月14日 亀岡
- ⑦古市香、久保千佳、楽満美樹、吉田周美、藤井啓子、瀧井幸男 遺伝子組換え麹菌によるグルコースの生産 日本生物高分子学会 2007年度大会 2007年10月19日 下関
- ⑧藤田幸、渡辺典子、薮本和美、吉田周美、瀧井幸男 若年女性の最大骨量規定する遺伝子多型の解析 日本生物高分子学会 2007年度大会 2007年10月19日 下関
- ⑨楽満美樹、久保千佳、古市香、吉田周美、瀧井幸男 果実プロテアーゼによる爪ケラチンの分解 日本生物高分子学会 2007年度大会 2007年10月19日 下関

〔図書〕(計3件)

- ①瀧井幸男、わかくさ印刷、改訂版「食の安全と健康」2009, 130ページ
- ②瀧井幸男、吉田周美、建帛社、栄養学の最前線：第17章 191-198 (2009)
- ③相澤徹、南江堂、スポーツ指導者のためのスポーツ医学 改訂第2版, 2009, 320ページ

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称：骨粗鬆症、骨形成不全症、又は骨密度形成不良症の発症リスクを診断する方法  
発明者：瀧井幸男、山本周美、西村沙矢香、南武士  
権利者：同上  
種類：特許権  
番号：特開 2010-246424  
公開年月日：平成 22 年 11 月 4 日

国内外の別：国内

## 6. 研究組織

- (1)研究代表者 瀧井 幸男  
(武庫川女子大学・生活環境学部・教授)  
研究者番号：70154937
- (2)研究分担者 山本 周美  
(武庫川女子大学・短期大学部・講師)  
研究者番号：60441234
- (3)研究分担者 西村 沙矢香  
(武庫川女子大学・生活環境学部・助手)  
研究者番号：00509177
- (4)連携研究者 相澤 徹  
(武庫川女子大学・生活環境学部・教授)  
研究者番号：10340944
- (5)研究協力者 菊川 薫  
(武庫川女子大学・生活環境学部・事務補佐)