

報 文

骨粗鬆症のリスクとしてのアルデヒド脱水素酵素遺伝子 A 対立
遺伝子の減量指導受講者と大腿骨頸部骨折患者への影響石塚 陽子^{*1} 石橋嘉津雄^{*2} 蒲池 桂子^{*3} 石井 由香^{*1}
平井 千里^{*1} 田中 明^{*3} 香川 靖雄^{*1}ALDH2 Polymorphisms and Bone Mineral Density in Clients of
Nutrition Clinic and Patients of Hip Joint FractureISHIZUKA Yoko^{*1}, ISHIBASHI Katsuo^{*2}, KAMACHI Keiko^{*3}, ISHII Yuka^{*1},
HIRAI Chisato^{*1}, TANAKA Akira^{*3}, KAGAWA Yasuo^{*1}

Synopsis: Low trauma fracture owing to osteoporosis is a major care problem of the aged. Osteoporosis is caused by the genetic and lifestyle factors during aging. The official guideline for osteoporosis limits ethanol intake less than 8 g/day, as a risk factor of osteoporosis. However, unlike Caucasians, about 50 % of Japanese has A allele of aldehyde dehydrogenase (ALDH2), which results in ethanol intolerance, and thus the ethanol consumption of an individual varies between 1 g to 200 g/day. In the present study, we studied the effects of the ALDH2 gene polymorphisms on the bone mineral density of hip fracture patients (A group, n=36) and nutrition clinic clients (B group, n=63). In group A, bone mineral density was $YAM61 \pm 14\%$ and diagnosed as osteoporosis ($YAM < 70\%$) and hypoproteinemia. The variant frequency of ALDH2 polymorphism was GG: 44%, GA: 50% and AA: 6%, but there was no significant difference in the bone mineral density among the genotypes. In group B, the variant frequency was GG: 51%, GA: 44% and AA: 5%, and bone mineral density was significantly low in both GA and AA genotypes. B group was divided by degree of weight reduction after the nutritional advice into $< 3.6\text{kg}$ group and $> 3.6\text{kg}$ group. Since bone mineral density, bone density and adiponectin were significantly lowered during the advice in $> 3.6\text{kg}$ group, weight reduction must be accompanied by exercise. The experimental design was approved in advance by the ethical committee for human genome research of Kagawa Nutrition University (No. 224-G, July 26, 2006).

緒 言

骨粗鬆症は若年者（20～44歳）の平均骨密度（YAM; young adult mean）の70%未満をカットオフ値とすると、70歳代後半の男性の約17%、女性の約45%と推定される¹⁾。それに伴い、大腿骨頸部骨折の発生率は80歳になると10万人対で男性約50、女性約150となり¹⁾、脳血管障害に次ぐ寝たきり高齢者の原因となっている。骨組織は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収のバランスにより再構築（リモデリング）を繰り返し、一定の骨量を保っている¹⁾。骨粗鬆症では骨形成速度より骨吸収速度が高いことにより、そのバランスが崩れ、骨量が減少する。このため易骨折性を来しやすい。骨粗

鬆症患者のQOL（quality of life）は骨折数が増加するにしたがい低下することが知られている。骨粗鬆症患者のQOLを改善するためには、骨粗鬆症に伴う脆弱性骨折をいかに予防するかが重要である。中でも、大腿骨頸部骨折は日常活動性を最も強く制限してQOLを低下させる骨折の一つで、生命予後も悪化させる。また骨粗鬆症は代表的な退行期疾患の一つであり、その成因は加齢を基盤として遺伝要因や生活習慣（食事、運動、喫煙、飲酒など）等、種々の要因が複雑に関与し合いながら骨代謝マーカー等に影響を与えて発症するに至る¹⁾。

骨代謝には様々なカルシウム調節ホルモン、サイトカイン、成長因子が関与し、骨形成や骨吸収を調節すると考えられており、これらの因子およびその受容体遺伝子

*1 医化学研究室，女子栄養大学：Laboratory of Administrative Dietetics, Kagawa Nutrition University

*2 世田谷下田総合病院整形外科：Orthopedics, Setagaya Shimoda General Hospital

*3 栄養クリニック，女子栄養大学：Nutrition Clinic, Kagawa Nutrition University

を候補遺伝子として解析が進められている。

その中で、2006 年アジア人固有のアルコール非耐性遺伝子多型（アルデヒド脱水素酵素 2Glu487Lys）が骨粗鬆症の大きな危険因子であることが発表された²⁾。飲酒により体内に入ったエチルアルコールは、吸収され肝臓内のアルコール脱水素酵素によってアセトアルデヒドへと分解される。アセトアルデヒド脱水素酵素は肝臓内においてアセトアルデヒドを酢酸に分解する酵素である。アセトアルデヒドは毒性が強く、遺伝的にアルコールに弱い人はアセトアルデヒド代謝酵素の活性が弱く、アセトアルデヒドの毒性の影響を受けやすい体質である。アセトアルデヒド脱水素酵素（ALDH）は、アミノ酸の塩基配列（以下 Glu 型を G 型、Lys 型を A 型と略）によって GG 型、GA 型、AA 型の 3 つの遺伝子多型に分かれる。GG 型に対し、GA 型は約 1/16 の代謝能力しかなく、AA 型にいたっては代謝能力を失っている^{3, 4)}。この論文では集団検診の対象者中で ALDH2 遺伝子 AA 型同型接合体は、GA 型異型接合体と GG 型同型接合体に比して、骨粗鬆症のリスクが 3.3 倍（ $n=404$ 人、 $p=0.021$ ）、女性に限れば 4.3 倍であると報告されている²⁾。

骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン¹⁾は、75,433 人／年についてのコホート研究で 1 日 8g（原著は 2 単位）以上のアルコール摂取は大腿骨頸部骨折の 1.68 倍のリスク、骨粗鬆症骨折の 1.38 倍のリスクであるという J.A. Kanis らの⁵⁾ 報告を EBM としている。しかし、一方では、1 日 4g 以上 8g（原著は週間摂取量）以下のアルコール摂取は高齢女性（ $n=445$ 人、56～77 歳）の全身骨密度を 12% 有意に増加させるという詳しい報告もなされた⁶⁾。しかしながら、これら報告の基盤は欧米人である^{1, 5, 6)}。本研究が対象とする日本人の場合、白人や黒人にないアルコールに極端に弱いアルデヒド脱水素酵素 2（ALDH2）の遺伝子多型同型接合体（AA 型）が 6%、また異型接合体（GG 型）が 41% 存在するため、許容範囲が 1 日 1g から 200g の極端な差があり、骨粗鬆症の予防と治療のガイドラインのアルコールは 1 日 8g 以下という一律の平均値による EBM の指導¹⁾は個人によっては不適切である^{2, 7)}。ALDH2 遺伝子多型の A 型同型接合体はアルコール不耐性であるが、一方、画家横山大観のように米飯の代わりに毎日 1 升酒（アルコール 200g）で 90 歳の生涯、優れた活動をする例もある⁷⁾。また遺伝子多型情報は健常時からの発症予測という予見性、一度検査すれば環境によらず生涯不変という継続性によって従来の栄養学にない優れた検査項目である⁷⁾。

ただし、上記の先行研究²⁾は集団検診であるので、対象者の栄養指導経過による影響や骨折との関係は明らかではない。

そこで本研究では骨粗鬆症発症前後で ALDH2 遺伝子多型や減量が骨密度や骨塩量等骨粗鬆症に対するリスクにどのような影響を及ぼすのかを検証するため、骨粗鬆症発症後の大腿骨頸部骨折患者と骨粗鬆症発症前の減量コース受講女性を対象として解析した。

方 法

1. 対 象

対象者は大腿骨頸部骨折患者 A 群 36 名と栄養クリニックヘルシーダイエットコースを受講した女性 B 群 63 名とした。

A 群：2006 年 10 月から 2007 年 12 月に大腿骨頸部骨折で入院していた患者 36 名（男性 6 名、女性 30 名、 84 ± 7.7 歳）。骨折の原因は 36 名中 34 名（94%）が転倒による。骨折部位は大腿骨頸部内側骨折 17 名、大腿骨頸部外側骨折 19 名、手術術式は人工骨頭置換術 15 名、骨折観血的整復固定術 21 名である。

対象者である大腿骨頸部骨折患者には、事前に研究の趣旨と方法を口頭および文書にて説明して同意を得た。認知症の患者には、代理人として家族の方に同様の同意を得た。また 2006 年 7 月 26 日女子栄養大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する医学研究倫理審査会において「骨折、骨粗鬆症患者の栄養、骨代謝マーカーと骨折関連遺伝子の解析：第 224-G 号」の承認を得た。

B 群：2004 年 10 月から 2007 年 4 月に栄養クリニックヘルシーダイエットコースを受講した女性 63 名（女性 63 名、 57 ± 12 歳）。栄養クリニックヘルシーダイエットコースとは女子栄養大学栄養クリニックが主催する減量プログラムで、6 ヶ月に 12 回直接指導を方法 4 に後述する方式で行う。

対象者である栄養クリニックヘルシーダイエットコース受講者には、事前に研究の趣旨と方法を口頭および文書にて説明して同意を得た。また 2007 年 6 月 6 日女子栄養大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する医学研究倫理審査会において「生活習慣病関連遺伝子多型の解析と一次予防指導：第 260 号（222-G 号の追認）」の承認を得た。

2. 方 法

A 群：血液は早朝空腹時に肘部皮下静脈より採血し、尿は第一尿を避け、日中尿を採取した。生化学分析は（株）岸本医科学研究所に依頼した。骨代謝マーカーのうち骨形成マーカーであるオステオカルシンと骨型アルカリフォスファターゼ（以下 BAP と略）、骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 N テロペプチド（以下 NTX と略）とデオキシピリジノリン（以下 DPD と略）を手術前、手術 1 週間後、退院時（手術日より約 1 ヶ月後）の計 3 回、測定した。骨密度は入院中 1 回、DIP 法で測定した。遺伝子多型は次節のようにそれぞれ ALDH2^{2, 3)}を測定した。身体計測は上腕周囲長と上腕三頭筋皮下脂肪厚を入院時と手術後 2 週間ごとに測定した。また、入院時栄養摂取量は看護記録に記載されている全体の食事の%摂取量から計算し、入院期間中全ての食事で行った。聞き取りが可能な患者からは、入院前の食事状

況の聞き取りを行い、栄養摂取量を計算した。計算は5訂日本食品標準成分表対応の栄養ソフト「エクセル栄養君 Ver4.0 Windows版, 建帛社」を用いて行い、聞き取りには、同社の栄養君食物摂取頻度調査 FFQg を用いた (11名)。

B群：血液は早朝空腹時に肘部皮下静脈より採血した。各血液データは受講前後に測定した。血液生化学分析はSRL社に依頼した。骨密度は二重エネルギーX線吸収測定法 (DXA) による骨密度を受講前後に測定した。遺伝子多型は次節にしたがってALDH2^{2, 3)}, MTHFR⁸⁾を測定した。食事調査は3日間行い、対象者の自記式による秤量記録法にて行った。栄養計算はA群と同じ栄養ソフトを用いた。

3. 遺伝子多型解析法^{2, 3, 7)}

被験者の白血球DNAはEDTA凝固阻止剤で凝固阻止した全血からフェノール抽出し、食塩水中から、エタノール沈殿した後にRNaseで精製した。DNAはポリメラーゼ連鎖反応 (以下PCRと略) で増幅して、制限酵素断片長のゲル電気泳動法 (以下RFLP法と略) で多型を確定した³⁾。

3-1. アルデヒド脱水素酵素遺伝子 (ALDH2 の Glu487Lys 多型) の解析³⁾

PCR反応液は、蒸留水 15.1 μ l, 20mM MgCl₂を含む10倍濃度 Ex Taq 用緩衝液 2.0 μ l, 2.5mM dNTP 混合液 (dATP, dCTP, dGTP, dTTP の等モル混合液) 1.6 μ l, 5 μ M プライマー (forward (5'-GCT GGG CTC CTA CCT GAG C-3'), reverse (3'-CAC CGT CAC TTG TTC CAG G-5')) 各0.1 μ l, Ex Taq DNA Polymerase 0.1 μ l, DNA 試料 1.0 μ l である。PCR反応はStratagene社製 Robocycler Gradient96を用い、94°C 4分30秒を1サイクル、94°C 1分、56°C 45秒、72°C 45秒を30サイクル、72°C 10分を1サイクル反応させて、増幅・伸長反応させた。蒸留水 3.8 μ l, 10倍濃度 L 緩衝液 1.0 μ l, Mbo II 0.2 μ l, PCRにて増幅させた。RFLPはPCR反応溶液 5.0 μ lを37°Cインキュベーター中6時間以上反応させ、制限酵素で消化した。10%ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、染色液 (エチジウムブロマイド 0.2 μ l/ml TBE 緩衝液) で染色し、紫外光 (240nm) を当てて赤色蛍光によって遺伝子断片長を判定した。

なおMTHFRについては自動分析装置が開発されて、すでにその詳細は報告されており⁸⁾、栄養クリニックで全被験者について毎回タイピングされ指導に活用されている。

4. 栄養クリニックヘルシーダイエットコース^{9, 10)}

本研究の対象者が受講した4群点数法を主体とした食事指導と運動指導による約6ヶ月間のプログラムは、はじめは毎週1回栄養指導と運動指導を実施して知識を身につけた後、次第に間隔を長くして対象者が一人で実践

できるようにすることを目的としている。プログラム実施時は毎回10~15人を1グループとした集団指導と個別指導を行う。集団指導の内容は、管理栄養士による食品や栄養素の説明、食事記録の書き方、4群点数法による食事の摂り方の指導、手本となる昼食の提供、外食の選び方、クッキングレッスン、体操講師による個人にあわせた運動指導などであり、個別指導は、管理栄養士による栄養相談、医師からの遺伝子多型の違いによる食事や栄養摂取方法の指導などである。4群点数法とは食品を4群 (1群=乳卵, 2群=肉魚豆, 3群=野菜果物, 4群=米, パン) に分けて指導する方法である。第1, 2, 3群は毎日3点ずつ (1点80kcal) 摂り、活動と肥満度に応じて4群の量でエネルギーを調節する¹⁰⁾。野菜は1日350g, 豆は100gの摂取とし、4群内では米は多く油, 砂糖を優先して減らす。4群点数法による食事指導に1日1万歩程度の運動を伴うことにより、エネルギー代謝量を高め、筋肉量を保持したまま内臓脂肪を減少させる事ができる。また、規則正しい食事、ことに朝食摂取量の維持に注意した。運動は1万歩が実行できない者も多いので、個人毎にエアロビクスを中心に指導した。6ヶ月の指導によって、メタボリックシンドロームの診断基準である腹囲, 高血圧, 脂質代謝異常, 高血糖が全て有意に改善され、HOMA-Rも投薬なしに1近くに改善され、肥満再発が予防できる⁹⁾。

5. 骨量測定法¹⁾

骨量の評価方法は、A群対象者にはDIP (digital image processing method) 法、B群対象者にはDXA (dual-energy X-ray absorptiometry) 法を用いた。両法の測定値を共通に評価するために20~44歳の骨密度平均値 (YAM=若年成人平均値: young adult mean) を100として比較した。骨密度は原則としてB群対象者のように腰椎骨密度とするが、A群対象者の全症例は高齢者であり、脊椎変形などのために腰椎骨密度の測定が適当でないと判断される症例を多く含み、かつ、骨折後の手術を受ける状態であるために、代替評価法として許容されているDIP法による第二中手骨の骨密度を用いた。

6. 統計学的処理

結果は、平均±標準偏差 (SD) で示した。

遺伝子多型間の差の検定は分散分析を行った後、Post-hoc テストのBonferroni/Dunn法にて検定を行った。ALDH2 遺伝子多型は、野生型同型接合体 (GG), 異型接合体 (GA), 変異型同型接合体 (AA) の3群に分けることができるが、AAは例数が少ないだけでなくGAの酵素活性がGGの16分の1であるため⁴⁾, GA・AAをもつものをA型対立遺伝子保有者としてGG:GA+AA2群間でMann-Whitneyの順位検定を行った。また、クリニック受講前後の骨密度の比較にはWilcoxonの符号付順位検定を行った。

結 果

A. 大腿骨頸部骨折患者（A群対象者）

入院時の身体測定値と生化学データ、骨密度の平均値は表1に示す。平均年齢が 84 ± 7.7 歳と高齢であることも原因となり、骨密度（DIP値）はYAM $61 \pm 14\%$ と骨粗鬆症限界値の70%未満を大きく下回り、骨折前に骨粗鬆症であって、脆弱性骨折であると判定された。特に血清アルブミン（Alb）は 3.4 ± 0.4 g/dl、ヘモグロビン（Hb）は 11.3 ± 1.5 g/dlと共に蛋白質栄養の著しい低下を伴っている。上腕周囲長と上腕三頭筋皮下脂肪厚も低い傾向にあり、入院中の変化が少なかった。

表1 大腿骨頸部骨折患者の入院時の骨密度（YAM）と基礎データ

(n=36)		
骨密度（YAMとの比較）	%	61 ± 14
年 齢	歳	84 ± 7.7
BMI	kg/m ²	20 ± 3
Alb	g/dl	3.4 ± 0.4
Hb	g/dl	11.3 ± 1.6
上腕周囲長	cm	24.1 ± 3.9
上腕皮下脂肪厚	mm	9.2 ± 5.4

値は平均±標準偏差で示した。

1. 骨折患者（A群）の栄養摂取量

1-1. 入院時の栄養摂取量（n=36）（表2）

患者食の米飯には100g当たり約67mgのCaが強化されているが、平均の摂取量はカルシウム 579 ± 185 mg、ビタミンD 4 ± 3 μgであった。

1-2. 聞き取り可能な患者の入院前と入院中の栄養摂取量（n=11）

聞き取り可能な患者の入院前の栄養摂取量はカルシウム 694 ± 282 mg、ビタミンD 11 ± 2 μgであった。また、これらの患者の入院中の栄養摂取量はカルシウム 710 ± 132 mg、ビタミンD 4 ± 1 μgであった。

2. 入院中の骨代謝マーカーの変化（図1）

入院時、手術1週間後、退院時の骨代謝マーカーの変

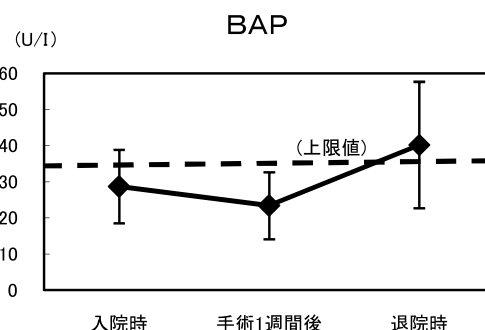
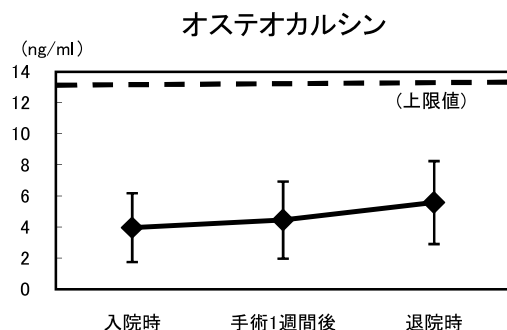
表2 大腿骨頸部骨折患者の入院時の栄養摂取量

(n=36)		
エネルギー	kcal	1039 ± 363 (24 ± 10 kcal/kg)
タンパク質	g	39.7 ± 12.8 (0.9 ± 0.3 g/kg)
カルシウム	mg	579 ± 185
ビタミンD	μg	4 ± 3
ビタミンK	μg	165 ± 75

値は平均±標準偏差で示した。

看護記録に記載されている全体の食事の%摂取量を入院期間中全て計算した。

<骨形成マーカー> (n=36)



<骨吸収マーカー> (n=36)

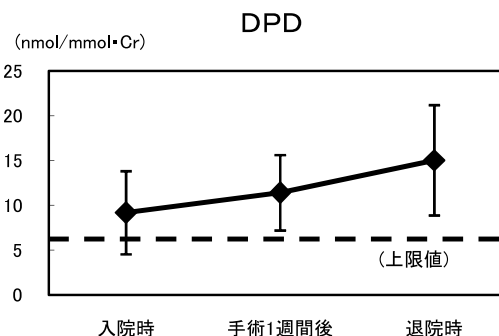
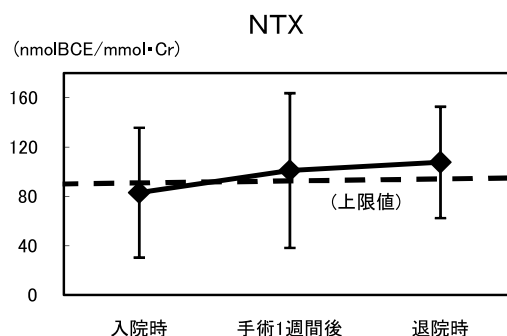


図1 入院時、手術1週間後、退院時の骨代謝マーカーの変化

骨形成マーカーはBAPのみ退院時に上限値を上回った。骨吸収マーカーはNTXとDPDいずれも増加傾向を示し、退院時は上限値を上回った。

BAP：骨型アルカリフォスファターゼ、NTX：I型コラーゲン架橋Nテロペプチド、DPD：デオキシピリジノリン

化(図1)を見ると、骨形成マーカーのうちオステオカルシンは入院時から退院時まで上限値¹⁾を上回ることではなく、BAPは退院時のみ上限値¹⁾を上回った。骨吸収マーカーのNTXとDPDはいずれも入院時から増加傾向を示し、退院時は上限値¹⁾を上回った。

3. 遺伝子多型間の骨密度の比較

アルデヒド脱水素酵素(ALDH2)遺伝子多型と骨密度

ALDH2遺伝子多型は野生型同型接合体(GG型)16名(44%)、異型接合体(GA型)18名(50%)、変異型同型接合体(AA型)2名(6%)であった(図2)。骨密度とALDH2遺伝子多型のGG型対GA+AA型でアルコールの代謝能力が高い多型群と代謝能力が低い多型

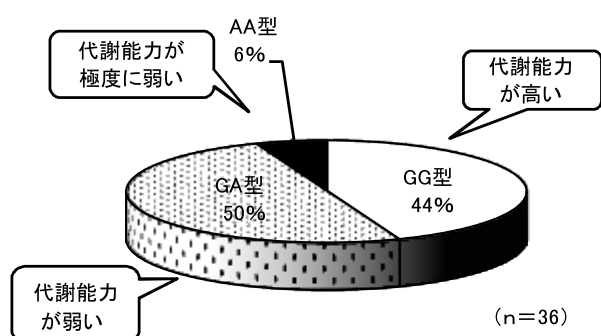


図2 骨折患者のALDH2遺伝子多型頻度

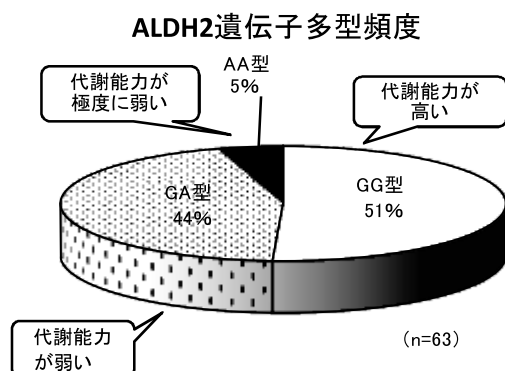
ALDH2: アルデヒド脱水素酵素

表3 クリニック受講者の受講前後の骨密度(YAM), 身体計測値

(n=63)

		受講前	受講後
骨密度(YAM)	%	95 ± 11	95 ± 10
年齢	歳	57 ± 12	
BMI	kg/m ²	26 ± 4	25 ± 4
Hb	g/dl	13.0 ± 1.1	13.0 ± 0.8
上腕周囲長	cm	30.5 ± 3.3	29.2 ± 3.5
上腕皮下脂肪厚	mm	24.4 ± 5.8	21.8 ± 5.4

値は平均±標準偏差で示した。



アルコール摂取量

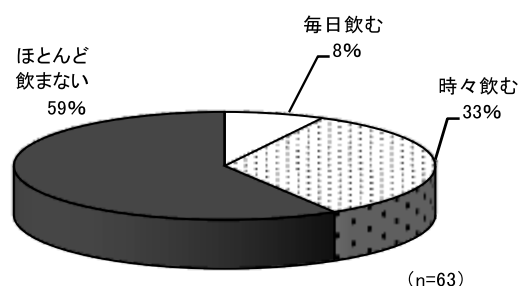


図3 クリニック受講者のALDH2遺伝子多型頻度とアルコール摂取量

群に分けて比較すると、有意差はなかったが、GG型よりGA型+AA型の骨密度が高い傾向を示した。アルコール摂取量については、患者全体の89%が飲まないという結果であった。

B. クリニック受講者(B群患者)

受講前の身体計測値と生化学データ、骨密度の平均値は表3に示す。骨密度はYAMの正常値80%以上を越えており、骨粗鬆症は認められなかった。BMI、上腕周囲長、上腕三頭筋皮下脂肪厚などを日本人の新身体計測基準値(JARD2001)¹¹⁾と比較すると、過栄養の傾向にあった。さらにB群は受講者の指導前後の体重減少の平均が3.6kgであったことから、平均体重減少3.6kg以下群(不良群)30名と、平均体重減少3.6kg以上群(成功群)33名に分けて比較した。

また、63名中17名(27%)が閉経前で、46名(73%)が閉経後であった。

1. 栄養摂取量(表4)

カルシウム 646 ± 214 mg, ビタミンD 10 ± 9 μgであった。

2. 遺伝子多型間の骨密度の比較

2-1. アルデヒド脱水素酵素(ALDH2)遺伝子多型(図3)

ALDH2遺伝子多型はGG型32名(51%)、GA型28名(44%)、AA型3名(5%)であった。クリニック受講前後の骨密度とALDH2遺伝子多型を比較した。

表4 クリニック受講者の受講前栄養摂取量

(n=63)

エネルギー	kcal	1842 ± 375 (30 ± 7 kcal/kg)
タンパク質	g	76.3 ± 16.8 (1.2 ± 0.3 g/kg)
カルシウム	mg	646 ± 214
ビタミンD	μg	10 ± 9
ビタミンK	μg	366 ± 366

値は平均±標準偏差で示した。

食事調査は3日間行い、対象者の自記式による秤量法にて行った。

ALDH2 遺伝子多型は、野生型同型接合体（GG 型）、異型接合体（GA 型）、変異型同型接合体（AA 型）の 3 群に分けることができるが、変異型同型接合体は例数が少ないため、異型接合体・変異型同型接合体をもつものを変異型とした。骨密度（g/cm²）と ALDH2 遺伝子多型の関係を調べると、指導前は GG 型 1.08±0.11, GA 型 1.03±0.13, AA 型 0.93±0.01 と差があり、骨密度が微減した指導後においても、GG 型 1.07±0.10, GA 型 1.02±0.13, AA 型 0.93±0.01 と差が見られる。ALDH2 遺伝子の多型の AA 型の人数が少ないために、

GG 型（32 名）対 GA+AA 型（31 名）でアルコール代謝能力が高い多型群と代謝能力が低い多型群に分けて比較すると、指導前と指導後それぞれ有意に GG 型の骨密度が高かった（図 4）。また、アルコールをほとんど飲まないと回答した方は 59%と全体の半分以上を占めたが（図 3）、骨密度との有意差はなかった。また骨密度とカルシウム、ビタミン D、ビタミン K の比較はそれぞれ有意差がなかった。

2-2. 体重減少別の骨密度、骨塩量の変化（表 5）
骨密度は受講前 1.050±0.120 g/cm² から受講後 1.038

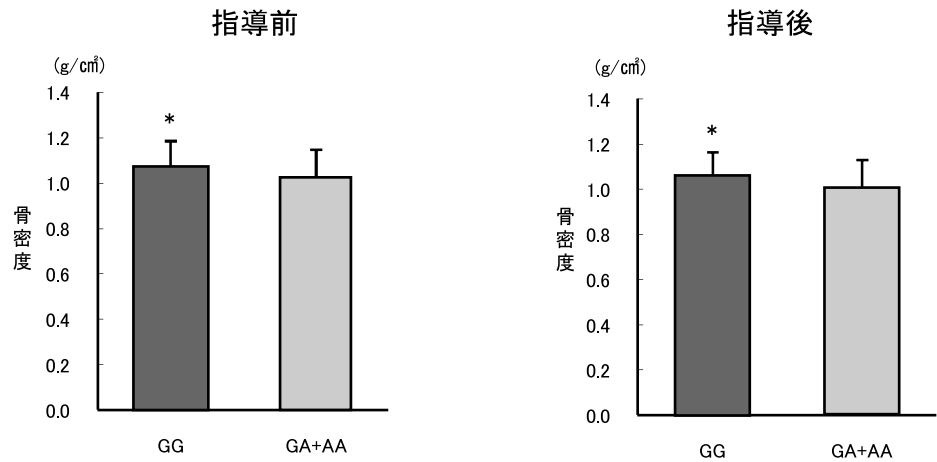


図 4 ALDH2 遺伝子多型間の骨密度の比較（クリニック）

指導前後において、アルコール代謝能力の低い A 型対立遺伝子を含む GA+AA 型群の骨密度に比較してアルコール代謝能力の高い GG 型群の骨密度が有意に高かった。*：p<0.05（vs GA+AA）

表 5 体重減少別受講前後の比較

＜体重減少 3.6kg 以下群（不良群）＞		(n=30)		
		受講前	受講後	p 値
骨塩量	g	1913 ± 346	1786 ± 423	p = 0.0008 *
骨密度	g/cm ²	1.046 ± 0.126	1.026 ± 0.115	p = 0.0243 *
レプチン	pg/ml	3067.5 ± 2577.0	2026.6 ± 1632.1	p = 0.0055 *
高比重アディポネクチン	μg/ml	3.0 ± 2.3	1.8 ± 2.0	p = 0.0031 *
IRI	μU/ml	8.8 ± 6.0	6.6 ± 5.0	p = 0.0048 *
FBS	mg/dl	128 ± 136	97 ± 24	p = 0.0167 *
HbA1C	%	5.7 ± 1.3	5.5 ± 0.9	p = 0.0183 *
ホモシステイン	μmol/l	9.7 ± 2.2	8.6 ± 1.9	p = 0.0128 *

＜体重減少 3.6kg 以上群（成功群）＞		(n=33)		
		受講前	受講後	p 値
骨塩量	g	1967 ± 358	1930 ± 324	p = 0.4265
骨密度	g/cm ²	1.053 ± 0.117	1.050 ± 0.114	p = 0.9106
レプチン	pg/ml	4080.9 ± 4669.1	1566.2 ± 1183.3	p = <0.0001 *
高比重アディポネクチン	μg/ml	2.4 ± 2.4	2.1 ± 2.5	p = 0.3309
IRI	μU/ml	10.1 ± 10.5	6.5 ± 5.5	p = 0.0010 *
FBS	mg/dl	98 ± 16	95 ± 20	p = 0.0023 *
HbA1C	%	5.6 ± 0.7	5.3 ± 0.5	p = <0.0001 *
ホモシステイン	μmol/l	9.7 ± 2.5	9.1 ± 1.8	p = 0.5310

値は平均±標準偏差で示した。
* 印は受講前と受講後の有意差の有無を示す。(p<0.05)

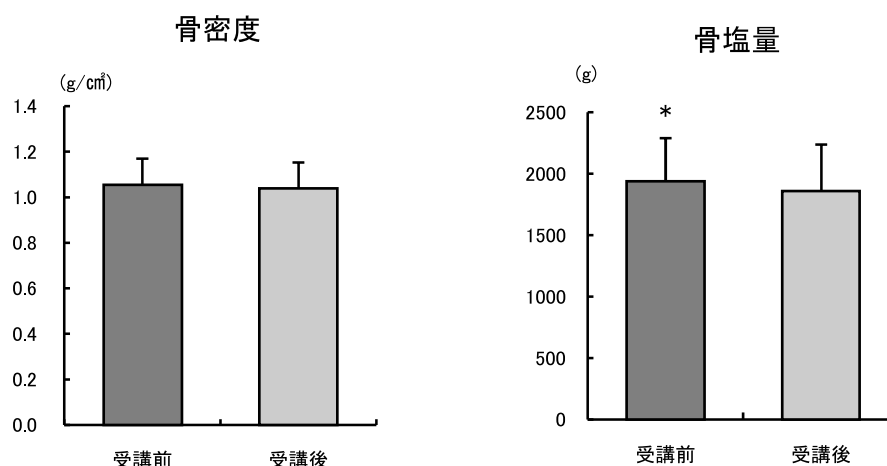


図5 クリニック受講前後の骨密度と骨塩量の比較

骨塩量は受講前後で有意に減少していた。 * : $p < 0.005$ (vs 受講後)

$\pm 0.114 \text{ g/cm}^2$ と有意差はないが減少している。さらに骨塩量は受講前 $1941 \pm 351 \text{ g}$ から受講後 $1861 \pm 378 \text{ g}$ と有意に減少していた (図5)。この点はメタボリックシンドローム是正の際、大きな問題点となるので、さらに減量の程度で比較した。B群を体重減少3.6kg以下群 (不良群) 30名と、体重減少3.6kg以上群 (成功群) 33名に分けて比較したところ不良群では有意に骨密度、骨塩量、アディポネクチンが減少していた。成功群で重要なのは骨塩量、骨密度量は有意な減少を示さないことである。また、メタボリックシンドロームに好影響のあるアディポネクチンが成功群では有意な減少をしておらず、肥満脂肪細胞の指標であるレプチンの減少率、インスリン抵抗性を示すIRIと空腹時血糖、HbA1cの減少率は成功群で大きかった。そこで、ALDH2の多型別に解析すると、成功群はGG型17名、GA型15名、AA型1名、不良群ではGG型15名、GA型13名、AA型2名であって、減量の成否にはALDH2の多型が直接関与していない。骨質減少の大きな要因と考えられるレプチンは指導前後で有意に減少しているが、GG型で $p < 0.0001$ 、GA型で $p < 0.002$ 、AA型で $p < 0.285$ (有意差なし) であった。

考 察

1. 骨折の原因と骨密度

骨粗鬆症において疾患に伴う合併症は骨折である。骨折の発生は、主に“骨の強さ”と“外力 (転倒など)”によって規定される。今回対象となった大腿骨頸部骨折患者の骨密度はYAM 61%で、骨粗鬆症と診断されるが、骨折の原因も36名中34名 (94%) が転倒であった。大腿骨頸部骨折は骨粗鬆症に起因する骨折の代表的なもので、寝たきりの原因ともなるので、転倒を防止することは、とても重要である。また、対象者のうち20名 (56%) が認知症であり、予後を悪化させていると思われる。

骨折患者では、入院時には骨形成マーカーであるオステオカルシンもBAPも基準値を下回っており (図1)、

骨粗鬆症の一因であると考えられる。オステオカルシンは成熟骨芽細胞から分泌される終末分化マーカーであって、その値が基準値に比較して極度に低いことが骨質形成の低下状態を明確に示している。また、手術後の退院時でも十分に上昇していない。これに対してBAPは骨形成過程にある骨芽細胞膜から放出されるので、手術後の退院時には基準値を僅かに上回っている (図1)。BAPの半減期は3.5日と長く、安定であり、食事等の外因に左右されないで、ゆっくりと徐々に上昇して、骨折直後からの骨芽細胞の修復増殖はあり得るが、実測値は遅れて上昇すると考えられる。一方、骨吸収マーカーであるNTXとDPDはいずれも高値を示した。NTXは、骨表面で破骨細胞が骨破壊を起こす際に直接産生される蛋白質で、高値の場合、骨吸収が盛んに行われていることを表している。更にDPDは骨にしか存在しないため、この2つの骨吸収マーカーが活発に亢進していることから、骨吸収と骨形成のアンバランスが起これ、骨代謝回転が高まり、骨の破壊が進行していると考えられる。

また骨折患者の栄養摂取量の平均は全体的に少なく、血清アルブミン、ヘモグロビンなどの臨床データ (表1) から低栄養の傾向にあることがわかる。しかし、入院前の食事状況の聞き取りが実施できた患者 ($n=11$) は、入院前にはよく食事を摂れており、特にカルシウムとビタミンDの摂取量に関しては、日本人の食事摂取基準¹²⁾の推奨量・目安量より多いため、不足していた可能性は低いと思われる。また聞き取りが実施できた患者は、認知症もなく、状態が安定してくると入院中の食事でもよく摂取する傾向があった。

クリニック受講者では、MTHFR遺伝子多型と骨密度について分析の結果、有意差はなかった。MTHFRはホモシステインをメチオニンに変換する反応に関与する酵素であり、ホモシステインが増加すると骨強度の低下^{13, 14)}を惹起し、葉酸とビタミンB₁₂の投与の無作為化対照試験では、1,000例あたり偽薬群が43、投与群が10の骨折発生率である¹⁵⁾。そのため、ホモシステイン

が測定できた59名のデータと骨密度の相関を調べたが、相関はなく、この時点でホモシステインは骨密度にほとんど影響を与えていないと考えられる。しかし、これは少数例の測定値であり、長期に渉るホモシステイン濃度と関連するMTHFRの多型ではCC>CT>TTの順に骨密度が高い傾向がみとめられている。最近の報告によれば、ホモシステインの濃度は骨折の予測因子であり、かつこの効果は骨密度とは無関係であったと報告されている^{13, 14)}。

2. 適量のアルコールによる骨密度の増加

今回の対象者のなかで、クリニック受講者ではALDH2対立遺伝子Aを持たないアルコール耐性の人ほど骨密度が有意に高い結果となった(図4)。欧米人はALDH2のA型対立遺伝子を持たないために³⁾、本研究に関する先行研究は日本人における集団検診の1報告に限られる²⁾。しかし、本研究のようにA群で骨折患者、B群で介入対象者を実際に解析した研究は初めてである。また、介入による骨密度の減少は有意に不良群に多いが、レプチンを十分に減少させた成功群にあっては骨密度の有意な減少は無かった(表5)。なぜアルコール代謝が骨密度に影響するかを検討した先行研究⁶⁾では適度なアルコール摂取(1日4g以上8g以下)が骨密度を12%上昇させる理由として、血清上皮小体ホルモン濃度が減少して骨吸収が抑制され、骨の再構築も減少する一方で、血清カルシトニン濃度とエストロゲン濃度の増加が骨密度増加につながると推定している⁶⁾。飲酒者では、骨吸収マーカーであるNTXと、骨形成マーカーである血清オステオカルシンが減少しているために骨リモデリングが減少している⁶⁾。しかし、クリニック受講者のアルコール摂取量と骨密度の関連はなかった。対象者が全員女性であり、一般的に女性はアルコールを飲まない人が多いため、アルコール耐性にかかわらずアルコール摂取量と骨密度の関連は得られなかったのではないかと考えられる。

反対に、骨折患者はALDH2対立遺伝子Aを持つアルコール非耐性の人ほど、有意差はないが、骨密度が高い傾向を示した。骨折患者はYAMが極端に小さい値であるため、ALDH2遺伝子多型の影響が現れにくかったのではないかと考えられる。しかし今回の研究で、骨折治療に対するALDH2遺伝子多型の影響について明確な結論は得られなかった。

3. メタボリックシンドローム是正と骨塩減少に及ぼす多型の影響

メタボリックシンドロームの治療のための減量によって骨密度の減少が起こることは本研究においてもその傾向が認められ(図5)、2008年からの特定健診・特定保健指導に伴う全国的な減量運動によって骨粗鬆症の増加が懸念される。骨密度はB群全体で見ると、受講前 $1.050 \pm 0.120 \text{ g/cm}^2$ から受講後 $1.038 \pm 0.114 \text{ g/cm}^2$ と有意差は

ないが減少している。さらに骨塩量は受講前 $1941 \pm 351 \text{ g}$ から受講後 $1861 \pm 378 \text{ g}$ と有意に80g(4.1%)減少していた。今回対象としたクリニック受講者の73%は閉経後女性であった。閉経後の女性はエストロゲンの分泌低下により骨塩量が減少するため、閉経後の日本人女性の平均骨塩量減少率とクリニック受講者の平均骨塩量減少率を比較した。これによると、閉経後の女性は半年間で約0.7%減少するのに対して、クリニック受講者B群では半年間で4.1%減少していた。この減少傾向は閉経の影響だけとは考えにくく、今後のメタボリックシンドロームの栄養指導においての重要な注意点である。そこでさらに次のような解析を進めた。

減量が十分で脂肪細胞から分泌されるレプチンが減少すれば、レプチンによって負の制御を受けている骨芽細胞が活性化されて骨形成が促進される面も考えられる¹⁶⁾。事実、表5に示すように減量の十分な成功群においては骨密度、骨塩量とも有意な低下が見られない。これに対して不良群では有意に骨密度、骨塩量が低下するのである。不良群にどれだけの運動量不足があったかは今後の問題であるが、骨密度、骨塩量の維持については減量手段に一定量の運動負荷が不可欠であると考えられる。その後、本栄養クリニックにおいて、さらに検討が進められ54名(56 $\pm$ 11歳, BMI 26.9 $\pm$ 4.1kg/m²)に対して骨密度は受講前 $1.057 \pm 0.134 \text{ g/cm}^2$ 、受講後 $1.056 \pm 0.133 \text{ g/cm}^2$ とほとんど差を認めず、骨密度増加群のほうが骨密度低下群よりも、有意に体重減少と体脂肪減少率が大きく、骨密度変化率は体重変化率と逆相関($r = -0.311$)したので、適切な減量介入は骨密度を増加、あるいは維持できると結論された¹⁷⁾。

表5の成功群と不良群をALDH2の多型別に解析すると、成功群はGG型17名、GA型15名、AA型1名、不良群ではGG型15名、GA型13名、AA型2名であって、減量の成否にはALDH2の多型が直接関与していない。これは矛盾しているように見えるが、A型対立遺伝子保有者には何らかの補償機構が存在する可能性がある。レプチンは標準偏差が大きい指標ではあるが、平均値で見るとGG型が4258pg/ml、GA型が3017pg/ml、AA型が1992pg/mlと2倍以上の違いがあり、これは偶然とは言えない。アディポネクチンもGG型が11.1 $\mu\text{g/ml}$ 、GA型が9.1 $\mu\text{g/ml}$ 、AA型が6.3 $\mu\text{g/ml}$ と異なっている。

骨芽細胞に局在するEsp遺伝子の発現は血糖恒常性維持と肥満をホルモン様基質であるオステオカルシンの骨芽細胞からの分泌の制御を介して相互に制御されている¹⁶⁾。非カルボキシル型オステオカルシンはすい臓でのインスリンの制御因子として、また脂肪細胞ではエネルギー代謝を修飾するアディポネクチンを増加させる¹⁶⁾。事実、表5では成功群は不良群と異なり、高比重アディポネクチンの有意な低下が見られない。

今回、骨粗鬆症を発症していない群においてALDH2遺伝子多型が骨粗鬆症のリスクとして示唆されたが、骨粗鬆症患者についても同じ事がいえるのか今後の調査が

必要である。

最後に今後の展望であるが、骨粗鬆症の疾患関連遺伝子座の知見は最近数年の全ゲノム関連解析の進歩によって、確率度が高まり、複数の交絡因子の存在にもかかわらず飛躍的に増大している。TNFRSF11B（オステオプロテグリン）遺伝子や LRP5（リポ蛋白質受容体関連蛋白質）などの多型は大腿骨頸部骨折や骨粗鬆症の新しい危険因子として発見されて、将来の一次予防に有用と考えられるようになった¹⁸⁾。なお本研究終了後に、350 人の大腿骨頸部骨折患者と 350 人の中国人対照者の全ゲノム遺伝子関連解析において、第五染色体（5q31）上の ALDH の一塩基多型（rs13182402）が有意に骨粗鬆症と関連することが確認されて、骨芽細胞増殖を阻害するアセトアルデヒドの ALDH による解毒がその機序であると推定している¹⁹⁾。

謝 辞

本研究を行うに際し、貴重なデータを提供してくださいました対象者の皆様、世田谷下田総合病院の整形外科スタッフの皆様に深謝いたします。また、ビタミン D 受容体の遺伝子多型を解析して下さった女子栄養大学分子栄養学教室の福島亜紀子准教授、佐久間慶子教授に御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会 代表 折茂 肇 編：骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2006 年版。ライフサイエンス出版、東京、pp.1-141（2006）
- 2) Yamaguchi, J., Hasegawa, Y., Kawasaki, M., *et al.*: ALDH2 polymorphisms and bone mineral density in an elderly Japanese population, *Osteoporosis Int.* **17**, 908-913（2006）
- 3) Harada, S., Zhang, S.: New Strategy for detection of ALDH2 mutant. *Alcohol and Alcoholism.* **28**, 11-13（1993）
- 4) 原田勝二：日本人のアルコール代謝酵素の遺伝子多型。最新医学 57（生活習慣病増刊号）, 630-640（2002）
- 5) Kanis, J.A., Johansson, H., Johnell, O., *et al.*: Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporosis Int.* **16**(7), 737-742（2005）
- 6) Rapuri, P.B., Gallagher, J.C., Balhorn, K.E., *et al.*: Alcohol intake and bone metabolism in elderly women. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**, 1206-1213（2000）
- 7) 香川靖雄, 四童子好廣 共編：ゲノムビタミン学 遺伝子対応栄養教育の基礎。建帛社、東京、pp.1-222（2008）
- 8) Kagawa, Y., Hiraoka, M., Miyashita-Hatano, Y., Shishido-Oki, M., Yoshida, M., Kondou, S., Sugiura, M., Sawakami-Kobayashi, K., Takahashi, M., Tajima, H., Yohda, M.: Automated single nucleotide polymorphism typing using bead array in capillary tube. *J. Biosci. Bioeng.* **111**, 505-508（2010）
- 9) 平井千里, 石井由香, 蒲池桂子 他：減量指導約 30 年後の女性においてアディポネクチン g276t 遺伝子多型の g/g 型は t/t 型に比べて有意に BMI 増加がありウエスト周囲径が高い。日本病態栄養学会誌, **11**, 1-12（2008）
- 10) Kagawa, Y., Kagawa, A.: Secondary prevention of cardiovascular diseases of outpatients of the nutrition clinic. In *Nutritional Prevention of Cardiovascular Diseases* (ed. By Lovenberg, W., Yamori, Y.) Academic Press, New York, pp.339-348（1984）
- 11) 細谷憲政 編：日本人の新身体計測基準値 JARD2001。メディカルレビュー社、東京（2002）
- 12) 厚生労働省：日本人の食事摂取基準 2005 年度版。第一出版、東京、（2005）pp.1-202
- 13) van Meurs, J.B., Dhonukshe-Rutten, R.A., Pluijm, S.M., *et al.*: Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med* **350**, 2033-2041（2004）
- 14) McLean, R.R., Jacques, P.F., Selhub, J., *et al.*: Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons. *N Engl J Med* **350**, 2042-2049（2004）
- 15) Sato, Y., Honda, Y., Iwamoto, J., *et al.*: Effect of folate and mecobalamin on hip fractures in patients with stroke: a randomized controlled trial. *JAMA.* **293**, 1082-1088（2005）
- 16) Wolf, G.: Energy regulation by the skeleton. *Nutr Rev* **66**, 229-233（2008）
- 17) 黒沢真奈, 藍 真澄, 露崎可奈 他：適切な指導による減量は骨密度を増加させる。日本病態栄養学会誌, **11**(5), 113（2008）
- 18) Richards, J.B., Rivadeneira, F., Inouye, M., *et al.*: Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet.* **371**(9623), 1505-1512（2008）
- 19) Guo, Y., *et al.*: Genome-wide association study identifies ALDH7A1 as a novel susceptibility gene for osteoporosis. *PLoS Genet.* **6**(1), e1000806（2010）