

一流競技選手の素質に関連する遺伝的マーカーの検索： 競技選手のビタミンD受容体遺伝子多型について

筑波大学体育科学系 教授 鈴木 正 成
助教授 徳 山 薫 平

研究目的

「天性の素質」つまり遺伝的要素がスポーツの成績を左右する大きな因子であることは、競走馬においてその走行能力に基づいて選択交配を繰り返してサラブレッドが完成されてきた例に端的に示されている。ヒトの運動能力についても遺伝因子の関与が考えられている。その生理学的な根拠として、親子間の比較や双生児を対象とした研究によって骨密度、造血機能、最大酸素摂取量、心臓容積、骨格筋の線維タイプなどが遺伝因子の影響を受けている事実が報告されている。本研究は、分子遺伝学的分析法を用いて、その「天性の素質」の実態探究に着手した。

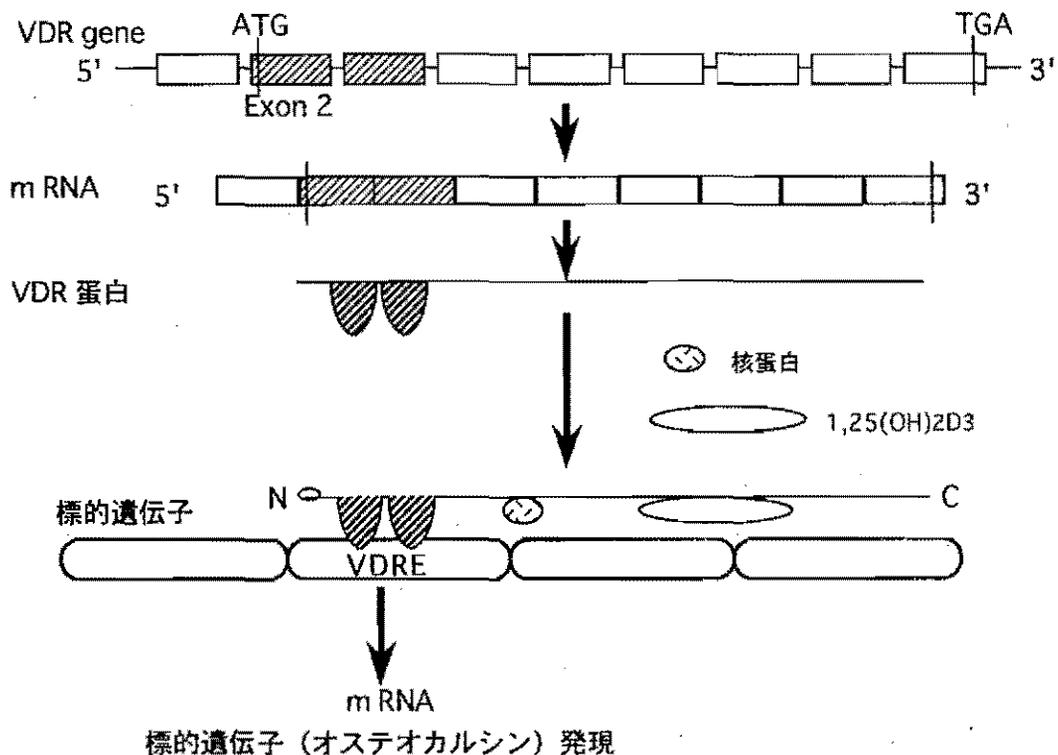
ビタミンD受容体遺伝子については、制限酵素Bsm1を用いた制限酵素断片長多型法により識別されるbb型遺伝子を持つ者はBB型遺伝子を持つ者に比べて骨密度が高く、骨粗鬆症の発症率が低いとされている。従って、週間走行距離が200kmにも及ぶ陸上競技長距離種目では、bb型ビタミンD受容体遺伝子を持つことが、疲労性骨折の危険を少なくする意味で有利な生体条件となると考えられる。また強い骨格が要求されると考えられる陸上競技投擲種目においても、bb型ビタミンD受容体遺伝子を持つ選手が有利となる可能性がある。従って、これらの種目の一流選手では、一般人に比べて、bb型ビタミンD受容体遺伝子を持つ者の割合が高い可能性が考えられる。本研究では、このような視点から競技者の遺伝子多型の分布が競技特性を反映している可能性を検討する。

平成7年度に本研究を開始した時点においてはビタミンD受容体遺伝子には制限酵素Bsm1 (BB, Bb, bb型) Apa1 (AA, Aa, aa型) およびTaq1 (TT, Tt, tt型) を用いての多型しか知られていなかったが、その後制限酵素Fok1を用いての遺伝子多型の存在も知られるようになった。ビタミンD受容体遺伝子には、活性化型ビタミンD₃を結合する部位 (ホルモン結合部位) と標的遺伝子のビタミンD受容体応答領域

(VDRE) に結合する部位 (DNA結合領域) がある。最近、ビタミンD受容体遺伝子のDNA結合領域の一部をコードしているExon 2における多型が発見された。制限酵素Fok1を用いる制限酵素長断片法

(RFLP法) 解析から、ビタミンD受容体遺伝子は、Exon 2内にFok1認識部位があるために切断される対立遺伝子fとその認識部位がないために切断されない対立遺伝子Fに分別される。つまり、Fok1によりビタミンD受容体遺伝子型はFF、Ffおよびffという3つの多型で表現される。このビタミンD受容体遺伝子多型と骨密度の関係について、ff型保有者に比べてFF型保有者で骨密度が高い傾向にあると報告さ

れ、特に遺伝的支配を強く受けるとされる腰椎で顕著だといわれている。また、老年期における骨密度の減少率も、ff型保有者に比べてFF型保有者で小さいと報告された。FokIによるビタミンD受容体遺伝子多型は、従来報告されたいくつかのビタミンD受容体遺伝子多型とは異なり、その受容体蛋白のDNA結合領域に構造的差異を持つ。その構造の違いがビタミンD受容体と標的遺伝子のVDREの結合に関与し、ビタミンD受容体の標的遺伝子のひとつとされるオステオカルシンの発現に影響を与えている可能性がある。オステオカルシンは骨の石灰化を促す骨芽細胞由来の骨基質蛋白であるため、ビタミンD受容体蛋白の構造の違いが、2次的に骨代謝を調節している可能性もある。しかし、その詳細については明らかにされていない。



ビタミンD受容体の構造

平成7年度

ビタミンD受容体遺伝子の多型分布が一流競技者と一般人の間で、また競技特性の異なる種目間において異なっているか否かを検討した。

骨密度や全身持久力の重要度が異なる競技種目の典型として、陸上競技投擲種目(32名)、長距離走種目(49名)を選び、その対象群として競技歴を持たない一般学生(90名)を被検者とした。被検者の同意を得て、末梢血を0.5ml採取し、遺伝子(DNA)をSDS-フェノール法により抽出する。PCR増幅装置を用いてビタミンD受容体遺伝子を増幅した後に、遺伝子の型(多型)を制限酵素断片長多型法により判定する。制限酵素としてBsmIを用いる制限酵素断片長多型法によるビタミンD受容体遺伝子多型分析を

した。その結果、日本人ではb型遺伝子が圧倒的に多い事が明らかとなったので、制限酵素としては、BsmIに加えてTaqIおよびApaIも用いて検討した。

制限酵素BsmI, ApaI, TaqIそれぞれの遺伝子 (B, b, A, a, T, t) 頻度は各運動種目群においてほぼ同頻度であった (Table 1)。また、BsmIを用いた制限酵素断片長多型法によるビタミンD受容体遺伝子多型分析では、b型遺伝子が圧倒的に多かった。欧米人においては、b型遺伝子の頻度が50~60%であるとの報告で一致しており、ビタミンD受容体遺伝子多型の分布には人種差のあることが確認された。

制限酵素BsmI, ApaI、及びTaqIを用いての制限酵素断片長多型法による遺伝子多型の分析により、被検者の遺伝子型は主に4種類のハプロタイプ (bbaaTT, bbAaTT, BbAaTt, bbAATT) からなっていることが明らかとなった (Table 2)。ビタミンD受容体遺伝子ハプロタイプは骨密度と相関し、さらに1 α -hydroxy vitamin D₃投与による骨密度の上昇度とも相関していると報告されている。投擲選手には長距離走者や一般学生と異なり、高い骨密度と相関している bbaaTTハプロタイプの出現比率が高く、低い骨密度と相関している BbAaTt, bbAATTハプロタイプの出現比率が低い特徴がみとめられた。また、長距離選手のビタミンD受容体遺伝子ハプロタイプ分布は一般学生のそれとほぼ同じであった。

本研究結果は、特定の遺伝的要素を持った者が、特定のスポーツ競技において活躍している可能性の一つとして、投擲競技は骨密度を高くするビタミンD受容体遺伝子型をもつという関係を示唆していると考えられる。研究成果の一部を、第50回日本栄養・食糧学会 (平成8年4月・京都) において発表した。

Table 1. Frequencies of RFLP alleles.

Enzyme treatment	Alleles	Throwers	Runners	Controls
		(%)	(%)	(%)
BsmI	B	9.38	11.22	11.11
	b	90.62	88.78	88.89
ApaI	A	25.00	29.59	30.56
	a	75.00	70.41	69.44
TaqI	T	93.75	87.76	89.44
	t	6.25	12.24	10.56

Table 2. Frequencies of vitamin D receptor haplotypes in throwers, runners and controls.

Haplotypes	Throwers		Runners		Controls	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
bb aa TT	19	59.38	23	46.94	40	44.44
bb AaTT	8	25	11	22.45	27	30
Bb AaTt	1	3.13	11	22.45	13	14.44
bbAATT	1	3.13	3	6.12	4	4.44
BBAATt	1	3.13	0	0	1	1.11
BBAA tt	1	3.13	0	0	1	1.11
BbAaTT	1	3.13	0	0	1	1.11
BbAATt	0	0	0	0	1	1.11
Bb aa Tt	0	0	0	0	1	1.11
bb aa Tt	0	0	0	0	1	1.11
bb Aa Tt	0	0	1	2.04	0	0

平成8年度(1)

ラグビー選手を対象としてビタミンD受容体遺伝子多型分布について、フォワード選手とバックス選手の間で比較をした。ラグビーはその競技特性として、スクラム、ラインアウト、ライン攻撃などに表されるように、フォワードはスクラム、ラック、モールなどプレー中にコンタクト場面が多く、主にパワーを要求されるのに対して、バックスはライン攻撃におけるパス、ラン、キックなど瞬発系の動きが多く、主に敏捷性が要求されるという違いがある。更に平成8年度には一流長距離ランナーのミトコンドリアDNA遺伝子多型についての検討も加え、ミトコンドリアDNA遺伝子の塩基配列における個体差が、長距離ランナーの素質に関連している可能性を検討した。

ビタミンD受容体遺伝子多型の解析には筑波大学ラグビー部のフォワード26名とバックス32名を被検者とした。被検者の同意を得て、末梢血を0.5ml採取し、遺伝子(DNA)をSDS-フェノール法により抽出した。PCR増幅装置を用いてビタミンD受容体遺伝子を増幅した後に、遺伝子の型(多型)を制限酵素断片長多型法により判定した。制限酵素としてApaIおよびTaqIを用いる制限酵素断片長多型法によるビタミンD受容体遺伝子多型分析をした。

表3に示されたように、高骨密度と相関をもつTT型がフォワードに多くみうけられることが明らかとなった。これらの結果は昨年度の投擲選手の結果と同様に、ヒトの運動能力、特にパワーを要求される種目の競技者においてはビタミンD受容体遺伝子多型の分布が一般人と異なっており、遺伝因子の関与が示唆されるものである。

表3. ラグビー選手のビタミンD受容体遺伝子多型解析

遺伝子型	フォワード		バックス	
	出現数	出現比率	出現数	出現比率
Apa1				
AA	1	3.9	2	6.3
Aa	12	46.2	18	56.3
aa	13	50.0	12	37.5
Taq1				
TT	22	84.62	20	62.5
Tt	4	15.38	12	37.5
tt	0	0.0	0	0.0

平成8年度(2)

ミトコンドリアも遺伝子を保有し、その異常による糖尿病の発症例や、最近ではミトコンドリア遺伝子多型と寿命との関連も注目されている。われわれは、平成8年度の研究において、一流長距離ランナーの素質に関連する遺伝子を検索することを目的として、有酸素エネルギー代謝に焦点をあて、ミトコンドリア遺伝子の塩基配列の個人差を調べた。酸化的リン酸化系の酵素群をコードするミトコンドリアDNAの転写調節部位(D-loop領域)について、その塩基配列の多型を調べ、一流長距離ランナーに特異な多型が存在するか否かを検討した。

ミトコンドリアDNA 遺伝子多型の解析には筑波大学陸上部に所属する一流長距離選手5名と競技歴を持たない一般学生5名を被検者とした。長距離ランナーは、いずれも国内トップレベルの競技力を有する一流学生長距離ランナーであり、全国大会入賞かそれ以上の競技成績を有している。一般健康人は、現在および過去において、専門的にランニングトレーニングを行っていない大学生である。被検者の同意を得て、末梢血を0.5ml採取し、遺伝子(DNA)をヨウ化ナトリウム法により抽出し、PCR増幅装置を用いてミトコンドリアDNAのD-loop領域を増幅した後に、ジデオキシ法により、プラスミドにサブクローニングしたPCR産物をシーケンシングした。

その結果、一流長距離ランナーの素質に関連する遺伝子を検索することを目的として、有酸素エネルギー代謝に焦点をあてた。酸化的リン酸化系の酵素群をコードするミトコンドリアDNAの転写調節部位(D-loop領域)について、その塩基配列の多型を調べ、一流長距離ランナーに特異な多型が存在するか否かを検討した。その結果、D-loop領域に多くの多型が存在し、個人間でばらつきのあることが確認された。本研究では、Andersonらにより決定されたヒトミトコンドリアDNAの塩基配列を基本配列とし、

それと異なる配列を探すという方法で、多型を検出した。突出して多くの多型が認められた一人の非運動選手を除くと、一流長距離ランナーで変異数が多い傾向が認められた(表2)。また、一流長距離ランナーはいずれも、他人の持っていない変異または一流長距離ランナーのみにみられる変異を一つ以上持っていた。これらの結果は、一流長距離ランナーのD-loop DNAが個性に富み、一般人と異なることを示唆するものである。しかし、ミトコンドリアDNAの転写調節部位であるD-loop領域における塩基配列の多型のみで、長距離ランナーの素質が決定されることは考えられない。ミトコンドリアDNAの他の領域や、あるいは核DNAにも小さな影響力を持つ多型が存在すると思われ、これらを調べれば、何らかのリンケージを認める可能性もある。一流長距離ランナーの素質をより明確に定義づけるためには、さらに広範囲にわたってDNA多型を調べる必要がある。

表4. 一流長距離ランナーのミトコンドリアDNA 遺伝子多型解析

被検者	性	年齢(歳)	身長(cm)	体重(kg)	変異塩基数	競技記録
一流長距離ランナー						
1	女性	21	164	47	7	15'53"9 (5,000m)
2	女性	20	154	43	6	9'05"70 (3,000m)
3	女性	20	163	46	3	2'03"45 (800m)
4	女性	21	154	38	8	32'34"11 (10,000m)
5	男性	24	168	58	5	1° 03'53 (Half marathon)
非競技者						
6	女性	24	162	60	3	
7	女性	24	155	48	3	
8	男性	26	170	75	11	
9	女性	29	157	56	0	
10	女性	25	154	47	2	

ビタミンD受容体遺伝子多型についての研究成果の一部を第51回日本体力医学会(平成8年9月・広島)において発表した。

平成9年度

Bsm1を用いた制限酵素断片長多型法によるビタミンD受容体遺伝子多型分析では、欧米人においては、b型遺伝子の頻度が50～60%であるとの報告で一致しているが、アジア人ではb型遺伝子が圧倒的に多く、ビタミンD受容体遺伝子多型の分布には人種差のあることが確認されている。従って、調査の対象を日本人とする骨粗鬆症予備群のスクリーニングやスポーツタレントの発掘のためには、他の指標からの遺伝子検索も必要と考えられる。ビタミンD受容体遺伝子の翻訳開始点の塩基配列の違いに由来する遺伝子多型(mm:32%, mM:56%, MM:12%)については日本人においては極端な分布のかたよりもなく、また各遺伝子型が骨密度に及ぼす影響も大きいことが最近報告された。平成9年度には、レジスタンストレーニングに対する骨の代謝応答にビタミンD受容体遺伝子多型の違いが影響を及ぼすか否かについて検討した。

分析方法

1年間以上運動トレーニング習慣を持たない20代の男性51名を対象とした。骨疾患についての既往歴がないこと、骨代謝に影響を与える薬物を常用していないことなどを確認し、対象者の同意を得た上で末梢血を採取した。採取した末梢血からSDS-フェノール法によりDNAを抽出した。PCR増幅装置を用いてビタミンD受容体遺伝子を増幅し、制限酵素FokIによる制限酵素断片長多型法(RELP法)解析をした。制限酵素FokIで切断されるものをf型、切断されないものをF型とし、対立遺伝子型をff、FfおよびFFの3タイプに分類した。

ビタミンD受容体遺伝子解析の結果からFF型保有者およびf型保有者それぞれ各12名ずつを被検者として選んだ。実験時の身体的特徴について両群間に有意な差は認められなかった(表5)。被験者には研究の目的と方法を詳しく説明し、実験参加の承諾を得た。実験期間を3日間とし、採血と24時間尿を採集した。採血は3日目の早朝空腹時、採尿は2日目の午後5時から3日目の午後5時までとした。実験期間中は運動を避け、さらに食事をコントロールした。実験食は熱量を2500kcal/日(炭水化物53%、たんぱく質12%、脂肪35%)とし、カルシウム含量とビタミンD含量をそれぞれ900mg/日と200IUとした。脱イオン水もしくはお茶を自由摂取させた。また、骨密度も測定した。

摂取した血液から血清を分離し、分析まで-60℃で凍結保存し、血中オステオカルシン(OC)濃度をRIA法によるエルザ・オステオカルシン・キット(CIS bio international)で測定した。血清骨型アルカリホスファターゼ(B-ALP)活性はEIA法によるALKPHASE-B(Metra Biosystems, Inc)で測定した。骨代謝調節ホルモンである血清中の活性型ビタミンD₃(1,25-(OH)₂D₃)濃度を測定した。採取した尿を分析まで

-60°Cで凍結保存し、骨吸収マーカーとして尿中デオキシピリジノリン(D-PYR)排泄量をEIA法によるオステオリンクスDPD(Metra Biosystems, Inc)で測定した。また、尿中1型コラーゲンN末端テロペプチド(NTx)排泄量をELISA法により、OSTEOMARK(Ostex International, Inc)で測定した。

骨密度測定は、二重エネルギーX線吸収法(アロカ社製骨塩量計測装置;DCS-3000)で行なった。測定部位は、第2~4腰椎、大腿骨頸部、大転子、Ward三角(標準位置)および全身骨の計5ヶ所とした。また、頭、腕、肋骨、脊椎、骨盤、および脚の6領域の合計値を全身の骨密度とした。

Table 5 Physical characteristics of the subjects

	group-F (n=12)	group-f (n=12)
Age(years)	23.92±0.58	23.75±0.43
Height(cm)	173.17±1.65	172.50±1.29
Weight(kg)	66.51±1.82	67.95±2.03
Body Fat(%)	18.46±1.02	18.27±1.18
BMI	22.15±0.39	22.80±0.50

レジスタンス運動トレーニング負荷実験方法

ビタミンD受容体遺伝子解析の結果からFF型保有者9名(トレーニング群5名、非トレーニング群4名)およびf型保有者8名(トレーニング群5名、非トレーニング群3名)を被験者とした。実験開始時の身体的特徴は両群間で有意差はなかった(表6)。被験者には研究の目的と方法を詳しく説明し、レジスタンストレーニング負荷実験参加の承諾を得た。

トレーニング群には約1ヵ月にわたって計12回のレジスタンス運動トレーニングを負荷した。トレーニング群については3回のトレーニング毎に採血と採尿を行なった。採血はトレーニングを負荷した翌日の早朝空腹時に行ない、採尿はトレーニング直後から24時間採取した。また、両群とも実験期間の前後において早朝空腹時の採血と24時間の採尿を行なった。採血と採尿は運動のタイミングや食事条件を一定にして行ない、2日前から採尿終了時までは食事をコントロールした。実験食は熱量を2500kcal/日(炭水化物53%、たんぱく質12%、脂肪35%)とし、カルシウム含量とビタミンD含量をそれぞれ900mg/日と200IUとした。脱イオン水もしくはお茶を自由摂取させた。両群とも日常のカルシウム摂取量が不足しないように600mgのカルシウムをウエハウスにて毎日摂取させた。

表6 トレーニング前の被検者の身体特性

	Training	Training	Sedentary
	F (n=5)	f (n=5)	(n=7)
Age(year)	24.00±0.71	24.40±0.81	23.14±0.34
Height(cm)	174.20±3.31	173.80±2.18	173.57±1.17
Weight(kg)	67.06±4.41	66.40±2.32	66.24±1.59
Body Fat(%)	16.80±1.45	16.04±1.52	17.84±0.74
BMI	22.00±0.74	21.98±0.61	21.98±0.41
BMD(g/cm ²)			
Lumber spine	1.149±0.090	1.212±0.060	1.277±0.040
Femoral neck	1.079±0.077	1.071±0.050	1.143±0.036
Total body	1.315±0.063	1.321±0.040	1.334±0.027
BMC(g)	3081.2±332.0	3137.4±137.4	3189.0±118.5

トレーニング群には、マシンを用いる8種目のウエイトトレーニングを負荷した。トレーニングは間隔を24時間以上72時間以内とし、週3回程度の頻度で計12回とした。また、相対的負荷を一定にするために最大挙上重量(1RM)をトレーニングの6回目に測定した。1回のトレーニング量は、トレーニング期間の前半には各種目とも1RMの60%強度で10回1セット、75%強度で10回1セットの合計2セットとした。後半では、各種目とも1RM60%強度で10回1セット、75%強度で10回2セットの合計3セットとした。各セット間の休憩及び種目間の休憩時間は自由とした(表7)。

表7 トレーニングプログラム

	1st set	2nd set	3rd set
	60%*	75%*	75%*
1.Leg press	10	10	10
2.Leg curl	10	10	10
3.Back press	10	10	10
4.Bench press	10	10	10
5.Lat pull down	10	10	10
6.Sit up	10	10	10
7.Back extension	10	10	10

結果

一般学生51名において、制限酵素Fok1を用いるRFLP法解析によるビタミンD受容体遺伝子多型の頻度はFF型 58.8% (n=30)、Ff型 37.3% (n=19) およびff型 3.9% (n=2) であった。調査対象者から抽出した24名の被験者 (F型12名、f型12名) の血清OC濃度および尿中D-pyr排泄量はf型に比べF型で高値を示す傾向があった。また、尿中NTx排泄量はF型でf型に比べて有意に高値を示した。血中活性化型ビタミンD₃濃度はF型とf型の間に有意差を示さなかった (図1-3)。

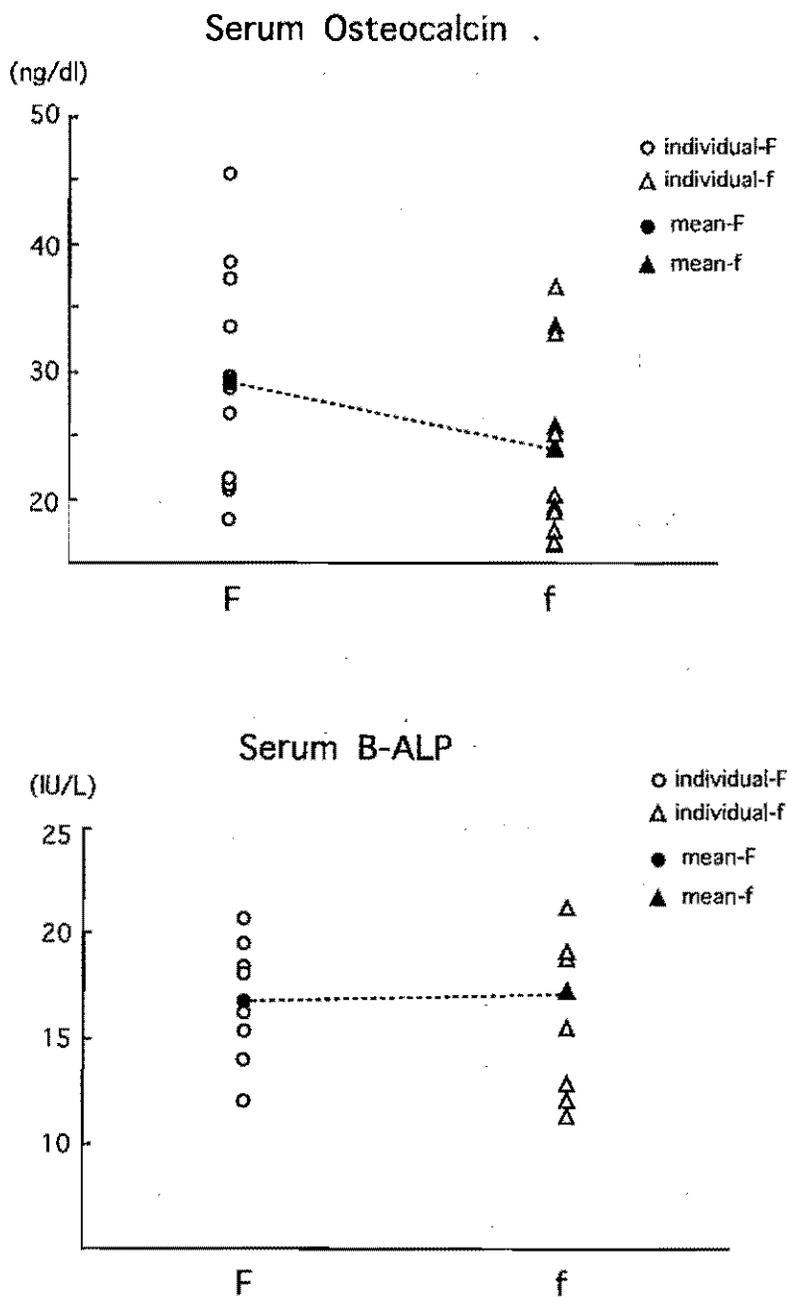


Fig.1 Serum osteocalcin concentration and serum B-ALP activity

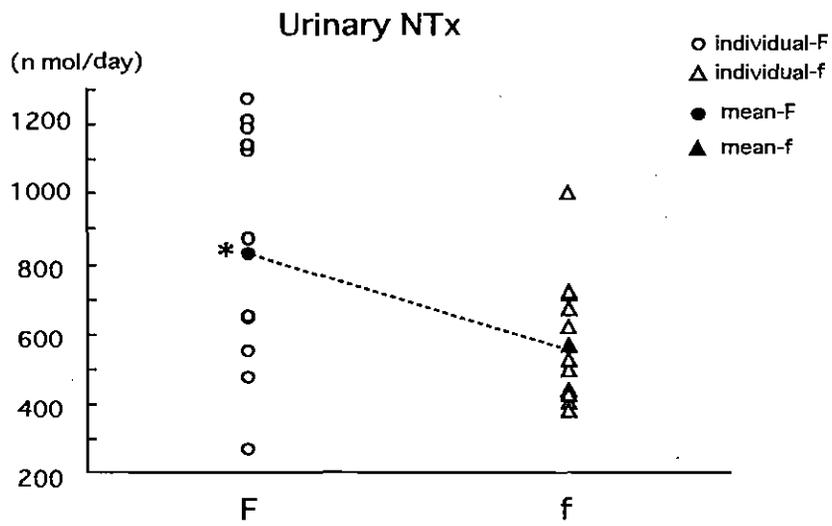
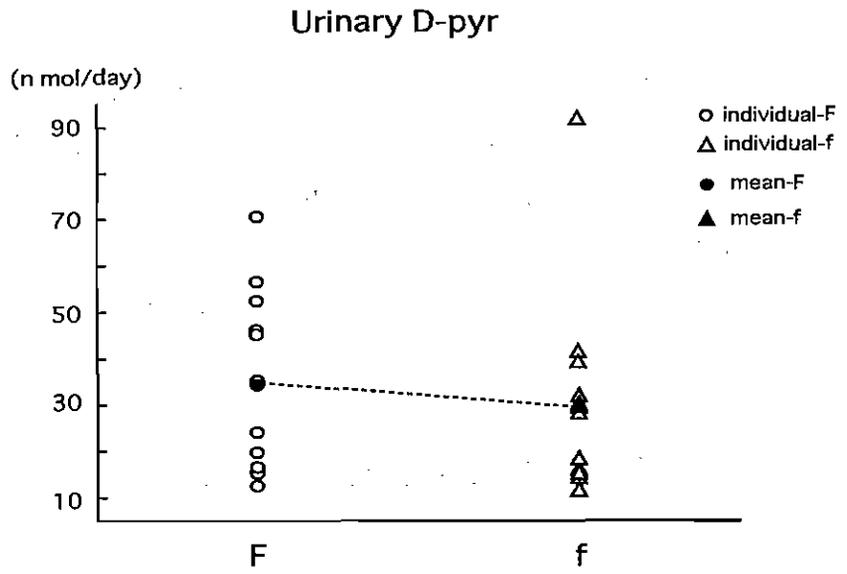


Fig.2 Urinary D-pyr excretion and Urinary NTx excretion

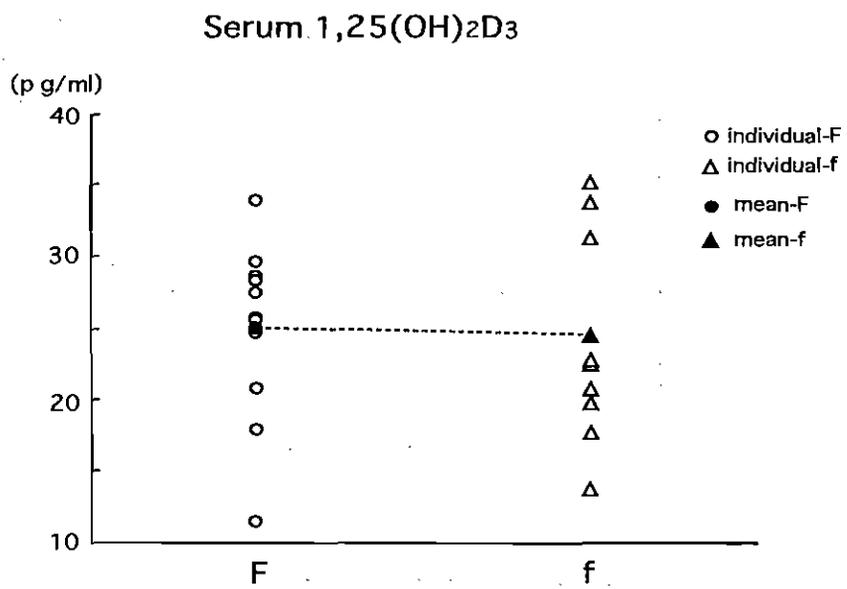


Fig.3 Serum 1,25(OH)₂D₃ concentration

レジスタンス運動トレーニング開始前、血清OC濃度はF型でf型に比べて有意に高値を示した。F型ではトレーニング12回目にトレーニング前値に比べ有意に高値を示した。一方、f型では血清OC濃度はトレーニング期間中わずかに上昇する傾向が見られ、トレーニング期間終了後には有意に高値を示した。また、トレーニング後においても両遺伝子型間の血清OC濃度は有意差が認められた(図4)。血清B-ALP活性は両遺伝子型ともトレーニング9回目でトレーニング前値に比べて有意に高値を示し、トレーニング12回目においても有意に高値を示した。トレーニング後、血清B-ALP活性はF型とf型とも前値に比べて上昇する傾向にあったが有意な上昇ではなかった(図5)。尿中D-pyr排泄量は、F型において1回のトレーニングでトレーニング前値に比べて有意に上昇するが、トレーニング後にやや減少する傾向にあった(図6)。また、尿中NTx排泄量はトレーニング開始前、F型でf型に比べて有意に高値を示していた。尿中NTx排泄量はF型、f型ともトレーニング3回目でトレーニング前値に比べて有意に減少し、F型ではトレーニング中、低値を維持したが、f型においてはトレーニング12回目にはトレーニング前値近くまで上昇した。また、尿中NTx排泄量はF型とf型いずれもトレーニング後に前値と比べて有意に低値を示したが、F型でf型に比べて有意に高値を示した(図7)。血中の活性型ビタミンD₃濃度はトレーニング前、F型とf型の間に差を示さなかった。血中活性型ビタミンD₃濃度はF型ではトレーニングによって大きな変動を示さなかった。一方、血中活性型ビタミンD₃濃度はf型でトレーニング12回目でトレーニング前値に比べて有意に上昇し、トレーニング後にもトレーニング前値と比べて有意に高値を示した。また、血中活性型ビタミンD₃濃度はトレーニング後、f型でF型に比べて有意に高値を示した(図8)。

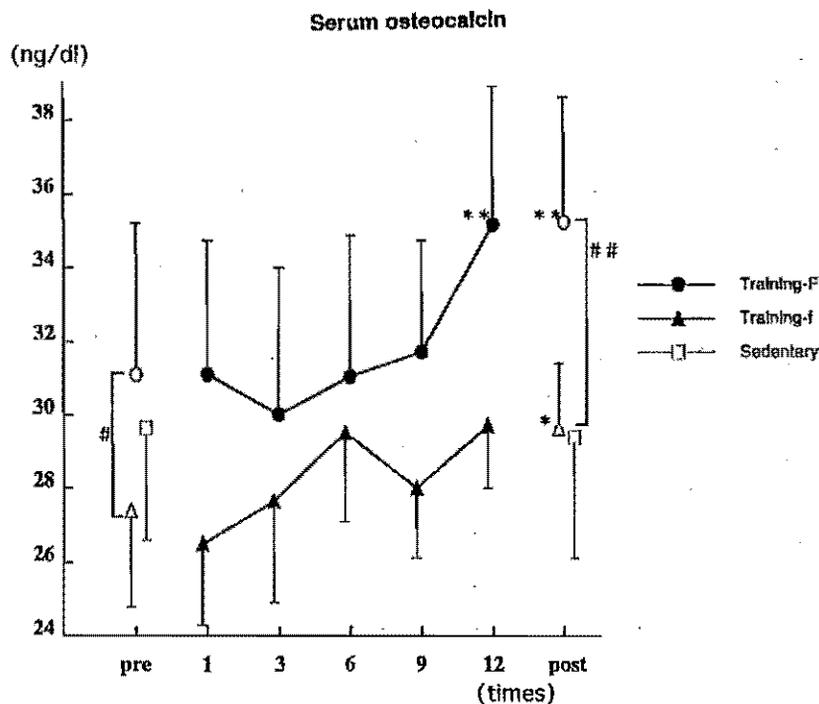


Fig.4 Serum osteocalcin concentration in training (F, f) and sedentary groups. Values are means \pm SEM.
 *,** Significantly higher than pré value (* p <0.05,** P <0.01)
 #,## Significantly higher than f value (# p <0.05,## P <0.01).

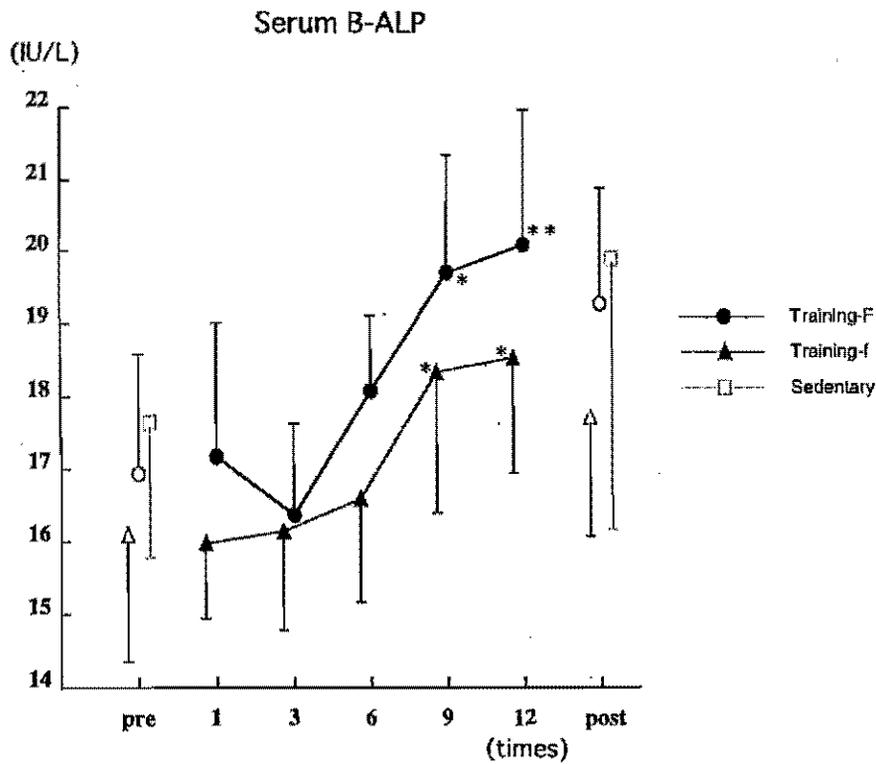


Fig.5 Serum skeletal alkaline phosphatase (B-ALP) activity in training (F, f) and sedentary groups. Values are means \pm SEM. *,** Significantly higher than pre value (* $p < 0.05$, ** $P < 0.01$)

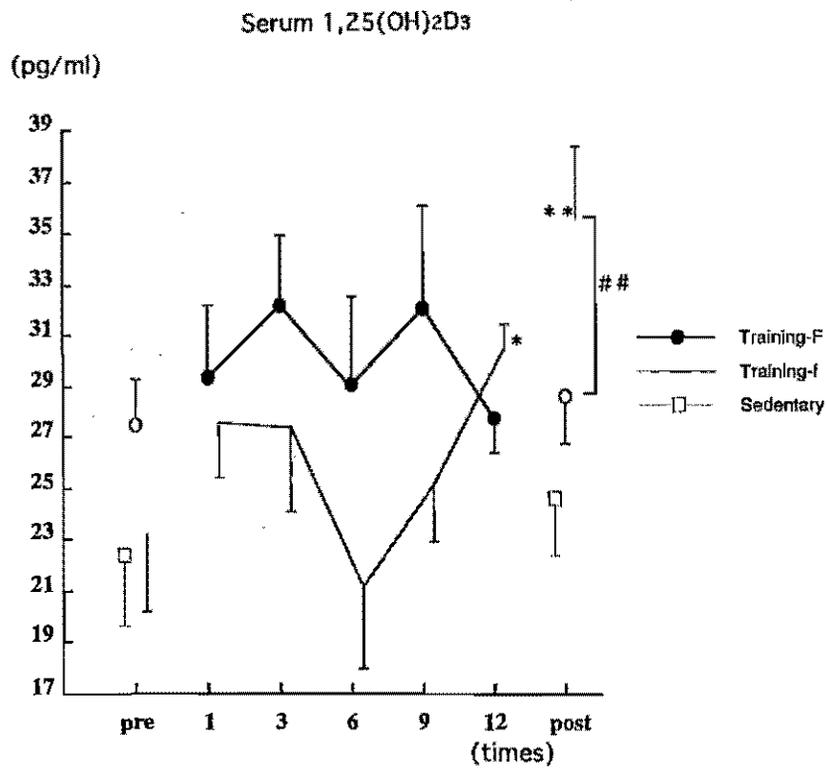


Fig.6 Serum 1,25(OH)₂D₃ concentration in training(F, f) and sedentary groups. Values are means \pm SEM. * Significantly higher than pre value (* $p < 0.05$)
 ## significantly higher than pre value (## $P < 0.01$) .

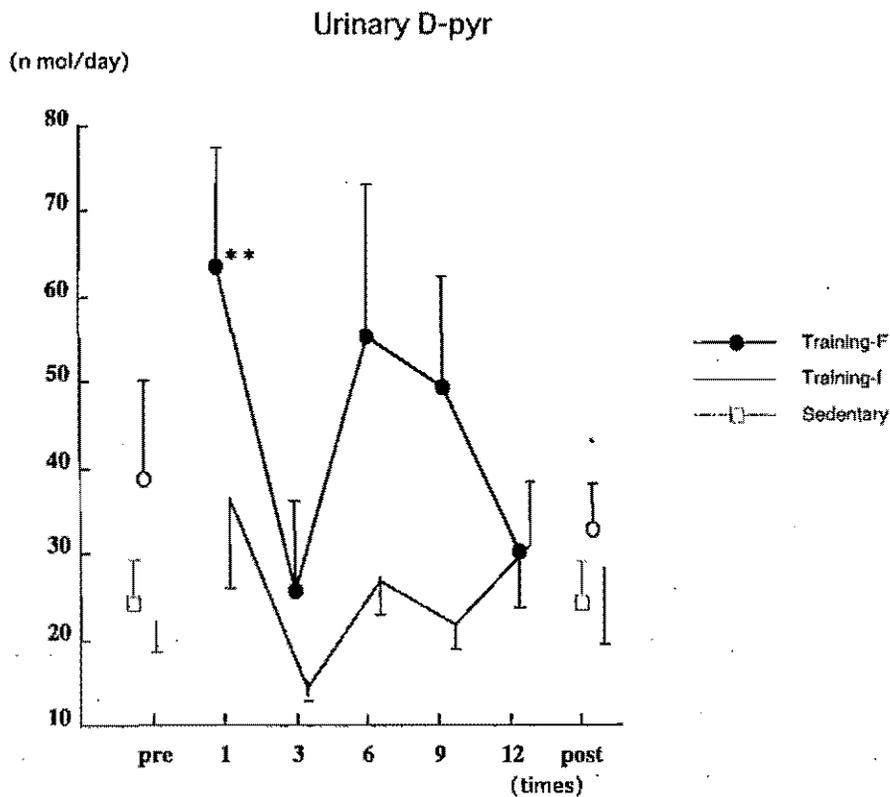


Fig.7 Urinary excretion of deoxypridinolin (D-pyr) in training(F, f) and sedentary groups. Values are means \pm SEM.
 ** Significantly higher than pre value (**p<0.01)

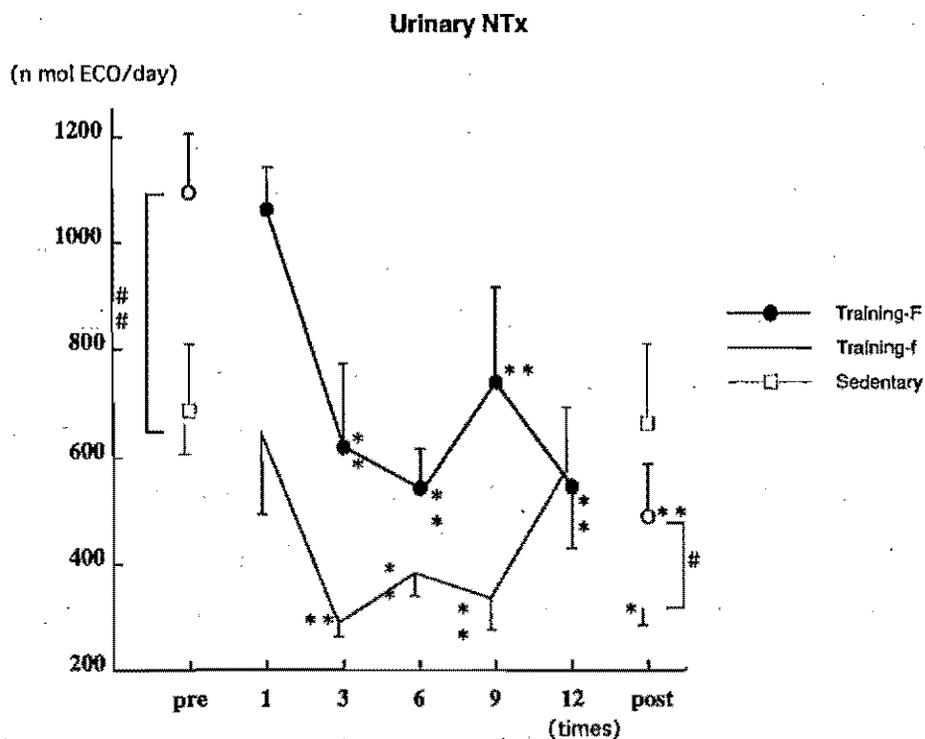


Fig.8 Urinary excretion of NTx in training(F, f) and sedentary groups. Values are means \pm SEM.
 *,** Significantly higher than pre value (*p<0.05,**P<0.01)
 #,## Significantly higher than f value (#p<0.05,##P<0.01) .

考察

レジスタンス運動トレーニングが骨代謝に及ぼす影響について、Fujimuraらは、若年成人男性に4ヵ月のレジスタンス運動トレーニングを負荷し、骨形成の増大と骨吸収の抑制というダイナミックな骨代謝の変化が1ヵ月で現われることを認めた。本研究においても、1ヵ月にわたる12回のレジスタンス運動トレーニングで骨形成マーカーの上昇と骨吸収マーカーの減少傾向を認めた。このことから、若年成人男性ではレジスタンス運動トレーニングの骨形成増大と骨吸収抑制作用を1ヵ月程度の期間で認めることができることが再確認された。

ところで、活性型ビタミンD₃は、ビタミンD受容体蛋白に結合することで生理的な作用を発揮し、骨形成や骨吸収の調節に関与している。骨形成過程は骨芽細胞の分化に始まり、それに続く非石灰化骨基質（コラーゲンやオステオカルシン）の形成とその石灰化で完成する。骨基質の石灰化はオステオカルシンによって促されるが、オステオカルシン遺伝子にはビタミンD受容体応答領域（VDRE）があるために、活性型ビタミンD₃の作用によってオステオカルシンの発現が調節されているといわれている。本研究において、骨芽細胞の分化の指標となる血清B-ALP活性は、レジスタンス運動トレーニングによってF型とf型のいずれでもトレーニングによって顕著に上昇した。しかし、骨基質石灰化の指標とされる血清OC濃度は、F型で前値と比べて顕著に上昇したのに対して、f型ではほとんど上昇しなかった。このことは、F型ではf型よりもレジスタンス運動トレーニングによる骨形成効果が現われやすいことを示唆するのかもしれない。つまり、レジスタンス運動トレーニングは骨芽細胞を刺激してB-ALP活性を上昇させるが、FokIによるビタミンD受容体遺伝子多型の違いはVDREを持つオステオカルシンにおいてのみ反映されていると考えられる。また、活性型ビタミンD₃はオステオカルシンの発現を調節するといわれているが、F型ではレジスタンス運動トレーニングによって血清中の活性型ビタミンD₃濃度が変動しなかったにもかかわらず、血清OC濃度が顕著に上昇した。それに対して、f型ではトレーニング12回目に血清中の活性型ビタミンD₃濃度がトレーニング前値より有意に上昇したが、血清OC濃度の上昇は認められなかった。このように血清中活性型ビタミンD₃濃度に影響を受けることなくオステオカルシンの発現が調節されたことは、ビタミンD受容体遺伝子のFokI多型では、F型とf型でビタミンD受容体蛋白そのものに量的な違い、あるいはビタミンD受容体標的遺伝子のVDRE結合能の違いなどがあり、そのことがオステオカルシンの発現に関与しているのかもしれない。また、この可能性は、トレーニング前値において血清OC濃度はF型でf型よりも高い傾向にあるのに、血清B-ALP活性や血清中活性型ビタミンD₃濃度はF型とf型の間に差がないことから支持される。

一方、D-pyrやNTxの尿中排泄量は骨吸収の指標である。レジスタンス運動トレーニングによって、尿中D-pyr排泄量はF型で一過性に上昇するが、最終的にトレーニング前値に比べてやや減少した。また、尿中NTx排泄量はF型とf型のいずれでもトレーニングによって早い時期から有意な減少を見せた。しか

し、尿中NTx 排泄量は、F 型でトレーニング期間中低値を持続していたのに対して、f 型ではトレーニング1 2 回目にトレーニング前値まで戻った。また、トレーニング前、尿中D-pyr 排泄量と尿中NTx 排泄量はF 型でf 型に比べて高値を示す傾向にあったが、トレーニングによって、両遺伝子型間の差はやや小さくなった。これらのことから、F 型はf 型に比べてレジスタンス運動トレーニングによる骨吸収抑制効果をより大きく受ける可能性が考えられる。しかし、NTx やD-pyr の動態にビタミンD 受容体型 (F 型、f 型) がどのようなメカニズムで関与するのかは不明である。今後、骨吸収に関与する遺伝子群の中に、VDREを持つものがあるか否かを検討していく必要があるかもしれない。

総括

これまで多くの研究から骨代謝が環境や遺伝の影響を受けていることが明らかにされてきた。しかし、こうした研究のほとんどが、環境要因もしくは遺伝要因の一方にのみ焦点があてられてきた。骨代謝に及ぼす環境要因と遺伝要因の相互作用に着目し、レジスタンス運動トレーニングが骨代謝に及ぼす影響についてビタミンD 受容体遺伝子多型の関与を検討したのは本研究が初めてである。ビタミンD 受容体遺伝子F 型は、f 型に比べてレジスタンス運動トレーニングに対する敏感な骨代謝応答を示すという知見は、骨代謝応答における環境因子と遺伝因子の複合的な相互作用を考慮する必要があることを示唆している。

本研究では、競技者の遺伝子多型の分布が競技特性を反映している可能性を検討した。ビタミンD 受容体遺伝子多型では、高骨密度と関連した遺伝子多型がレジスタンストレーニングにたいする骨代謝応答がよく、また陸上競技投擲種目やラグビーフォワード選手など、パワーが必要な競技者においてこの遺伝子多型を有する者の比率の高い傾向が認められたことは、これらの遺伝的要因が一流選手としての競技歴を維持することの一因となっている可能性を示唆している。一方、競技特性によっては低骨密度との関連が考えられる場合もあり、現在は筑波大学競泳部の協力を得て競泳選手のビタミンD 受容体遺伝子多型分布の調査を継続している。

ミトコンドリア遺伝子変異については、当初の予想に反して、長距離走者に変異が多く認められる傾向があった。これらの変異の生理学的な意味については不明であるが、核遺伝子に比べて変異が起こる率が高いミトコンドリア遺伝子については、運動ストレスによって引き起こされた後天的なものであるという可能性も残っており、今後の検討を必要としている。