

## ロコモティブ症候群における新規診断法の開発

### 東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座

浦野 友彦

#### 1. 目的

低骨量を特徴とする骨粗鬆症は、中・高齢者において骨折のリスクを高め、寝たきりや要介護の原因となるロコモティブ症候群の構成要因である。申請者らはWntシグナル阻害因子であるスクレロスタチンのヒト血中濃度を測定し、その結果、その血中濃度が骨量のみならず体脂肪量ならびにメタボリック症候群関連マーカーに共通して関連する因子であることを見出した(Urano et. al. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: E1473-1477)。Wntシグナルの異常は骨粗鬆症以外にも、脂質代謝異常、糖代謝異常や動脈硬化とも関連することがマウスモデルで明らかにされてきている。今回、申請者らが報告した解析データは、Wntシグナルがロコモティブ症候群に加えメタボリック症候群のような他の代謝性疾患においても関連することをヒトでのサンプルにおいて初めて報告した。本研究では、申請者らがゲノム研究、基礎研究から疾患における重要性を見出した遺伝子研究を進展させ、ロコモティブ症候群とメタボリック症候群に関連する遺伝子、さらには両疾患に共通に関連する因子を探索する。また、骨粗鬆症治療薬が代謝に与える影響についても検討する。これら検討により、ロコモティブ症候群とメタボリック症候群の新しい病態を明らかにすることを目的とする。

#### 2. 方法

(1) ゲノムワイド解析から捉える老年病と運動器の老化を制御する遺伝子の探索:

DNAチップを用いて、ヒト遺伝子に存在する一塩基置換遺伝子多型(SNP)からこれらを規定するSNPの探索を行い、さらにマウスモデルや細胞モデルを用いて体脂肪規定遺伝子の同定を行った。閉経後女性を対象にDXA法により測定した全身体脂肪率とAffymetrix社のSNPアレイを用いた遺伝子型との関連解析を行った。以上の一次スクリーニングにより選択されたSNPに関し、二次スクリーニングとして第2集団において閉経後女性を対象として遺伝子型を決定しパラメーターとの関連解析を行った。以上の解析において、ヒトにおいて有意な関連が見出されたSNP上もしくは近傍に存在する遺伝子に注目し、ノックアウトマウスや細胞でのアッセイ系を用いてその機能と意義を解析した。

(2) 5年間の選択的エストロゲン受容体モジュレーター治療が体格に与える影響:

近年、閉経後骨粗鬆症の治療において選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)が用いられている。今回、SERM治療5年間継続後の体格に与える影響に関して検討した。非血縁日本人女性を対象とした。非骨粗鬆症無治療(コントロール)群186名ならびにSERM治療中の骨粗鬆症群(Raloxifene: 60 mg/日)50名において治療前ならびに経過観察後の骨密度、体重ならびに骨代謝マーカーをはじめとした血中、尿中マーカーを測定した。無治療ならびにSERM治療におけるベースラインデータから5年経過したところで再度、骨密度、体重を測定した。経過観察中に新規骨折を発生した例、コントロール不良の糖尿病患者は除外した。またビタミンD3もしくはビタミンK併用症例は除外した。

#### 3. 結果

(1) ゲノムワイド解析から捉える老年病と運動器の老化を制御する遺伝子の探索:

ヒト遺伝学的解析により、今までに骨量に関しては、Gタンパク質共役受容体の一つGpr98を新規骨量規定因子として同定している(Urano et. al. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: E565-574)。さらに本遺伝子のノックアウトマウスの表現型を解析した結果、低骨量ならびに易骨折性を呈していた。また筋肉量に関してはPrdm16遺伝子を見出し、細胞モデルで本SNPによる機能変化を見出した(Urano et. al. *Aging Cell*, 2014; 13:739-743)。今回、さらに同様の手法を用いて、全身の体脂肪量を規定するSNPを探索した。その結果、SLC25A24遺伝子に存在するSNPが体脂肪量を規定するSNPとして同定された(Urano et. al. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2015; 100: E655-663)。さらにSLC25A24遺伝子ノックアウトマウスを独自に作成し、その表現型を解析したところ、高カロリー食において、野生型マウスと比して、体脂肪量ならびに体重が減少し、肥満抵抗性を示した。また、脂肪細胞株である3T3L1細胞を用いて、siRNAによりSLC25A24遺伝子をノックダウンすると脂肪細胞分化が抑制された。以上よりSLC25A24は脂肪細胞に発現し、体脂肪量を規定する遺伝子であることが明らかとなった。

(2) 5年間の選択的エストロゲン受容体モジュレーター治療が体格に与える影響:

SERM治療群経過5年において腰椎骨密度の有意な上昇が認められた。尿中NTxならびに血中骨型アルカリホスファターゼはSERM治療により有意な抑制を認めた。体重に関してはコントロール群では5年間で3%の体重減少が認められたのに対しSERM治療群では1%の減少であり、二群間の比較ではSERM治療群において統計学的に有意に体重減少を抑制した( $P=0.03$ )。BMIに関してはコントロール群では5年間で2%の減少が認められたのに対しSERM治療群では6%の上昇を認め、統計学的に有意にBMI減少を抑制した( $P=0.04$ )。年齢や骨代謝マーカーなどで補正を行っても、SERM治療は体重、BMIの減少を抑制する独立した因子であった(Urano et. al. *J.Bone Miner. Metab.*, In press)。

#### 4. 考察

(1) ゲノムワイド解析から捉える老年病と運動器の老化を制御する遺伝子の探索:

ヒトならびにマウスモデルから、新規骨量規定遺伝子、新規筋肉量規定遺伝子ならびに新規体脂肪量規定遺伝子を同定した。Gpr98は骨芽細胞に発現し、その分化に影響を及ぼすことを我々は見出した。またPrdm16遺伝子は筋肉細胞の前駆細胞で発現し、その分化を制御することが明らかにされている。また今回SLC25A24は脂肪細胞に高発現し、脂肪細胞の分化を制御していることが明らかとなった。このようにゲノムワイド解析によって明らかになったSNPが存在する遺伝子はそれぞれが細胞分化に関与する遺伝子であった。今後、これら遺伝子を標的としたロコモティブ症候群やメタボリック症候群への診断や治療への応用が期待できる。

(2) 5年間の選択的エストロゲン受容体モジュレーター治療が体格に与える影響:

今回SERMの中期的治療が体重ならびにBMI減少を抑制することを見出した。今回の知見はSERM治療が骨以外の筋肉もしくは脂肪に作用する可能性を示唆する。今後、SERMの骨以外の運動器や脂肪に対する作用に関して詳細な検討が望まれる。

#### 5. 参考文献

Urano T, Shiraki M, Ouchi Y, Inoue S. Association of circulating sclerostin levels with fat mass and metabolic disease--related markers in Japanese postmenopausal women. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: E1473-1477

Urano T, Shiraki M, Yagi H, Ito M, Sasaki N, Sato M, Ouchi Y, Inoue S. GPR98/Gpr98 gene is involved in the regulation of human and mouse bone mineral density. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: E565-E574

Urano T, Shiraki M, Sasaki N, Ouchi Y, Inoue S. Large-scale analysis reveals a functional single-nucleotide polymorphism in the 5'-flanking region of PRDM16 gene associated with lean body mass. *Aging Cell*, 2014; 13:739-743

Urano T, Shiraki M, Sasaki N, Ouchi Y, Inoue S. SLC25A24 as a novel susceptibility gene for low fat mass in humans and mice. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2015; 100: E655-E663

Urano T, Shiraki M, Kuroda T, Tanaka S, Uenishi K, Inoue S. Preventive effects of raloxifene treatment on age-related weight loss in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Metab. In press.*

Urano T, Inoue S. Recent genetic discoveries in osteoporosis, sarcopenia and obesity. *Endocr. J.* 2015; 62: 475-484.