

# 博士論文

女性アスリートにおける低骨密度の  
リスクファクターと予防法に関する研究

2023年3月

日本体育大学大学院

体育科学研究科 体育科学専攻

20PDA02 小林哲郎

研究指導教員

黄仁官 教授

# 博士論文

## 女性アスリートにおける低骨密度の リスクファクターと予防法に関する研究

Investigation for Risk Factors and Prevention of  
Low Bone Mineral Density in Female Athletes

2023年3月

日本体育大学大学院

体育科学研究科 体育科学専攻

20PDA02 小林哲郎

Tetsuro Kobayashi

研究指導教員

黄仁官 教授

# 目次

図一覧

表一覧

略語一覧

## 第I章：序論

I.1	本研究の背景	2
I.1.1	女性アスリートの活躍	2
I.1.2	女性アスリートの競技生活上のリスク	3
I.1.3	骨の構造	4
I.1.4	骨密度に及ぼす要因	4
I.1.5	疲労骨折	5
I.1.6	骨密度と疲労骨折の関連性	7
I.1.7	女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクター	7
I.1.8	骨密度と遺伝子多型との関連性	9
I.1.9	レジスタンストレーニングが骨密度を増加させる可能性	10
I.2	本研究の仮説	12
I.3	本研究の目的	12
I.4	本研究の意義	13

## 第II章：『研究課題1-1』日本人女性アスリートにおける低骨密度リスクファクターとエストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子多型との関連性

II.1	緒言	15
II.2	方法	17
II.3	結果	21
II.4	考察	25
II.5	まとめ	30

## 第III章：『研究課題1-2』日本人女性アスリートのスポーツタイプ別にみられる筋パワー、骨密度及び $\alpha$ -actinin-3 R577X遺伝子多型の関係

III.1	緒言	32
III.2	方法	34
III.3	結果	38
III.4	考察	41
III.5	まとめ	44

第IV章：『研究課題2』大学女子アスリートにおける低骨密度のリスクファクターと ビタミンD受容体及びエストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子多型が1年間の骨密度 変化に及ぼす影響	
IV.1 緒言 .....	46
IV.2 方法 .....	48
IV.3 結果 .....	51
IV.4 考察 .....	54
IV.5 まとめ .....	58
第V章：『研究課題3』レジスタンストレーニングが大学女子長距離ランナーにおける 骨密度及び安静時血中ホルモンに及ぼす影響	
V.1 緒言 .....	60
V.2 方法 .....	62
V.3 結果 .....	67
V.4 考察 .....	70
V.5 まとめ .....	73
第VI章：統括論議	
VI.1 本研究の結論 .....	75
VI.2 競技現場への応用 .....	76
VI.3 本研究の限界と将来の展望 .....	78
参考文献 .....	80
博士論文に関連する研究業績 .....	94
謝辞	

## 図一覽

Figure 1 Percentage of Japanese female participants in Summer Olympics and number of gold medals in Japan

Figure 2 Female Athlete Triad

Figure 3 Proposed pathophysiology of stress fractures

Figure 4 Female Athlete Triad: Cumulative Risk Assessment

Figure 5 Flow of resistance exercise produces sex steroid hormones

Figure 6 Comparison of annual change in lumbar spine (A) and femoral neck (B) BMD with or without low BMD risk factor. Black bars are annual change in BMD with low BMD risk factors

Figure 7 Flow diagram of study participants

Figure 8 Changes in total body, lumbar spine, and femoral neck BMD before and after the 16 weeks resistance training program

Figure 9 Changes in P1NP and NTx of each group

Figure 10 Image of training methods using genetic profiling

## 表一覽

- Table 1 Physical characteristics of participants
- Table 2 Genotype frequencies of PvuII and XbaI polymorphisms in the *ESR1* gene in each spot
- Table 3 Physical characteristics of participants belonging each sports type
- Table 4 Relationship between low BMD risk factors, *ESR1* gene polymorphism, and total body BMD in each sports type
- Table 5 Influences of low BMD risk factors and *ESR1* gene XbaI polymorphism on total BMD
- Table 6 Physical characteristics of the study participants
- Table 7 Genotype frequencies of *ACTN3* R577X polymorphism
- Table 8 Physical characteristics and MAnP in each sports type and controls
- Table 9 Relationship between MAnP and BMD in each sports type
- Table 10 Comparison of total body BMD among participants with *ACTN3* R577X polymorphism
- Table 11 Comparison of MAnP among participants with *ACTN3* R577X polymorphism
- Table 12 Characteristics of participants
- Table 13 Genotype frequencies of *VDR* and *ESR1* gene polymorphisms
- Table 14 Effects of low BMD risk factors and gene polymorphisms on annual change in BMD
- Table 15 Comparison of rate of annual change in lumbar spine and femoral neck BMD between gene polymorphisms and sports type
- Table 16 Characteristics of participants of baseline
- Table 17 Changes in BMD before and after 16 weeks of resistance training in RRT and RCON
- Table 18 Changes in BMD before and after 16 weeks of resistance training in NRT and NCON

## 略語一覽

17 $\beta$ -HSD: 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase

1RM: 1-repetition maximum

3 $\beta$ -HSD: 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase

ACSM: The American College of Sports Medicine

ACTH: adrenocorticotrophic hormone

ACTN3:  $\alpha$ -actinin-3

ANOVA: analysis of variance

Aquatic: athletes participating in water polo and lifesaving

Ball: athletes participating in tennis, soft tennis, badminton, and handball

BMD: bone mineral density

BMI: body mass index

CLEIA chemiluminescence enzyme immunoassay

CLIA: chemiluminescence immunoassay

CSCS: Certified Strength and Conditioning Specialist

CV: coefficient of variation

DE: disordered eating

DHEA: dehydroepiandrosterone

DHEA-S: dehydroepiandrosterone-sulfate

DNA: deoxyribonucleic acid

DXA: dual-energy X-ray absorptiometry

E2: estradiol

EA: energy availability

ECLIA: electrochemiluminescence immunoassay

ED: eating disorder

ELISA enzyme-linked immunosorbent assay

Endurance: athletes participating in long-distance running

ER: estrogen receptor

ESR1: estrogen receptor alpha

Esthetic: athletes participating in rhythmic gymnastics and dance

EW: estimated weight

FAT: Female Athlete Triad

GH: growth hormone

High-impact: athletes participating in jumping/throwing, judo, and weightlifting

High-load: athletes participating in jumping/throwing, judo, and weightlifting

HWE: Hardy-Weinberg equilibrium

IGF-I: insulin like growth factor-I

Low-impact: athletes participating in long-distance running, water polo, and lifesaving

MAAnP: maximum anaerobic power

Multidirectional: athletes participating in tennis, soft tennis, badminton, and handball

NCON: non-athlete controls

NIH: National Institutes of Health

NRT: non-athlete resistance training

NTx: type I collagen cross-linked N-telopeptide

P1NP: procollagen type I N-terminal propeptide

P450arom: aromatase

PCR: polymerase chain reaction

RCON: runner controls

RED-S: Relative Energy Deficiency in Sport

RRT: runner resistance training

RT: resistance training

SD: standard deviation

SNP: single nucleotide polymorphism

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

T: testosterone

TGS: Total Genotype Score

VDR: vitamin D receptor

W: watt



# 第 I 章

## 序論

## I.1 研究背景

### I.1.1 女性アスリートの活躍

わが国におけるオリンピック出場選手に占める女性選手の割合は、初めて女性オリンピック参加が認められるようになった1928年アムステルダム大会からほぼ右肩上がりが増え続け、1996年アトランタ大会で48.4%と約半数が参加するようになった。その後は直近の2021年東京大会の47.5%まで約50%前後の参加率を維持している。このように、オリンピック等において女性が参加可能な種目数は増加しており、女性アスリートの活躍の場が広がっている。さらに、2004年アテネ大会以降オリンピック出場選手の内、金メダルを獲得した女性選手の割合は男性よりも高い数値を維持している（Figure 1）。

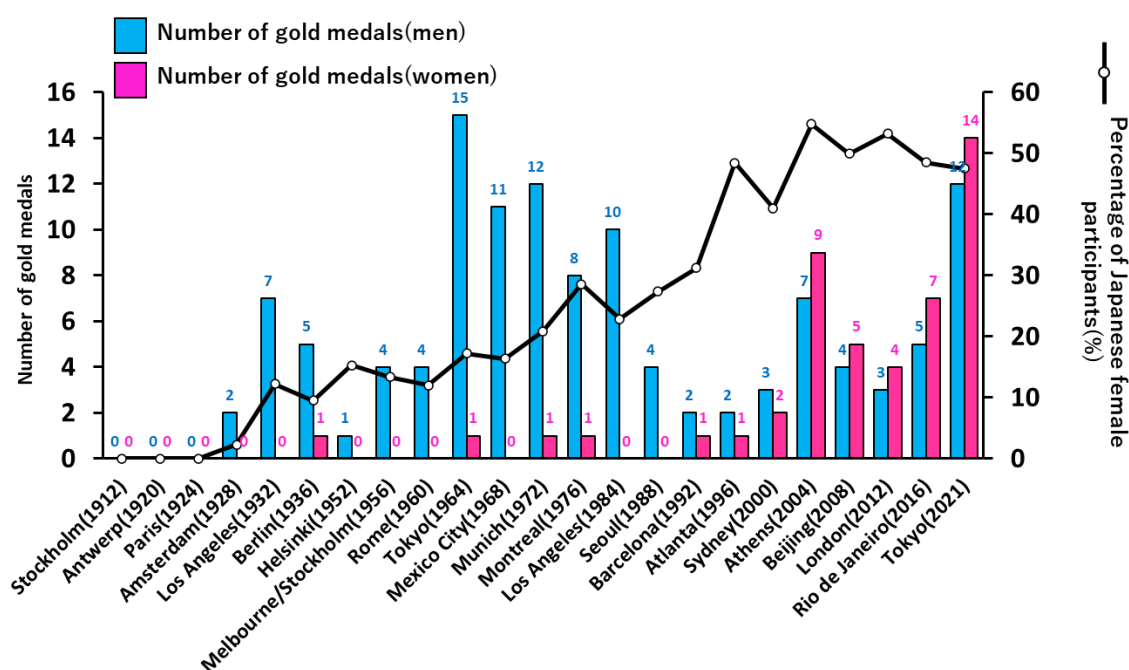


Figure 1 Percentage of Japanese female participants in Summer Olympics and number of gold medals in Japan (Data are reference from Cabinet Office HP)

これらのことから、女性のスポーツ参加・活躍は近年において目覚ましく発展してきたといえる。その一方、女性アスリートには男性と異なる特徴的なリスクを伴うことが報告されるようになった。

### I.1.2 女性アスリートの競技生活上のリスク

女性アスリートにおいて特徴的にみられるリスクとは、利用可能エネルギー不足、無月経、骨粗鬆症であり、米国スポーツ医学会（The American College of Sports Medicine: ACSM）によって女性アスリートの三主徴（Female athlete triad: FAT）として定義されている（Nattiv et al., 2007）。利用可能エネルギー不足は、FAT が発表された当初（1997年）、摂食障害と定義されていたが（Otis et al., 1997）、摂食障害の有無に関わらずエネルギー不足であることが問題であったことから2007年に現在のように改訂されている（Nattiv et al., 2007）。Nattiv et al., 2007によると、FATは、スペクトラムとして示されており、競技生活を営むうえで利用可能エネルギーの不足（すなわち、エネルギー摂取量－運動時エネルギー消費量が30kcal/日/除脂肪体重未満）の状態が続くと、視床下部性の無月経となり、その原因とされるエストロゲン分泌の低下から骨吸収が亢進し、骨粗鬆症に陥るとされている（Figure 2）。

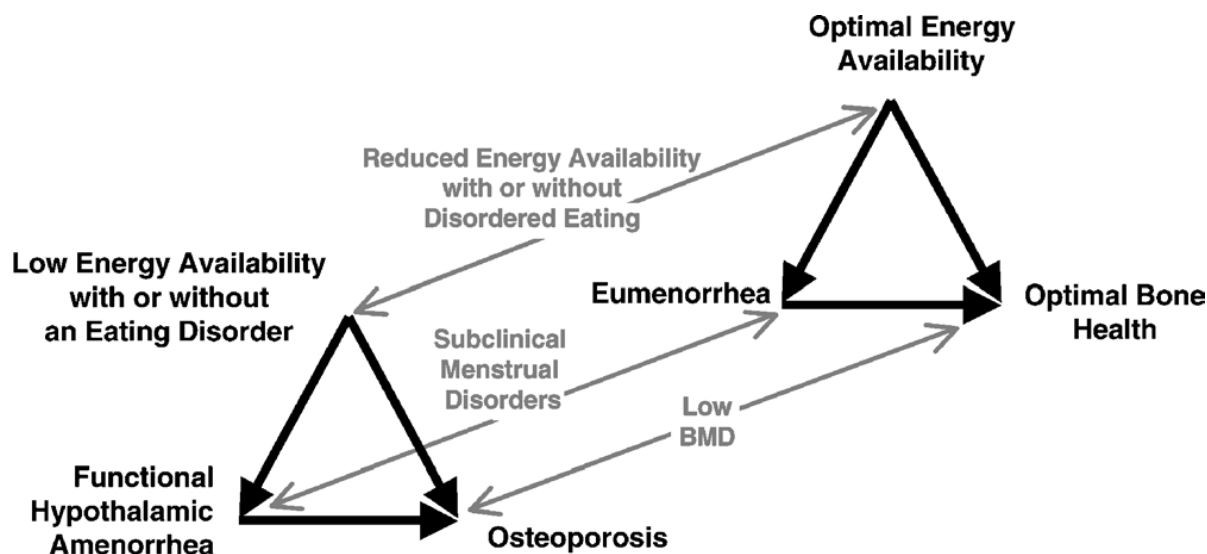


Figure 2 Female Athlete Triad (Nattiv et al., 2007)

FATの中でも骨粗鬆症は、骨強度の低下を特徴とし、骨折のリスクが増大しやすくなる骨格疾患と定義されており（Klibanski et al., 2001）、アスリートにとって疲労骨折などの重大な怪我のリスクとなることから、その原因とされる骨密度低下のリスクファクターについて広く議論されている。

### I.1.3 骨の構造

ここで、女性アスリートにとってのリスクが骨粗鬆症や疲労骨折などの骨疾患であることから、骨についての説明を加えることとする。

骨は、40%が有機成分で60%が無機成分で構成される。有機成分の主成分は、I型コラーゲンであり、抗張力を得る支持性タンパク質である。骨の無機成分には、カルシウムやリンなどが含まれる。結晶化しているミネラルでは、カルシウムイオンの周囲にリン酸イオンと水酸基が結合し、ハイドロキシアパタイトを形成している (Seeman et al., 2006)。人の骨格においては皮質骨が80%、海綿骨が20%で構成されているが、異なる解剖学的部位によってその比率は異なっている。この2種類の骨は、コラーゲン繊維が交互に配置された層板状に形成されている (Clarke, 2008)。層板骨は、骨の外郭を作る緻密な皮質骨とその内部に存在する蜂巢状の海綿骨からなる。長管骨では海綿骨は主に骨端と骨幹部に存在し、骨幹部は主に皮質骨からなり骨髓腔に海綿骨は少ない。皮質骨は3層に分かれ、その中間層には同心円状に層板骨が配列した微小骨単位であるオステオンがある。皮質骨も海綿骨も、それぞれハバース系、パケットと呼ばれるオステオンで構成されている (Clarke, 2008)。なお、骨強度は、骨密度と骨質で決定される。骨密度は骨強度における約70%を占めており、その他の要因には、骨形状、コラーゲン性質だけでなく、海綿骨や皮質骨の微細構造もまた骨強度の重要な決定因子である (Klibanski et al., 2001; Fonseca et al., 2014)。

骨密度は、骨面積あるいは骨体積当たりの量の比率として定義されており、それぞれ、測定方法にしたがって骨面積骨密度 ( $\text{g}/\text{cm}^2$ )、骨体積骨密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) として利用される (Ott et al., 1997)。骨密度は、骨粗鬆症性骨折の主要な予測因子と考えられているが、臨床的なりiskを評価する際には、年齢などの他の要因にも注意することが重要であるとされている (Cranney et al., 2007)。

### I.1.4 骨密度に及ぼす要因

骨量は、不活動、マトリクス損傷、ホルモン欠乏などの多くの刺激に対する骨細胞の活動と、骨形成と骨吸収に重要な骨芽細胞と破骨細胞の働きによって調節されている (Atkins and Findlay, 2012)。これらの骨細胞の活動速度が不均衡であると (例えば、骨芽細胞よりも破骨細胞の活動が大きくなると)、加齢に伴って観察されるように、骨量減少の原因となる (Martin and Sims, 2005)。特に、閉経後女性の骨密度の低下率は同年代男性よりも高いとされており、これは、閉経に伴うエストロゲン欠乏によって骨吸収抑制及び骨形成が低下する

ためである (Compston 2001)。閉経後女性における血清エストラジオール濃度と骨密度との関係を調査した横断研究では、エストラジオール濃度 5pg/ml 未満の群は、10–25pg/ml の群と比較して有意に骨密度が低いと報告されている (Ettinger et al., 1998)。したがって、より低いエストロゲン濃度は骨量減少のリスクをより高めると考えられる。最大骨量の約 80–95% は、思春期後期頃に達成される (Henry et al., 2004; Walsh et al., 2009)。最大骨量に達した後、加齢とともに骨密度は減少し、その減少率は骨の健康と骨粗鬆症などの関連疾患の発症に重要な役割を果たす (Hernandez et al., 2003)。骨密度の低下には個人差や解剖学的部位による違いがあり、25 歳以降の 1 年間の低下率は、女性で橈骨遠位端、脛骨遠位端、腰椎で 0.40%、0.24%、1.61%、男性で 0.38%、0.40%、0.84% と報告されている。また、50 歳までに海綿骨は男性で 42%、女性で 37%、皮質骨は男性で 15%、女性で 6% 減少すると言われており (Riggs et al., 2008)。生活様式を選択によってピーク時の骨密度を高めることができるのと同様に、生活様式の修正によって加齢に伴う骨密度の不可避な減少を遅らせることが可能である。これらの要因には、喫煙しないこと (Law and Hackshaw, 1997)、食物性たんぱく質を摂取すること (Darling et al., 2009)、相対的に高い身体活動を行うことなどが挙げられる (Pluijm et al., 2001; Krall and Dawson-Hughes, 1993)。

### 1.1.5 疲労骨折

疲労骨折は、1 回の負荷で骨折するのに必要な力よりも小さな力を繰り返し加えることによる骨の部分的または完全な骨折と定義されている (Iwamoto and Takeda, 2003)。疲労骨折は、不完全なりモデリング反応を刺激する反復的な力学的負荷が原因で発生する (Jones et al., 2002)。また、疲労骨折の発生のしやすさには、いくつかの要因があることが知られている (Bennell et al., 1999)。疲労骨折の正確な病態生理学的メカニズムに関しては、いまだ不明な点もあるが Figure 3 のようなモデルが考えられている。疲労骨折の影響や危険因子には、バイオメカニクスの歩行 (Milner et al., 2006)、骨の大きさと力学的特性 (Tommasini et al., 2005)、栄養因子 (Nieves et al., 2010)、トレーニング量の増加 (Snyder et al., 2006)、少ない筋量及び低い骨密度 (Beck et al., 2000) などが挙げられる。

疲労骨折は、スポーツ医学クリニックで受診する傷害の最大 20% (Fredericson et al., 2006)、また、整形外科的傷害全体の 10% を占めており (Pegrum et al., 2014)、女性アスリートで頻繁に発生している (Edouard et al., 2015; Changstrom et al., 2015; Welck et al., 2017)。14 人のランナーや軍の新兵が負った全損傷の 50% を占め、女性でより高い発生率が観察されると報

告されている (Milner et al., 2006)。軍人やアスリートの疲労骨折発症率に関するシステマティックレビューによると、軍人における疲労骨折発症率は、男性で~3%、女性で~9.2%であり、アスリートにおいては男性で~6.5%、女性で~9.7%といずれも女性の疲労骨折の発症率が高いことが報告されている (Wentz et al., 2011)。

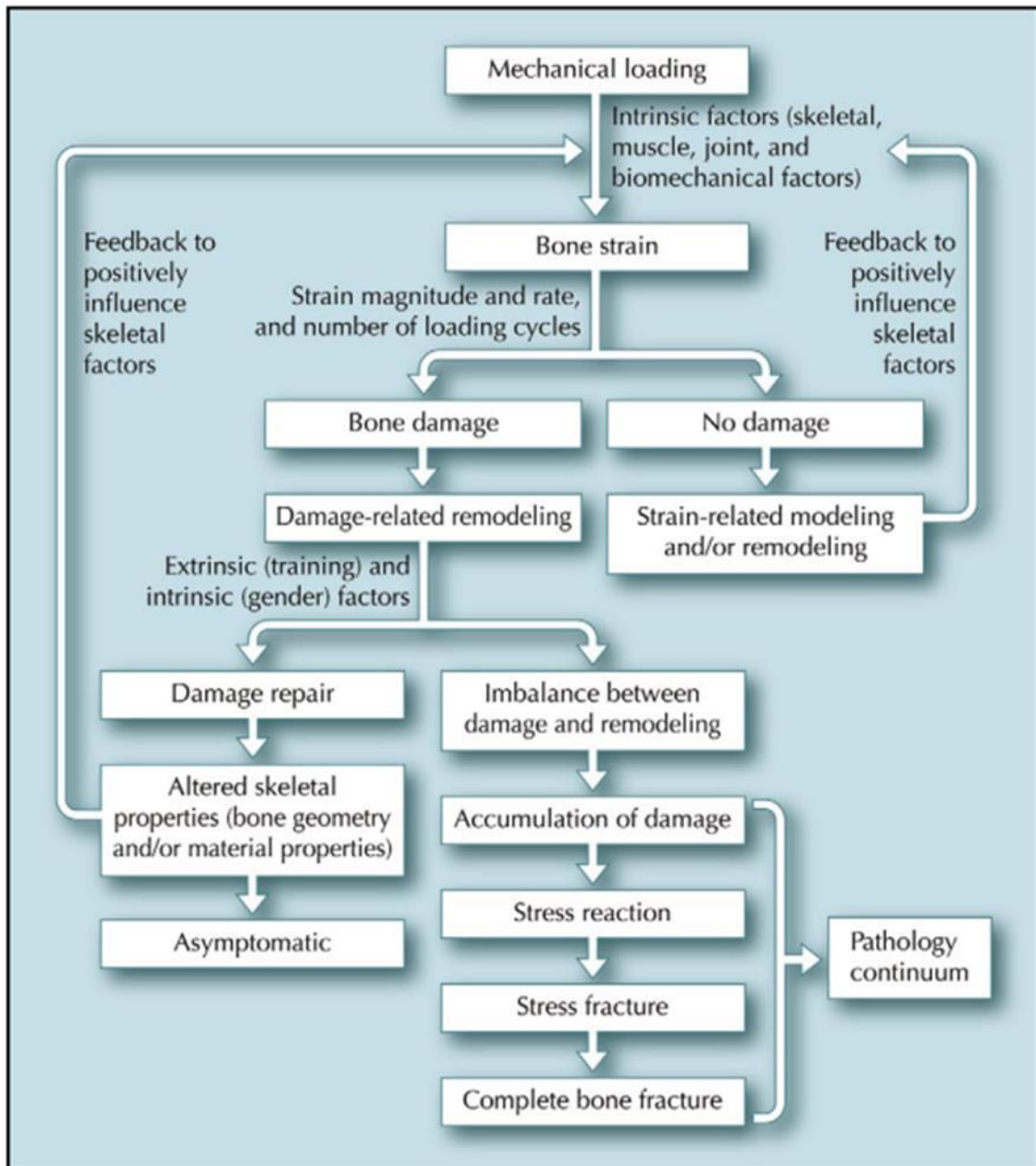


Figure 3 Proposed pathophysiology of stress fractures (Warden et al., 2006)

さらに、Changstrom et al. (2015) は、米国の高校 100 校の 22 競技種目に所属するアスリートの疲労骨折について分析したところ、全体の 54% は女子で発生しており、性別比較が

可能なスポーツにおける疲労骨折率は男子よりも女子で高かったと報告している。疲労骨折は、痛み、プレー時間の損失、永久的な障害、および多大な経済的負担を含む重大な病的状態をもたらす可能性があり、その結果、スポーツ復帰の遅れ、トレーニングの制限、または早期引退に直面する可能性のあるアスリートにとって壊滅的なものである (Wentz et al., 2011)。これらのことから、男性アスリートと比較し、女性アスリートは、競技を遂行するうえで高いリスクを有しているといえる。

#### I.1.6 骨密度と疲労骨折の関連性

アスリートにおける骨密度と疲労骨折の関連については、これまでに多数報告されている (Myburgh et al., 1990; Bennell et al., 1996; Nose-Ogura et al., 2019)。

疲労骨折の既往がある女性アスリートでは、疲労骨折既往のない女性アスリートと比較して足部の骨密度が低いことが観察され、これには除脂肪体重の低下、脚長差、年間の月経周期の少なさが伴っていた (Bennell et al., 1996)。持久系ランナーでは、非競技系コントロールと比較して、下肢疲労骨折の発生率が高いことが観察されているが、相当量の部位特異的荷重と、低エネルギー利用可能性など、この群に典型的な他の要因との組み合わせにより、骨密度が低下し、骨折の発生リスクが高くなる (Loucks, 2007)。10代及び20代の女性アスリートにおいて疲労骨折のリスクとなるFATの影響を調査した研究によると、10代の女性アスリートは低骨密度(Zスコア<-1)によって疲労骨折のリスクが4.5倍増加する一方で、20代では関連が認められなかったとしている (Nose-Ogura et al., 2019)。

骨密度と疲労骨折の関連性については、性別によって異なる見解が示されており、女性アスリートでは低骨密度と疲労骨折が関連するが (Bennell et al., 1996)、男性アスリートでは関連が認められなかったとする報告が見受けられる (Bennell et al., 1996; Crossley et al., 1999)。これらのことから、特に女性アスリートにおいて骨密度低下を抑制することは疲労骨折予防の観点から重要であると考えられる。

#### I.1.7 女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクター

上述したように、一般人を対象にした骨密度低下の要因について理解することは重要であるが、本研究においては女性アスリートを対象としていることから、FATに関連するリスクファクターを取り扱うものとする。FATに代表される利用可能エネルギー不足や無月経は低骨密度のリスクとなることは先に述べたとおりである (Nattiv et al., 2007)。この他に、

低い BMI (Gibbs et al., 2014; De Souza et al., 2014; Tenforde et al., 2017; Tenforde et al., 2018)、初経の遅延 (Gibbs et al., 2014; De Souza et al., 2014; Tenforde et al., 2015; Tenforde et al., 2017; Tenforde et al., 2018)、希発月経や無月経を含む月経異常 (Warren and Chua, 2008; Gibbs et al., 2014; De Souza et al., 2014; Tenforde et al., 2015; Tenforde et al., 2017; Tenforde et al., 2018)、摂食障害の既往 (De Souza et al., 2014; Tenforde et al., 2017; Tenforde et al., 2018)、疲労骨折の既往 (De Souza et al., 2014; Tenforde et al., 2015; Tenforde et al., 2017) などが挙げられている。

Risk Factors	Magnitude of Risk		
	Low Risk = 0 points each	Moderate Risk = 1 point each	High Risk = 2 points each
<i>Low EA with or without DE/ED</i>	No dietary restriction	Some dietary restriction; current/past history of DE	Meets DSM-V criteria for ED
<i>Low BMI</i>	BMI $\geq 18.5$ or $\geq 90\%$ EW or weight stable	BMI $17.5 < 18.5$ or $< 90\%$ EW or 5 to 10% weight loss/month	BMI $\leq 17.5$ or $< 85\%$ EW or $\geq 10\%$ weight loss/month
<i>Delayed Menarche</i>	Menarche $< 15$ years	Menarche 15 to $< 16$ years	Menarche $\geq 16$ years
<i>Oligomenorrhea and/or Amenorrhea</i>	$> 9$ menses in 12 months	6-9 menses in 12 months	$< 6$ menses in 12 months
<i>Stress Reaction/Fracture</i>	None	1	$\geq 2$ ; $\geq 1$ high risk or of trabecular bone sites
<i>Low BMD</i>	Z-score $\geq -1.0$	Z-score $-1.0 < -2.0$	Z-score $\leq -2.0$

De Souza et al. (2014) は、ACSM の共同声明において、上記の項目に低骨密度 (Z-score  $-1 < -2$  や Z-score  $\leq -2$ ) を加えて FAT のリスクファクターとして定義しており、FAT のリスクスクリーニングを次のように取り扱っている (Figure 4)。

Figure 4 Female Athlete Triad: Cumulative Risk Assessment. (De Souza et al., 2014) EA, energy availability; DE, disordered eating; ED, eating disorder; BMI, body mass index; BMD, bone mineral density; EW, estimated weight.

これは、骨密度低下に関連するリスクファクターを重複して有すると、より低骨密度のリスクが増大するといった報告がなされたことなどを受け作成されたものであり (Gibbs et al., 2014)、累積点数が 0 - 1 点で低リスク、2 - 5 点で中等度のリスク、6 点以上で高リスクとして取り扱っており、この評価項目で高リスクと判定された場合は、トレーニングや競技への参加を制限するべきとされている (De Souza et al., 2014)。FAT リスクファクターとして定義された項目以外に、長距離種目、水中種目 (Tenforde and Fredericson, 2011; Tenforde et al., 2015) 及び審美種目 (Ackland et al., 2012) の競技参加においても、低骨密度に関連すること



が報告されている。これらのことから、女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクターは明らかにされつつある。

#### I.1.8 骨密度と遺伝子多型との関連性

一方、骨密度は遺伝の影響も受けることが広く知られている。骨密度は、その 50–80% が遺伝的要因によって決定され (Ralston et al., 2010)、近年のゲノムワイド関連解析によって骨密度に関わる遺伝子多型が 67 存在することが報告されている (Goodlin et al., 2015)。また、骨密度は、環境的要因と遺伝的要因の相互作用によって構成されることが示されている (Herbert et al., 2019)。したがって、女性アスリートの骨密度は、FAT のリスクファクターのような環境因子に限らず、遺伝因子も含め相互作用的に決定されているものと考えられる。

骨密度と遺伝子多型についての最初の研究は 1994 年の Morrison et al. (1994) の研究に遡る。ヒトビタミン D 受容体 (vitamin D receptor: *VDR*) は、活性型ビタミン D と結合することで、骨・カルシウム代謝調節機構などの生理作用を発揮するが、その作用発揮に必須な蛋白質を構成する遺伝子の個人差、すなわち遺伝子多型によって骨密度に差異が生じることが発表され、Morrison et al. (1994) は、この *VDR* 遺伝子多型の差異によって骨密度に影響及ぼす可能性について報告した。この研究を皮切りに、その後、多くの議論が展開されている。これまでのところ、*VDR* 遺伝子多型が骨密度と関連するといった報告 (Morrison et al., 1994; Tokita et al., 1996; Sainz et al., 1997)、関連しないといった報告があり (Hustmyer et al., 1994; Garnero et al., 1995)、一致した見解は得られていない。また、*VDR* 遺伝子多型は骨密度に対する環境感受性を有することが報告されている (Nakamura et al., 2002a; Nakamura et al., 2002b)。*VDR* 遺伝子多型に続き、我が国において初めて骨密度との関連が報告された遺伝子多型にエストロゲン受容体  $\alpha$  (estrogen receptor alpha: *ESR1*) 遺伝子多型がある。この最初の研究は、閉経後の日本人女性を対象としたものであり、*ESR1* 遺伝子のイントロン I 内に存在する PvuII 多型および XbaI 多型と骨密度との関連について検討がなされた (Kobayashi et al., 1996)。この研究では、PvuII 多型の PP 型と XbaI 多型の xx 型の発現の組み合わせを有する Px ハプロタイプ (PPxx 型) は、その他の遺伝子型と比較した場合、腰椎及び全身の骨密度が有意に低く、一方で、年齢、身長、体重、閉経後経過年数及び骨形成・吸収マーカーに差異が認められなかったことから、*ESR1* 遺伝子多型が日本人女性における閉経後骨粗鬆症の一要因である可能性が報告された (Kobayashi et al., 1996)。いくつかの研究が、*ESR1* 遺

伝子多型と骨密度との関連を報告している (Ho et al., 2000; Albagha et al., 2001; Yamada et al., 2002; Willing et al., 1998)。一方で、関連がないとした研究もあり (Han et al., 1997; Han et al., 1999; Aerssens et al., 2000; Brown et al., 2001)、一致した見解は得られていない。これらの不一致を説明するために、遺伝子タイピングエラー、人種や環境の違い、年齢や閉経後経過年数の違い、サンプルサイズ不足、研究デザインの違いや選択バイアスなどが挙げられている (Gennari et al., 2005)。さらに、最近の研究では、*ESRI* 遺伝子多型が骨密度に対する環境感受性を有することが報告されている (Kondo et al., 2014)。

先述した通り、骨密度に影響を与える遺伝子は *VDR* や *ESRI* 以外にも存在しているため、様々な遺伝子における関連分析が必要であることは言うまでもない。さらに、上記を含むこれまでの殆どの研究における被検対象は閉経期の一般女性であり、女性アスリートにおいて検討した研究は、殆ど見受けられない。遺伝的素因による環境感受性への影響を検討するためには、人種や環境、年齢などといった一定の条件内にあるコホートにおいて大規模な研究を実施することの重要性から、日本人女性アスリートコホートにおいて骨密度に関わるリスクファクターを環境因子及び遺伝因子の双方から検討することには意義があるものと考えられる。

#### I.1.9 レジスタンストレーニングが骨密度を増加させる可能性

女性アスリートにおいては低骨密度と疲労骨折との関連性が認められることから、骨密度低下を抑制することは疲労骨折予防の観点から重要であることは先述した通りである。そこで、アスリートにとっては身近なトレーニング手法であるレジスタンストレーニング (Resistance Training: RT) の骨密度増加効果についての先行研究をまとめ、競技現場への応用可能性について考える。

骨密度の増加は、体重の掛かる身体活動を含む力学的負荷によって刺激される (Frost, 1987)。力学的負荷は、骨量の増加における必要不可欠な要因である。運動中に椎骨への負荷や衝撃に限りのあるサイクリストはランナーよりも7倍腰椎の骨減少症を有する (Rector et al., 2008)。対照的に、パワーアスリート (スプリンター、ジャンパー、ウエイトリフターなど) は、高い負荷や衝撃を伴う運動を行わない長距離ランナーと比較して高い骨密度を有する (Heinrich et al., 1990; Hamdy et al., 1994; Bennell et al., 1997)。さらに、マスターズアスリートにおいて、高い地面反力や力学的負荷でのトレーニングを行う短距離/パワー系アスリートはそれらを行わない長距離ランナーよりも高い骨密度を有する (Nowak et al.,

2010)。したがって、高い力学的負荷を受ける運動を継続することは骨密度に良い影響を与えると考えられる。

これまでのところ、身体に自体重以上の負荷を与えることができる RT が骨密度を増加させるかどうかについて数多くの研究が行われており、RT は骨密度に良い影響を与えるとされている (Layne and Nelson, 1999; Kelley et al., 2001)。若年女性を対象とした研究において、週 3 回の短縮性及び伸張性の RT を 5 か月間実施したところ、いずれのトレーニングにおいても全身骨量や部位特異的な骨密度及び骨量が増加した (Nickols-Richardson et al., 2007)。85–90%1RM のスクワットトレーニングを週 3 回 12 週間実施した研究では、腰椎骨密度及び大腿骨骨密度が有意に増加したと報告されている (Mosti et al., 2014)。一方で、若年女性における約 6 か月の RT では骨密度が増加しなかった (Ryan et al., 2004)。24 週間の RT を実施したところ、男性では骨密度が増加したが、女性では増加しなかったとの報告もみられる (Almstedt et al., 2011)。これらの研究結果の不一致は、研究デザイン、トレーニング強度や期間などに起因している可能性が指摘されている (Layne and Nelson, 1999)。

一方、RT は骨構造への力学的負荷による骨密度の増加だけでなく、骨吸収抑制作用をもつエストラジオール (エストロゲンの大部分を占める性ホルモン、estradiol: E2) の濃度を高める可能性が報告されている (Walberg-Rankin et al., 1992)。一過性のレジスタンス運動により副腎皮質からテストステロンの前駆物質であるデヒドロエピアンドロステロン (dehydroepiandrosterone: DHEA) とその硫酸複合体 (DHEA-S) が生成される (Collomp et al., 2015)。循環型 DHEA 及び DHEA-S は  $17\beta$  ヒドロキシステロイド脱水素酵素 ( $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase:  $17\beta$ -HSD) によりアンドロステンジオンへと変換され、 $3\beta$  ヒドロキシステロイド脱水素酵素 ( $3\beta$ -HSD) によりテストステロンへ変換される (Aizawa et al., 2007)。さらにテストステロンはアロマターゼ (Aromatase: P450arom) を介して E2 へと変換される (Conley and Hinshelwood, 2001) (Figure 5)。これまで性ホルモン合成酵素は、主に精巣や卵巣などの内分泌腺に存在すると考えられてきたが、近年では、脳、心臓、肝臓、腎臓、骨など様々な組織においても性ホルモン合成酵素の存在が報告されている (Aizawa et al., 2007)。

競技種目特性の違いから、陸上競技長距離種目に参加するアスリートの骨密度が低いことが報告されているが (Tenforde and Fredericson, 2011; Tenforde et al., 2015)、この競技種目における RT 実施による骨密度増加効果を検証した研究は男性長距離ランナーに限られており (Duplanty et al., 2018)、女性長距離ランナーにおける研究は見受けられない。したがっ

て、女性アスリートにおける骨疾患予防の観点から、この競技種目における骨密度の増加を狙いとした RT の有効性を検証することには意義があるものと考えられる。

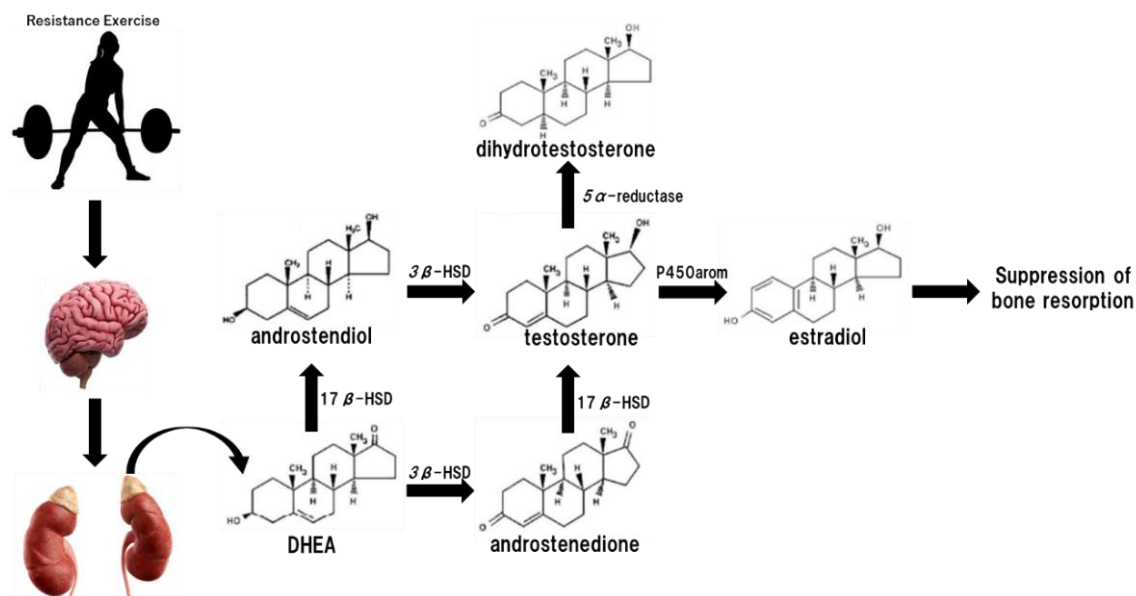


Figure 5 Flow of resistance exercise produces sex steroid hormones

## I.2 本論文の仮説

本博士論文では、女性アスリートにおいて低骨密度や低骨密度のリスクファクターの骨応答に対する感受性の違いを骨代謝関連遺伝子多型によって説明できるのではないかと仮説を立てた。遺伝子多型の差異によって女性アスリートの骨疾患に関連するリスクファクターの感受性が明確にできれば、遺伝子タイプ別にリスクを回避するトレーニングやコンディショニング手法を提供するための有益な情報に成り得る。また、低骨密度の予防を狙いとしたトレーニング方法を提案することができれば、骨疾患リスクが高いアスリートのリスク低減に向けたトレーニングとして競技現場に適用することが可能になると考えた。

## I.3 本論文の目的

本博士論文では、女性アスリートにおける低骨密度の予防を狙いとして以下の3つの研究課題を設け、検証することとした。

研究課題1：低骨密度リスクファクター及び遺伝子多型と骨密度との関連性の検討

研究課題2：低骨密度リスクファクター及び遺伝子多型が骨密度に及ぼす縦断的検討

研究課題3：骨密度増加を目指したトレーニング効果の検証

研究課題1は、骨代謝関連遺伝子多型の違いによって女性アスリートの骨密度に差異が生じるか、また、低骨密度のリスクファクターが骨密度に及ぼす影響は異なるのかを分析するものである。研究課題2は、前向きコホート研究によって大学女子アスリートの骨密度に影響を及ぼす環境及び遺伝因子を検証するものである。そして研究課題3は、骨疾患リスクの高い女性アスリートに対するレジスタンストレーニングが骨密度を増強させ骨疾患の発生率を下げられるのか、検証する。これらが明らかになることで、女性アスリートにおける骨疾患リスクを事前に把握できるようになるとともに、リスクを抱えながら競技活動を強いられるアスリートにとってその改善策が提供可能となる。本博士論文においてこれらを総括し、女性アスリートにおける低骨密度の予防法を提言することで、競技現場における骨疾患予防の一助となることを狙いとする。

#### 1.4 本論文の意義

もし、アスリートが疲労骨折などの骨疾患によって、希望する、あるいは必要とされるトレーニング量をこなすことができなければ、パフォーマンスや成功に大きな悪影響を与える可能性がある。さらに、アスリートが怪我をしやすいことを知っている場合、適切な強化エクササイズに重点を置くなどのトレーニングプログラムに反映させることができる。このような貴重な情報は、トレーニングの質を向上させ、アマチュアからエリートへのステップアップや、ハイレベルなチームや競技会への選抜に影響する。骨密度に影響を与える決定要因は数多くあるが、この要因について環境及び遺伝因子に着目して検討した研究は見受けられない。したがって、本研究は、女性アスリートにおける革新的なトレーニング戦略を構築するうえで極めて重要な位置付けである。

## 第II章

### 『研究課題 1 - 1』

日本人女性アスリートにおける低骨密度リスクファクターと  
エストロゲン受容体  $\alpha$  遺伝子多型との関連性

## II.1 緒言

近年、利用可能エネルギー不足、無月経、骨粗鬆症が女性アスリートの三主徴 (Female athlete triad: FAT)として定義された (Nattiv et al., 2007)。FAT の中でも骨粗鬆症は、低骨密度として特徴づけられており、アスリートにおける疲労骨折のような重篤な怪我のリスクである。このことから、低骨密度のリスクファクターは広く議論されている。先行研究によると、そのリスクファクターには、低い BMI、初経の遅延、希発月経や無月経などの月経異常、摂食障害の既往、疲労骨折の既往や長距離種目、水中種目及び審美系種目の競技参加などが挙げられている (De Souza et al., 2014; Tenforde et al., 2017; Tenforde et al., 2018; Tenforde et al., 2015; Warren and Chua, 2008; Tenforde and Fredericson, 2011; Ackland et al., 2012)。さらに、骨密度低下に関連するリスクファクターを重複して有すると、より低骨密度のリスクが増大する (Gibbs et al., 2014)。このように、女性アスリートにおける低 BMD のリスクファクターは明らかにされつつある。

一方、BMD は遺伝子多型の差異によって影響を受ける可能性が報告されており、骨代謝関連遺伝子多型とされるものの一つに *VDR* 遺伝子多型がある。*VDR* 遺伝子は、ビタミン D 内分泌系を介して骨のホメオスタシスを調節することから、骨の状態に影響を与える遺伝的決定因子として研究対象になっている。今日において、*VDR* 遺伝子多型は骨密度と関連する (Morrison et al., 1994; Tokita et al., 1996; Sainz et al., 1997)、あるいは関連しない (Hustmyer et al., 1994; Garner et al., 1995 という、相反する結果が報告されている。さらに、*VDR* 遺伝子多型は、骨に対する環境感受性を持つことが報告されている (Nakamura et al., 2002a; Nakamura et al., 2002b)。

現在においては、*ESR1* 遺伝子多型が *VDR* 遺伝子多型に並ぶ骨代謝関連遺伝子多型として検討されている。エストロゲンは、骨の発達と維持に有益な影響を発揮することが知られている (Compston, 2001)。人を対象とした研究報告では、女性だけでなく男性においても骨の恒常性を保つために重要であることが示されている (Khosla et al., 2002; Gennari et al., 2003)。エストロゲンによる骨への作用は、細胞質や核内に局在するエストロゲン受容体 (estrogen receptor: ER) と結びつくことによって発揮される (Compston, 2001)。少なくとも、異なる遺伝子によってコードされる ER $\alpha$  や ER $\beta$  と呼ばれる 2 つの機能的な ER が存在している。*ESR1* 遺伝子は 6q25.1 染色体上に位置し、140kb よりも長く、8 つのエクソンが 7 つのイントロンに分割されるようにして構成されており (Kos et al., 2001)、ER $\beta$  遺伝子は 14q23-24.1 染色体上に位置し、約 40kb の長さを有し、8 つのエクソンから構成されている (Enmark

et al., 1997)。ER $\beta$  は ER $\alpha$  よりも小さいが、DNA 結合およびリガンド結合領域において類似の構造及びかなりの相同性を有している (Compston, 2001)。ESR1 遺伝子多型と骨密度との関連についての最初の研究は、閉経後の日本人女性を対象としたものであり、ESR1 遺伝子のイントロンI内に存在する PvuII多型および XbaI多型と骨密度との関連について検討がなされた (Kobayashi et al., 1996)。この研究では、PvuII多型の PP 型と XbaI多型の xx 型の発現の組み合わせを有する Px ハプロタイプ (PPxx 型)は、その他の遺伝子型と比較した場合、腰椎及び全身の骨密度が有意に低く、一方で、年齢、身長、体重、閉経後経過年数及び骨形成・吸収マーカーに差異が認められなかったことから、ESR1 遺伝子多型が日本人女性における閉経後骨粗鬆症の一要因である可能性が報告された (Kobayashi et al., 1996)。いくつかの研究が、ESR1 遺伝子多型と骨密度との関連を報告している (Ho et al., 2000; Albagha et al., 2001; Yamada et al., 2002; Willing et al., 1998)。一方で、関連がないとした研究もあり (Han et al., 1997; Han et al., 1999; Aerssens et al., 2000; Brown et al., 2001)、一致した見解は得られていない。これらの不一致を説明するために、遺伝子タイピングエラー、人種や環境の違い、年齢や閉経後経過年数の違い、サンプルサイズ不足、研究デザインの違いや選択バイアスなどが挙げられている (Gennari et al., 2005)。さらに、最近の研究では、ESR1 遺伝子多型が骨密度に対する環境感受性を有することが報告されている (Kondo et al., 2014)。しかしながら、殆どの先行研究における参加者は閉経期の女性であり、女性アスリートに焦点を当てた研究は見受けられない。

そこで、女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクターの骨応答に対する感受性の違いを ESR1 遺伝子多型によって説明できるのではないかと仮説を立てた。したがって本研究は、女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクターと ESR1 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響及び低骨密度のリスクファクターが骨密度に及ぼす感受性が ESR1 遺伝子多型に依存するかどうかについて検討することを目的とした。



## II.2 方法

### II.2.1 参加者

参加者は、N 体育大学の 12 競技種目（柔道；n=19、陸上跳躍・投擲；n=10、ウエイトリフティング；n=20、テニス；n=29、ソフトテニス；n=31、バドミントン；n=10、ハンドボール；n=32、陸上長距離；n=36、新体操；n=19、ダンス；n=22、水球；n=19、ライフセービング；n=33）に所属する女性アスリート 280 名（年齢 19.2±1.3 歳）であった。参加者は、全国レベルや国際競技会で競技をするアスリートであった（国際大会出場経験者 10 名、3.6%）。なお、研究参加時における筋腱の怪我や骨折、ピルなどの内服薬の服用者は研究対象から除外した。参加者の身体的特徴は Table 1 に示した。

**Table 1. Physical characteristics of participants**

	<b>Mean ± SD</b>
Age(years)	19.2 ± 1.3
Height(cm)	160.4 ± 4.7
Weight(kg)	56.5 ± 6.6
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.0 ± 2.4
%Fat(%)	24.0 ± 4.0
Fat mass(kg)	13.7 ± 3.4
Fat free mass(kg)	40.4 ± 3.9
Eperience of competition(years)	8.3 ± 4.2
Menarche(years)	12.9 ± 1.9
Total body BMD(g/cm <sup>2</sup> )	1.191 ± 0.096

BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; SD, standard deviation.

全参加者には、事前に本研究の主旨及び調査・測定内容、得られたデータの利用目的等について十分に説明し、研究参加の同意を得てから実験を開始した。未成年については、代諾者の同意欄を作成し、保護者の同意を得た上で実験を実施した。なお、本研究における規則、個人情報の保護及び倫理的配慮については、日本体育大学倫理審査委員会の承認を得た（承認番号：第 019-G02 号）。

## II.2.2 質問調査項目

実験開始時に実施したアンケートにより各参加者の競技種目、競技歴、初経年齢、過去1年間の月経周期、摂食障害の既往歴、疲労骨折の既往歴についての情報を収集した。過去1年間の月経周期については、①25日未満であった(頻発月経)、②25~38日であった(正常月経)、③39~89日であった(希発月経)、④90日以上停止していた期間があった(無月経)、⑤前後の周期が7日以上変動していた(月経不順)より一つを選択とした。疲労骨折の既往は、医師によって少なくとも1度以上疲労骨折と診断を受けた場合、また、摂食障害の既往は、医師によって少なくとも1度以上神経性無食欲症あるいは神経性過食症と診断を受けた場合を定義した。

## II.2.3 骨密度測定

全身骨密度、脂肪量及び非脂肪量は二重エネルギーX線吸収測定法(Dual-energy X-ray absorptiometry: DXA)によって測定した(iDXA、GE Medical Systems Lunar、Madison、WI)。全てのDXAデータは同一の放射線技師によって取得した。

## II.2.4 遺伝子多型解析

本研究では、自己採取式キット(Oragene® DISCOVER, DNA Genotek, Ottawa, ON, Canada)を用いて2mLの唾液を採取した。唾液検体は、ウォーターインキュベーター(SN-100SD, NISSIN, Tokyo, Japan)にて55°Cで60分間インキュベートした。その後、Oragene®・DISCOVERの精製方法に従って次の手順でDNAを抽出した。500µLの唾液検体をマイクロチューブ(SSiBio社製)に移し20µL(唾液検体の4%量)のDNA精製溶液(PT-L2P, DNA Genotek, Ottawa, ON, Canada)を加えた。検体を氷上で10分間冷却した後に室温環境(22-24°C)にて遠心分離機(KUBOTA社製)を用いて15,000×gで5分間遠心分離した。上清を新たなマイクロチューブに移し、600µLの100%エタノールを添加し、10分間置いてDNAを沈殿させた。続いて、検体を15,000×gで2分間遠心分離してペレット化し、上清を廃棄した。DNAペレットを洗浄し100µLのTris-EDTAバッファーを追加した。ESR1遺伝子PvuII多型(rs2234693)及びXbaI多型(rs9340799)は、Taqman™ SNP Genotyping Assayにより、GFX96™リアルタイムPCRシステム(CFX96 Touch™ Real-Time PCR, Bio-Rad, Hercules, CA)を用いて解析した。解析用の試薬(GTXpress™ Master Mix、TaqMan SNP Genotyping Assay mix及び蒸留水を1検体あたりそれぞれ2.5µL、2.375µL、0.125µL混合)を各プレートに分注し、その後DNA検

体を 1 $\mu$ L ずつ注入した。遺伝子型は、GFX Manager Software Version 2.1 (Bio-Rad, Hercules, CA) を用いて解析した。

## II.2.5 競技タイプの分類

スポーツタイプの特徴が骨密度に及ぼす影響を考慮して、先行研究を参考に 12 競技スポーツを 5 つのスポーツタイプに分類した (Tenforde et al., 2018; Tenforde and Fredericton, 2011; Ackland et al., 2012)。

- ①持久型 (陸上競技長距離)
- ②審美型 (新体操及びダンス)
- ③水中型 (水球及びライフセービング)
- ④ボール型 (テニス、ソフトテニス、バドミントン、ハンドボール)
- ⑤高負荷型 (柔道、陸上競技跳躍・投擲、ウェイトリフティング)

## II.2.6 データ分析

本研究では、ACSM の合同声明 (De Souza et al., 2014) において FAT のリスクアセスメント項目に選定されている BMI、初経年齢、月経周期、摂食障害の既往、疲労骨折の既往及びスポーツタイプ、さらに *ESRI* 遺伝子多型を低骨密度リスクファクターの評価項目として選定した。

各評価項目を独立変数、骨密度を従属変数とした重回帰分析を実施するために、各評価項目をダミー変数 0 及び 1 と定義づけることとした。なお、ダミー変数は、先行研究によって骨密度に負の影響をもたらすとされるものを 1、それ以外を 0 とした。具体的には以下の通りである。①BMI; Tokunaga et al. (1991) によって提唱された標準 BMI=22kg/m<sup>2</sup> を基準値とし、基準値未満を 1、基準値以上を 0 とした (Tokunaga et al., 1991)。②初経年齢; 先行研究において示されている日本人女性の平均初経年齢 12.2 歳を基準値とし、基準値以上を 1、基準値未満を 0 とした (Hosokawa et al., 2012)。③月経周期; 実験開始前に実施したアンケートより得られた過去 1 年間の月経周期について、希発月経 (月経周期が 39~89 日であった)、無月経 (月経が 90 日以上停止した期間があった)、及び月経不順 (前後の月経周期が 7 日以上変動していた) のいずれかに該当した場合を 1、該当しない場合を 0 とした。④摂食障害の既往; 現在または過去に摂食障害の診断を受けた経験がある場合を 1、ない場合を 0 とした。⑤疲労骨折の既往; 過去に疲労骨折の既往がある場合を 1、ない場合 0

とした。⑥スポーツタイプ；骨密度に負の影響を与えるとされる持久型、水中型及び審美型に所属する場合を1、ボール型及び高負荷型に所属する場合を0とした。⑦*ESRI* 遺伝子多型；*PvuII* 多型では、P アレルの発現を有する PP 型及び Pp 型を1、pp 型を0とし、*XbaI* 多型では、xx 型を1、X アレルの発現を有する XX 型及び Xx 型を0とした。

## II.2.7 統計解析

*ESRI* 遺伝子 *PvuII*多型及び *XbaI*多型の発現頻度は、ハーディワインベルグの法則の一致を  $\chi^2$  検定により決定した。各スポーツタイプ間の身体的特徴の比較には、対応のない一元配置分散分析を用い、有意差が認められた場合には Bonferroni 法による多重比較検定を実施した。全参加者及び各スポーツタイプにおける各低骨密度リスクファクター評価項目と骨密度との関係を検討するために、ピアソンの積立相関係数を用いた。骨密度に影響を及ぼすリスクファクターを同定するため、骨密度との有意な相関関係が認められた評価項目 (BMI、初経年齢、月経周期、疲労骨折既往歴、競技型及び *ESRI* 遺伝子 *XbaI*多型)を独立変数、骨密度を従属変数としたステップワイズ法 (変数増減法)による重回帰分析を行った。ステップワイズ法の変数投入条件は、F 値が  $P < 0.05$  となる変数とし、変数除外条件は F 値が  $P \geq 0.10$  となる変数とした。除外された変数においても、投入された場合の標準化係数 ( $\beta$  値)を示した。いずれの統計処理においても分析ソフト SPSS (Version 25.0)を用い、統計的有意水準は危険率 5%未満とした。

## II.3 結果

### II.3.1 *ESRI* 遺伝子多型の発現頻度

対象者全体及び各スポーツタイプ別における *ESRI* 遺伝子 *PvuII* 及び *XbaI* 多型の発現頻度を Table 2 に示した。

**Table 2. Genotype frequencies of *PvuII* and *XbaI* polymorphisms in the *ESRI* gene in each sport**

Sport	PP	Pp	PP+Pp	pp	HWE	XX	Xx	XX+Xx	xx	HWE
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	<i>P</i>	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	<i>P</i>
Judo	3 (16)	10 (53)	15 (68)	6 (32)		1 (5)	4 (21)	5 (26)	14 (74)	
Jumping/throwing	1 (10)	5 (50)	6 (60)	4 (40)		0 (0)	1 (10)	1 (10)	9 (90)	
Weightlifting	3 (15)	12 (60)	15 (75)	5 (25)		0 (0)	12 (60)	12 (60)	8 (40)	
Tennis	4 (14)	19 (66)	23 (79)	6 (21)		0 (0)	7 (24)	7 (24)	22 (76)	
Soft tennis	4 (13)	17 (55)	21 (68)	10 (32)		3 (10)	5 (16)	8 (26)	23 (74)	
Badminton	0 (0)	7 (70)	7 (70)	3 (30)		0 (0)	2 (20)	2 (20)	8 (80)	
Handball	4 (13)	13 (41)	17 (53)	15 (47)		0 (0)	8 (25)	8 (25)	24 (75)	
Long-distance running	8 (22)	12 (33)	20 (56)	16 (44)		1 (3)	10 (28)	11 (31)	25 (69)	
Rhythmic gymnastics	1 (5)	11 (58)	12 (63)	7 (37)		0 (0)	5 (26)	5 (26)	14 (74)	
Dance	7 (32)	8 (36)	15 (68)	7 (32)		1 (5)	9 (41)	10 (45)	12 (55)	
Water polo	6 (32)	9 (47)	15 (79)	4 (21)		3 (16)	5 (26)	8 (42)	11 (58)	
Lifesaving	10 (30)	14 (42)	24 (73)	9 (27)		1 (3)	7 (21)	8 (24)	25 (76)	
All participants	51 (18)	137 (49)	188 (67)	92 (33)	1.000	10 (3)	75 (27)	85 (30)	195 (70)	0.410

*ESRI*, estrogen receptor  $\alpha$ ; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium; PP, *PvuII* homozygous dominant; Pp, *PvuII* heterozygous; pp, *PvuII* homozygous recessive; XX, *XbaI* homozygous dominant; Xx, *XbaI* heterozygous; xx, *XbaI* homozygous recessive.

対象者全体における *PvuII* 多型の発現頻度は、PP 型 18% (n=51)、Pp 型 49% (n=137)、pp 型 33% (n=92) であり、*XbaI* 多型の発現頻度は、XX 型 3% (n=10)、Xx 型 27% (n=75)、xx 型 70% (n=195) であった。これらの発現頻度は、ハーディワインベルグ平衡に従っていた (それぞれ  $P=1.000$ 、 $P=0.410$ )。なお、PP 型及び XX 型の発現頻度が低かったことから、以後の分析は、P アレルを有する PP 型+Pp 型 (67%) と pp 型 (33%) 及び X アレルを有する XX 型+Xx 型 (30%) と xx 型 (70%) との比較を実施することとした。

### II.3.2 各スポーツタイプ別の身体的特徴

各スポーツタイプ別の身体的特徴を Table 3 に示した。

**Table 3. Physical characteristics of participants belonging each sports type**

	Endurance (n=36)	Esthetic (n=41)	Aquatic (n=52)	Ball (n=102)	High-load (n=49)
Height(cm)	159.8 ± 3.7	160.2 ± 4.5	160.6 ± 4.5	161.4 ± 5.0 <sup>c</sup>	158.7 ± 4.7 <sup>d</sup>
Body weight(kg)	48.3 ± 3.6 <sup>bcd</sup>	53.9 ± 5.7 <sup>acde</sup>	57.7 ± 5.3 <sup>abe</sup>	57.5 ± 4.7 <sup>abe</sup>	61.6 ± 7.1 <sup>abcd</sup>
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	18.9 ± 1.3 <sup>bcd</sup>	21.0 ± 1.8 <sup>acde</sup>	22.4 ± 1.9 <sup>abe</sup>	22.1 ± 1.6 <sup>abe</sup>	24.4 ± 2.4 <sup>abcd</sup>
%Fat(%)	19.6 ± 3.2 <sup>bcd</sup>	23.8 ± 4.0 <sup>a</sup>	25.1 ± 3.8 <sup>a</sup>	24.6 ± 3.4 <sup>a</sup>	24.8 ± 3.6 <sup>a</sup>
Fat mass(kg)	9.4 ± 1.9 <sup>bcd</sup>	13.0 ± 3.2 <sup>ac</sup>	14.6 ± 3.2 <sup>a</sup>	14.2 ± 2.6 <sup>a</sup>	15.5 ± 3.7 <sup>ab</sup>
Fat free mass(kg)	36.9 ± 2.6 <sup>cde</sup>	38.6 ± 3.3 <sup>cde</sup>	40.8 ± 3.4 <sup>abe</sup>	40.8 ± 3.3 <sup>abe</sup>	43.5 ± 4.0 <sup>abce</sup>
Total body BMD(g/cm <sup>2</sup> )	1.108 ± 0.067 <sup>de</sup>	1.156 ± 0.083 <sup>de</sup>	1.149 ± 0.082 <sup>de</sup>	1.217 ± 0.083 <sup>abce</sup>	1.275 ± 0.075 <sup>abcd</sup>

Data are presented as mean±SD.

BMI, body mass index; BMD, bone mineral density; Endurance, athletes participating in long-distance running; Esthetic, athletes participating in rhythmic gymnastics and dance; Aquatic, athletes participating in water polo and lifesaving; Ball, athletes participating in tennis, soft tennis, badminton, and handball; High-load, athletes participating in Judo, jumping/throwing, and weightlifting.

<sup>a</sup>Compared with endurance ( $P < 0.05$ )

<sup>b</sup>Compared with esthetic ( $P < 0.05$ )

<sup>c</sup>Compared with aquatic ( $P < 0.05$ )

<sup>d</sup>Compared with ball ( $P < 0.05$ )

<sup>e</sup>Compared with high-load ( $P < 0.05$ )

身長について、ボール型は高負荷型よりも有意に高い値を示した ( $P < 0.05$ )。高負荷型の体重は他の全てのスポーツタイプよりも有意に高く (全て  $P < 0.05$ )、一方で持久型の体重は、他の全てのスポーツタイプよりも有意に低い値を示した (全て  $P < 0.05$ )。BMI は体重と同様の統計的有意差を示した。持久型の体脂肪率は、他の全てのスポーツタイプよりも有意に低い値を示した ( $P < 0.05$ )。全身骨密度については、持久型、審美型及び水中型がボール型及び高負荷型よりも有意に低く、高負荷型は、ボール型よりも有意に高い値を示した (全て  $P < 0.05$ )。

### II.3.3 低骨密度リスクファクター評価項目と全身骨密度との関係

全対象者においては、低骨密度リスクファクターとして選定した項目の内、スポーツタイプ ( $r = -0.499$ )、BMI ( $r = -0.397$ )、初経年齢 ( $r = -0.236$ )、疲労骨折の既往 ( $r = -0.140$ ) 及び月経異常 ( $r = -0.146$ ) と全身骨密度との間に有意な負の相関関係が認められた (全て  $P < 0.05$ )。

スポーツタイプ別にみると、水中型は初経年齢 ( $r = -0.285$ ) と、ボール型は BMI ( $r = -0.337$ ) と、高負荷型は疲労骨折の既往 ( $r = -0.286$ ) と全身骨密度との間に有意な負の相関関係が認められた (全て  $P < 0.05$ )。一方持久型は、いずれの低骨密度リスクファクターと全身骨密度との間にも有意な相関関係は認められなかった。

なお、全対象者における *ESRI* 遺伝子 XbaI多型と BMD との間には相関傾向 ( $P = 0.051$ ) があり、審美型において有意な負の相関関係が認められた ( $P < 0.05$ ) (Table 4)。

**Table 4. Relationship between low BMD risk factors, *ESRI* gene polymorphism, and total body BMD in each sports type**

	All participants (n=280)		Endurance (n=36)		Aesthetic (n=41)		Aquatic (n=52)		Ball (n=102)		High-load (n=49)	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
Sports types	-0.499*	0.000										
BMI	-0.397*	0.000	0.134	0.435	-0.216	0.174	-0.251	0.073	-0.337*	0.001	-0.247	0.087
Age at menarche	-0.236*	0.000	-0.313	0.063	-0.242	0.128	-0.285*	0.041	-0.079	0.429	-0.106	0.469
Prior stress fractures	-0.140*	0.019	-0.197	0.249	0.194	0.222	0.098	0.491	-0.037	0.710	-0.286*	0.046
Menstrual cycles	-0.146*	0.015	0.215	0.302	0.044	0.783	0.184	0.191	-0.020	0.841	0.211	0.145
Prior eating disorders	0.058	0.345	-0.187	0.275	0.068	0.674	-0.103	0.469	-0.075	0.454	-0.269	0.062
ERa gene <i>PvuII</i> polymorphism	0.050	0.401	0.277	0.103	0.238	0.135	-0.074	0.601	-0.023	0.820	-0.069	0.640
ERa gene <i>XbaI</i> polymorphism	-0.117	0.051	-0.263	0.121	-0.327*	0.037	-0.007	0.959	-0.124	0.214	-0.084	0.564

BMD, bone mineral density; *ESRI*, estrogen receptor  $\alpha$ ; BMI, body mass index; Endurance, athletes participating in long-distance running; Esthetic, athletes participating in rhythmic gymnastics and dance; Aquatic, athletes participating in water polo and lifesaving; Ball, athletes participating in tennis, soft tennis, badminton, and handball; High-load, athletes participating in Judo, jumping/throwing, and weightlifting.  
\* $P < 0.05$ .

### II.3.4 低骨密度リスクファクター及び *ESRI* 遺伝子多型が全身骨密度に及ぼす影響

重回帰分析の結果、スポーツタイプ ( $\beta = -0.421$ ,  $P < 0.001$ )、BMI ( $\beta = -0.276$ ,  $P < 0.001$ )、初経年齢 ( $\beta = -0.119$ ,  $P = 0.016$ ) 及び *XbaI* 多型 ( $\beta = -0.128$ ,  $P = 0.009$ ) の 4 項目が全身骨密度と関連の強い独立変数として抽出されたが、疲労骨折の既往 ( $\beta = -0.076$ ,  $P = 0.120$ ) 及び月経周期 ( $\beta = -0.001$ ,  $P = 0.982$ ) は除外された。

XX+Xx 型においては、スポーツタイプ ( $\beta = -0.434$ ,  $P < 0.001$ )、BMI ( $\beta = -0.308$ ,  $P = 0.001$ ) の 2 項目が全身骨密度と関連の強い独立変数として抽出されたが、初経年齢 ( $\beta = -0.067$ ,  $P = 0.483$ )、疲労骨折の既往 ( $\beta = -0.015$ ,  $P = 0.867$ ) 及び月経周期 ( $\beta = 0.017$ ,  $P = 0.853$ ) は除外された。xx 型においては、スポーツタイプ ( $\beta = -0.436$ ,  $P < 0.001$ )、BMI ( $\beta = -0.275$ ,  $P < 0.001$ )、初経年齢 ( $\beta = -0.146$ ,  $P = 0.014$ ) の 3 項目が全身骨密度と関連の強い独立変数として抽出されたが、疲労骨折の既往 ( $\beta = -0.093$ ,  $P = 0.122$ ) と月経異常 ( $\beta = -0.002$ ,  $P = 0.977$ ) は除外された (Table 5)。

**Table 5. Influences of low BMD risk factors and *ESR1* gene *Xba*I polymorphism on total BMD**

	All participants ( <i>n</i> =280)		XX+Xx ( <i>n</i> =85)		xx ( <i>n</i> =195)	
	$\beta$	<i>P</i>	$\beta$	<i>P</i>	$\beta$	<i>P</i>
Total body BMD						
Sports types	-0.421*	<0.001	-0.434*	<0.001	-0.436*	<0.001
BMI	-0.276*	<0.001	-0.308*	0.001	-0.275*	<0.001
Age at menarche	-0.119*	0.016	-0.067	0.483	-0.146*	0.014
Prior stress fractures	-0.076	0.120	-0.015	0.867	-0.093	0.122
Menstrual cycles	-0.001	0.982	0.017	0.853	-0.002	0.977
ER $\alpha$ gene <i>Xba</i> I polymorphism	-0.128*	0.009				

BMD, bone mineral density; *ESR1*, estrogen receptor  $\alpha$ ; BMI, body mass index; XX+Xx, athletes having X allele of *Xba*I polymorphism; xx, athletes having xs genotype of *Xba*I polymorphism.

\**P*<0.05



## II.4 考察

本研究の目的は、女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクター及び *ESRI* 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響及び *ESRI* 遺伝子多型の違いによって骨密度に対する低骨密度リスクファクターの感受性が異なるかどうかを検討することであった。

スポーツタイプ別に低骨密度リスクファクターと骨密度との関係をみると、持久型では有意な相関関係が認められず、水中型では初経年齢、ボール型では BMI、高負荷型では疲労骨折の既往と、それぞれ骨密度に有意な負の相関関係が示された。

持久型において、低骨密度のリスクファクターと骨密度との間に関係がみられなかった要因として、クロスカンントリーや長距離などの持久系種目が骨密度に負の影響をもたらすとされていることや (Tenforde et al., 2018; Barrack et al., 2010)、実際に本研究における持久型が各スポーツタイプの中で最も低い骨密度を示したことから、競技力向上の為にを行う過度な持久系トレーニング自体が骨密度に負の影響を与えていることに起因すると考えられる。高負荷型では、疲労骨折の既往と骨密度との相関関係が示された。ACSM の合同声明では、疲労骨折の既往が FAT の中程度あるいは高度のリスクファクターであるとしている (De Souza et al., 2014)。対照的に、力学的な負荷の大きい種目への参加は、骨に好影響をもたらすことが報告されている (Tenforde et al., 2018; Tenforde et al., 2011)。これらのことから、高負荷型において疲労骨折の経験を有するアスリートは、疲労骨折によってトレーニング等の競技活動が制限された結果、骨に対する力学的負荷が得られず、同スポーツタイプの中において低い骨密度となった可能性が推察される。水中型における初経年齢と骨密度、及びボール型における BMI と骨密度が関連するメカニズムについては、スポーツタイプ別に低骨密度のリスクファクターと骨密度の関係を検討した研究が見受けられないことから推測することは難しい。しかし、本研究の結果を踏まえると、少なくとも低骨密度のリスクファクターが骨密度に及ぼす影響はスポーツタイプによって異なる可能性がある。したがって、今後は各スポーツタイプに焦点を当てて低骨密度のリスクファクターが骨密度に及ぼす影響を検討するべきである。

本研究において、重回帰分析はスポーツタイプ、BMI、初経年齢、*ESRI* 遺伝子 XbaI 多型が骨密度と関連の強い独立変数として示された。Tenforde et al. (2018) は、BMI、初経の遅延、希発月経や無月経などの月経異常、疲労骨折の既往や摂食障害の既往といった FAT リスクファクター及び参加するスポーツタイプが骨密度に及ぼす影響について、重回帰分析を用いて検討している。そこでは、低骨密度に関連する項目として、低 BMI 及び月経異常

が挙げられ、さらに水泳種目、セーリングやクロスカントリーなどの下肢に対する地面反力のない、あるいは地面反力の小さい種目(先行研究では、それぞれ Nonimpact 及び Low-impact と表現している)の参加も骨密度低下にハイリスクであるとしている (Tenforde et al., 2018)。Gibbs et al. (2014) は、FAT リスクファクターと骨密度について多変量解析を用いて検討している。そこでは、初経の遅延及び低 BMI、初経の遅延及び低体重、あるいは初経の遅延と食事制限の経験といった FAT リスクファクターの組み合わせが運動を行っている女性における低骨密度の高い発生率と強く関連しているとし、さらに、年齢、BMI、月経、食事制限といった変数を調整して分析を実施したところ、長距離系、審美系や体重階級制などのスポーツ参加や初経の遅延、低除脂肪量が低骨密度の有力な予測因子であると報告している。本研究における重回帰分析の結果は、先行研究と類似していたが、疲労骨折の既往及び月経異常は除外された。本研究において、疲労骨折の既往と低骨密度との関連がみられなかった要因として、全対象者における疲労骨折の既往率が 19%であった一方で、高い骨密度を示した高負荷型の疲労骨折の既往率が 20%であったことから、疲労骨折は骨密度が低だけで起こるものではなく種目特異的であることが考えられる。また、本研究において月経異常が低骨密度と関連の強い独立変数として示されなかったのは、直近 1 年間の月経周期を分析に用いたことが要因であると考えられる。無月経などの月経異常はエストロゲンの低下と関連し、エストロゲン低下によって骨吸収が促進され骨密度低下に繋がることから (Nattiv et al., 2007; De Souza et al., 2014)、本研究の低骨密度のリスクファクターとして設定したが、対象者の初経から実験開始日までの期間が平均 6.4 年であった為、直近 1 年間の月経周期だけでは骨密度への影響を評価するための十分な指標とならなかった可能性が推察される。

本研究では、重回帰分析の独立変数としての *ESR1* 遺伝子 *XbaI* 多型の *xx* 型は骨密度と関連することが示された。これは *xx* 型であることが低骨密度と関連することを示している。しかしながら、*PvuII* 多型は骨密度と関連しなかった。これまでの研究では、主に閉経期の女性を対象に *ESR1* 遺伝子多型と骨密度との関連について検討がなされており、*ESR1* 遺伝子多型と骨密度には関連があるとした報告 (Ho et al., 2000; Albagha et al., 2001; Yamada et al., 2002; Willing et al., 1998) や関連がないとした報告が混在しており (Han et al., 1997; Han et al., 1999; Aerssens et al., 2000; Brown et al., 2001)、一致した見解が得られていない。さらに、*ESR1* 遺伝子多型と骨密度に関連があるとされる報告の中にも *XbaI* 多型の *xx* 型の BMD が低いとする報告や (Willing et al., 1998)、反対に *XX* 型の発現を有することが低い骨密度と関連するとした報告がある (Yamada et al., 2002)。同様に、*PvuII* 多型において *pp* 型の発現を有す

ると低い骨密度となること (Ho et al., 2000) や、PP 型が低い骨密度と関連する (Yamada et al., 2002) など完全に一致した見解は得られていない。これら *ESRI* 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響が一致しない要因について、Gennari et al. (2005) は、遺伝子タイピングエラー、人種や環境の違い、年齢や閉経後経過年数の違い、サンプルサイズ不足、研究デザイン (一般集団を対象とした研究、ケースコントロール研究、コホート研究) の違いや選択バイアスなどを挙げている (Gennari et al., 2005)。このような、先行研究の不一致を精査すべく、Ioannidis et al. (2002) は、メタ解析によって *ESRI* 遺伝子 PvuII 及び XbaI 多型が骨密度に及ぼす影響を評価した。その結果、PvuII 多型は、骨密度との関連が認められなかった一方で、XbaI 多型では、xx 型や Xx 型が XX 型と比較して低い骨密度であったことを報告した (Ioannidis et al., 2002)。本研究においても、PvuII 多型と骨密度との関連は認められなかった一方で、XbaI 多型では、xx 型と低骨密度との関連が認められたことから、Ioannidis et al. (2002) の研究と類似した結果であった。

エストロゲンは、骨の発達と維持に有益な影響を發揮することが知られており、エストロゲンによる骨への作用は、細胞質や核内に局在する ER と結びつくことによって發揮される (Compston, 2001)。また、*ESRI* 遺伝子のナンセンス変異を有する男性の骨粗鬆症の発生 (Smith et al., 1994) や、*ESRI* 遺伝子欠損マウスの骨密度が野生型マウスよりも 20%–25% 低いことが示されていることから (Korach, 1994)、*ESRI* 遺伝子が骨の恒常性に重要な役割を担っていることは明らかである。このメカニズムについて Kobayashi et al. (1996) は、遺伝子のイントロン部分の多型は、エクソン部分の突然変異と関係し ER 蛋白機能変化の一因となる、もしくは他のイントロン部分などの突然変異と関係し、転写調節を通じた発現レベルに影響している可能性がある、あるいは、*ESRI* 遺伝子多型は、直接あるいは間接的に低骨密度を引き起こす *ESRI* 遺伝子に隣接する別の未同定の遺伝子の突然変異と関連している可能性があるという二つの仮説を提案している。しかしながら、*ESRI* 遺伝子多型がどのようなメカニズムで骨密度に影響を及ぼしているのかは未だ明確に示されていない。

本研究では、*ESRI* 遺伝子 XbaI 多型間において骨密度に対する低骨密度のリスクファクターの感受性が異なるかどうかを検討するために、XX+Xx 型及び xx 型それぞれにおいて、低骨密度のリスクファクターを独立変数、骨密度を従属変数とした重回帰分析を実施した。その結果、XX+Xx 型はスポーツタイプ及び BMI が骨密度と関連の強い独立変数として抽出され、xx 型はスポーツタイプ、BMI 及び初経年齢が骨密度と関連の強い独立変数として抽出された。スポーツタイプ及び BMI においては、両多型ともに骨密度との関連が認めら

れたことから、多型間の骨に対する感受性には差異がない可能性が考えられる。Kondo et al. (2014) は、日本人女性を対象に *ESRI* 遺伝子多型間の運動による骨密度獲得の差異について検討したところ、*XbaI*多型の *xx* 型内では、運動習慣のある群の骨密度が有意に増加したと報告している。すなわち、*xx* 型は運動による骨密度獲得に有利な体質である可能性が考えられる。本研究では、*xx* 型と *XX+Xx* 型ともにスポーツタイプと骨密度との関連が認められたことから先行研究とは異なる結果となった。この差の要因は、参加者の異質性や運動負荷の違いなど、研究デザインのばらつきと考えられる。*BMI* の増加は、身長に対する体重の増加を意味し、骨面積あたりに掛かる負荷の増大に伴って骨密度増加と強く関連している、あるいは、エネルギー不足の兆候は低 *BMI* などの低エネルギー貯蔵量によって示されることから (De Souza et al., 2014)、骨形成に十分な栄養が補充されなかったために骨密度減少に影響した可能性がある。したがって、これらは遺伝的多型の影響を受けずに骨密度と強く関連する環境因子である可能性がある。

一方、初経年齢の差異による骨密度へ影響は、*XbaI*多型間で異なる結果であり、*xx* 型を有するアスリートは、初経年齢の遅延と低骨密度との関連が認められ、*XX+Xx* 型では関連が認められなかった。先述したように、*ESRI* 遺伝子が骨の恒常性に重要な役割を担っていることは明らかになっているが、*ESRI* 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響のメカニズムは解明されておらず、本研究の *xx* 型における初経の遅延と低い骨密度が関連する要因の一つは、初経年齢が遅いことによる低エストロゲン状態によって骨形成の低下あるいは骨吸収の促進が起きた結果である一方で、*XX* 型や *Xx* 型の発現を有することは、低エストロゲン状態という低骨密度のリスクに対して抵抗性を有する可能性が推察される。

本研究では、競技型によって低骨密度のリスクファクターの骨密度への影響が異なることが示唆されたため、スポーツタイプ特有の低骨密度リスクについても検討の必要性があるものと考えられる。また、本研究においては、栄養摂取に関する調査を実施しておらず、*FAT* の一つである利用可能エネルギー不足を十分に評価できなかった。今後、遺伝子多型間における栄養状態の違いが骨密度にどのような影響を及ぼすのかは、栄養摂取に関する調査を実施し分析するなど、さらなる検討が必要である。今回は、骨代謝関連遺伝子とされる *ESRI* 遺伝子多型に焦点を当てて分析したが、先行研究によって低骨密度のリスクファクターとの関連が示されている *VDR* 遺伝子多型、あるいは、アロマターゼに関連する *CYP19A1* 遺伝子多型など、骨代謝関連遺伝子を組み合わせて検討することで、低骨密度のリスクファクターに対する骨応答の差異がより詳細に明らかになるものと考えられる。このように、複

数の遺伝子多型で分類するためには、今後アスリートを対象とした大規模な調査研究が望まれる。

## II.5 まとめ

本研究の目的は、女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクター及び *ESRI* 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響及び *ESRI* 遺伝子多型の違いによって骨密度に対する低骨密度リスクファクターの感受性が異なるかどうかを調査することであった。得られた知見は、以下の通りである。

1. *ESRI* 遺伝子 PvuII及び XbaI多型の発現頻度は、ハーディワイベルグ平衡に従っていた。
2. 競技型別に低骨密度リスクファクターと骨密度との関係をみると、持久型では有意な相関関係が認められず、水中型では初経年齢、ボール型では BMI、高負荷型では疲労骨折の既往と、それぞれ骨密度に有意な負の相関関係が示された。
3. 低骨密度リスクファクター及び *ESRI* 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響を重回帰分析によって検討したところ、持久型、審美型、水中型の競技参加、低 BMI、初経の遅延及び *ESRI* 遺伝子 XbaI多型 xx 型が低骨密度と関連の深い項目として示された。
4. XbaI多型内で低骨密度リスクファクターと骨密度との関連を検討した場合、XX+Xx 型は競技型及び BMI が骨密度と関連の深い項目として抽出され、xx 型は競技型、BMI 及び初経年齢が骨密度と関連の深い項目として抽出された。

以上の結果より、日本人女性アスリートにおいては、低骨密度のリスクファクターが骨密度に及ぼす影響には差異があること及び、持久型、審美型、水中型の競技参加や低い BMI が低い骨密度と関連するだけでなく、XbaI多型 xx 型の発現を有する場合、初経の遅延によってより骨密度に負の影響を及ぼす可能性が示唆された。

## 第Ⅲ章

### 『研究課題 1 - 2』

日本人女性アスリートのスポーツタイプ別にみられる  
筋パワー、骨密度及び  $\alpha$ -actinin-3 R577X 遺伝子多型の関係

### III.1 緒言

近年、個別のトレーニング方法を検討する研究が増えている (Jones et al., 2016; Pereira et al., 2013)。これらの研究は、主に運動やトレーニングへの応答における個人差、すなわちトレーナビリティを調査するものである (Bouchard, 2012)。トレーナビリティを決定する遺伝子変異の一つに  $\alpha$ -actinin-3 (*ACTN3*) 遺伝子 R577X 多型がある。通常、骨格筋の速筋線維に発現する *ACTN3* はアクチンを固定する Z 膜の主要な構成成分として筋線維の収縮を調整する役割を担っている (Beggs et al., 1992; Blanchard et al., 1989; North et al., 1999)。*ACTN3* 遺伝子 R577X 多型の XX 型は、577 位のアルギニンのコドン (R) を未成熟終止コドン (X) に変換するため、*ACTN3* の完全な欠損をもたらす (North et al., 1999)。*ACTN3* 欠損は疾患の表現型をもたらさないことから、*ACTN3* は筋肉の発達や正常な細胞機能には必須ではなく、 $\alpha$ -actinin-2 が少なくとも速筋線維を機能的に補償できることが示唆されている (Mills et al., 2003)。この多型はパワー系スポーツにおける運動パフォーマンスとの間に初めて関連が見出された (Yang et al., 2003)。特に、様々なタイプ及びレベルの競技スポーツに参加するアスリートにおける *ACTN3* R577X 多型の発現頻度が調査されている。そこでは、スプリント/パワー系のオリンピックレベルのアスリートの発現頻度において、RR 型は 50%、RX 型は 50%、XX 型 0%であった一方で、持久系のオリンピックレベルのアスリートの発現頻度は、RR 型が 30%、RX 型が 40%、XX 型が 30%であったとしている。これらの知見は、少なくとも一つの R 対立遺伝子 (RR 及び RX 型)を有することは、スプリント/パワー系スポーツのアスリートに共通している可能性が高いことが示唆された。その後、*ACTN3* R577X 多型と筋パワー (Kikuchi et al., 2014; Vincent et al., 2007)、スプリント/パワー系スポーツパフォーマンス (Chen et al., 2020; Eynon et al., 2012; Kikuchi et al., 2016)、筋代謝 (Broos et al., 2016; MacArthur et al., 2007)、そして筋線維組成と関連していることが報告された (Kumagai et al., 2018)。これらの研究は、少なくとも一つの R 対立遺伝子を有することが高い筋力と関連することを示唆している。さらに、近年における *ACTN3* R577X 多型とエリートパワースポーツとの関係についてのメタ解析では、女性のパワー系アスリートは一般集団よりも R 対立遺伝子の発現頻度が高いことが明らかになっている (Tharabenjasin et al., 2019)。したがって、この遺伝子多型は女性アスリートにおける高い筋パフォーマンスのトレーナビリティと関連する可能性がある。

最近の研究では、*ACTN3* R577X 多型と骨密度との関係も報告されている (Yang et al., 2011; Min et al., 2016; Antonio et al., 2017; Cho et al., 2017)。ある研究では、*Actn3* ノックアウトマウ



スが皮質骨量と海綿骨数の減少によって骨量が有意に減少したことが報告されている (Yang et al., 2011)。また、RR 型は RX 型や XX 型よりも高齢の女性で高い骨密度と関連したことから、*ACTN3* R577X 多型が女性の骨密度関連している可能性が示唆された研究もみられる (Min et al., 2016)。さらに、いくつかの研究が RR 型や RX 型は XX 型と比較して高い骨密度と関連していることを報告していることから (Antonio et al., 2017; Cho et al., 2017)、*ACTN3* R577X 多型の R 対立遺伝子を有することがより高い骨密度と関連することを示唆している。しかしながら、*ACTN3* R577X 多型と骨密度との関連についての報告はわずかであり、日本人女子アスリートにおいてこの関連を調査した研究はない。

特に女性アスリートにおいては、骨密度の低下が疲労骨折などの重大な傷害につながる可能性があり、近年、文献上でも注目されている (Barrack et al., 2014; De Souza et al., 2014; Gibbs et al., 2014; Tenforde et al., 2018; Warren and Chua, 2008)。Tenforde and Fredericson (2011) は、競泳などの水中スポーツへの参加は骨密度に負の影響を与え、女性の青年期における長距離走は骨塩量の増加抑制と関連する一方で、ジャンプ系スポーツや柔道など高い力学的負荷を受けるスポーツへの参加は骨密度にポジティブな影響を与えると報告している。Kobayashi and Hwang (2021) は、力学的負荷の低いスポーツへの参加は女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクターであると指摘している。したがって、衝撃負荷特性によって分類されるスポーツタイプは骨密度の決定因子となる。

そこで、様々な力学的負荷特性を持つスポーツに参加する日本人女子大学生アスリートにおいて、*ACTN3* R577X 多型と筋パワー及び骨密度の関係を調査することを目的とした。*ACTN3* R577X 多型の RR 遺伝子型または R 対立遺伝子は、あらゆる種類のスポーツに参加する日本人女子大学生アスリートの筋パワー及び骨密度に有利である可能性があるという仮説を立てた。

## III.2 方法

### III.2.1 研究デザイン

260名の大学女子アスリートと26名の一般女性における筋パワー、骨密度及び *ACTN3* R577X 多型との関係を調査するために横断的研究デザインを用いた。参加者は最大無酸素パワー (Maximum Anaerobic Power: MAnP) テスト及び骨密度測定のための DXA スキャンを実施した。アスリートは質問紙によって競技歴について回答した。唾液から抽出された DNA は PCR を用いて *ACTN3* R577X 多型を決定するために用いた。これらのデータは 2018 年から 2021 年の間に収集した。傷害あるいは感染症及びピルなどの内服薬を服用している参加者は本研究対象から除外した。全ての参加者は、研究機関承認のインフォームド・コンセント文書に署名する前に、調査の利益とリスクについて十分に説明を受け、研究に参加した。さらに、参加だけでなく、参加者のデータの公表についても書面によるインフォームド・コンセントを得た。原稿で報告したすべての実験は、ヘルシンキ宣言の倫理基準に則って実施された。本研究は、日本体育大学の倫理審査委員会の承認を得た (承認番号: 019-G02)。20 歳未満の参加者については、保護者の同意を得て実験を行った (年齢範囲: 18–22 歳)。

### III.2.2 参加者

体育大学の 10 競技に所属するアスリート (陸上競技長距離 n=46、水球 n=31、ライフセービング n=35、テニス n=27、ソフトテニス n=28、バドミントン n=9、ハンドボール n=28、柔道 n=13、陸上競技跳躍・投擲 n=10、ウエイトリフティング n=33) と競技参加歴のない健康な一般女性が本研究に参加した。本研究に参加したアスリートの内 217 名 (83.5%) は研究課題 1–1 に参加したアスリートであった。アスリートは国際大会を含む様々な競技に参加し、週 5 日以上、1 日 2 時間以上のトレーニングを行っていた。参加者の身体的特徴を Table 6 に示す。

### III.2.3 実験手順

#### III.2.3.1 アンケート調査

アスリートからは、実験開始時にアンケート形式で、スポーツ参加状況、競技経験年数、初経年齢のデータを収集した。

**Table 6. Physical characteristics of the study participants**

<b>Variable (units)</b>	<b>All athletes (n=260)</b>	<b>Controls (n=26)</b>
Age (years)	19.2 ± 1.2	19.7 ± 1.3
Height (cm)	160.1 ± 5.0	161.2 ± 5.2
Weight (kg)	56.6 ± 6.9	54.3 ± 6.5
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.1 ± 2.5	20.9 ± 2.1
%Fat (%)	23.8 ± 4.1	29.2 ± 4.1
Fat mass (kg)	13.6 ± 3.6	16.0 ± 4.0
Lean mass (kg)	40.5 ± 4.0	35.9 ± 2.9
Menarche (years)	12.5 ± 1.7	12.6 ± 1.3
Total body BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.202 ± 0.102	1.187 ± 0.062
Experience of competition (years)	7.8 ± 4.0	-

Values are presented as mean±standard deviation.

BMD, bone mineral density; BMI, body mass index.

### III.2.3.2 スポーツタイプの分類

スポーツタイプによる特性が骨密度に及ぼす影響を考慮し、10種類の競技スポーツを先行研究に基づいて (Tenforde et al., 2018; Tenforde and Fredericson, 2011)、Low-impact (陸上競技長距離、水球、ライフセービングに参加するアスリート)、Multidirectional (テニス、ソフトテニス、バドミントン、ハンドボールに参加するアスリート)、High-impact (柔道、陸上競技跳躍・投擲、ウエイトリフティングに参加するアスリート) に分類した。ライフセービング (レスキュースイミング) は、先行研究で競泳に近いと報告されているため (Sawai et al., 2018)、Low-impact に分類された。また、水泳は先行研究で Nonimpact と定義されていたが (Tenforde et al., 2018)、ライフセービングが水泳とランニングを組み合わせたスポーツであるため (Sawai et al., 2018)、本研究では長距離種目と水泳種目を Low-impact として分類することにした。

### III.2.3.3 骨密度測定

全身骨密度、脂肪量、非脂肪体重は DXA スキャン (iDXA, GE Medical Systems Lunar, Madison, WI) により測定した。スキャン当日はスキャンの2時間以上前に通常の食事を取り、宝石や歯科器具を含む金属類を体から外すよう指示した。スキャンは、一般的な検査用ガウンを着用した状態で行われた。全ての DXA データは、同一の放射線技師によって取得された。

#### III.2.3.4 MAnP 測定

MAnP は筋パワーの指標として自転車エルゴメーター(POWERMAX-VIII, COMBI, Tokyo, Japan)を用いて測定した。MAnP テストは 10 秒間の全力ペダリングを 2 分間の休息を挟み 3 セットで構成されている。まず、参加者はウォームアップとして 1kg の負荷を 60rpm の回転速度でペダリング(60W)し、続けて同じ負荷で最大努力のペダリング練習を実施した。その後、MAnP テストを実施した。ペダルから足が外れないようにペダルと足をテープ固定した。ペダリング中はサドルに座り続けること及びできる限り早く最大回転速度に到達するように全力でペダリングするように教示した。第 1 セットの負荷は参加者の体重によって決定し(それぞれ<50 kg = 2 kg, 50-69 kg = 3 kg, >70 kg = 4 kg 負荷)、第 2 セットの負荷は、第 1 セットの回転数によって決定し(それぞれ<150 rpm = +1 kg, 150-179 rpm = +2 kg, >180 rpm = +3 kg 負荷)、第 3 セットの負荷は、第 2 セットの回転数によって決定した(それぞれ<130 rpm = +1 kg, 130-149 rpm = +2 kg, >150 rpm = +3 kg 負荷)。各セットにおける最高回転数を記録し力-速度関係の計算に用いた。MAnP は力-速度関係の回帰直線から計算したパワーカーブの最高値とし、絶対値と体重あたりの相対値を分析に用いた。

#### III.2.3.5 遺伝子多型解析

DNA 抽出及び *ACTN3* R577X 多型の解析方法は、第 2 章における遺伝子多型解析と同様の方法であるため詳細は第 II 章方法の遺伝子多型解析欄を参照されたい。なお、盲検性の維持のために、遺伝子多型解析は各測定の実施後に実施した。

#### III.2.4 統計解析

適切なサンプルサイズは *ACTN3* R577X 多型と骨密度との関連を調査した先行研究 (17,19) を参考に決定した。サンプルサイズ推定は G\*Power version 3.1.9.7 を用いて算出した。推定は、効果量 0.4、 $\alpha$  有意水準 0.05、統計的パワー 0.80 に基づいて行った。本研究デザインに十分なサンプルサイズであることを確認した。全ての統計解析は SPSS version 27.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)を用いて実施した。統計的有意水準は  $P < 0.05$  とした。観察した遺伝子型頻度がハーディワインベルグ平衡に従っているかを確認するために  $\chi^2$  検定を用いた。各スポーツタイプ及び一般女性における MAnP と全身骨密度との関係を調査するためにピアソンの積立相関係数を用いた。各スポーツタイプ及び一般女性間及び *ACTN3* R577X 多型

間の身体的特徴、骨密度、MAnP を比較するために一元配置分散分析を行った。有意な主効果が認められた場合には、ボンフェローニによる事後検定を実施し群間の平均値を比較した。効果量の判定として、 $\eta^2$ は $<0.06$ で小、 $0.06-0.14$ で中、 $>0.14$ で大と分類した (Cohen, 1988)。遺伝子多型間の差異における詳細比較のために対応のない t 検定によって R 優勢モデル(RR+RX vs. XX)と R 劣勢モデル(RR vs. RX+XX)を分析した。Cohen の d は $<0.5$ を小、 $0.5-0.8$ を中、 $>0.8$ を大と分類した (Cohen, 1988)。

### III.3 結果

#### III.3.1 遺伝子型頻度

各スポーツ、スポーツタイプに参加するアスリート及び一般女性における *ACTN3* R577X 多型の発現頻度を Table 7 に示した。

**Table 7. Genotype frequencies of *ACTN3* R577X polymorphism**

Group	RR	RX	XX	RR+RX	RX+XX	HWE <i>P</i> -value
Sport						
Long distance	11(24)	24(52)	11(24)	35(76)	35(76)	0.768
Water polo	8(26)	15(48)	8(26)	23(72)	23(72)	0.857
Lifeguarding	3(9)	17(48)	15(43)	20(57)	32(91)	0.551
Tennis	6(22)	14(52)	7(26)	20(74)	21(78)	0.842
Soft tennis	6(21)	15(54)	7(25)	21(75)	22(79)	0.700
Badminton	3(33)	5(56)	1(11)	8(89)	6(67)	0.613
Hand ball	8(29)	11(39)	9(32)	19(68)	20(71)	0.259
Judo	1(8)	8(61)	4(31)	9(69)	12(92)	0.279
Jumping/throwing	4(40)	2(20)	4(40)	6(60)	6(60)	0.058
Weightlifting	8(24)	16(49)	9(27)	24(73)	25(76)	0.866
Impact type						
Low-impact	22(20)	56(50)	34(30)	78(70)	90(80)	0.902
Multidirectional	23(25)	45(49)	24(26)	68(74)	69(75)	0.836
High-impact	13(23)	26(47)	17(30)	39(70)	43(77)	0.618
Controls	5(19)	13(50)	8(31)	18(69)	21(81)	0.945

Data are number (%).

Low-impact, athletes participating in long distance, water polo, and lifesaving; Multidirectional, athletes participating in tennis, soft tennis, badminton, and hand ball; High-impact, athletes participating in judo, jumping/throwing, and weightlifting; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium.

遺伝子型頻度はハーディワインベルグ平衡に従っていた (Low-impact,  $P=0.902$ ; Multidirectional,  $P=0.836$ ; High-impact,  $P=0.618$ ; 一般女性,  $P=0.945$ ).

#### III.3.2 各スポーツタイプの身体的特徴及び MAnP

各スポーツタイプに参加するアスリートの身体的特徴及び MAnP を Table 8 に示した。身体的特徴について、High-impact のアスリートは他のスポーツタイプのアスリートや一般女性と比較して有意に高い体重、BMI、非脂肪量及び全身骨密度を示した一方で、Low-impact のアスリートは他のスポーツタイプのアスリートや一般女性と比較して有意に低い体脂肪率、脂肪量を示した(全て  $P<0.05$ )。

筋パワーの絶対値について、High-impact のアスリートは他のスポーツタイプのアスリートや一般女性と比較して有意に高い値を示した (全て  $P < 0.05$ )

**Table 8. Physical characteristics and MAnP in each sports type and controls**

Variable (units)	Low-impact (n=112)	Multidirectional (n=92)	High-impact (n=56)	Controls (n=26)	ANOVA P-value	$\eta^2$
Physical characteristics						
Height (cm)	160.3 ± 4.5 <sup>c</sup>	161.3 ± 5.2 <sup>c</sup>	157.7 ± 5.1 <sup>abd</sup>	161.2 ± 5.2 <sup>c</sup>	<0.001	0.07
Weight (kg)	53.8 ± 7.0 <sup>bc</sup>	57.5 ± 4.8 <sup>ac</sup>	60.7 ± 7.3 <sup>abd</sup>	54.3 ± 6.5 <sup>c</sup>	<0.001	0.15
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	20.9 ± 2.4 <sup>bc</sup>	22.1 ± 1.6 <sup>ac</sup>	24.4 ± 2.5 <sup>abd</sup>	20.9 ± 2.1 <sup>c</sup>	<0.001	0.27
%Fat (%)	22.5 ± 4.5 <sup>bcd</sup>	24.5 ± 3.3 <sup>ad</sup>	25.1 ± 3.5 <sup>ad</sup>	29.2 ± 4.1 <sup>abc</sup>	<0.001	0.19
Fat mass (kg)	12.3 ± 3.8 <sup>bcd</sup>	14.1 ± 2.6 <sup>a</sup>	15.4 ± 3.6 <sup>a</sup>	16.0 ± 4.0 <sup>a</sup>	<0.001	0.13
Lean mass (kg)	39.2 ± 3.8 <sup>bcd</sup>	40.8 ± 3.4 <sup>acd</sup>	42.6 ± 4.2 <sup>abd</sup>	35.9 ± 2.9 <sup>abc</sup>	<0.001	0.20
Total body BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.144 ± 0.084 <sup>bc</sup>	1.216 ± 0.083 <sup>ac</sup>	1.294 ± 0.089 <sup>abd</sup>	1.187 ± 0.062 <sup>c</sup>	<0.001	0.31
Muscle power						
MAnP (W)	538.3 ± 113.0 <sup>bc</sup>	614.3 ± 93.8 <sup>acd</sup>	666.9 ± 113.7 <sup>abd</sup>	494.2 ± 99.9 <sup>bc</sup>	<0.001	0.22
MAnP (W/BW)	10.0 ± 1.3 <sup>bcd</sup>	10.7 ± 1.4 <sup>ad</sup>	11.0 ± 1.4 <sup>ad</sup>	9.1 ± 1.7 <sup>abc</sup>	<0.001	0.14

Values are presented as mean ± standard deviation.

<sup>a</sup>  $P < 0.05$  vs Low-impact (long distance, water polo, lifeguarding)

<sup>b</sup>  $P < 0.05$  vs Multidirectional (tennis, soft tennis, badminton, hand ball)

<sup>c</sup>  $P < 0.05$  vs High-impact (judo, jumping/throwing, weightlifting)

<sup>d</sup>  $P < 0.05$  vs controls

BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; BW, body weight; MAnP, maximum anaerobic power; W, watt.

### III.3.3 MAnP と骨密度との関係

Low-impact 及び Multidirectional のアスリート及び一般女性における MAnP の絶対値と骨密度との間に有意な正の相関関係が認められた (Low-impact,  $P < 0.001$ ; Multidirectional,  $P < 0.001$ ; 一般女性  $P = 0.046$ ) が、High-impact のアスリートでは認められなかった。MAnP の相対値においては、Low-impact のアスリートにおいて骨密度と有意な正の相関関係が認められた ( $P = 0.045$ ) が、Multidirectional 及び High-impact のアスリート及び一般女性においては有意な相関関係は認められなかった (Table 9)。

**Table 9. Relationship between MAnP and BMD in each sports type**

Variable	MAnP (absolute)		MAnP (relative)	
	r	P-value	r	P-value
Total body BMD (g/cm <sup>2</sup> )				
Low impact (n = 112)	0.352	<0.001	0.190	0.045
Multidirectional (n = 92)	0.350	<0.001	0.076	0.470
High-impact (n = 56)	0.160	0.240	-0.106	0.435
Controls (n = 26)	0.395	0.046	0.224	0.272

BMD, bone mineral density; MAnP, maximum anaerobic power.

### III.3.4 各スポーツタイプにおける ACTN3 R577X 多型間の骨密度と MAnP の比較

ACTN3 R577X 多型 RR 型を有する Multidirectional スポーツのアスリートは RX 型や RX+XX 型のアスリートと比較して有意に高い骨密度を示した(それぞれ  $P=0.018$  and  $P=0.003$ )。それ以外のスポーツタイプのアスリートにおいては違いが認められなかった (Table 10)。

**Table 10. Comparison of total body BMD among participants with ACTN3 R577X polymorphism**

Variable (unit)	RR	RX	XX	ANOVA P-value	$\eta^2$	RR+RX	T-test P-value	<i>d</i>	RX+XX	T-test P-value	<i>d</i>
Total body BMD (g/cm <sup>2</sup> )											
Low-impact	1.138 ± 0.092	1.138 ± 0.084	1.158 ± 0.078	0.516	0.01	1.138 ± 0.086	0.249	0.24	1.146 ± 0.082	0.710	0.09
Multidirectional	1.258 ± 0.089	1.199 ± 0.081*	1.207 ± 0.071	0.018	0.09	1.219 ± 0.088	0.537	0.15	1.202 ± 0.077*	0.003	0.69
High-impact	1.288 ± 0.116	1.297 ± 0.087	1.294 ± 0.070	0.956	0.01	1.294 ± 0.096	0.990	0.01	1.296 ± 0.080	0.782	0.09
Controls	1.202 ± 0.041	1.174 ± 0.075	1.200 ± 0.050	0.565	0.05	1.182 ± 0.067	0.496	0.29	1.184 ± 0.066	0.575	0.28

Values are presented as mean±standard deviation.

\* $P < 0.05$  vs RR

BMD, bone mineral density.

ACTN3 R577X 多型 RR 型を有する Multidirectional スポーツのアスリートは RX+XX 型のアスリートと比較して有意に高い MAnP を示した( $P=0.035$ )。それ以外のスポーツタイプのアスリートにおいては違いが認められなかった (Table 11)。

**Table 11. Comparison of MAnP among participants with ACTN3 R577X polymorphism**

Variable (units)	RR	RX	XX	ANOVA P-value	$\eta^2$	RR+RX	T-test P-value	<i>d</i>	RX+XX	T-test P-value	<i>d</i>
MAnP (W)											
Low-impact	541.5 ± 118.4	521.6 ± 108.4	564.0 ± 115.4	0.225	0.03	527.2 ± 110.9	0.114	0.33	537.6 ± 112.4	0.885	0.03
Multidirectional	649.9 ± 81.8	602.8 ± 92.6	601.8 ± 101.6	0.110	0.05	618.7 ± 91.3	0.451	0.18	602.5 ± 95.1*	0.035	0.52
High-impact	672.9 ± 104.0	676.7 ± 110.9	647.4 ± 128.5	0.703	0.01	675.4 ± 107.3	0.402	0.25	665.1 ± 117.5	0.830	0.07
Controls	553.8 ± 138.8	475.9 ± 80.2	486.5 ± 101.8	0.336	0.09	497.6 ± 101.8	0.800	0.11	480.0 ± 86.7	0.140	0.76
MAnP (W/BW)											
Low-impact	10.2 ± 1.4	9.8 ± 1.3	10.0 ± 1.3	0.498	0.01	10.0 ± 1.3	0.837	0.04	9.9 ± 1.3	0.301	0.25
Multidirectional	11.0 ± 1.3	10.7 ± 1.3	10.4 ± 1.5	0.275	0.03	10.8 ± 1.3	0.224	0.29	10.6 ± 1.4	0.161	0.34
High-impact	11.3 ± 1.4	11.0 ± 1.5	10.7 ± 1.1	0.460	0.03	11.1 ± 1.5	0.275	0.32	10.9 ± 1.3	0.335	0.31
Controls	9.9 ± 2.9	8.9 ± 1.2	8.9 ± 1.4	0.528	0.05	9.2 ± 1.8	0.686	0.17	8.9 ± 1.3	0.253	0.56

Values are presented as mean±standard deviation.

\* $P < 0.05$  vs RR

BW, Body weight; MAnP, maximum anaerobic power; W, watt.



### III.4 考察

本研究では、様々な力学的負荷を受けるスポーツに参加する大学女子アスリートにおける筋パワー、骨密度及び *ACTN3* R577X 多型との関係を調査した。

本研究の主な知見は、Multidirectional に参加する *ACTN3* R577X 多型の RR 型を有するアスリートは RX 型や RX+XX 型よりも高い骨密度を有していたこと及び RR 型は RX+XX 型よりも高い MAnP を有していたことである。これは、Multidirectional に参加するアスリートにおいて RR 型を有することが骨密度や筋パワーにおける高いトレーナビリティを有する可能性を示唆するものである。現在、様々な表現型と *ACTN3* R577X 多型との関連が報告されており、いくつかの研究によって R 対立遺伝子の影響が強調されている (Vincent et al., 2007; Eynon et al., 2012; Broos et al., 2016; Kumagai et al., 2018)。最近の研究においては *ACTN3* R577X 多型が骨密度と関連することが報告されている (Min et al., 2016)。さらに、一般韓国人集団を対象とした研究では、RR 型は XX 型と比較して有意に高い大腿骨骨密度を有することを報告している (Cho et al., 2017)。他の研究では、週 5 回以上高強度レジスタンストレーニングを実施する集団や様々なタイプのアスリートにおいて *ACTN3* R577X 多型によって筋力、骨量及び骨密度を検討したところ、XX 型と比較して RR+RX 型を有する集団の骨密度が高いことを報告している (Antonio et al., 2017)。Yang et al. (2011) は、*ACTN3* が骨芽細胞に発現すると報告しており、*ACTN3* ノックアウトマウスがワイルドタイプマウスと比較して低い骨密度や低い骨表面当たりの骨形成率を示したことから、*ACTN3* の欠損が石灰化と骨吸収の障害と関連することを示唆している。さらに、人を対象とした研究において、*ACTN3* 欠損 (XX 型) は、R 対立遺伝子を有している人よりも骨リモデリングマーカーが高代謝回転型であったことを報告している (Levinger et al., 2017)。加えて、いくつかの研究では、筋パワーは骨強度や骨密度と正の相関を示すことを報告している (Ashe et al., 2008; Hu et al., 2017)。本研究では、RR 型を有し Multidirectional スポーツに参加するアスリートは最も高い骨密度や MAnP を示した。これらの知見は、RR 型を有する Multidirectional スポーツに参加するアスリートによるより高いパワー発揮が骨に好影響である可能性を示唆している。しかしながら、このグループにおける RX 型を有するアスリートの骨密度が低かった理由や *ACTN3* R577X 多型と骨密度が関係する生物学的メカニズムは不明である。したがって、さらなる研究は *ACTN3* 発現と骨代謝の関係について調査することが必要であるものと考えられる。

本研究において、Low-impact 及び High-impact スポーツに参加するアスリートは RR 型と

高い骨密度の関係がみられなかった。このことから、*ACTN3* R577X 多型のトレーニング効果には、骨密度や筋パワーの面で違いがある可能性が示唆された。Low-impact スポーツ参加者で速筋線維における *ACTN3* などのタンパク質の発現量が異なるとしても(RR 型と XX 型など)、持久的トレーニングではその速筋線維に十分な刺激が与えられない可能性がある。High-impact スポーツでは、筋力発揮に関わらず、特定の運動による高い力学的負荷により骨形成が促進される可能性があり、高い筋パワーと高い骨密度は必ずしも関連しないと考えられる。なお、High-impact スポーツで重要な MAnP がなぜ *ACTN3* R577X 多型と関連しなかったのかは不明である。単にサンプルサイズを増やすだけでなく、様々なタイプのスポーツを評価する更なる研究が必要である。

本研究におけるスポーツタイプ間の身体組成を比較すると、Low-impact スポーツに参加するアスリートは、Multidirectional 及び High-impact スポーツに参加するアスリートよりも、体重、BMI、体脂肪率、脂肪量、非脂肪量、骨密度が低かった。Low-impact スポーツに参加するアスリートの体重と体脂肪率が低いのは、長距離ランナーが含まれていることに起因している可能性がある。Nattiv et al. (2007) は、長距離競技への参加は、女性アスリートの FAT 発症の高いリスクを課しており (Nattiv et al., 2007)、恐らくアスリート自身やコーチが競技パフォーマンスを向上させるために痩身を期待しているからであろう (Sundgot-Borgen et al., 2013)。他のスポーツタイプと比較して、Low-impact スポーツに参加するアスリートの有意に低い骨密度は、水球およびライフセービングのスポーツを行うアスリートと関連している可能性がある。水泳や水球のような水上スポーツは骨密度の改善と関連していないことから、負荷特性が骨格の健康に特に重要な影響を及ぼす可能性が示唆される (Tenforde et al., 2018; Tenforde and Fredericson, 2011)。したがって、Low-impact スポーツのアスリートは骨量を増やすために補強的なトレーニングの採用や十分な栄養摂取を考える必要があるものと考えられる。また、このことは競技引退後のアスリートに限らずアスリート以外の人にとっても健康維持のために重要である。

本研究で対象とした High-impact スポーツは、陸上競技の跳躍・投擲、柔道、ウェイトリフティングである。これらのスポーツに参加するアスリートは、瞬発的に大きな力を必要とするため、MAnP の値が最も高くなったと考えられる。一方、Low-impact スポーツのアスリートは、長期的な運動パフォーマンスへの適応のため、MAnP が低くなった可能性がある。High-impact スポーツと Low-impact スポーツの中間に位置する Multidirectional スポーツは、テニス、バドミントン、ハンドボールなどの球技で構成されている。これらのスポーツは、

無酸素運動と有酸素運動の両方のパワーを含む競技特性を必要とし、中間的な測定値を説明するものである (Kovacs, 2007; Lees, 2003; Sporis et al, 2010)。

本研究では、スポーツを 3 種類に分類し、MAnP と骨密度の関係を検討した。その結果、Low-impact スポーツと Multidirectional スポーツにおいて、MAnP の絶対値と骨密度との間に有意な正の相関があることが確認された。これは、筋肉量が多いと筋力やパワー発揮が増加し、一般的に筋肉量の増加は骨量や骨密度の増加と関連するためと考えられる (Doyle et al., 1970; Fricke et al., 2010; Proctor et al., 2000)。ウインゲートテスト(30 秒自転車全力ペダリング)における無酸素性パワーとレスラーの骨密度に正の相関があると報告した研究もある (Hu et al., 2017)。バーベルをできるだけ速く挙上するパワートレーニングとゆっくり挙上する筋力トレーニングの骨密度への効果を検討したところ、パワートレーニング群で骨密度への効果が有意に高かったと報告されており、パワートレーニング群で高かった負荷の幅が骨吸収抑制効果に重要な役割を果たすと結論付けている (Stengel et al., 2005)。したがって、筋パワー発揮力を高めるトレーニングにより骨密度は改善される可能性がある。しかし、本研究の High-impact スポーツ参加者では、この関係はみられなかった。これは、スポーツの種類が異なるという特性によるものかもしれない。すなわち、跳躍・投擲、柔道、ウエイトリフティングなど、各アスリートの MAnP に関わらず、自重より重い負荷を持ち上げる、あるいは受けるといった特定の動作が、骨形成促進に強く影響する可能性がある。本研究では、High-impact スポーツ参加者の骨密度が、Multidirectional や Low-impact スポーツ参加者に比べて有意に高いのは、このためと推測している。したがって、筋パワー増強による骨密度の増加は、スポーツタイプによって異なる可能性がある。

本研究にはいくつかの限界がある。第一に、我々の結果は、*ACTN3* R577X 多型の筋パワーと骨密度への影響はスポーツタイプに依存することを示唆した。したがって、さらなる研究は、それぞれの競技スポーツのアスリートに *ACTN3* R577X 多型の影響を調査する必要がある。第二に、我々は骨密度との関連が報告されている単一の多型に着目したが、ビタミン D 受容体やエストロゲン受容体  $\alpha$  遺伝子など他の骨代謝関連遺伝子多型も女性アスリートの骨密度と関連する可能性がある (Kobayashi and Hwang, 2021)。したがって、複数の遺伝子多型を組み合わせた研究により、より詳細な骨反応を明らかにできる可能性があると考えられる。今後、女性アスリートにおける複数の遺伝子多型の影響を特徴付ける大規模な研究が必要である。

### III.5 まとめ

本研究は、大学女子アスリートにおける筋パワーと骨密度及び *ACTN3* R577X 多型の関係を調査した最初の研究である。本研究では、RR 型を持つ Multidirectional スポーツに参加するアスリートは、RX 型や RX+XX 型に比べ、高い骨密度を示した。さらに、RR 型は RX+XX 型よりも高い MAnP と関連していた。このことから、RR 型は Multidirectional スポーツタイプに参加する大学女子アスリートにおいて、骨密度と筋パワーに高いトレーナビリティを付与する可能性があることが示唆された。しかしながら、Low-impact スポーツや High-impact スポーツに参加するアスリートには、これらの関連は認められなかった。

## 第IV章

### 『研究課題2』

大学女子アスリートにおける低骨密度のリスクファクターと  
ビタミンD受容体及びエストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子多型が  
1年間の骨密度変化に及ぼす影響

#### IV.1 緒言

女性アスリートには FAT のリスクがあることは第 1 章で述べた通りである (Nattiv et al., 2007)。その中でも骨粗鬆症は女性アスリートにとって疲労骨折などの重篤な傷害を引き起こす原因とされることから、その要因となる骨密度低下のリスクファクターについて数多くの議論が展開されている (Nose-Ogura et al., 2019; Nose-Ogura et al., 2020; Tenforde et al., 2018)。ACSM は、骨疾患のリスクファクターとして、低 BMI、希発月経や無月経などの月経異常、遅発初経、疲労骨折及び摂食障害の既往を上げており、これらのリスクファクターに曝された場合に低骨密度になることで骨疾患を引き起こすと説明している (De Souza et al., 2014)。また、参加する競技種目によっても骨密度が大きく異なることが報告されており、特に陸上競技の長距離種目、水泳などの水中種目<sup>6)</sup>及び新体操などの審美系種目へのスポーツ参加は骨へ負の影響を与えることが報告されている (Tenforde and Fredericson, 2011; Ackland et al., 2012)。さらに、FAT リスクの高い女性エリートランナーの骨疾患リスクファクターについて縦断的に検討した研究では、トレーニング量の大きいアスリートほど低エネルギー状態となり実際に腰椎骨密度が低下したとの報告がなされている (Pollock et al., 2010)。これらのことから、女性アスリートにおける骨密度に影響を与える環境因子については明らかになりつつある。

一方で、骨密度は遺伝因子によって影響を受けることが報告されており、近年のゲノムワイド関連解析によって 66 以上もの一塩基多型が骨密度に関連すると報告されている (Herbert et al., 2019)。その候補遺伝子の一つに *VDR* 遺伝子多型がある。ヒト *VDR* は活性型ビタミン D と結合することで、骨・カルシウム代謝調節機構などの生理作用を発揮するが (Bouillon et al., 2008)、その作用発揮に必須な蛋白質を構成する遺伝子の個人差、すなわち遺伝子多型によって骨密度に差異が生じることが発表され (Morrison et al., 1994)、その後、多くの議論が展開されている。これまでのところ、*VDR* 遺伝子多型が骨密度と関連するといった報告 (Tokita et al., 1996; Sainz et al., 1997)、関連しないといった報告があり (Hustmyer et al., 1994; Garner et al., 1995)、一致した見解は得られていない。また、*VDR* 遺伝子多型は骨密度に対する環境感受性を有することが報告されている (Nakamura et al., 2002a; Nakamura et al., 2002b)。Hwang et al. (2019, 2020) は、これらのことを女性アスリートに応用し、低骨密度のリスクファクターなどの環境因子と *VDR* 遺伝子多型との交互作用を評価することで、女性アスリートにおける骨疾患のスクリーニングの可能性について報告している (Hwang et al., 2019; Hwang et al., 2020)。同様に Kobayashi and Hwang (2021) は、*ESR1* 遺伝子多型につ

いてもその関連を報告している (Kobayashi and Hwang, 2021)。これらの研究は、女性アスリートにおける骨密度を決定づける環境因子と遺伝因子との間には交互作用的に関連が認められることを示唆している。

しかしながら、これまでの研究は横断的な検討がその殆どを占めている。環境因子と遺伝因子の双方に着目し、骨代謝関連遺伝子多型別に低骨密度のリスクファクターの骨に対する環境感受性を経時的に定量することが出来れば、三主徴に関してより詳細なスクリーニングが可能となり得る。しかしながら、女性アスリートを対象にこのような調査を行っている研究は見受けられない。骨リモデリングは、破骨細胞による骨吸収とそれに続く骨芽細胞による骨形成がカップリングする一連の骨再構築過程であり、活性化期、吸収期、反転期、形成期及び休止期の 5 期の代謝回転状態 1 サイクルが完了するのに数か月間要する (Hadjidakis and Androulakis, 2006)。このようなことから ACSM では、FAT のリスクファクターによる骨量減少が進行しているかどうかを判断するために 1~2 年ごとの骨密度検査の必要性を指摘している (De Souza et al., 2014)。

そこで本研究では、大学女子アスリートに着目し、1 年間の骨密度変化率が低骨密度のリスクファクターや骨代謝関連遺伝子多型にどの程度影響を受けるのかを調査し、環境及び遺伝因子及びその交互作用による骨密度への経時的影響について検討することを目的とした。

## IV.2 方法

### IV.2.1 対象

体育系大学の運動部に所属する女性アスリート 239 名（陸上競技長距離 26 名、新体操 16 名、柔道 17 名、ダンス 21 名、テニス 19 名、ソフトテニス 21 名、バドミントン 18 名、ハンドボール 23 名、陸上競技跳躍/投擲 10 名、ウエイトリフティング 16 名、水球 18 名、ライフセービング 34 名）が本研究に参加した。本研究の参加者は、研究課題 1-1 に参加したアスリートの内、縦断的調査に同意されたアスリートで構成された。参加者には、事前に本研究の主旨と調査期間、測定内容、得られたデータの利用目的及び個人情報の取り扱い等について書面及び口頭で十分に説明し、インフォームド・コンセントを得てから研究を開始した。20 歳未満の者には、保護者の同意を得たうえで実験を実施した。なお、本研究の実施に際する倫理的配慮については、日本体育大学倫理審査委員会の承認を得ている（承認番号：第 019-G02 号）。

### IV.2.2 実験手順

本研究は前向きコホート研究であり、データ収集期間は 2018 年 7 月～2019 年 7 月の 1 年間であった。実験開始時に遺伝子検査、骨密度測定、アンケート調査によって専攻する競技、モニタリング調査によって月経周期、摂食障害及び疲労骨折発生の状況を調査し、環境及び遺伝因子毎にリスク分類を実施した。1 年後に再び骨密度を測定し、その変化をリスクの有無によって比較検討した。最終的にモニタリング及び測定が完了した 173 名（陸上競技長距離 15 名、新体操 14 名、柔道 15 名、ダンス 12 名、テニス 16 名、ソフトテニス 17 名、バドミントン 6 名、ハンドボール 23 名、陸上競技跳躍/投擲 10 名、ウエイトリフティング 10 名、水球 13 名、ライフセービング部 22 名）のデータを分析した。なお、分析対象者の身体的特徴は Table 12 に示した。

**Table 12. Characteristics of participants**

	<b>Participants (n=173)</b>
Age (year)	19.4 ± 1.0
Height (cm)	160.4 ± 4.5
Weight (kg)	57.0 ± 7.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.1 ± 2.9
%Fat (%)	23.4 ± 3.9
Total body BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.193 ± 0.099
Lumbar spine BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.362 ± 0.152
Femoral neck BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.173 ± 0.137
Experience of sport (year)	8.5 ± 4.3
Age at menarche (year)	12.9 ± 1.8

Data are mean ± SD; BMI, body mass index; BMD, bone mineral density.



#### IV.2.2.1 アンケート調査

実験開始時に参加者の競技種目、競技経験年数、初経年齢をアンケート調査によって取得した。

#### IV.2.2.2 モニタリング調査

参加者の月経周期、怪我及び摂食障害について追跡調査を実施した。各競技団体の代表者を通じて全参加者に毎月調査用紙を配布し、翌月第 1 週目のうちに当該月分の調査用紙を回収した。

#### IV.2.2.3 体組成測定

全身、腰椎 L2-4 及び大腿骨頸部骨密度を二重エネルギーX線吸収測定法 (iDXA、GE Medical Systems Lunar、Madison、WI) により測定し、同時に体重、脂肪量及び非脂肪量データも取得した。なお、測定は全て同一の放射線技師によって実施された。

#### IV.2.2.4 遺伝子多型解析

DNA 抽出及び *VDR* 遺伝子 *ApaI* (rs7975232)、*TaqI* (rs731236)、*FokI* (rs2228570) 多型及び、*ESR1* 遺伝子 *PvuII* (rs2234693)、*XbaI* (rs9340799) 多型の解析方法は、第 II 章における遺伝子多型解析と同様の方法であるため詳細は第 II 章方法の遺伝子多型解析欄を参照されたい。

#### IV.2.3 分析方法

実験開始時に実施したアンケート調査、体組成測定及び 1 年間のモニタリング調査から骨密度に対するリスクの有無について次の通り定義した。リスクの定義については ACSM の三主徴リスクファクターを参考にした (De Souza et al., 2014)。BMI ; 17.5kg/m<sup>2</sup>未満をリスク有り、17.5kg/m<sup>2</sup>以上をリスクなしとした。月経周期 ; モニタリング期間中の月経周期において平均月経周期が 90 日以上 (無月経) をリスク有り、90 日未満をリスクなしとした。疲労骨折 ; モニタリング期間中に疲労骨折を起こしたものをリスク有り、疲労骨折のないものをリスクなしとした。摂食障害 ; モニタリング期間中に摂食障害を起こしたものをリスク有り、摂食障害のなかったものをリスクなしとした。競技タイプ ; 先行研究を参考に骨密度に

負の影響を与えるとされる持久系種目の陸上競技長距離、力学的負荷の小さい水中系種目の水球及びライフセービング、痩身を好む審美系種目の新体操及びダンスをリスク有り、それ以外をリスクなしとした (Tenforde and Fredericson, 2011; Ackland et al., 2012)。各環境因子を独立変数、骨密度変化率を従属変数とした相関分析を実施するためにリスク有りと分類されたものをダミー変数 1、リスクなしと分類されたものをダミー変数 0 として定義した。遺伝子多型による分類については、一方のホモ接合体を 0、ヘテロ接合体を 1、もう一方のホモ接合体を 2 として定義した。これらの環境因子におけるリスクの有無及び遺伝子多型と骨密度の 1 年間変化率に関連があるか否かについて検討するために重回帰分析を実施した。

#### IV.2.4 統計処理

全ての値は、平均値±標準偏差で示した。分析した遺伝子多型の発現頻度は、ハーディワインベルグの法則の一致を  $\chi^2$  検定により確認した。1 年間の骨密度変化率の比較には対応のある t 検定を用いた。リスクの有無による骨密度変化リスクの有無による年間の骨密度変化率の比較には対応のない t 検定を用いた。分析方法にて示した環境及び遺伝因子におけるリスクの有無を独立変数、腰椎及び大腿骨頸部骨密度の 1 年間変化率をそれぞれ従属変数としてステップワイズ法による重回帰分析を実施した。ステップワイズ法の変数投入条件は、F 値が  $P < 0.05$  となる変数とし、変数除外条件は F 値が  $P \geq 0.1$  となる変数とした。除外された変数においても、投入した場合の標準化係数 ( $\beta$  値) を示した。なお、事前の単相関分析において全身骨密度は全ての変数と有意な相関関係が認められなかったため、分析対象から除外した。また、遺伝子多型の違いによって環境感受性が異なるかどうかを分析するために、遺伝子多型と競技タイプが骨密度変化率に及ぼす交互作用について二要因分散分析によって検討した。なお、モニタリング調査の結果、BMI、月経周期、疲労骨折は、リスク有りに分類されたサンプルサイズが小さかったため、遺伝子多型の違いによる分析は実施できなかったことを付記しておく。統計解析には SPSS ver. 27.0 (IBM Corp., Armonk, NY) を使い、統計的有意水準は  $P < 0.05$  とした。

### IV.3 結果

#### IV.3.1 モニタリング調査結果

リスク有りと定義した BMI17.5 未満 7 名 (4.0%)、平均月経周期 90 以上 (無月経) 6 名 (3.5%)、疲労骨折発症 5 名 (2.9%) であり、調査期間中の摂食障害罹患者は 0 名であった。

#### IV.3.2 遺伝子多型の発現頻度

本研究において解析した *VDR* 遺伝子 ApaI、 TaqI、 FokI 多型及び *ESR1* 遺伝子 PvuII、 XbaI 多型の発現頻度は Table 13 に示した。

**Table 13. Genotype frequencies of *VDR* and *ESR1* gene polymorphisms**

Gene	type	n (%)	type	n (%)	type	n (%)	HWE <i>P</i> -value
<i>VDR</i>							
ApaI (rs7975232)	aa	85(49.1)	Aa	75(43.4)	AA	13(7.5)	0.522
TaqI (rs731236)	TT	138(79.8)	Tt	35(20.2)	tt	0(0)	0.139
FokI (rs2228570)	FF	67(38.7)	Ff	82(47.4)	ff	24(13.9)	0.891
<i>ESR1</i>							
PvuII (rs2234693)	pp	53(30.7)	Pp	85(49.1)	PP	35(20.2)	0.931
XbaI (rs9340799)	XX	5(2.9)	Xx	44(25.4)	xx	124(71.7)	0.650

*VDR*, vitamin D receptor; *ESR1*, estrogen receptor alpha; HWE, hardy weinberg equilibrium

全ての遺伝子多型の発現頻度はハーディワイベルグ平衡に従っていた (全て  $P>0.05$ )。

#### IV.3.3 低骨密度リスクファクターと遺伝子多型が骨密度変化率に及ぼす影響

平均月経周期 90 日以上 (無月経) であった参加者の骨密度が有意に低下し (リスク有り  $-1.9\pm 3.1\%$ 、リスク無し  $0.1\pm 2.2\%$ 、 $P=0.035$ ) (Figure 6A)、大腿骨頸部頸部骨密度では、持久、水中、審美系の競技タイプの参加者の大腿骨頸部骨密度が有意に低下した (リスク有り  $-1.8\pm 2.2\%$ 、リスク無し  $-0.9\pm 2.5\%$ 、 $P=0.015$ ) (Figure 6B)。

重回帰分析の結果、腰椎骨密度においては月経周期が骨密度変化率の有意な独立変数であることが認められ ( $\beta=-0.161$ 、 $P=0.034$ )、一方、それ以外の低骨密度リスクファクター及び遺伝子多型は有意な独立変数にはならなかった (全て  $P>0.05$ )。大腿骨頸部骨密度においては、競技タイプが骨密度変化率の有意な独立変数であることが認められ ( $\beta=-0.184$ 、 $P=0.016$ )、一方、それ以外の低骨密度リスクファクター及び遺伝子多型は有意な独立変数にはならなかった (全て  $P>0.05$ ) (Table 14)。

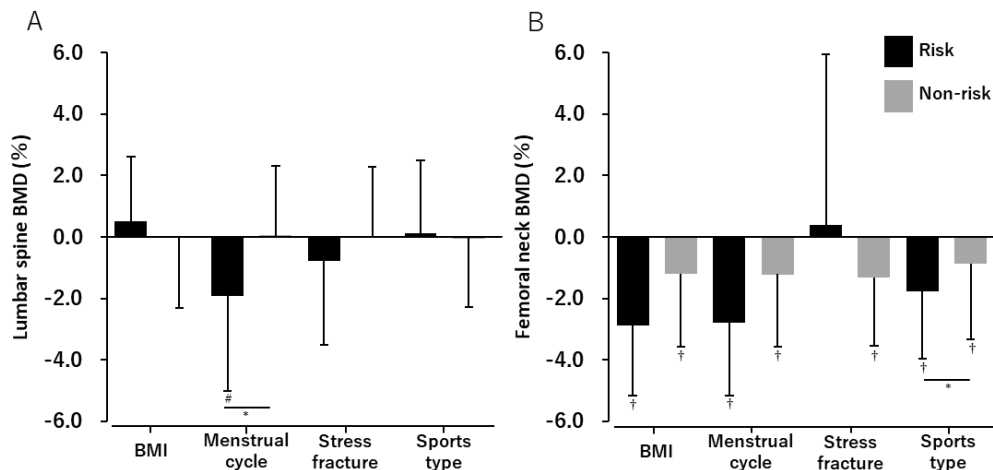


Figure 6 Comparison of annual change in lumbar spine (A) and femoral neck (B) BMD with or without low BMD risk factor. Black bars are annual change in BMD with low BMD risk factors. Gray bars are annual change in BMD without low BMD risk factors. Data are mean±SD. BMD, bone mineral density; BMI, body mass index. \*Statistically significant difference between with and without low BMD risk factor ( $P<0.05$ ). #Trend of statistically difference in annual change in BMD ( $P=0.095$ ). †Statistically significant difference in annual change in BMD ( $P<0.05$ ).

**Table 14. Effects of low BMD risk factors and gene polymorphisms on annual change in BMD**

	Lumbar spine BMD		Femoral neck BMD	
	$\beta$	<i>P</i>	$\beta$	<i>P</i>
Low BMD risk factors				
BMI	0.064	0.399	-0.102	0.187
Menstrual cycle	-0.161*	0.034	-0.095	0.213
stress fracture	-0.035	0.649	0.130	0.085
Sports type	0.064	0.404	-0.184*	0.016
Gene polymorphisms				
<i>VDR</i> ApaI (rs7975232)	-0.039	0.612	-0.050	0.505
<i>VDR</i> TaqI (rs731236)	-0.084	0.267	-0.076	0.314
<i>VDR</i> FokI (rs2228570)	0.023	0.764	0.077	0.309
<i>ESR1</i> PvuII (rs2234693)	-0.068	0.368	0.065	0.387
<i>ESR1</i> XbaI (rs9340799)	0.016	0.836	0.009	0.910

\* $P<0.05$

BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; *VDR*, vitamin D receptor; *ESR1*, estrogen receptor alpha.

#### IV.3.4 遺伝子多型別における競技タイプが骨密度変化率に及ぼす影響

遺伝子多型別に競技タイプの違いによる骨密度変化率を比較するために二要因分散分析を実施したところ、いずれの骨密度変化率における遺伝子多型と競技タイプ間においても交互作用は認められなかった (全て  $P>0.05$ ) (Table 15)。なお、FokI 多型においては大腿骨頸部骨密度のみ有意な傾向が確認された ( $P=0.076$ )。そのため下位検定を実施したところ、FF 型においてのみ競技タイプの違いによって大腿骨頸部骨密度変化率に有意な差が認められた ( $P=0.015$ )。

**Table 15. Comparison of rate of annual change in lumbar spine and femoral neck BMD between gene polymorphisms and sports type**

		Sports type		Interaction		
		Risk	Non-risk	F	P	Partial $\eta^2$
Lumbar spine BMD						
ApaI	aa	0.6 ± 2.5	-0.2 ± 2.5	1.60	0.205	0.02
	Aa	-0.4 ± 2.3	0.1 ± 1.9			
	AA	0.1 ± 2.1	-0.3 ± 1.7			
TaqI	TT	0.2 ± 2.5	0.0 ± 2.2	0.04	0.844	0.00
	Tt	-0.3 ± 2.0	-0.6 ± 2.0			
FokI	FF	-0.1 ± 2.6	0.0 ± 2.1	0.23	0.798	0.00
	Ff	0.2 ± 2.3	-0.2 ± 2.2			
	ff	0.3 ± 2.2	0.0 ± 2.4			
PvuII	pp	1.0 ± 2.7	0.2 ± 2.1	1.08	0.342	0.01
	Pp	-0.5 ± 2.2	-0.4 ± 2.2			
	PP	0.0 ± 2.0	0.6 ± 2.1			
XbaI	XX	0.0 ± 3.3	-0.6	0.01	0.986	0.00
	Xx	-0.1 ± 1.6	-0.3 ± 2.4			
	xx	0.2 ± 2.6	0.0 ± 2.2			
Femoral neck BMD						
ApaI	aa	-1.6 ± 2.4	-0.7 ± 2.7	0.04	0.960	0.00
	Aa	-1.9 ± 2.0	-1.2 ± 2.2			
	AA	-1.8 ± 2.2	-0.7 ± 1.5			
TaqI	TT	-1.8 ± 2.3	-0.7 ± 2.3	2.40	0.123	0.01
	Tt	-1.6 ± 1.8	-1.8 ± 2.8			
FokI	FF	-2.3 ± 2.4	-0.7 ± 2.9*	2.61	0.076	0.03
	Ff	-1.4 ± 1.9	-1.4 ± 2.3			
	ff	-1.8 ± 3.0	-0.2 ± 1.6			
PvuII	pp	-1.7 ± 2.2	-1.1 ± 2.1	0.45	0.638	0.01
	Pp	-1.9 ± 2.3	-1.0 ± 2.3			
	PP	-1.6 ± 2.2	-0.1 ± 3.5			
XbaI	XX	-2.0 ± 2.1	0.0	0.14	0.872	0.00
	Xx	-1.9 ± 2.2	-0.8 ± 3.2			
	xx	-1.7 ± 2.2	-0.9 ± 2.2			

\*P<0.05 vs. risk

Data are mean ± SD; BMD, bone mineral density; risk, sports participation in long distance, water polo, lifeguarding, dance, and esthetic gymnastics. There was only one XX genotype athlete with no risk of sports type, so was no standard deviation. No interaction was observed between any gene polymorphism and sports type.

#### IV.4 考察

本研究は大学女子アスリートにおける 1 年間の骨密度変化率が低骨密度のリスクファクターや骨代謝関連遺伝子多型にどの程度影響を受けるのかを調査することで、環境及び遺伝因子及びその交互作用による青年期の骨密度への経時的影響を明らかにすることを目的とした。

本研究の主な知見は、年間を通じて無月経であるアスリートの腰椎骨密度が有意に低下したこと及び持久、水中、審美系の競技種目に参加するアスリートの大腿骨頸部骨密度が有意に低下したことであった。無月経であることが女性アスリートの骨に負の影響を与えることは広く報告されており、その機序はエストロゲンの低下と関連していることが報告されている (Nattiv et al., 2007; Nose-ogura et al., 2020; De Souza et al., 2014; Warren and Chua, 2008)。エストロゲンは、骨格の発達と維持において重要な役割を担っており、閉経後女性の骨密度低下率が男性よりも高いことがそのことをよく表している (Compston, 2001)。本研究における参加者の血中ホルモン濃度を分析していないため断定はできないが、1 年間無月経状態が続いていたアスリートは、エストロゲン欠乏の状態が続き、骨吸収が亢進された結果、腰椎骨密度が低下したものと推察される。エストロゲンは、その特異的受容体である ER と結合することで作用を発揮することが知られている (Compston, 2001)。このことは、ER のナンセンス変異を有する男性の骨粗鬆症発症率の増加や (Smith et al., 1994)、ER 遺伝子ノックアウトマウスの骨密度が ER 遺伝子ワイルドタイプマウスよりも 20-25%低かったという報告から明らかである (Korach, 1994)。これらのことから我々は月経周期とエストロゲン受容体遺伝子多型との縦断的な関連も検討を試みたが、無月経のアスリートが 6 名であったため遺伝子多型別に分析することができなかった。したがって、今後はエストロゲンレベルを調査することや遺伝子多型別に検討できるよう調査件数を増やすなど、さらなる研究が必要である。

骨密度の増加は、体重に掛かる身体活動を含む力学的負荷によって刺激される (Klibanski et al., 2001)。したがって、骨構造へのより大きな負荷による身体活動は、骨密度の有意な増加を生じさせる (Sambrook and Cooper, 2006; Frost, 1987)。一方で、水泳などの水中種目や陸上競技長距離種目、新体操などの審美系種目は骨に負の影響を与えることが報告されており (Tenforde and Fredericson, 2011; Ackland et al., 2012)、競技種目特異的な環境が骨に与える影響を左右するものと考えられる。本研究における競技タイプの分類において、リスク無しにはテニス、ソフトテニス、ハンドボール、バドミントン、陸上競技跳躍/投擲、ウエイトリ

フティング、柔道などのジャンプ運動や自体重以上の重さに抗する競技種目であり、体重を支えるために特に下肢に負荷が掛かっていることが予測される。一方で、リスク有りとしたスポーツには、水球、ライフセービングといった水中で行われる種目、さらには、ダンス、新体操といった痩身が好まれる種目が分類されていたことから (Ackland et al., 2012)、特に下肢に受ける力学的負荷の小さな競技タイプであることが推考される。大腿骨頸部の骨密度は腰椎と比較して運動や荷重の影響を反映するため (須田, 2016)、力学的負荷が小さい特性のスポーツ活動に従事した結果、十分な骨形成応答が得られず、大腿骨頸部骨密度が低下したものと考えられる。また、陸上競技長距離は、ランニングという骨の増加には好影響の運動特性であるものの、特に女性長距離ランナーは骨に負の影響を受けること (Tenforde and Fredericson, 2011)、トレーニング量の多い長距離ランナーほど低エネルギー状態となり骨密度が低下したとの報告もあり (Pollock et al., 2010)、長距離走を繰り返すことによる相対的なエネルギー不足によって骨密度に負の影響を及ぼす可能性が考えられる (Nattiv et al., 2007)。これらのことから、大学女子アスリートにおいて無月経であること及び、持久、水中、審美系スポーツへの参加は 1 年間の骨密度変化に負の影響を与える可能性が示唆される。

本研究では、VDR 及び ER $\alpha$  遺伝子多型によって 1 年間の骨密度変化に影響を及ぼすかどうかを検討するために重回帰分析の独立変数に投入したが、有意な独立変数として表出されなかった。このことは、これらの遺伝因子は大学女子アスリートにおける 1 年間の骨密度変化に影響を及ぼさないことを示唆している。これまでに VDR や ER $\alpha$  遺伝子多型と骨密度との関連については数多くの研究が行われてきている。そこでは、遺伝子多型が骨密度と関連するといった報告 (Morrison et al., 1994; Tokita et al., 1996; Sainz et al., 1997; Ho et al., 2000; Albagha et al., 2001; Ymada et al., 2002; Willing et al., 1998)、関連しないといった報告が混在しており (Hustmyer et al., 1994; Garnero et al., 1995; Han et al., 1997; Han et al., 1999; Aerssens et al., 2000; Brown et al., 2001)、未だに明確な結論は出ていないように見受けられる。Gennari et al. (2005) は、遺伝子多型と骨密度との関連に一貫性がないのは、遺伝子多型解析エラー、研究参加者の人種や環境の相違、年齢や更年期の状態及び研究デザインなどの要因が含まれることを指摘している。このような背景から、Hwang et al. (2020) や Kobayashi and Hwang (2021) は、日本人女性アスリートに着目して遺伝子多型と骨密度との関連性について検討している (Kobayashi and Hwang, 2021)、Hwang et al. (2020) は、VDR 遺伝子 ApaI 多型間の骨密度には有意差が認められなかったとしている。一方で、Kobayashi and Hwang (2021) は、

*ESRI* 遺伝子 *XbaI* 多型の *xx* 型のアスリートは低骨密度と関連することを報告した。この作用機序は明確ではないが、*xx* 型においてのみ初経が遅延したアスリートは、遅延しなかったアスリートと比較して有意に骨密度が低かったことから、*xx* 型は低骨密度リスクファクターの感受性が高く、一方で *XX* 型や *Xx* 型のアスリートは初経の遅延に伴う低エストロゲン状態のような低骨密度リスクに対する耐性を有することが要因ではないかと考察している (Kobayashi and Hwang, 2021)。本研究は、遺伝因子と骨密度の 1 年間変化率には関連が認められなかったことから、Hwang et al. (2020) の報告と類似する結果となった。一方で、*ESRI* 遺伝子 *XbaI* 多型は骨密度と関連するとした Kobayashi and Hwang (2021) の報告とは異なる結果となった。しかしながら、これらの先行研究は日本人大学女子アスリートを対象とする横断研究であり、本研究はリスクの有無による骨密度変化を前向きに調査したコホート研究であることから、研究デザインが異なることに注意が必要である。これまでに、女性アスリートにおいて遺伝因子に着目して骨密度の経時的変化を検討した研究は見受けられないことから、少なくとも 1 年程度の期間では、遺伝因子による骨密度への影響は表れにくいものと考えられる。

さらに本研究では、遺伝子多型の違いによって環境因子の骨への感受性が異なるかどうかを検討するために、遺伝子多型と競技タイプの骨密度変化率について二要因分散分析を実施したが、有意な交互作用は認められなかった。このことは、大学女子アスリートにおいて、遺伝因子による 1 年間の骨密度変化に対する環境感受性の影響は小さいことを示唆している。これまでに遺伝子多型の違いによって骨密度に差異があるという報告は数多く存在するものの (Cooper and Umbach, 1996; Ioannidis et al., 2002)、大学女子アスリートの骨密度の変化を遺伝子多型別に検討した縦断的研究は見受けられず、横断的研究もごくわずかである (Hwang et al., 2019; Hwang et al., 2020; Kobayashi and Hwang, 2021)。Nakamura et al. (2002b) は、重力に抗する種目 (バレーボール、バスケットボール、ハンドボール、高跳び) と重力に抗しない水泳に参加する男子アスリートの全身骨密度を *VDR* 遺伝子 *FokI* 多型別に検討した。その結果、*FF* 型を有する重力に抗する種目に参加するアスリートはコントロール (年齢をマッチさせた健常男性) よりも有意に骨密度が高く、一方、水泳に参加するアスリートはコントロールよりも有意に低い骨密度であったと報告した (Nakamura et al., 2002b)。このことから、*FokI* 多型の *FF* 型はその他の遺伝子型と比較してスポーツ参加による骨への刺激に対する応答に敏感であることを示唆している。本研究では、有意な交互作用は認められなかったものの、*FokI* 多型において交互作用の傾向があり、*FF* 型においては競



技タイプ間の大腿骨頸部骨密度変化率に有意な差が認められた。したがって、今後の検討は、研究期間を1年間と限定せず、大学競技生活を通して追跡調査を実施するなど、更なる長期的なデータ収集及び分析を実施することで環境因子と遺伝因子の交互作用がより明確になるものと考えられる。

本研究には上述した研究期間に加え、いくつかの限界がある。第一に、モニタリング調査の正確性が挙げられる。すなわち、本モニタリング調査期間において摂食障害などを起こしたものが回答しなかった可能性も考慮する必要がある。本研究開始時に239名であった参加者のうちデータ収集が完了できたのは173名(72.4%)であったことから、前向きコホート研究では、正確なデータを収集できるよう参加者へのフォローアップなども含めて慎重に対応する必要があるものと考えられる。第二に、環境因子における分析のためのリスク分類において、競技タイプを大きく二つに分類したことが挙げられる。本来は、競技種目それぞれに特異性があることから、競技種目毎に分析を実施すべきである。したがって、今後の検討では骨疾患リスクの高い陸上競技長距離などを中心に、同一競技種目においてサンプルサイズを大きくし検討することが望まれる。最後に、遺伝因子の分析を *VDR* と *ESR1* の2つの遺伝子に限定したことが挙げられる。骨密度に関連する遺伝子は66以上ということが近年になって明らかとなっている (Herbert et al., 2019)。人種、環境、実験デザインなどによって研究結果は異なるものの、どの遺伝因子が骨密度の変化に影響するかをより詳細に分析するためには、候補遺伝子を増やして分析する必要があるものと考えられる。

#### IV.5 まとめ

本研究は、大学女子アスリートにおける 1 年間の骨密度変化率が低骨密度のリスクファクターや *VDR* 及び *ESRI* 遺伝子多型にどの程度影響を受けるのかを調査することで、環境及び遺伝子及びその交互作用による青年期の骨密度への経時的影響を明らかにすることを目的とした。本研究の主な知見は、モニタリング期間を通して無月経であったアスリートの腰椎骨密度がそれ以外のアスリートと比較して有意に低下したこと及び、持久、水中、審美系の競技に参加するアスリートの大腿骨頸部骨密度がそれ以外の競技に参加するアスリートと比較して有意に低下したことであった。一方で、骨密度の 1 年間変化率に対する *VDR* 及び *ESRI* 遺伝子多型の影響及び競技タイプと遺伝子多型との交互作用は認められなかった。

これらの結果は、大学女子アスリートの 1 年間の骨密度変化において、無月経及び持久、水中、審美系の競技特性が負の影響を及ぼす反面、遺伝因子による影響は小さい可能性を示唆している。

## 第V章

### 『研究課題3』

レジスタンストレーニングが大学女子長距離ランナーにおける  
骨密度及び安静時血中ホルモンに及ぼす影響

## V.1 緒言

ランニングは体重の掛かる運動であり、その力学的負荷が骨の成長や維持への刺激を潜在的に産生する (Frost, 1987)。それにもかかわらず数多くの研究が、男性及び女性ランナーにおける低骨密度を報告している (Barrack et al., 2010; Bilanin et al., 1989; Burrows et al., 2003; Hind et al., 2006)。女性ランナーにおける低骨密度の理由はよく立証されており、それは以前から女性アスリートの三主徴としてよく知られているスポーツにおける相対的エネルギー不足 (Relative Energy Deficiency in Sport: RED-S) と関連している (Mountjoy et al., 2014)。このエネルギー減少が原因である RED-S 症候群は、内分泌系や、生殖系及び骨格系に深刻な結果を導く (Mountjoy et al., 2014; Nattiv et al., 2007)。Ihle and Loucks (2004) は、運動を実施する若年女性において利用可能エネルギー (摂取エネルギーから運動時消費エネルギーを差し引いた値) が低いほど、骨吸収マーカーは増加し、骨形成マーカーは低下したことを報告している。RED-S は、陸上競技長距離種目を含む痩身であることによって競技を有利にすることを狙いとするスポーツに参加する女性アスリートによくみられる (Sundgot-Borgen et al., 2013)。したがって、女性ランナーにおける低骨密度は、ランニングという骨に好影響を与える要因を利用可能エネルギー不足という骨に悪影響を与える要因が相殺しているために起こるものと考えられる。

骨密度を決定する要因には環境の他に性ホルモンであるエストロゲンが大きく関わっている (Compston, 2001)。特に女性は閉経に伴うエストロゲン分泌の低下が原因で骨密度の低下が加速することが報告されていることから (Brown, 2008)、エストロゲン分泌を維持・促進することは骨密度を維持するうえで重要であると考えられる。このエストロゲンの大部分を担うエストラジオール (estradiol: E2) はレジスタンス運動によって増加する可能性が報告されている (Walberg-Rankin et al., 1992)。一過性レジスタンス運動により副腎皮質からテストステロンの前駆物質であるデヒドロエピアンドロステロン (dehydroepiandrosterone: DHEA) とその硫酸結合体 (DHEA-S) が生成される (Collomp et al., 2015)。循環型 DHEA 及び DHEA-S は 17 $\beta$  ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase: 17 $\beta$ -HSD) によりアンドロステンジオンへと変換され、3 $\beta$  ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (3 $\beta$ -HSD) によりテストステロンへと変換される (Aizawa et al., 2007)。さらにテストステロンはアロマターゼ (Aromatase: P450arom) を介して E2 へと変換される (Conley and Hinshelwood, 2001)。これまで性ホルモン合成酵素は、主に精巣や卵巣などの内分泌腺に存在すると考えられてきたが、近年では、脳、心臓、肝臓、腎臓、骨など様々な組織においても性ホルモン

合成酵素の存在が報告されている (Aizawa et al., 2007)。

レジスタンス運動が血中ホルモン濃度に与える急性影響をみた研究によると、国際的なパワーリフティングの大会において中年女性の DHEA 濃度の増加を確認した報告や (Le Panse et al., 2010)、健康な女性において一過性レジスタンス運動後の DHEA、テストステロンの増加 (Copeland et al., 2002)、及び E2 が増加したとの報告がみられる (Walberg-Rankin et al., 1992)。また、E2 は卵胞期及び黄体期の双方における低量のレジスタンス運動後に増加することも報告されている (Kraemer et al., 1995)。したがって、レジスタンス運動によって副腎皮質から DHEA が生成され、性ホルモン合成酵素変換を経て E2 濃度を高め、骨吸収を抑制することで骨密度の増加に寄与している可能性が考えられる。一方、レジスタンス運動が血中ホルモン濃度に与える慢性影響をみた研究では、8 週間のレジスタンストレーニング (Resistance Training: RT) によって若年女性の安静時における血中 DHEA-S が増加したとの報告 (Aizawa et al., 2003) や 12 週間の RT によって若年女性の安静時血中 E2 及びテストステロンが増加したとの報告がみられるものの (Moghadasi and Siavashpour, 2013)、一致した見解は得られておらず (Collomp et al., 2015)、長期的な RT が骨代謝に関わる血中バイオマーカーに与える影響は不明確である。

なお、長距離ランナーにおける RT の骨への有効性について検討した研究は、男性及び女性長距離ランナーを対象とした横断的研究 (Duplanty et al., 2018; Hind et al., 2006) はみられるものの、その数は非常に少なく、トレーニング介入研究は見受けられない。

そこで本研究は、介入実験におけるパイロットスタディとして大学女子長距離ランナーを対象に 16 週間の RT を実施し、介入前後の骨密度及び DHEA、E2 を含む血中ホルモンの変動について調査することを目的とした。本研究では、RT によって大学女子長距離ランナーの骨密度及び骨密度増加に関与する安静時血中ホルモン濃度は増加すると仮説を立てた。

## V.2 方法

### V.2.1 問題解決に向けての実験的アプローチ

大学女子長距離ランナーにおける RT が骨密度へ及ぼす効果を調査するために、ランダム化コントロール試験を 20 週間掛けて実施した (2021 年 3 月から 7 月に掛けて実施)。介入期間は 16 週間であり、最初の 1-2 週目にトレーニングテクニックの習得、3 週目にベースライン測定、4-19 週目に介入実験、20 週目に事後測定を実施した。この介入実験は 2021 年 3 月から 7 月にかけて実施された。ベースライン及び 16 週間のトレーニング後において、第一のアウトカムとして DXA 法による骨密度、第 2 のアウトカムとして血中ホルモン濃度を評価した。傷害や感染の疑いのある参加者に関しては本研究の対象から除外した。

### V.2.2 対象

本研究は大学女子長距離ランナーにおける RT が BMD に及ぼす影響を調査した最初のパイロット研究であったため、サンプルサイズ推定は、G\*Power にて t 検定 (effect size: 1.2 [大]、有意水準 ( $\alpha$ ): 0.05、検出力 (power): 0.8 で計算した。その結果、各群 8 名と算出された。1 年間の平均月間走行距離が 450km 以上の大学女子長距離ランナー 14 名 (年齢、19.8 $\pm$ 0.8 歳; 身長、159.3 $\pm$ 4.7cm; 体重 48.8 $\pm$ 4.8kg) 及び年齢のマッチした健常な一般女子学生 14 名 (年齢、20.5 $\pm$ 1.6 歳; 身長、162.2 $\pm$ 4.6cm; 体重 56.2 $\pm$ 7.9kg) が本介入研究に参加した。参加基準は、実験開始前 1 年間の周期が正常月経周期 (26-35 日) であり、RT の実施経験がなく、実験開始時における筋腱や骨に傷害のないこととした。除外基準は、月経異常 (希発月経あるいは無月経)、ピルなどの内服薬を服用していることとし、一般女子大生においては、過去 3 年以内での競技スポーツへの参加者は研究対象から除外した。参加者フローは Figure 7 に示した。参加者は、大学女子長距離ランナーのうちトレーニング群 8 名 (runner resistance training: RRT)、コントロール 8 名 (runner control: RCON)、健常な一般女子学生のうちトレーニング群 11 名 (non-athlete resistance training: NRT)、コントロール 8 名 (non-athlete control: NCON) が無作為にグループ分けされた。無作為化は本研究に関わりのない第三者によって行われた。RRT から 2 名が脱落し (筋肉の違和感 [n = 1]、競技中の怪我 [n = 1])、NRT から 3 名が脱落し (自己都合 [n = 2]、連絡の途絶 [n = 1])、NCON から 2 名が脱落した (体調不良 [n = 1]、月経異常 [n = 1])。最終的に RRT 6 名、RCON 8 名、NRT 8 名、NCON 6 名を分析した。なお、参加者の身体的特徴は Table 16 に示した。

本研究は、ヘルシンキ宣言に定められた原則に従って実施した。また、日本体育大学倫理

審査委員会により承認された（承認番号:020-H092）。全ての参加者は、施設承認のインフォームド・コンセント文書に署名する前に調査の利益とリスクについて説明され、本研究への参加について書面によるインフォームド・コンセントを受けた。

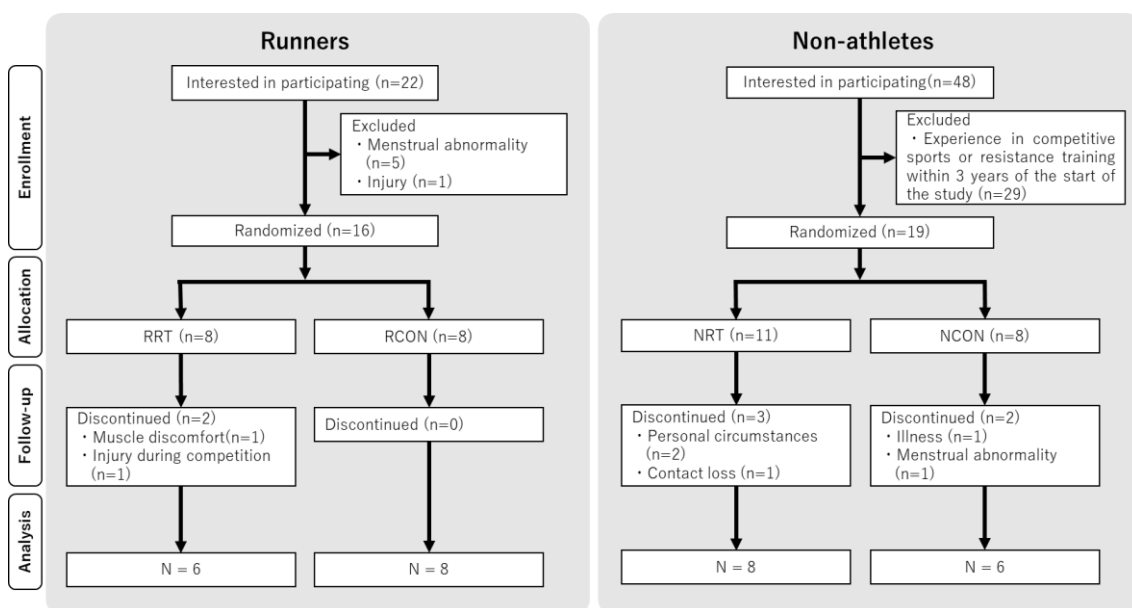


Figure 7 Flow diagram of study participants. RRT, runner resistance training group; RCON, runner control; NRT, non-athlete resistance training group; NCON, non-athlete control.

Table 16. Characteristics of participants of baseline

	RRT (n = 6)	RCON (n = 8)	NRT (n = 8)	NCON (n = 6)
Age (year)	20.00 ± 0.9	19.6 ± 2.0	20.0 ± 1.1	21.2 ± 2.0
Height (cm)	159.9 ± 3.6	158.8 ± 2.6	162.3 ± 5.9	162.0 ± 2.6
Weight (kg)	47.6 ± 2.1	49.7 ± 6.0	54.2 ± 9.0	58.8 ± 6.0*
BMI (kg·m <sup>-2</sup> )	18.6 ± 0.6	19.7 ± 1.7	20.6 ± 2.8	22.4 ± 1.7*
Fat mass (kg)	9.2 ± 2.00	11.4 ± 4.3	15.1 ± 5.3	19.0 ± 4.3* †
Lean mass (kg)	36.4 ± 1.8	36.4 ± 2.1	36.6 ± 3.6	37.4 ± 2.1
%fat (%)	19.2 ± 3.7	22.5 ± 4.5	27.4 ± 4.4*	32.1 ± 4.5* †

Data are mean ± SD.

RRT, runner with resistance training group; RCON, runner control group; NRT, non-athlete with resistance training group; NCON, non-athlete control group; BMI, body mass index.

\*Significantly different ( $P < 0.05$ ) from RRT.

† Significantly different ( $P < 0.05$ ) from RCON.

## V.2.3 実験手順

### V.2.3.1 トレーニングプロトコル

RT 実施者 (RRT 及び NRT) は、スクワット及びデッドリフトを 60–85%1RM の負荷で 5 回 5 セットを 1 セッションとし、週 2 回、16 週間実施した。トレーニングの間隔は少なくとも 2 日間は空けるように調整した。テクニック習得のための準備トレーニング期間として 2 週間低強度でトレーニングを実施した。その後の 1 週間のうちに 1RM テストを実施し、16 週間の介入期間へと移行した。1 回のトレーニングセッションは約 60 分間であった。

まず、ウォーミングアップとして、無負荷でのハーフスクワット及びデッドリフトを各 50 回実施した。その後 5 分程度掛けてトレーニング部位(大殿筋、大腿四頭筋、ハムストリングス、腓腹筋、脊柱起立筋群)を中心に動的ストレッチングを実施した。スクワット及びデッドリフトのトレーニングはともに、30–40%1RM の負荷で 15 回、50–60%1RM の負荷で 10 回のウォーミングアップを実施した後に、60–85%1RM の負荷で 5 回 5 セットを 2–3 分のセットレストを挟んで各 5 セット実施した。骨への力学的負荷を高めるために、下降局面の動作を素早く行うように指示した。

トレーニング後は静的ストレッチングによるクールダウンを実施した。実験期間を通じた全ての RT における事故や怪我を予防するために認定ストレングス&コンディショニングスペシャリスト (Certified Strength and Conditioning Specialist: CSCS) が補助した。なお、RRT における RT 介入後の 1RM テストは、試合が近かったため、選手の疲労を考慮して実施しなかった。RRT 及び NRT の参加者は所定のトレーニング回数を全て完了した。

### V.2.3.2 1RM テスト

1RM テストの実施手順は、Essentials of Strength Training and Conditioning fourth edition に従って行った (Haff and Triplett, 2015)。第一に、5–10 回程度楽に行える負荷でウォームアップを行った後に 1 分間の休息をとった。第二に、ウォーミングアップの負荷を 10%–20% 増加させ、3–5 回の反復練習が可能な負荷を推定し、その後 2 分間の休息時間を設けた。第三に、10%–20% の負荷を加え、参加者が 2–3 回反復できるような最大に近い負荷を推定し、その後 2–4 分の休息時間を設けた。第四に、さらに負荷を 10%–20% 増加させ、1RM を行うことを参加者に伝えた。ここで、参加者が挙上に成功すれば 2–4 分の休息の後に第四のステップを繰り返した。一方で、挙上に失敗した場合は、2–4 分の休息を設け、5%–10% 負荷を減らして実施した。最終的に、正しい動作で 1 回の挙上が可能になるまで重さを



増減させた。

#### V.2.3.3 骨密度測定

全身、腰椎 L2-L4、大腿骨頸部の骨密度、脂肪量、非脂肪体重を DXA 測定 (iDXA、GE Medical Systems Lunar, Madison, WI) により測定した。DXA 測定は、介入実験前後において午前 8:00 と 10:00 の間の同じ時間帯に実施された。DXA 測定の準備について、測定の少なくとも 12 時間前に食事、アルコール、カフェインを摂取しないこと、宝石や歯科器具を含む金属類を体から外すことを指示した。測定は平時に着用する下着と一般的な検査用ガウンを着用して行われた。すべての DXA データは、同一の放射線技師によって取得された。

#### V.2.3.4 血中ホルモン分析

介入前と 16 週間後の同時刻に、空腹時の安静時採血 (20 ml) を行った。月経周期について、全参加者の実験開始前 1 年間の周期は正常月経周期 (月経周期 26-35 日) であった。全ての採血は月経周期の卵胞期に行われた。トレーニング実施群 (RRT 及び NRT) においては、最後のトレーニングから 2 日以上の間隔を空けて採血を実施した。採取された血液は、その後の分析のために  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結した。血清中のコルチゾール、ACTH、テストステロン (T)、GH、IGF-I 及び I 型プロコラーゲン-N-プロペプチド (PINP) は電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) を用いて測定された。DHEA-S は、化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) を用いて測定された。プロゲステロン及び E2 は化学発光免疫測定法 (CLIA) を用いて測定された。I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) は、酵素免疫吸着測定法 (ELISA) で測定された。ECLIA、CLEIA、CLIA 及び ELISA における同一試料の 3 回同時測定時の CV 値はそれぞれ 15%未満、10%未満、7%未満、15%未満であった。

#### V.2.4 統計解析

全ての統計解析は、SPSS version 27.0 (IBM Corp., Armonk, NY) を用いて実施した。統計的有意水準は  $P < 0.05$  とした。各群における Pre-Post 間の各測定項目の比較には対応のある t 検定を用いた。t 検定の効果量には Cohen の d を用いて評価した。効果量の分類は、0.2-0.6 で small、0.6-1.2 で medium、1.2-2.0 で large、 $2.0 \geq$  で very large とした (Hopkins et al., 2009)。また、効果量の 95%信頼区間も示した。各群間における測定項目の比較には一元配置分散分析 (one-way Analysis of Variance : one-way ANOVA) を用いて検討した。また、

群間及びトレーニング前後の各測定項目の交互作用については two-way ANOVA を用いて検討した。One-way ANOVA の効果量には  $\eta^2$  を用いて評価し、two-way ANOVA の効果量には偏  $\eta^2$  を用いて評価した。効果量の分類は、 $<0.06$  で small、 $0.06-0.14$  で medium、 $\geq 0.14$  で large とした (Cohen, 1988)。G\*Power version 3.1.9.7 を用いて、事後統計パワー分析を行った。

### V.3 結果

RRT の全身骨密度 (Change, 1.4±0.7%;  $P=0.003$ ;  $d=2.13$  [very large]; Power=0.98)、P1NP (Change, 33.0±14.5%;  $P=0.003$ ;  $d=2.19$  [very large]; Power=0.99) 及び NTx (Change, 48.7±20.6%;  $P=0.001$ ;  $d=3.25$  [very large]; Power=0.99) はトレーニング後に有意に増加した。RCON の P1NP (Change, -15.5±20.1%;  $P=0.042$ ;  $d=0.88$  [medium]; Power = 0.57) は介入期間において有意に低下した。NRT の非脂肪量 (Change, 2.7±3.3%;  $P=0.046$ ;  $d=0.86$  [medium]; Power=0.55)、全身骨密度 (Change, 1.2±1.2%;  $P=0.022$ ;  $d=1.03$  [medium]; Power=0.71)、NTx (Change, 33.7±40.3%;  $P=0.032$ ;  $d=0.94$  [medium]; Power=0.63)、スクワット (Change, 26.5±10.1%;  $P<0.001$ ;  $d=4.33$  [very large]; Power=1.00)、デッドリフト (Change, 25.0±20.7%;  $P=0.006$ ;  $d=1.39$  [large]; Power=0.92) はトレーニング後に有意に増加した。一方、脂肪量 (Change, -9.5±7.8%;  $P=0.021$ ;  $d=1.05$  [medium]; Power=0.72)、体脂肪率 (Change, -8.8±5.1%;  $P=0.003$ ;  $d=1.61$  [large]; Power=0.97) は有意に低下した。NCON の体重 (Change, -4.0±2.0%;  $P=0.009$ ;  $d=1.68$  [large]; Power=0.90)、BMI (Change, -3.9±2.0%;  $P=0.008$ ;  $d=1.74$  [large]; Power=0.92) 及び非脂肪量 (Change, -3.0±1.2%;  $P=0.001$ ;  $d=2.89$  [very large]; Power=0.99) は介入期間中に有意に低下した。安静時血中ホルモン濃度においては、全ての群の全ての項目において有意な変化は認められなかった (全て  $P>0.05$ )。

RRT と RCON における R1NP の変化には有意な交互作用が認められた ( $P=0.002$ ,  $\eta_p^2=0.57$  [large]; Power=0.96)。NRT と NCON における非脂肪量 ( $P<0.001$ ;  $\eta_p^2=0.62$  [large]; Power=0.98) と全身骨密度 ( $P=0.041$ ,  $\eta_p^2=0.30$  [large]; Power=0.56) の変化には有意な交互作用が認められた (Table 17, 18)。

全身、腰椎及び大腿骨頸部骨密度の変化率は、いずれの群間においても有意な差は認められなかった (Figure 8)。P1NP の変化率は、RRT 及び NRT が RCON よりも有意に高い値を示した (いずれも  $P<0.05$ )。しかし、NTx の変化率は群間で有意な差は認められなかった (Figure 9)。

**Table 17. Changes in BMD before and after 16 weeks of resistance training in RRT and RCON**

	RRT (n = 6)		Change (%)	p	d(95%CI)	RCON (n = 8)		Change (%)	p	d(95%CI)	Interaction p/η <sup>2</sup> <sub>p</sub>
	Pre	Post				Pre	Post				
<b>Body composition</b>											
Body mass (kg)	47.6 ± 2.1	46.9 ± 1.7	-1.5 ± 3.2	0.296	-0.48 (-1.31 to 0.39)	49.7 ± 6.0	50.0 ± 5.2	0.5 ± 2.0	0.503	0.25 (-0.46 to 0.95)	0.185/0.141
BMI (kg·m <sup>-2</sup> )	18.6 ± 0.6	18.3 ± 0.2	-1.6 ± 2.9	0.262	-0.52 (-1.35 to 0.36)	19.7 ± 1.7	19.8 ± 1.6	0.4 ± 2.0	0.442	0.29 (-0.43 to 0.99)	0.145/0.168
Fat mass (kg)	9.2 ± 2.0	9.0 ± 1.8	-2.0 ± 7.7	0.505	-0.29 (-1.10 to 0.54)	11.4 ± 4.3	11.4 ± 3.8	0.0 ± 7.3	0.928	0.03 (-0.66 to 0.73)	0.698/0.013
Lean mass (kg)	36.4 ± 1.8	35.8 ± 1.8	-1.7 ± 2.6	0.192	-0.61 (-1.47 to 0.29)	36.4 ± 2.1	36.6 ± 2.2	0.6 ± 1.2	0.532	0.23 (-0.48 to 0.93)	0.136/0.176
%fat (%)	19.2 ± 3.7	19.1 ± 3.7	-0.4 ± 6.2	0.866	-0.07 (-0.87 to 0.73)	22.5 ± 4.5	22.3 ± 4.8	-0.8 ± 5.4	0.860	-0.06 (-0.76 to 0.63)	0.940/0.000
<b>BMD</b>											
Total body (g·cm <sup>-2</sup> )	1.141 ± 0.079	1.156 ± 0.075	1.4 ± 0.7	<b>0.003</b>	2.13 (0.60 to 3.61)	1.137 ± 0.065	1.142 ± 0.062	0.4 ± 0.9	0.513	0.24 (-0.47 to 0.94)	0.156/0.160
Lumbar spine (g·cm <sup>-2</sup> )	1.166 ± 0.151	1.169 ± 0.138	0.4 ± 1.9	0.723	0.15 (-0.66 to 0.95)	1.148 ± 0.167	1.146 ± 0.180	-0.2 ± 1.8	0.746	-0.12 (-0.81 to 0.58)	0.617/0.021
Femoral neck (g·cm <sup>-2</sup> )	1.075 ± 0.138	1.070 ± 0.132	-0.4 ± 1.3	0.457	-0.33 (-1.14 to 0.51)	1.043 ± 0.143	1.046 ± 0.132	0.4 ± 2.2	0.672	0.16 (-0.55 to 0.85)	0.432/0.052
<b>Serum hormone</b>											
cortisol (μg·dL <sup>-1</sup> )	11.2 ± 2.3	12.0 ± 3.5	11.8 ± 41.9	0.681	0.18 (-0.64 to 0.98)	12.8 ± 3.5	11.2 ± 3.3	-12.2 ± 32.4	0.172	-0.54 (-1.27 to 0.22)	0.243/0.112
ACTH (pg·mL <sup>-1</sup> )	19.1 ± 11.0	17.3 ± 7.4	6.1 ± 62.7	0.621	-0.22 (-1.02 to 0.61)	27.7 ± 13.7	13.3 ± 4.0	-42.0 ± 68.9	0.110	-0.65 (-1.40 to 0.14)	0.212/0.127
DHEA-S (μg·dL <sup>-1</sup> )	208.7 ± 54.6	212.2 ± 60.4	1.4 ± 12.0	0.702	0.17 (-0.65 to 0.96)	235.0 ± 103.5	245.5 ± 70.0	5.2 ± 24.7	0.483	0.26 (-0.45 to 0.96)	0.706/0.012
Progesterone (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	41.7 ± 49.2	0.076	0.91 (-0.09 to 1.85)	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	71.4 ± 80.4	0.362	0.37 (-0.41 to 1.13)	0.594/0.027
Testosterone (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	13.0 ± 49.8	0.501	0.30 (-0.54 to 1.10)	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	-21.3 ± 17.5	0.080	-0.72 (-1.49 to 0.08)	0.091/0.220
Estradiol (pg·mL <sup>-1</sup> )	78.8 ± 82.0	43.2 ± 13.9	38.6 ± 177.8	0.351	-0.42 (-1.24 to 0.44)	36.0 ± 57.1	33.8 ± 52.4	6.7 ± 140.9	0.755	-0.11 (-0.81 to 0.58)	0.298/0.090
GH (ng·mL <sup>-1</sup> )	2.7 ± 1.9	2.8 ± 3.5	12.7 ± 75.5	0.963	0.02 (-0.78 to 0.82)	3.3 ± 2.3	2.9 ± 2.4	39.2 ± 158.0	0.710	-0.14 (-0.83 to 0.56)	0.775/0.007
IGF-1 (ng·mL <sup>-1</sup> )	258.7 ± 67.5	264.8 ± 85.4	1.6 ± 10.5	0.64	0.20 (-0.62 to 1.00)	269.9 ± 30.4	272.6 ± 41.1	3.1 ± 20.7	0.933	0.03 (-0.66 to 0.72)	0.930/0.001
<b>Bone metabolism biomarkers</b>											
P1NP (μg·L <sup>-1</sup> )	43.6 ± 11.8	57.2 ± 13.5	33.0 ± 14.5	<b>0.003</b>	2.19 (0.63 to 3.71)	84.0 ± 22.6	70.0 ± 25.0	-15.5 ± 20.1	<b>0.042</b>	-0.88 (-1.68 to -0.30)	<b>0.002</b> /0.570
NTx (nmolBCE·L <sup>-1</sup> )	14.6 ± 3.9	21.1 ± 3.1	48.7 ± 20.6	<b>0.001</b>	3.25 (1.14 to 5.35)	21.2 ± 8.8	24.4 ± 12.8	15.5 ± 30.4	0.247	0.45 (-0.30 to 1.16)	0.317/0.083
<b>IRM strength</b>											
Squat (kg)	55.0 ± 7.2										
Deadlift (kg)	68.3 ± 6.3										

Data are mean ± SD. RRT, runner resistance group; RCON, runner control; BMI, body mass index; BMD, bone mineral density; ACTH, adrenocorticotropic hormone; DHEA-S, dehydroepiandrosterone sulfate; GH, growth hormone; IGF-1, insulin-like growth factor 1; P1NP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; NTx, N-terminal telopeptide.

**Table 18. Changes in BMD before and after 16 weeks of resistance training in NRT and NCON**

	NRT (n = 8)		Change (%)	p	d(95%CI)	NCON (n = 6)		Change (%)	p	d(95%CI)	Interaction p/η <sup>2</sup> <sub>p</sub>
	Pre	Post				Pre	Post				
<b>Body composition</b>											
Body mass (kg)	54.2 ± 9.0	53.4 ± 7.7	-1.2 ± 3.8	0.297	-0.4 (-1.11 to 0.34)	58.8 ± 6	56.4 ± 5.2	-4.0 ± 2.0	<b>0.009</b>	-1.68 (-2.94 to -0.36)	0.148/0.166
BMI (kg·m <sup>-2</sup> )	20.6 ± 2.8	20.2 ± 2.4	-1.4 ± 3.6	0.263	-0.43 (-1.14 to 0.31)	22.4 ± 1.7	21.5 ± 1.6	-3.9 ± 2.0	<b>0.008</b>	-1.74 (-3.03 to -0.40)	0.145/0.169
Fat mass (kg)	15.1 ± 5.3	13.6 ± 4.2	-9.5 ± 7.8	<b>0.021</b>	-1.05 (-1.90 to -0.15)	19.0 ± 4.3	17.8 ± 3.8	-5.7 ± 7.3	0.155	-0.68 (-1.56 to 0.24)	0.627/0.020
Lean mass (kg)	36.6 ± 3.6	37.5 ± 3.4	2.7 ± 3.3	<b>0.046</b>	0.86 (0.01 to 1.66)	37.4 ± 2.1	36.3 ± 2.2	-3.0 ± 1.2	<b>0.001</b>	-2.89 (-4.78 to -0.97)	<b>0.000</b> /0.619
%fat (%)	27.4 ± 4.4	25.0 ± 4.0	-8.8 ± 5.1	<b>0.003</b>	-1.61 (-2.66 to -0.51)	32.1 ± 4.5	31.4 ± 4.8	-2.1 ± 5.4	0.421	-0.36 (-1.17 to 0.49)	0.066/0.253
<b>BMD</b>											
Total body (g·cm <sup>-2</sup> )	1.16 ± 0.075	1.174 ± 0.076	1.2 ± 1.2	<b>0.022</b>	1.03 (0.14 to 1.88)	1.206 ± 0.065	1.205 ± 0.062	-0.1 ± 0.9	0.793	-0.11 (-0.91 to 0.70)	<b>0.041</b> /0.303
Lumbar spine (g·cm <sup>-2</sup> )	1.273 ± 0.067	1.291 ± 0.065	1.4 ± 2.1	0.099	0.67 (-0.12 to 1.43)	1.254 ± 0.167	1.256 ± 0.180	0.0 ± 1.8	0.850	0.08 (-0.72 to 0.88)	0.258/0.105
Femoral neck (g·cm <sup>-2</sup> )	1.012 ± 0.091	1.013 ± 0.094	0.1 ± 2.1	0.915	0.04 (-0.66 to 0.73)	1.012 ± 0.143	1.012 ± 0.132	0.2 ± 2.2	0.958	0.02 (-0.78 to 0.82)	0.976/0.000
<b>Serum hormone</b>											
cortisol (μg·dL <sup>-1</sup> )	12.6 ± 5.7	14.4 ± 5.4	24.1 ± 52.1	0.279	0.41 (-0.32 to 1.13)	13.1 ± 3.5	9.6 ± 3.3	-20.8 ± 32.4	0.145	-0.71 (-1.59 to 0.23)	0.056/0.271
ACTH (pg·mL <sup>-1</sup> )	20.1 ± 6.7	23.0 ± 11.4	50.7 ± 134	0.640	0.17 (-0.53 to 0.87)	22.7 ± 13.7	15.5 ± 4.0	-3.6 ± 68.9	0.308	-0.46 (-1.29 to 0.40)	0.274/0.099
DHEA-S (μg·dL <sup>-1</sup> )	333.9 ± 160.0	289.3 ± 218.0	-16.0 ± 24.6	0.218	-0.48 (-1.20 to 0.27)	326.2 ± 103.5	274.3 ± 70.0	-11.5 ± 24.7	0.231	-0.56 (-1.40 to 0.33)	0.889/0.002
Progesterone (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	14.6 ± 34.9	0.689	0.16 (-0.59 to 0.90)	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	8.3 ± 80.4	0.529	-0.44 (-1.59 to 0.81)	0.314/0.126
Testosterone (ng·mL <sup>-1</sup> )	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	2.2 ± 17.2	0.698	0.14 (-0.56 to 0.83)	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.2	-4.4 ± 17.5	0.347	-0.42 (-1.25 to 0.43)	0.287/0.094
Estradiol (pg·mL <sup>-1</sup> )	60.1 ± 58.0	33.6 ± 20.1	-7.1 ± 69.2	0.255	-0.48 (-1.25 to 0.33)	68.2 ± 57.1	66.4 ± 52.4	113.7 ± 140.9	0.821	0.12 (-0.87 to 1.10)	0.356/0.095
GH (ng·mL <sup>-1</sup> )	5.9 ± 4.9	7.7 ± 8.2	99.5 ± 181.9	0.572	0.21 (-0.50 to 0.90)	3.3 ± 2.3	3.2 ± 2.4	71.4 ± 158	0.95	-0.03 (-0.83 to 0.77)	0.623/0.021
IGF-1 (ng·mL <sup>-1</sup> )	249.3 ± 84.0	240.9 ± 48.2	1.9 ± 25.7	0.759	-0.11 (-0.80 to 0.59)	251.8 ± 30.4	215 ± 41.1	-13.3 ± 20.7	0.16	-0.67 (-1.55 to 0.25)	0.445/0.049
<b>Bone metabolism biomarkers</b>											
P1NP (μg·L <sup>-1</sup> )	63.5 ± 23.4	77.8 ± 34.6	26.6 ± 30.8	0.058	0.88 (-0.03 to 1.74)	61.6 ± 22.6	61.6 ± 25.0	1.6 ± 20.1	0.996	0.00 (-0.80 to 0.80)	0.116/0.209
NTx (nmolBCE·L <sup>-1</sup> )	18.4 ± 4.5	23.6 ± 4.5	33.7 ± 40.3	<b>0.032</b>	0.94 (0.08 to 1.77)	19.7 ± 8.8	25.2 ± 12.8	27.7 ± 30.4	0.058	1.00 (-0.03 to 1.97)	0.908/0.001
<b>IRM strength</b>											
Squat (kg)	48.8 ± 11.7	60.9 ± 11.7	26.5 ± 10.1	<b>0.000</b>	4.33 (2.00 to 6.64)						
Deadlift (kg)	68.8 ± 17.7	83.8 ± 15	25.0 ± 20.7	<b>0.006</b>	1.39 (0.37 to 2.36)						

Data are mean ± SD. NRT, non-athlete resistance training group; NCON, non-athlete control; BMI, body mass index; BMD, bone mineral density; ACTH, adrenocorticotropic hormone; DHEA-S, dehydroepiandrosterone sulfate; GH, growth hormone; IGF-1, insulin-like growth factor 1; P1NP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; NTx, N-terminal telopeptide.

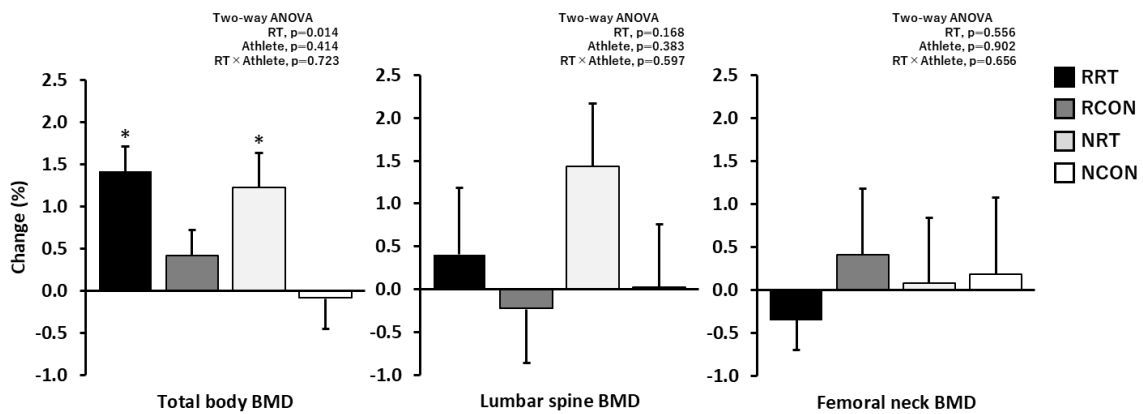


Figure 8 Changes in total body, lumbar spine, and femoral neck BMD before and after the 16 weeks resistance training program. Data are presented as mean  $\pm$  standard error. Statistical analysis revealed no interaction between the RT and athlete effects, as well as no main effect of the athlete in any BMD site. For the RT effect, there was a significant main effect for total body BMD ( $P<0.05$ ) but not for the lumbar spine or femoral neck. BMD, bone mineral density; RRT, runner resistance training group; RCON, runner control; NRT, non-athlete resistance training group; NCON, non-athlete control. Significant differences between pre- and post-tests, \* $P<0.05$ .

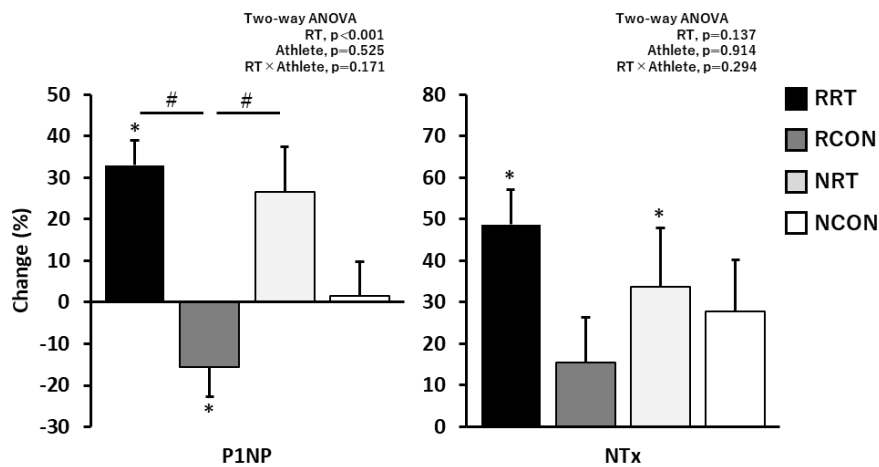


Figure 9 Changes in P1NP and NTx of each group. Data are presented as mean  $\pm$  standard error. Statistical analysis revealed no interaction between the RT and athlete effects, or a main effect of the athlete in P1NP and NTx. For the RT effect, there was a significant main effect for P1NP ( $P<0.05$ ) but not for NTx. RRT, runner resistance training; RCON, runner control; NRT, non-athlete resistance training; NCON, non-athlete control. Significant differences between pre- and post-tests, \* $P<0.05$ . Significant differences between groups, # $P<0.05$ .

#### V.4 考察

本研究では、介入実験として大学女子長距離ランナーにおける RT 前後の骨密度及び DHEA-S や E2 を含む安静時血中ホルモンの変化について調査することを目的とした。主な知見として、16 週間の RT 実施後において RRT 及び NRT は全身骨密度が有意に増加した。本研究は、介入実験として大学女子長距離ランナーの骨密度に及ぼす RT の効果を検討した最初の研究である。本研究の結果は、大学女子長距離ランナーにおける RT は骨密度に良い影響を与える可能性を示唆している。

これまでに、数多くの研究において RT が骨密度に良い影響を与えることを示している。(Kelley et al., 2001; Layne and Nelson, 1999) 若年女性を対象とした研究で、Nickols-Richardson et al. (2007) は、5 か月で週 3 回の短縮性及び伸張性の RT 双方において全身骨量や部位特異的な骨密度及び骨量が増加したと報告している。Mosti et al. (2014) は、週 3 回 12 週間に及ぶ 85–90%1RM のスクワットトレーニングによって P1NP の増加とともに腰椎骨密度及び大腿骨骨密度が有意に増加したことを報告している。本研究の NRT において全身骨密度が有意に増加していることから、RT による骨密度増加効果は 16 週間で有意になる可能性がある。その一方で、若年女性における約 6 か月の RT では全身、腰椎、大腿骨部の骨密度が増加しなかったとの報告がある (Ryan et al., 2004)。Almstedt et al. (2011) も同様に大学年代の女性における 24 週間の RT では腰椎や大腿骨頸部の骨密度が増加しなかったと報告している (Almstedt et al., 2011)。本研究において全身骨密度のみ増加した理由は不明である。Borba-Pinheiro et al. (2016) は、週 3 回及び週 2 回の 13 か月に渡る RT が骨密度に及ぼす影響を調査したところ、週 3 回の RT 群は腰椎、大腿骨頸部、大転子、全大腿骨及び全身骨密度が有意に増加した一方で、週 2 回の RT 群は、コントロールと比較してトレーニング後において全身骨密度のみ高かったと報告している。Borba-Pinheiro et al. は、なぜ週 2 回の RT は全身骨密度のみ良い影響が得られたのか言及していないが、この研究はトレーニング頻度が骨密度の増加効果に影響を与える可能性を示唆している。さらに、先行研究と本研究における結果の不一致は、研究デザイン、トレーニング強度や期間にも起因したかもしれない (Layne and Nelson, 1999)。

本研究において、RRT は RT 後に骨形成マーカーである P1NP が有意に増加し、その増加率は RCON よりも有意に高かった。一方で、RCON は介入期間後に有意に P1NP が低下した。RT が骨密度に及ぼすメカニズムは骨への力学的負荷による骨形成が要因であることが考えられている。(Frost, 1987) Stengel et al. (2005) は高強度 RT において遅い動作よりも

素早い動作によってより骨密度が増加すると報告している。これは、より高い力学的負荷によってより骨密度が増加することを示唆している。Lester et al. (2009) は 8 週間の RT 後における安静時骨形成マーカーが増加したことを報告している。また、Mosti et al. (2014) は若年女性における高強度スクワットトレーニングで PINP が増加したことを報告している。これらの知見は、本研究における 60–85%1RM の相対的に高い負荷で且つ下降局面の素早い動作によって全身に発揮された高い力学的負荷が RRT における全身骨密度や PINP の有意な増加を引き起こした可能性があることを示唆している。

本研究においては、女性長距離ランナーには相対的エネルギー不足のリスクがあり (Sundgot-Borgen et al., 2013)、利用可能エネルギー不足が骨吸収の亢進と骨形成の低下と関連することから (Ihle and Loucks, 2004; Papageorgiou et al., 2017)、RT による骨密度増加効果が、さらなるエネルギー消費から生じる低い利用可能エネルギーによる骨への負の影響に相殺されるのではないかと推察していた。そのため、多くの研究は RT の骨密度への影響を調査するために週 3 回のトレーニングによって調査していたが、本研究におけるトレーニング頻度は、エネルギー消費の増大やオーバートレーニングを避けるために、週 2 回で実施した。本研究の対象者における栄養学的な評価やトレーニング強度及び量の分析をしていないが、それにもかかわらず、本研究において RT を実施した対象者の骨密度は増加した。したがって、RT は大学女子長距離ランナーにおける骨密度増加にある程度の効果を発揮することが考えられる。

RT による DEHA の増加が酵素変換のためにテストステロンや E2 の増加を導くことから、RT 前後の性ステロイドホルモンを分析したが、安静時血中ホルモン濃度は有意な変化を認めなかった。DHEA は半減期が早く、DHEA-S は遅いとされているため (Longcope, 1996)、本研究では DHEA-S を分析した。しかしながら、DHEA-S が DHEA よりも半減期が長いとしても、それは 10–20 時間であることが推定されている (Rosenfeld et al., 1975)。一過性トレーニングにともなう DHEA-S の増加は数多くの研究が報告しているが (Kraemer et al., 1995; Copeland et al., 2002; Le Panse et al., 2010)、RT にともなう安静時 DHEA-S の増加は現在のところ Aizawa et al. (2003) の研究に限られている (Aizawa et al., 2003)。本研究では、トレーニングの慢性的影響を調査するために、介入後の測定を最終トレーニングの最短でも 2 日後以降に実施したことが、DHEA-S が増加しなかった理由かもしれない。さらに、安静時の性ステロイドホルモンは、一過性の RT によって増加した E2 が 30 分後にはトレーニング前のレベルに戻るため、増加しにくいようである (Walberg-Rankin et al., 1992)。しかし

ながら、若年女性における 8 週間の RT で安静時 DHEA-S が増加し (Aizawa et al., 2003)、12 週間の RT で安静時 T と E2 が増加したという報告があることから (Moghadasi and Siavashpour, 2013)、RT が安静時性ステロイドホルモン分泌を増やす可能性は否定できない。さらなる研究は、大学女子長距離ランナーを対象としたより継続的なレジスタンストレーニングによる安静時血中性ステロイドホルモン濃度を分析することや、一過性のトレーニング実験を行うなどによって、性ステロイドホルモン分泌促進による骨吸収抑制効果について検討する必要がある。それにより、RT における骨密度の増加効果は、骨形成の促進だけでなく、骨吸収の抑制効果も得られるかどうか明らかになるものと考えている。

本研究には、いくつかの限界がある。第 1 に、参加者のサンプルサイズが少ないことが挙げられる。これにもかかわらず、事後検定によって本実験のサンプルサイズが十分な統計的パワーをもつことを示している。しかしながら、より大きなサンプルサイズがあることで、群間の比較や介入前後における時間に関連した生理学的な適応をよりよく理解できたかもしれない。第 2 に、参加者の摂取エネルギー及び消費エネルギーをモニタリングしなかったことである。本研究における RT による骨密度の増加効果を栄養学的な側面やランニングの強度や量を含めて評価できればより詳細な情報となり得る。第 3 に、RT を実施したアスリートのその後の骨疾患リスクを定量していないことである。RT を実施した後の受傷リスクが低くなるということが明らかになれば、より明確にその有効性を証明することが出来るものと考えられる。従ってさらなる研究は、RT を実施した後、長期に渡って選手をモニタリングし、競技生活中の受傷率が低くなるかどうかを検討する必要がある。第 4 に、RT 前後の競技パフォーマンスを評価しなかったことである。したがって、さらなる研究は、RT が競技パフォーマンスを改善に寄与し得るかどうかを調査するために RT 前後の有酸素能力などを評価する必要がある。



## V.5 まとめ

本研究は 16 週間の RT 介入実験によって大学女子長距離ランナーと一般女子学生における骨密度及び DHEA-S や E2 を含む安静時血中ホルモンの変化を調査した。結果は、RRT と NRT の全身骨密度が有意に増加した。さらに、RRT における PINP は RT 後に有意に増加し、その増加率は RCON よりも有意に高かった。その一方で、RT 介入における血中ホルモン濃度には変化が認められなかった。これらの知見は、大学女子長距離ランナーにおける 16 週間の RT によって全身骨密度が増加することを示唆している。

## 第VI章

### 統括論議

## VI.1 本研究の結論

本研究では、女性アスリートにおいて低骨密度や低骨密度のリスクファクターの骨応答に対する感受性の違いを骨代謝関連遺伝子多型によって説明できるのではないかと仮説を立て、低骨密度リスクファクター及び遺伝子多型と骨密度との関連性の横断的検討（研究課題1）及び縦断的検討（研究課題2）を行った。さらに、骨疾患リスクの高いアスリートに対する骨密度増加を目指したトレーニング効果の検証（研究課題3）を実施した。本研究で得られた主な知見は以下の通りである。

### 研究課題1-1

低骨密度リスクファクター及び *ESR1* 遺伝子多型が骨密度に及ぼす影響を重回帰分析によって検討したところ、持久型、審美型、水中型の競技参加、低BMI、初経の遅延及び *ESR1* 遺伝子 *XbaI*多型 *xx*型が低骨密度と関連の深い項目として示された。さらに、*XbaI*多型内で低骨密度リスクファクターと骨密度との関連を検討した場合、*XX+Xx*型は競技型及びBMIが骨密度と関連の深い項目として抽出され、*xx*型は競技型、BMI及び初経年齢が骨密度と関連の深い項目として抽出された。以上の結果より、日本人女性アスリートにおいては、持久型、審美型、水中型の競技参加や低いBMIが低い骨密度と関連するだけでなく、*XbaI*多型 *xx*型の発現を有する場合、初経の遅延によってより骨密度に負の影響を及ぼす可能性が示唆された。

### 研究課題1-2

骨密度及び最大無酸素パワーと *ACTN3* *R577X* 遺伝子多型の関係を競技タイプ別に検討したところ、*ACTN3* *R577X* 遺伝子多型の *RR*型を持つ *Multidirectional* スポーツ（テニス、ソフトテニス、バドミントン、ハンドボール）に参加するアスリートは、*RX*型や *RX+XX*型に比べ、有意に高い骨密度を示した。さらに、*RR*型は *RX+XX*型よりも高い最大無酸素パワーと関連していた。このことから、*RR*型は *Multidirectional* スポーツに参加する大学女子アスリートにおいて、骨密度と筋パワーに高いトレーナビリティを付与する可能性があることが示唆された。しかしながら、*Low-impact* スポーツ（水球、ライフセービング、陸上競技長距離）や *High-impact* スポーツ（陸上競技跳躍/投擲、柔道、ウェイトリフティング）に参加するアスリートには、これらの関連は認められなかった。

## 研究課題 2

環境及び遺伝及びその交互作用による青年期の骨密度への経時的影響を明らかにすることを目的として、大学女子アスリートにおける 1 年間の骨密度変化率が低骨密度のリスクファクターや *VDR* 及び *ESRI* 遺伝子多型にどの程度影響を受けるのかを調査したところ、モニタリング期間を通して無月経状態であったアスリートの腰椎骨密度がそれ以外のアスリートと比較して有意に低下したこと及び、持久、水中、審美系の競技に参加するアスリートの大腿骨頸部骨密度がそれ以外の競技に参加するアスリートと比較して有意に低下した。一方で、骨密度の 1 年間変化率に対する *VDR* 及び *ESRI* 遺伝子多型の影響及び競技タイプと遺伝子多型との交互作用は認められなかった。これらの結果は、大学女子アスリートの 1 年間の骨密度変化において、無月経及び持久、水中、審美系の競技特性が負の影響を及ぼす一方で、遺伝因子による影響は小さい可能性を示唆している。

## 研究課題 3

16 週間の RT 介入実験によって大学女子長距離ランナーと一般女子学生における骨密度及び DHEA-S や E2 を含む安静時血中ホルモンの変化を調査した。結果は、RRT と NRT の全身骨密度が有意に増加し、その増加率はいずれも NCON よりも高かった。さらに、RRT における P1NP は RT 後に有意に増加し、その増加率は RCON よりも有意に高かった。その一方で、RT 介入における血中ホルモン濃度には変化が認められなかった。これらの知見は、大学女子長距離ランナーにおける 16 週間の RT によって全身骨密度が増加することを示唆している。

以上より、女性アスリートの骨密度は低骨密度のリスクファクターや遺伝子多型と関連すること及び大学女子陸上長距離ランナーにおけるレジスタンストレーニングの骨密度への有効性が明らかになった。

## VI.2 競技現場への応用

本研究の知見から、女性アスリートにおける骨疾患リスクを事前に把握でき、且つ、骨疾患リスクを抱えながら競技活動を強いられる陸上競技長距離ランナーにとってその改善策が提供可能となった。そこで、競技現場において利用可能な女性アスリートにおける骨疾患予防法を提案する。

本研究によって、*ESRI* 遺伝多型が三主徴リスクファクターの評価項目とされている初経年齢の遅延による骨密度低下の感受性と関連すること、また、*ACTN3 R577X* 遺伝子多型 RR 型を有し、Multidirectional スポーツに参加する女性アスリートが高い骨密度を有していたことから、女性アスリートにおける競技スポーツの実施に際し、遺伝子タイプを把握することで骨疾患リスクを低減できる可能性がある。しかしながら、本研究において遺伝子タイプの違いが骨密度の環境感受性に及ぼす影響は、大学女子アスリートにおける 1 年程度の期間では表出されないことも明らかになった。したがって、女性アスリートにおける骨疾患予防に際しては、大学生期以前におけるケアが重要になるものと考えられる。これらの研究成果の現場への応用方法の例を次に示す。

専門的競技を実施する小中学生期から遺伝子タイプの判定を行い、*ESRI* 遺伝子 XbaI 多型の xx 型と判定された場合、選手とその保護者や指導者は、低骨密度の感受性が高くなる初経の遅延が起きないように体重や体脂肪量の管理を行うこと、あるいは疲労骨折の要因の一つであるトレーニング量 (Snyder et al., 2006) が過度にならないような調整を行うことが骨疾患リスクの低減につながるものと考えられる。また、多方面から力学的負荷を受けるボール系種目に参加する *ACTN3 R577X* 多型の RX 型や XX 型を有するアスリートは、RR 型と比較して、獲得できる骨密度が相対的に低くなる可能性を考慮して、骨に力学的負荷のかかる RT を補強として提供し、骨強度を高めることに注力する、あるいは栄養学的なサポート (例えば、骨形成ためにカルシウム、ビタミン D、ビタミン K の摂取量をモニタリングして不足分を補う) などの対策をとることや、過度なトレーニング量による疲労骨折リスクの増加 (Snyder et al., 2006) に注意することが重要となろう。しかしながら、遺伝的な要因が骨密度を 100% 決定付けるものではないため、*ESRI* 遺伝子 XbaI 多型の XX 型や *ACTN3 R577X* 多型の RR 型を有する女性アスリートにおいても定期的な骨密度測定などを通して骨の健康状態を確認・維持することは重要である。

一方で、アスリートは心身を極限まで追い込むトレーニングによって、その生理的適応を受けて競技力を向上させていることも事実である。特に、陸上競技長距離種目では、瘦身であることが競技を有利にする競技特性から、栄養摂取やトレーニング量の調整が難しく、利用可能エネルギー不足によって無月経や骨量減少に繋がるケースが多い (Nattiv et al., 2007)。そこで、RT によって骨疾患予防効果を検討した結果、大学女子長距離ランナーにおける 16 週間のスクワット及びデッドリフトという 2 種目での RT が全身骨密度を増加させたことを確認している。これまでに RT が長距離ランナーのパフォーマンスに及ぼす影響に関する数

多くの研究が行われており、その文献レビューによると 16 週間かそれ以内の RT プログラムはランナーにとって有酸素パフォーマンスの低下を気にすることなく実施できるとされている (Jung, 2003)。したがって、選手、コーチやストレングス&コンディショニングのトレーナーは大学女子長距離ランナーに RT を推奨することで骨密度増加を促し、骨疾患予防に貢献できるものと考えられる。

### VI.3 本研究の限界と将来の展望

本研究にはいくつかの限界がある。第一に、女性アスリートにおける骨疾患予防の方策を検討するために、環境及び遺伝因子の双方と骨密度との関連を分析した結果、参加するスポーツタイプによって獲得される骨密度には差異が生じることや、スポーツタイプによって低骨密度のリスクファクターの骨密度への影響が異なることが示唆されたため、さらなる詳細の分析は、競技種目毎に低骨密度リスクについての検討が必要であるものと考えられる。これは、遺伝子研究においても同様であり、参加するスポーツ種目によって遺伝因子の影響が異なることが示唆されたことから、今後の研究は競技種目毎にサンプルサイズを確保して分析を実施することが望ましいものと考えられる。

第二に、本研究において分析した遺伝子多型は、関連研究を合わせても 6 種類に留まっていることである。ゲノムワイド関連解析によって骨密度に関わる遺伝子は 67 以上との報告があることや (Goodlin et al., 2015)、そのほかにも骨密度と関連が認められている遺伝子多型は複数存在する。また、近年では、遺伝子多型分析において遺伝子タイプを得点化し、表現型に対して有効である遺伝子タイプを加算する (Total Genotype Score: TGS) ことで表現型との関連を分析する研究が進められている (Herbert et al., 2022)。したがって、さらなる研究は、単一の遺伝子多型による評価に留まらず、骨代謝に関連する遺伝子多型をスコアリングして分析することで、女性アスリートの骨疾患に対する遺伝的リスクを鮮明にすることができる可能性がある。

第三に、RT が全身骨密度を増加させる可能性を示したが、実際に骨疾患の予防効果が得られたかどうかを確認するためには、トレーニング実施群とコントロール群においてその後の骨疾患発症率を比較検討するなど、さらなる縦断的な調査を実施する必要がある。同様に、競技現場にとっては RT 実施がパフォーマンスの向上あるいは維持に繋がることから、トレーニング前後においてパフォーマンステストを実施するなど、競技力向上にも貢献し得るかどうかを検証する必要がある。

最後に、本研究においては RT の骨密度増加効果を遺伝子多型別に分析できなかったことが挙げられる。RT も骨密度の与える環境因子であるため、RT の効果の違いを遺伝子タイプによって分類することが出来れば、遺伝的特性によって効果の得られる RT を選択できるようになる可能性がある。遺伝因子によってトレーニング効果を予想しようとする研究はこれまでも行われている (Venezia and Roth, 2016)。しかしながら、遺伝子多型によるトレーニング適応について議論されるようになってからまだ日は浅く、十分なデータは得られていない。また、現在、女性アスリートの骨疾患予防を狙いとした RT の効果を遺伝子多型別に評価した研究は皆無である。今後、この分野の研究が発展することによって、女性アスリートの遺伝子情報を用いたパーソナライズされた骨疾患予防法を確立することが可能になるものと考えている (Figure 10)。

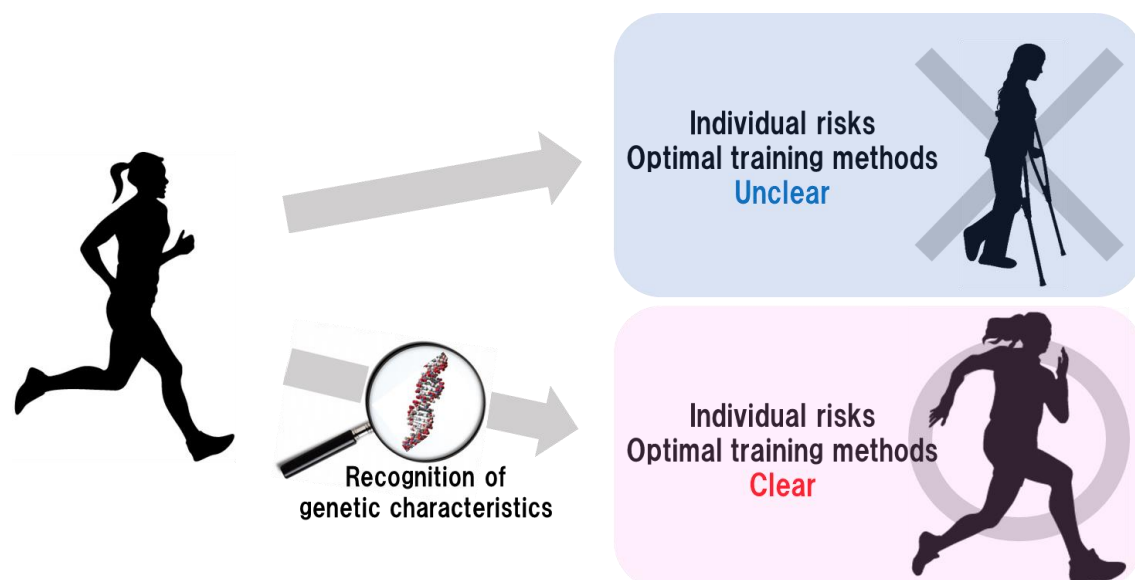


Figure 10 Image of training methods using genetic profiling

## 参考文献

- Ackland TR, Lohman TG, Sundgot-Borgen J, Maughan RJ, Meyer NL, Stewart AD, Müller W. (2012) Current status of body composition assessment in sport: review and position statement on behalf of the ad hoc research working group on body composition health and performance, under the auspices of the I.O.C. Medical Commission. *Sports Med.* 42:227-249.
- Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, Breemans S, Broos P, Boonen S. (2000) Polymorphisms of the VDR, ER and COLIA1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 11:583-591.
- Aizawa K, Akimoto T, Inoue H, Kimura F, Joo M, Murai F, Mesaki N. (2003) Resting serum dehydroepiandrosterone sulfate level increases after 8-week resistance training among young females. *Eur J Appl Physiol.* 90:575-580.
- Aizawa K, Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Mowa CN, Miyauchi T, Mesaki N. (2007) Expression of steroidogenic enzymes and synthesis of sex steroid hormones from DHEA in skeletal muscle of rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 292:577-584.
- Albagha OM, McGuigan FE, Reid DM, Ralston SH. (2001) Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and bone mineral density: haplotype analysis in women from the United Kingdom. *J Bone Miner Res.* 16:128-134.
- Almstedt HC, Canepa JA, Ramirez DA, Shoepe TC. (2011) Changes in bone mineral density in response to 24 weeks of resistance training in college-age men and women. *J Strength Cond Res.* 25:1098-1103.
- Antonio J, Knafo S, Ellerbroek A, Vargas L, Silver T, Peacock C, Tartar J. (2017) The relationship between the ACTN3 genotype and measures of stress, exercise performance and body composition: a pilot trial. *J Exerc Physiol.* 20:139–153.
- Ashe MC, Liu-Ambrose TY, Cooper DM, Khan KM, McKay HA. (2008) Muscle power is related to tibial bone strength in older women. *Osteoporos Int.* 19(12):1725–1732.
- Atkins GJ, Findlay DM. (2012) Osteocyte regulation of bone mineral: a little give and take. *Osteoporos Int.* 23:2067-2079.
- Barrack MT, Gibbs JC, De Souza MJ, Williams NI, Nichols JF, Rauh MJ, Nattiv A. (2014) Higher incidence of bone stress injuries with increasing female athlete triad-related risk factors: a prospective multisite study of exercising girls and women. *Am J Sports Med.* 42:949–958.



- Barrack MT, Rauh MJ, Nichols JF. (2010) Cross-sectional evidence of suppressed bone mineral accrual among female adolescent runners. *J Bone Miner Res.* 25:1850-1857.
- Beck TJ, Ruff CB, Shaffer RA, Betsinger K, Trone DW, Brodine SK. (2000) Stress fracture in military recruits: gender differences in muscle and bone susceptibility factors. *Bone.* 27:437-444.
- Beggs AH, Byers TJ, Knoll JH, Boyce FM, Bruns GA, Kunkel LM. (1992) Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. *J Biol Chem.* 267:9281-9288.
- Bennell K., Matheson G., Meeuwisse W, Brukner P. (1999) Risk Factors for Stress Fractures. *Sports Med.* 28:91-122.
- Bennell KL, Malcolm SA, Khan KM, Thomas SA, Reid SJ, Brukner PD, Ebeling PR, Wark JD. (1997) Bone mass and bone turnover in power athletes, endurance athletes, and controls: a 12-month longitudinal study. *Bone.* 20:477-484.
- Bennell KL, Malcolm SA, Thomas SA, Wark JD, Brukner PD. (1996) The incidence and distribution of stress fractures in competitive track and field athletes. A twelve-month prospective study. *Am J Sports Med.* 24:211-217.
- Bilanin JE, Blanchard MS, Russek-Cohen E. (1989) Lower vertebral bone density in male long distance runners. *Med Sci Sports Exerc.* 21:66-70.
- Blanchard A, Ohanian V, Critchley D. (1989) The structure and function of alpha-actinin. *J Muscle Res Cell Motil.* 10:280-289.
- Borba-Pinheiro CJ, Dantas EH, Vale RG, Drigo AJ, Carvalho MC, Tonini T, Meza EI, Figueiredo NM. (2016) Resistance training programs on bone related variables and functional independence of postmenopausal women in pharmacological treatment: A randomized controlled trial. *Arch Gerontol Geriatr.* 65:36-44.
- Bouchard C. (2012) Genomic predictors of trainability. *Experimental physiology.* 97: 347-352.
- Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Etten EV, Vertuyf A, Luderer HF, Liebeb L, Demay M. (2008) Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice. *Endocrine Reviews.* 29:726-776.
- Broos S, Malisoux L, Theisen D, van Thienen R, Ramaekers M, Jamart C, Deldicque L, Thomis MA, Francaux M. (2016) Evidence for ACTN3 as a speed gene in isolated human muscle fibers. *PLOS ONE.* 11:e0150594.

- Brown M. (2008) Skeletal muscle and bone: effect of sex steroids and aging. *Adv Physiol Educ.* 32:120-126.
- Brown MA, Haughton MA, Grant SF, Gunnell AS, Henderson NK, Eisman JA. (2001) Genetic control of bone density and turnover: role of the collagen 1alpha1, estrogen receptor, and vitamin D receptor genes. *J Bone Miner Res.* 16:758-764.
- Burrows M, Nevill AM, Bird S, Simpson D. (2003) Physiological factors associated with low bone mineral density in female endurance runners. *Br J Sports Med.* 37:67-71.
- Changstrom BG, Brou L, Khodae M, Braund C, Comstock RD. (2015) Epidemiology of stress fracture injuries among US high school athletes, 2005-2006 through 2012-2013. *Am J Sports Med.* 43:26-33.
- Chen W, Zhang B, Li Y, Liang T. (2020) Association between rs1815739 polymorphism of ACTN3 gene and athletic ability in Chinese sprinters. *J Sci Sport Exerc.* 2: 113–119.
- Cho J, Lee I, Kang H. (2017) ACTN3 gene and susceptibility to sarcopenia and osteoporotic status in older Korean adults. *BioMed Res Int.* 2017:4239648.
- Clarke B. (2008) Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 3:S131-S139.
- Cohen J. (1988) Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2nd edition. New York: Erlbaum Associates.
- Collomp K, Buisson C, Lasne F, Collomp R. (2015) DHEA, physical exercise and doping. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 145:206-212.
- Compston JE. (2001) Sex steroids and bone. *Physiol Rev.* 81:419-447.
- Conley A, Hinshelwood M. (2001) Mammalian aromatases. *Reproduction.* 121:685-695.
- Cooper GS, Umbach DM. (1996) Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res.* 11:1841-1849.
- Copeland JL, Consitt LA, Tremblay MS. (2002) Hormonal responses to endurance and resistance exercise in females aged 19-69 years. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 57:158-165.
- Cranney A, Jamal SA, Tsang JF, Josse RG, Leslie WD. (2007) Low bone mineral density and fracture burden in postmenopausal women. *CMAJ.* 177:575-580.
- Crossley K, Bennell KL, Wrigley T, Oakes BW. (1999) Ground reaction forces, bone characteristics, and tibial stress fracture in male runners. *Med Sci Sports Exerc.* 31:1088-1093.
- Darling AL, Millward DJ, Torgerson DJ, Hewitt CE, Lanham-New SA. (2009) Dietary protein and

- bone health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 90:1674-1692.
- De Souza MJ, Nattiv A, Joy E, Misra M, Williams NI, Mallinson RJ, Gibbs JC, Olmsted M, Goolsby M, Matheson G. (2014) 2014 Female athlete triad coalition consensus statement on treatment and return to play of the female athlete triad: 1st international conference held in San Francisco, California, May 2012 and 2nd International Conference held in Indianapolis, Indiana, May 2013. *Br J Sports Med.* 48:289.
- Doyle F, Brown J, Lachance C. (1970) Relationship between bone mass and muscle weight. *Lancet.* 1:391–393.
- Duplanty AA, Levitt DE, Hill DW, McFarlin BK, DiMarco NM, Vingren JL. (2018) Resistance training is associated with higher bone mineral density among young adult male distance runners independent of physiological factors. *J Strength Cond Res.* 32:1594-1600.
- Edouard P, Feddermann-Demont N, Alonso JM, Branco P, Junge A. (2015) Sex differences in injury during top-level international athletics championships: surveillance data from 14 championships between 2007 and 2014. *Br J Sports Med.* 49:472-477.
- Enmark E, Pelto-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, Fried G, Nordenskjöld M. (1997) Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab.* 82:4258-4265.
- Ettinger B, Pressman A, Sklarin P, Bauer DC, Cauley JA, Cummings SR. (1998) Associations between low levels of serum estradiol, bone density, and fractures among elderly women: the study of osteoporotic fractures. *J Clin Endocrinol Metab.* 83:2239-2243.
- Eynon N, Ruiz JR, Femia P, Pushkarev VP, Cieszczyk P, Maciejewska-Karłowska A, Sawczuk M, Dyatlov DA, Lekontsev EV, Kulikov LM, Birk R, Bishop DJ, Lucia A. (2012) The ACTN3 R577X polymorphism across three groups of elite male European athletes. *PLOS ONE.* 7:e43132.
- Fonseca H, Moreira-Gonçalves D, Coriolano HJ, Duarte JA. (2014) Bone quality: the determinants of bone strength and fragility. *Sports Med.* 44:37-53.
- Fredericson M, Jennings F, Beaulieu C, Matheson GO. (2006) Stress fractures in athletes. *Top Magn Reson Imaging.* 17:309-325.
- Fricke O, Beccard R, Semler O, Schoenau E. (2010) Analyses of muscular mass and function: the impact on bone mineral density and peak muscle mass. *Pediatr Nephrol.* 25:2393–2400.

- Frost HM. (1987) Bone "Mass" and the "Mechanostat" a proposal. *Anat Rec.* 219:1-9.
- Garnero P, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD. (1995) Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res.* 10:1283-1288.
- Gennari L, Merlotti D, De Paola V, Calabrò A, Becherini L, Martini G, Nuti R. (2005) Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 161:307-320.
- Gennari L, Merlotti D, Martini G, Gonnelli S, Franci B, Campagna S, Lucani B, Dal Canto N, Valenti R, Gennari C, Nuti R. (2003) Longitudinal association between sex hormone levels, bone loss, and bone turnover in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab.* 88:5327-5333.
- Gibbs JC, Nattiv A, Barrack MT, Williams NI, Rauh MJ, Nichols JF, De Souza MJ. (2014) Low bone density risk is higher in exercising women with multiple triad risk factors. *Med Sci Sports Exerc.* 46:167-176.
- Goodlin GT, Roos AK, Roos TR, Hawkins C, Beache S, Baur S, Kim SK. (2015) Applying personal genetic data to injury risk assessment in athletes. *PLoS One.* 10:e0122676.
- Hadjidakis DJ, Androulakis II. (2006) Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 1092:385-396.
- Haff GG, Triplett NT. (2015) Essentials of strength training and conditioning. 4th edition. Champaign: Human Kinetics.
- Hamdy RC, Anderson JS, Whalen KE, Harvill LM. (1994) Regional differences in bone density of young men involved in different exercises. *Med Sci Sports Exerc.* 26:884-888.
- Han K, Choi J, Moon I, Yoon H, Han I, Min H, Kim Y, Choi Y. (1999) Non-association of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and bone turnover in Korean pre-, peri-, and postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 9:290-295.
- Han KO, Moon IG, Kang YS, Chung HY, Min HK, Han IK. (1997) Nonassociation of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and estrogen responsiveness to hormone replacement therapy in Korean postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 82:991-995.
- Heinrich CH, Going SB, Pamentier RW, Perry CD, Boyden TW, Lohman TG. (1990) Bone mineral content of cyclically menstruating female resistance and endurance trained athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 22:558-563.
- Henry YM, Fatayerji D, Eastell R. (2004) Attainment of peak bone mass at the lumbar spine, femoral

- neck and radius in men and women: relative contributions of bone size and volumetric bone mineral density. *Osteoporos Int.* 15:263-273.
- Herbert AJ, Williams AG, Hennis PJ, Erskine RM, Sale C, Day SH, Stebbings GK. (2019) The interactions of physical activity, exercise and genetics and their associations with bone mineral density: implications for injury risk in elite athletes. *Eur J Appl Physiol.* 119:29-47.
- Herbert AJ, Williams AG, Lockey SJ, Erskine RM, Sale C, Hennis PJ, Day SH, Stebbings GK. (2022) Bone mineral density in high-level endurance runners: Part B-genotype-dependent characteristics. *Eur J Appl Physiol.* 122:71-80.
- Hernandez CJ, Beaupre GS, Carter DR. (2003) A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 14:843-847.
- Hind K, Truscott JG, Evans JA. (2006) Low lumbar spine bone mineral density in both male and female endurance runners. *Bone.* 39:880-885.
- Ho AY, Yeung SS, Kung AW. (2000) PvuII polymorphisms of the estrogen receptor alpha and bone mineral density in healthy southern Chinese women. *Calcif Tissue Int.* 66:405-408.
- Hopkins WG, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. (2009) Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Med Sci Sports Exerc.* 41:3-12.
- Hosokawa M, Imazeki S, Mizunuma H, Kubota T, Hayashi K. (2012) Secular trends in age at menarche and time to establish regular menstrual cycling in Japanese women born between 1930 and 1985. *BMC Womens Health.* 12:19.
- Hu M, Sheng J, Huang J, Hou X, Yu Y. (2017) Relationship between bone mineral values and leg anaerobic power in professional wrestlers. *Biomed Res.* 28:1266–1271.
- Hustmyer FG, Peacock M, Hui S, Johnston CC, Christian J. (1994) Bone mineral density in relation to polymorphism at the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest.* 94:2130-2134.
- Hwang I, Kobayashi T, Beppu K, Kim S, Tsuda H, Tsuji S, Kojima A, Morii D, Shinohara H, Kuboyama K. (2019) Effect of menstrual cycle and vitamin D receptor gene polymorphism on bone mineral density in female athlete. *J Phy Ex Sports Sci.* 24:117-124 (in Japanese).
- Hwang I, Kobayashi T, Beppu K, Kobayashi M. (2020) Association between low bone mineral density risk factors and vitamin D receptor gene polymorphism in female athletes. *J Phy Ex Sports Sci.* 25:1-11 (in Japanese).

- Ihle R, Loucks AB. (2004) Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *J Bone Miner Res.* 19:1231-1240.
- Ioannidis JP, Stavrou I, Trikalinos TA, Zois C, Brandi ML, Gennari L, Albagha O, Ralston SH, Tsatsoulis A. (2002) Association of polymorphisms of the estrogen alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. *J Bone Miner Res.* 17:2048-2060.
- Iwamoto J, Takeda T. (2003) Stress fractures in athletes: review of 196 cases. *J Orthop Sci.* 8:273-278.
- Jones BH, Thacker SB, Gilchrist J, Kimsey CD Jr, Sosin DM. (2002) Prevention of lower extremity stress fractures in athletes and soldiers: a systematic review. *Epidemiol Rev.* 24:228-247.
- Jones N, Kiely J, Suraci B, Collins DJ, de Lorenzo D, Pickering C, Grimaldi KA. (2016) A genetic-based algorithm for personalized resistance training. *Biol Sport.* 33:117–126.
- Jung AP. (2003) The impact of resistance training on distance running performance. *Sports Med.* 33:539-552.
- Kelley GA, Kelley KS, Tran ZV. (2001) Resistance training and bone mineral density in women: a meta-analysis of controlled trials. *Am J Phys Med Rehabil.* 80:65-77.
- Khosla S, Melton LJ 3rd, Riggs BL. (2002) Clinical review 144: estrogen and the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab.* 87:1443-1450.
- Kikuchi N, Miyamoto-Mikami E, Murakami H, Nakamura T, Min SK, Mizuno M, Naito H, Miyachi M, Nakazato K, Fuku N. (2016) ACTN3 R577X genotype and athletic performance in a large cohort of Japanese athletes. *Eur J Sport Sci.* 16:694-701.
- Kikuchi N, Nakazato K, Min SK, Ueda D, Igawa S. (2014) The ACTN3 R577X polymorphism is associated with muscle power in male Japanese athletes. *J Strength Cond Res.* 28:1783-1789.
- Klibanski A, Adams-Campbell L, Bassford T, Blair SN, Boden SD, Dickersin K, Gifford DR, Glasse L, Goldring SR, Hruska K, Johnson SR., McCauley LK., Russell WE. (2001) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA.* 285:785-795.
- Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. (1996) Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res.* 11:306-311.
- Kobayashi T, Hwang I. (2021) Association between low bone mineral density risk factors and estrogen receptor  $\alpha$  gene polymorphisms in Japanese female athletes. *Womens Health Rep.* 2:11-19.
- Kondo H, Fujino H, Nagatomo F, Ishihara A. (2014) Influence of estrogen receptor  $\alpha$  polymorphisms on bone density in response to habitual exercise in Japanese postmenopausal women. *Sci World*

- J. 2014:593927.
- Korach KS. (1994) Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science*. 266:1524-1527.
- Kos M, Reid G, Denger S, Gannon F. (2001) Minireview: genomic organization of the human ER $\alpha$  gene promoter region. *Mol Endocrinol*. 15:2057-2063.
- Kovacs MS. (2007) Tennis physiology: training the competitive athlete. *Sports Med*. 37: 189–198.
- Kraemer RR, Helleniak RJ, Tryniecki JL, Kraemer GR, Okazaki NJ, Castracane VD. (1995) Follicular and luteal phase hormonal responses to low-volume resistive exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 27:809-817.
- Krall EA, Dawson-Hughes B. (1993) Heritable and life-style determinants of bone mineral density. *J Bone Miner Res*. 8:1-9.
- Kumagai H, Tobina T, Ichinoseki-Sekine N, Kakigi R, Tsuzuki T, Zempo H, Shiose K, Yoshimura E, Kumahara H, Ayabe M, Higaki Y, Yamada R, Kobayashi H, Kiyonaga A, Naito H, Tanaka H, Fuku N. (2018) Role of selected polymorphisms in determining muscle fiber composition in Japanese men and women. *J Appl Physiol* (1985). 124:1377–1384.
- Law MR, Hackshaw AK. (1997) A meta-analysis of cigarette smoking, bone mineral density and risk of hip fracture: recognition of a major effect. *BMJ*. 315:841-846.
- Layne JE, Nelson ME. (1999) The effects of progressive resistance training on bone density: a review. *Med Sci Sports Exerc*. 31:25-30.
- Le Panse B, Vibarel-Rebot N, Parage G, Albrings D, Amiot V, De Ceaurriz J, Collomp K. (2010) Cortisol, DHEA, and testosterone concentrations in saliva in response to an international powerlifting competition. *Stress*. 13:528-532.
- Lees A. (2003) Science and the major racket sports: a review. *J Sports Sci*. 21:707–732.
- Lester ME, Urso ML, Evans RK, Pierce JR, Spiering BA, Maresch CM, Hatfield DL, Kraemer WJ, Nindl BC. (2009) Influence of exercise mode and osteogenic index on bone biomarker responses during short-term physical training. *Bone*. 45:768-776.
- Levinger I, Yan X, Bishop D, Houweling PJ, Papadimitriou I, Munson F, Byrnes E, Vicari D, Brennan-Speranza TC, Eynon N. (2017) The influence of  $\alpha$ -actinin-3 deficiency on bone remodelling markers in young men. *Bone*. 98:26–30.
- Longcope C. (1996) Dehydroepiandrosterone metabolism. *J Endocrinol*. 150:125-127.

- Loucks AB. (2007) Low energy availability in the marathon and other endurance sports. *Sports Med.* 37:348-352.
- MacArthur DG, Seto JT, Raftery JM, Quinlan KG, Huttley GA, Hook JW, Lemckert FA, Kee AJ, Edwards MR, Berman Y, Hardeman EC, Gunning PW, Eastal S, Yang N, North KN. (2007) Loss of ACTN3 gene function alters mouse muscle metabolism and shows evidence of positive selection in humans. *Nat Genet.* 39:1261–1265.
- Martin TJ, Sims NA. (2005) Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption. *Trends Mol Med.* 11:76-81.
- Mills M, Yang N, Weinberger R, Vander Woude DL, Beggs AH, Eastal S, North K. (2001) Differential expression of the actin-binding proteins,  $\alpha$ -actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum Mol Genet.* 10:1335–1346.
- Milner CE, Ferber R, Pollard CD, Hamill J, Davis IS. (2006) Biomechanical factors associated with tibial stress fracture in female runners. *Med Sci Sports Exerc.* 38:323-328.
- Min SK, Lim ST, Kim CS. (2016) Association of ACTN3 polymorphisms with BMD, and physical fitness of elderly women. *J Phys Ther Sci.* 28:2731–2736.
- Moghadasi M, Siavashpour S. (2013) The effect of 12 weeks of resistance training on hormones of bone formation in young sedentary women. *Eur J Appl Physiol.* 113:25-32.
- Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. (1994) Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.* 367:284-287.
- Mosti MP, Carlsen T, Aas E, Hoff J, Stunes AK, Syversen U. (2014) Maximal strength training improves bone mineral density and neuromuscular performance in young adult women. *J Strength Cond Res.* 28:2935-2945.
- Mountjoy M, Sundgot-Borgen J, Burke L, Carter S, Constantini N, Lebrun C, et al. The IOC consensus statement: beyond the Female Athlete Triad—Relative Energy Deficiency in Sport (RED-S). *Br J Sports Med.* 48:491-497.
- Myburgh KH, Hutchins J, Fataar AB, Hough SF, Noakes TD. (1990) Low bone density is an etiologic factor for stress fractures in athletes. *Ann Intern Med.* 113:754-759.
- Nakamura O, Ishii T, Mankyu H, Tsubakimoto S, Nomura T, Tokuyama K. (2002a) Contribution of vitamin D receptor genotypes to bone mineral density in young male athletes with different impact loading. *Eur J Sport Sci.* 2:1-8.



- Nakamura O, Ishii T, Ando Y, Amagai H, Oto M, Imafuji T, Tokuyama K. (2002b) Potential role of vitamin D receptor gene polymorphism in determining bone phenotype in young male athletes. *J Appl Physiol.* 93:1973-1979.
- Nattiv A, Loucks AB, Manore MM, Sanborn CF, Sundgot-Borgen J, Warren MP. (2007) American College of Sports Medicine position stand. The female athlete triad. *Med Sci Sports Exerc.* 39:1867-1882.
- Nickols-Richardson SM, Miller LE, Wootten DF, Ramp WK, Herbert WG. (2007) Concentric and eccentric isokinetic resistance training similarly increases muscular strength, fat-free soft tissue mass, and specific bone mineral measurements in young women. *Osteoporos Int.* 18:789-796.
- Nieves JW, Melsop K, Curtis M, Kelsey JL, Bachrach LK, Greendale G, Sowers MF, Sainani KL. (2010) Nutritional factors that influence change in bone density and stress fracture risk among young female cross-country runners. *PM R.* 2:740-750.
- North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Easteal S, Beggs AH. (1999) A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nat Genet.* 21:353-354.
- Nose-Ogura S, Yoshino O, Dohi M, Kigawa M, Harada M, Hiraike O, Onda T, Osuga Y, Fujii T, Saito S. (2019) Risk factors of stress fractures due to the female athlete triad: Differences in teens and twenties. *Scand J Med Sci Sports.* 29:1501-1510.
- Nose-Ogura S, Yoshino O, Dohi M, Kigawa M, Harada M, Kawahara T, Osuga Y, Saito S. (2020) Low bone mineral density in elite female athletes with a history of secondary amenorrhea in their teens. *Clin J Sport Med.* 30:245-250.
- Nowak A, Straburzyńska-Lupa A, Kusy K, Zieliński J, Felsenberg D, Rittweger J, Karolkiewicz J, Straburzyńska-Migaj E, Pilaczyńska-Szcześniak L. (2010) Bone mineral density and bone turnover in male masters athletes aged 40-64. *Aging Male.* 13:133-141.
- Otis CL, Drinkwater B, Johnson M, Loucks A, Wilmore J. (1997) American College of Sports Medicine position stand. The Female Athlete Triad. *Med Sci Sports Exerc.* 29:i-ix.
- Ott SM, O'Hanlan M, Lipkin EW, Newell-Morris L. (1997) Evaluation of vertebral volumetric vs. areal bone mineral density during growth. *Bone.* 20:553-556.
- Papageorgiou M, Elliott-Sale KJ, Parsons A, Tang JCY, Greeves JP, Fraser WD, Sale C. (2017) Effects

- of reduced energy availability on bone metabolism in women and men. *Bone*. 105:191-199.
- Pegrum J, Dixit V, Padhiar N, Nugent I. (2014) The pathophysiology, diagnosis, and management of foot stress fractures. *Phys Sportsmed*. 42:87-99.
- Pereira A, Costa M, Izquierodo M, Silva AJ, Bastos E, Marques MC. (2013) ACE I/D and ACTN3 R/X polymorphisms as potential factors in modulating exercise-related phenotypes in older women in response to a muscle training stimuli. *AGE*. 35:1949-1959.
- Pluijm SM, Visser M, Smit JH, Popp-Snijders C, Roos JC, Lips P. (2001) Determinants of bone mineral density in older men and women: body composition as mediator. *J Bone Miner Res*. 16:2142-2151.
- Pollock N, Grogan C, Perry M, Pedlar C, Cooke K, Morrissey D, Dimitriou L. (2010) Bone-mineral density and other features of the female athlete triad in elite endurance runners: A longitudinal and cross-sectional observational study. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 20:418-426.
- Proctor DN, Melton LJ, Khosla S, Crowson CS, O'Connor MK, Riggs BL. (2000) Relative influence of physical activity, muscle mass and strength on bone density. *Osteoporos Int*. 11:944-952.
- Ralston SH, Uitterlinden AG. (2010) Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev*. 31:629-662.
- Rector RS, Rogers R, Ruebel M, Hinton PS. (2008) Participation in road cycling vs running is associated with lower bone mineral density in men. *Metabolism*. 57:226-232.
- Riggs BL, Melton LJ, Robb RA, Camp JJ, Atkinson EJ, McDaniel L, Amin S, Rouleau PA, Khosla S. (2008) A population-based assessment of rates of bone loss at multiple skeletal sites: evidence for substantial trabecular bone loss in young adult women and men. *J Bone Miner Res*. 23:205-214.
- Rosenfeld RS, Rosenberg BJ, Fukushima DK, Hellman L. (1975) 24-hour secretory pattern of dehydroisoandrosterone and dehydroisoandrosterone sulfate. *J Clin Endocrinol Metab*. 40:850-855.
- Ryan AS, Ivey FM, Hurlbut DE, Martel GF, Lemmer JT, Sorkin JD, Metter EJ, Fleg JL, Hurley BF. (2004) Regional bone mineral density after resistive training in young and older men and women. *Scand J Med Sci Sports*. 14:16-23.
- Sainz J, Van Tornout JM, Loro ML, Sayre J, Roe TF, Gilsanz V. (1997) Vitamin D-receptor gene polymorphisms and bone density in prepubertal American girls of Mexican descent. *N Engl J Med*. 337:77-82.

- Sambrook P, Cooper C. (2006) Osteoporosis. *Lancet*. 367:2010-2018.
- Sawai A, Mathis BJ, Natsui H, Zaboronok A, Mitsuhashi R, Warashina Y, Mesaki N, Shiraki H, Watanabe K. (2018) Risk of female athlete triad development in Japanese collegiate athletes is related to sport type and competitive level. *Int J Women's Health*. 10:671–687.
- Seeman E, Delmas PD. (2006) Bone quality-the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 354:2250-2261.
- Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS. (1994) Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med*. 331:1056-1061.
- Snyder RA, Koester MC, Dunn WR. (2006) Epidemiology of stress fractures. *Clin Sports Med*. 25:37-52.
- Sporis G, Vuleta D, Vuleta D Jr, Milanović D. (2010) Fitness profiling in handball: physical and physiological characteristics of elite players. *Coll Antropol*. 34:1009–1014.
- Stengel SV, Kemmler W, Pintag R, Beeskow C, Weineck J, Lauber D, Kalender WA, Engelke K. (2005) Power training is more effective than strength training for maintaining bone mineral density in postmenopausal women. *J Appl Physiol* (1985). 99:181–188.
- Sundgot-Borgen J, Meyer NL, Lohman TG, Ackland TR, Maughan RJ, Stewart AD, Müller W. (2013) How to minimise the health risks to athletes who compete in weight-sensitive sports review and position statement on behalf of the Ad Hoc Research Working Group on body composition, health and performance, under the auspices of the IOC Medical Commission. *Br J Sports Med*. 47:1012–1022.
- Tenforde AS, Carlson JL, Chang A, Sainani KL, Shultz R, Kim JH, Cutti P, Golden NH, Fredericson M. (2017) Association of the female athlete triad risk assessment stratification to the development of bone stress injuries in collegiate athletes. *Am J Sports Med*. 45:302-310.
- Tenforde AS, Carlson JL, Sainani KL, Chang AO, Kim JH, Golden NH, Fredericson M. (2018) Sport and triad risk factors influence bone mineral density in collegiate athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 50:2536-2543.
- Tenforde AS, Fredericson M, Sayres LC, Cutti P, Sainani KL. (2015) Identifying sex-specific risk factors for low bone mineral density in adolescent runners. *Am J Sports Med*. 43:1494-1504.
- Tenforde AS, Fredericson M. (2011) Influence of sports participation on bone health in the young

- athlete: a review of the literature. *PM R.* 3:861-867.
- Tharabenjasin P, Pabalan N, Jarjanazi H. (2019) Association of the ACTN3 R577X (rs1815739) polymorphism with elite power sports: a meta-analysis. *PLOS ONE.* 14:e0217390.
- Tokita A, Matsumoto H, Morrison NA, Tawa T, Miura Y, Fukamauchi K, Mitsuhashi N, Irimoto M, Yamamori S, Miura M, Watanabe T, Kuwabara Y, Yabuta K, Eisman JA. (1996) Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in premenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res.* 11:1003-1009.
- Tokunaga K, Matsuzawa Y, Kotani K, Keno Y, Kobatake T, Fujioka S, Tarui S. (1991) Ideal body weight estimated from the body mass index with the lowest morbidity. *Int J Obes.* 15:1-5.
- Tommasini SM, Nasser P, Schaffler MB, Jepsen KJ. (2005) Relationship between bone morphology and bone quality in male tibias: implications for stress fracture risk. *J Bone Miner Res.* 20:1372-1380.
- Venezia AC, Roth SM. (2016) Recent Research in the Genetics of Exercise Training Adaptation. *Med Sport Sci.* 61:29-40.
- Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, Van den Eede E, Van Leemputte M, Hespel P, Thomis MA. (2007) ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiol Genomics.* 32:58–63.
- Walberg-Rankin J, Franke WD, Gwazdauskas FC. (1992) Response of beta-endorphin and estradiol to resistance exercise in females during energy balance and energy restriction. *Int J Sports Med.* 13:542-547.
- Walsh JS, Henry YM, Fatayerji D, Eastell R. (2009) Lumbar spine peak bone mass and bone turnover in men and women: a longitudinal study. *Osteoporos Int.* 20:355-362.
- Warden SJ, Burr DB, Brukner PD. (2006) Stress fractures: pathophysiology, epidemiology, and risk factors. *Curr Osteoporos Rep.* 4:103-109.
- Warren MP, Chua AT. (2008) Exercise-induced amenorrhea and bone health in the adolescent athlete. *Ann N Y Acad Sci.* 1135:244-252.
- Welck MJ, Hayes T, Pastides P, Khan W, Rudge B. (2017) Stress fractures of the foot and ankle. *Injury.* 48:1722-1726.
- Wentz L, Liu PY, Haymes E, Ilich JZ. (2011) Females have a greater incidence of stress fractures than males in both military and athletic populations: a systemic review. *Mil Med.* 176:420-430.

- Willing M, Sowers M, Aron D, Clark MK, Burns T, Bunten C, Crutchfield M, D'Agostino D, Jannausch M. (1998) Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction. *J Bone Miner Res.* 13:695-705.
- Yamada Y, Ando F, Niino N, Ohta S, Shimokata H. (2002) Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density of the femoral neck in elderly Japanese women. *J Mol Med (Berl).* 80:452-460.
- Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, Hahn AG, Beggs AH, Eastal S, North K. (2003) ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet.* 73:627-631.
- Yang N, Schindeler A, McDonald MM, Seto JT, Houweling PJ, Lek M, Hogarth M, Morse AR, Raftery JM, Balasuriya D, MacArthur DG, Berman Y, Quinlan KG, Eisman JA, Nguyen TV, Center JR, Prince RL, Wilson SG, Zhu K, Little DG, North KN. (2011)  $\alpha$ -actinin-3 deficiency is associated with reduced bone mass in human and mouse. *Bone.* 49:790-798.
- 内閣府 . 「スポーツにおける女性の活躍」 .  
[https://www.gender.go.jp/about\\_danjo/whitepaper/h30/zentai/html/honpen/b1\\_s00\\_01.html](https://www.gender.go.jp/about_danjo/whitepaper/h30/zentai/html/honpen/b1_s00_01.html),  
(参照 2022-11-14) .
- 須田立雄 (2016) 新骨の科学. 医歯薬出版: 東京, 251.

## 博士論文に関連する研究業績

### 関連論文

1. Kobayashi T, Hwang I (2021) Association Between Low Bone Mineral Density Risk Factors and Estrogen Receptor  $\alpha$  Gene Polymorphisms in Japanese Female Athletes. *Womens Health Rep.* 2:11-19.
2. 小林哲郎, 関星汰朗, 松井花織, 黄仁官. (2022) 大学女子アスリートにおける低骨密度のリスクファクターとビタミン D 受容体及びエストロゲン受容体  $\alpha$  遺伝子多型が 1 年間の骨密度変化に及ぼす影響. *運動とスポーツの科学.* 28:41-50.
3. Kobayashi T, Seki S, Hwang I. (2022) Relationship of muscle power and bone mineral density with the  $\alpha$ -actinin3 R577X polymorphism in Japanese female athletes: An observational study. *Medicine.* 101:e31685.
4. Kobayashi T, Seki S, Hwang I. (2023) Effects of resistance training on bone mineral density and resting serum hormones in female collegiate distance runners: a randomized controlled pilot trial. *J Sports Med Phys Fitness.* (In press).

### 学会発表

1. 小林哲郎, 黄仁官. (2020) 女性アスリートにおける低骨密度のリスクファクターとエストロゲン受容体  $\alpha$  遺伝子多型との関連性 (ポスター発表). 第 75 回日本体力医学会大会
2. 小林哲郎, 関星汰朗, 黄仁官 (2021) 女性アスリートの競技タイプ別にみられる身体能力及び骨密度と ACTN3R577X 遺伝子多型との関連性 (口頭発表). 第 76 回日本体力医学会大会
3. 小林哲郎, 関星汰朗, 山田昂平, 古謝将大, 松井花織, 黄仁官. (2022) 大学女子長距離ランナーにおける高強度レジスタンストレーニングが骨密度、血中ホルモン及び骨代謝マーカーに及ぼす影響 (口頭発表). 日本運動・スポーツ科学学会第 29 回大会
4. 小林哲郎, 関星汰朗, 山田昂平, 古謝将大, 松井花織, 黄仁官. (2022) レジスタンストレーニングによる骨密度増加効果は CYP19A1 遺伝子多型によって異なるか? (ポスター発表). 第 77 回日本体力医学会大会.

## 謝辞

本論文を作成するにあたり、数多くの方々のご協力を賜りました。ここに感謝の意を表します。

本研究は、修士論文を提出して間もなく、現指導教官の黄仁官教授と道でたまたますれ違ったことがきっかけで始まりました。私を研究室助教として招き入れて下さり、黄先生が進めていた科研費研究について議論を深めていく中で博士課程への進学を決意するに至りました。助教時代から合わせて6年間、指導教官として終始多大なご指導を賜った黄仁官先生に深謝いたします。黄先生には、研究は何たるかを一からご指導賜りました。また、人生における大先輩として公私に渡ってお付き合いをさせて頂きました。ここに心からの感謝の意を表します。副査を引き受けて頂きました須永美歌子教授、菊池直樹准教授に感謝いたします。須永先生には女性アスリート研究者のお立場から貴重なご助言を賜りました。菊池先生には遺伝子解析において一からご指導賜り、またその解釈についてもご指導賜りました。心より感謝申し上げます。

運動処方研究室の同期であり、研究活動に限らず博士課程生活全体を通してお世話になりました関星汰朗氏、並びに研究室の松井花織助教、大学院生、ゼミ生の皆様、加えて、本研究にご協力賜りました研究参加者の皆様に厚く御礼申し上げます。

最後に、度々連絡をくれ研究の行方を見守っていてくれた両親、康雄、百合子、兄、光、和道、そして、博士課程進学を受け入れ、励まし、いつも支えてくれた妻、若菜に深い敬意と感謝の意を表し、心より御礼申し上げます。