

図2. 年齢別のEQ5D. 身長低下した人(10年間に2cm以上低下) としなかった人の比較

## 資料1 日本語EQ5D質問票

以下のそれぞれの項目の一つの四角に（このように□）印をつけて、あなた自身の今日の健康状態を最も良く表している記述を示して下さい。

### 移動の程度

- 私は歩き回るのに問題はない
- 私は歩き回るのにいくらか問題がある
- 私はベッド（床）に寝たきりである

### 身の回りの管理

- 私は身の回りの管理に問題はない
- 私は洗面や着替えを自分でするのにいくらか問題がある
- 私は洗面や着替えを自分でできない

### ふだんの活動（例：仕事、勉強、家族、余暇活動）

- 私はふだんの活動を行うのに問題はない
- 私はふだんの活動を行うのにいくらか問題がある
- 私はふだんの活動を行うことができない

### 痛み/不快感

- 私は痛みや不快感はない
- 私は中程度の痛みや不快感がある
- 私はひどい痛みや不快感がある

### 不安/ふさぎ込み

- 私は不安でもふさぎ込んでもいない
- 私は中程度に不安あるいはふさぎ込んでいる
- 私はひどく不安あるいはふさぎ込んでいる

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
加齢に伴う脊柱変形の危険因子の解明と防止法の開発に関する研究  
分担研究報告書

加齢に伴う三次元骨梁微細構造の変化に関する研究：男性腰椎海綿骨での検討

分担研究者 福永仁夫 川崎医科大学放射線医学（核医学）教授

研究要旨：日本人成人男性の腰椎海綿骨を microcomputed tomography (micro-CT) により三次元的に解析し、骨梁微細構造の加齢変化について検討した。加齢とともに骨量が減少し、骨梁構造の複雑性、連結性の低下がみられた。骨梁幅にはほとんど変化が認められなかったが、骨梁幅のばらつきが加齢とともに増加した。また、加齢ともなって海綿骨は板状から棒状を中心とした構造へ変化した。これまでの二次元での骨形態計測を用いた解析結果では、腰椎海綿骨の骨量減少は骨梁の脱落と菲薄化の両者によるものと考えられていたが、今回の結果から骨梁の脱落の方が主体であることが示唆された。

#### A. 研究目的

骨粗鬆症は、骨強度低下により椎体の骨折・変形をもたらす、高齢者にみられる脊柱変形の主要な原因の一つとなっている。これまでの研究から、骨量骨粗鬆症での骨強度低下は、骨微細構造、骨の質的狀態、骨の代謝狀態などにより規定されることが明らかにされている。ところが、骨微細構造に関する検討の多くは、骨の顕微鏡標本の観察によるもので、海綿骨の三次元的構造を直接検討した報告は少ない。さらに、男性例での骨梁微細構造の加齢変化についてはこれまでにほとんど報告されていない。そこで本研究では、日本人成人男性の腰椎海綿骨を microcomputed tomography (micro-CT) により三次元的に解析し、骨梁微細構造の加齢変化について検討した。

#### B. 研究方法

対象は、1999年1月から2000年12月までの間に当施設にて病理解剖が行われた男性21人(26歳～88歳)の腰椎である。明らかな局所骨疾患を有する症例および胃切除後、慢性腎不全、副腎皮質ステロイド長期投与、長期不動などの骨代謝への影響が考えられる症例は除外した。

まず、剖検屍体の腰椎を軟X線撮影(Moフィルター使用、正面像:35kV、280または320mAs)し、解析部位に圧迫骨折や骨関節炎がないことを確認した。次に、第二または第三腰椎椎体中心部前方の海綿骨を、硬組織用カッターであるバンド

ソー(BS3000, EXACT社)を用いて1辺約7mmの立方体に切断した。各検体より1～3個の試料を作成し、総検体数60個を解析対象とした。

骨試料は、micro-CT装置(ELESCAN, 日鉄エレックス)を用いて、100 $\mu$ A、30kV、マトリックス数512 $\times$ 512、画素径23.20 $\mu$ m、スライス厚18.56 $\mu$ mの条件で撮像し、250枚の連続断層画像を得た。

三次元パラメータは、各骨試料の連続断層画像をワークステーションに転送し、三次元画像ソフト(TRI/3D-BON, ラトックシステム)を用いて算出した。まず、各骨試料の中央部に平均93mm<sup>3</sup>の関心領域(volume of interest:VOI)を設定し、ついで、それらのVOIからノイズ除去と2値化処理により骨梁領域を抽出し、三次元パラメータを算出した。2値処理は、ヒストグラムを参考に閾値を決定し、全ての解析に同じ閾値を用いた。今回検討した3次元骨梁形態パラメータは、計測対象領域中の海綿骨体積と骨組織体積の比(BV/TV(骨体積密度))、骨梁幅(Tb.Th)、骨梁数(Tb.N)、骨梁連結性密度(CD(connectivity density))、構造異方性指標(DA(degree of anisotropy))、骨梁の凹凸面状構造の指標であるTbPf(trabecular bone pattern factor)および棒状骨梁と板状骨梁の構造比率を表すSMI(structure model index)である。これらのパラメータのうち、Tb.NはParfittらのparallel plate modelの定義に基づいて求め、他は何れも三次元データから直接算出した。Tb.Thについては、各骨標本でのTb.Thの平均値(Tb.Th-mean)の他に標準偏差(Tb.Th-sd)を求めた。年齢との

関係は散布図および Pearson の相関係数により評価し、有意水準は  $p < 0.05$  とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者家族に十分なインフォームド・コンセントを行い、文書での同意が得られたうえで剖検を行い、その際に採取された屍体腰椎を用いて行った。

### C. 研究結果

年齢および各パラメーターの相関を表 1 に、散布図を図 1 ~ 15 に示す。

BV/TV は、加齢とともに減少し、20 歳代から 80 歳代までの間に約 50% の減少を示した。

年齢と Tb.N, CD との間には負の相関が、年齢と SMI, TBPf との間には正の相関が認められた。

年齢と Tb.Th-sd の間にも弱い負の相関が認められた。

Tb.Th-mean と DA は、BV/TV との間には軽度の相関を示したのに対し、年齢との間には何れも有意な相関を示さなかった。

### D. 考察

腰椎海綿骨では、加齢に伴った骨量減少と骨梁連結性の低下が観察された。また、TBPf と年齢の間には正の相関がみられ、加齢とともに骨梁表面での凸面の比率が増加することが示された。骨梁が断裂すると、凸面の比率が増加するため、TBPf の変化の一部は骨梁連結性の変化を反映しているものと思われる。SMI の変化からは、加齢による板状から棒状構造を主体とした海綿骨への変化を定量的に評価することができた。

骨梁幅の平均値は、加齢によりほとんど変化がみられなかったが、その標準偏差と年齢との間に軽度の正相関が認められた。高齢者では、菲薄化した骨梁と代償的に肥厚した骨梁が混在していることを示唆する結果と考えられた。

これまでの二次元での骨形態計測による解析結果では、腰椎海綿骨の骨量減少は骨梁の脱落と菲薄化の両者によるものと考えられていたが、今回の結果から骨梁の脱落の方が主体であることが示唆された。今後、女性例での検討結果と対比することにより、男性における骨梁構造の加齢変化の特徴が明らかになるものと思われる。

なお、本研究では、退行期骨粗鬆症は特に除外しておらず、検討結果には、骨粗鬆症性の変化が含まれているものと考えられる。

### E. 結論

1) 女性と同様に、男性でも、加齢とともに海綿骨に微細構造変化が生じることが、三次元的直接計測により示された。

2) 加齢による骨梁構造変化は、連結性の低下、凸面と棒状構造の比率の増加、骨梁数の減少、および骨梁幅のばらつき増加を特徴としていた。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

Tamada T, Sone T, Tomomitsu T, Imai S, Kajihara Y and Fukunaga M: AGE RELATED CHANGES IN THREE-DIMENSIONAL MICROSTRUCTURE OF VERTEBRAL CANCELLOUS BONE IN MEN (The 1st ASIAN PACIFIC CONGRESS OF BONE MORPHOMETRY にて発表予定)

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1

	年齡	BV/TV	Tb.N	CD	TBPf	SMI	DA	Tb.Th-mean	Tb.Th-sd
年齡	1								
BV/TV	-0.693 <sup>d</sup>	1							
Tb.N	-0.734 <sup>d</sup>	0.933 <sup>d</sup>	1						
CD	-0.530 <sup>d</sup>	0.716 <sup>d</sup>	0.838 <sup>d</sup>	1					
TBPf	0.657 <sup>d</sup>	-0.811 <sup>d</sup>	-0.658 <sup>d</sup>	-0.275 <sup>a</sup>	1				
SMI	0.617 <sup>d</sup>	-0.379 <sup>b</sup>	-0.405 <sup>b</sup>	0.011	0.694 <sup>d</sup>	1			
DA	-0.233	-0.098	-0.127	-0.365 <sup>b</sup>	-0.265 <sup>a</sup>	-0.509 <sup>d</sup>	1		
Tb.Th-mean	-0.012	0.430 <sup>c</sup>	0.147	0.094	-0.387 <sup>b</sup>	0.290 <sup>a</sup>	-0.166	1	
Tb.Th-sd	0.280 <sup>a</sup>	0.202	-0.032	0.090	-0.099	0.529 <sup>d</sup>	-0.308 <sup>a</sup>	0.726 <sup>d</sup>	1

n = 60, <sup>a</sup>p<0.05, <sup>b</sup>p<0.01, <sup>c</sup>p<0.001, <sup>d</sup>p<0.0001

図 1

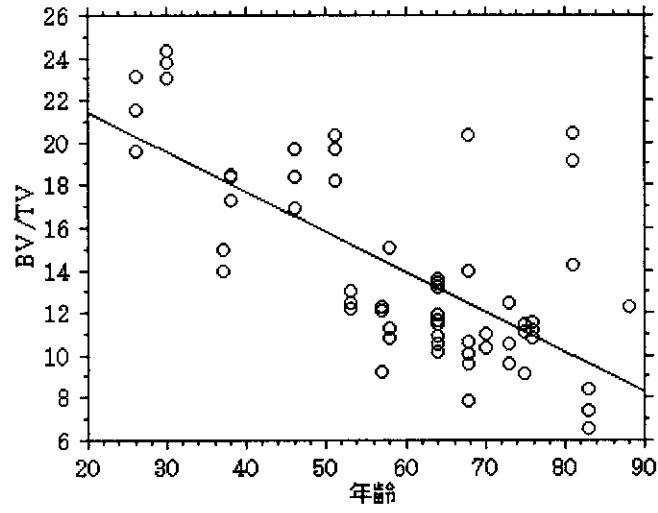


図 2

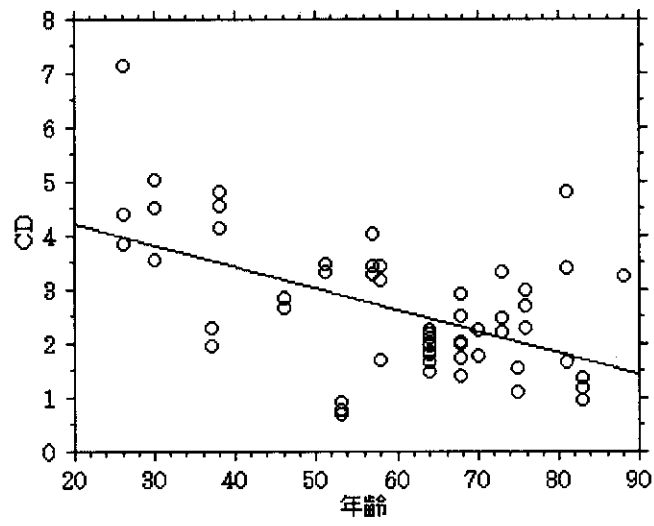


図 3

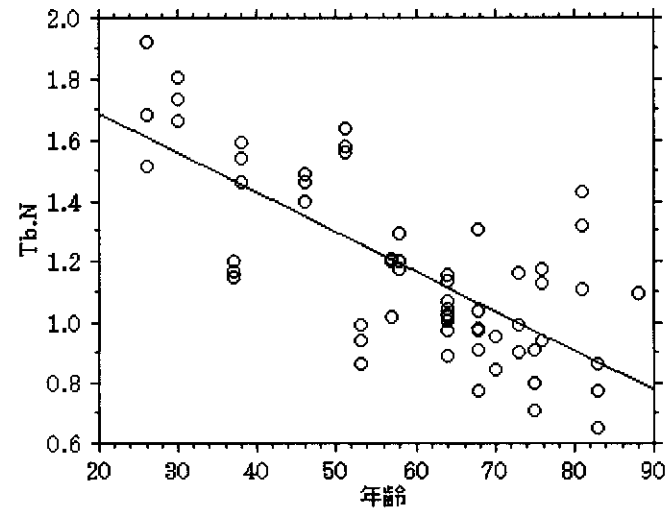


図 4

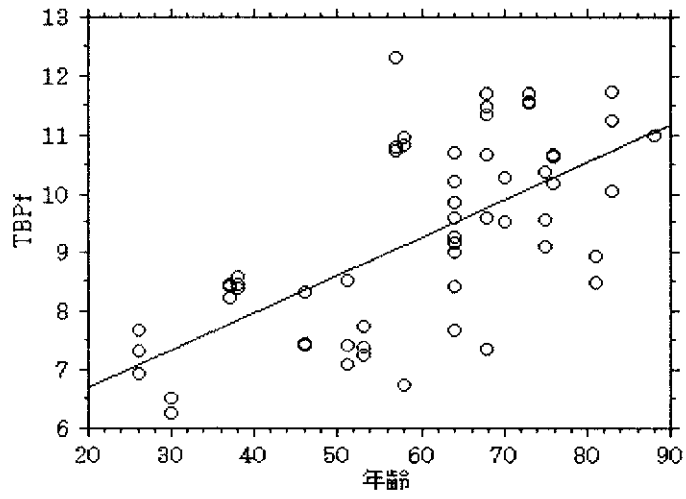


図 5

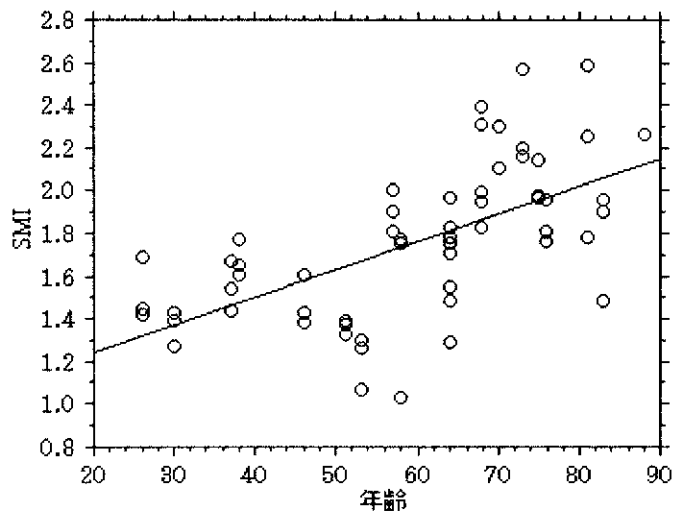


図 6

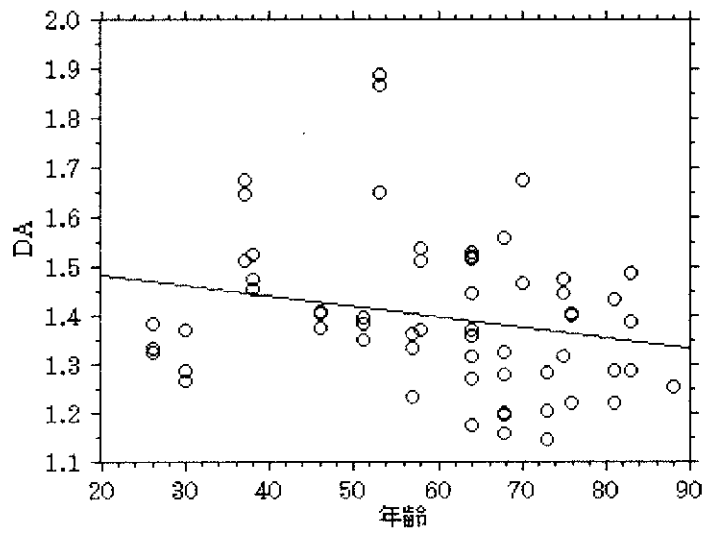


图 7

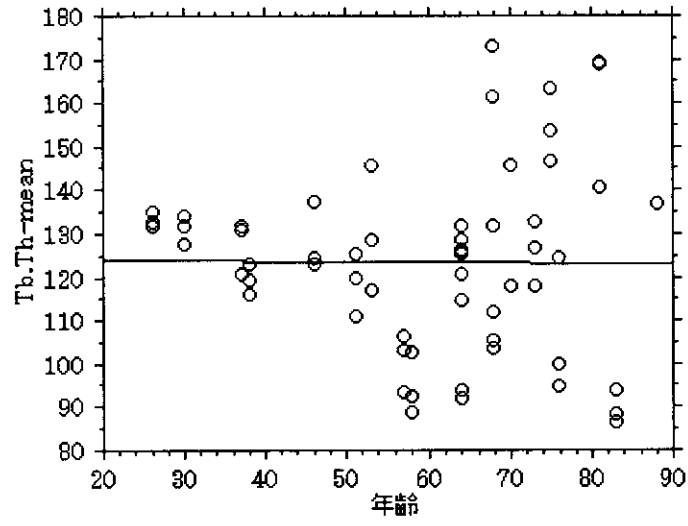


图 8

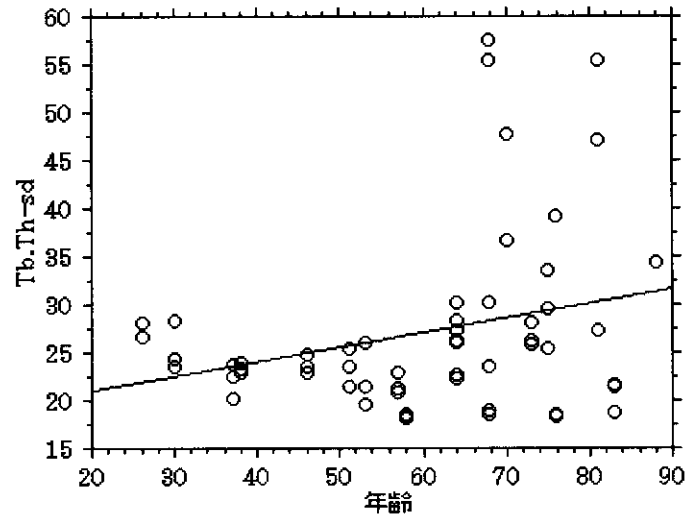


图 9

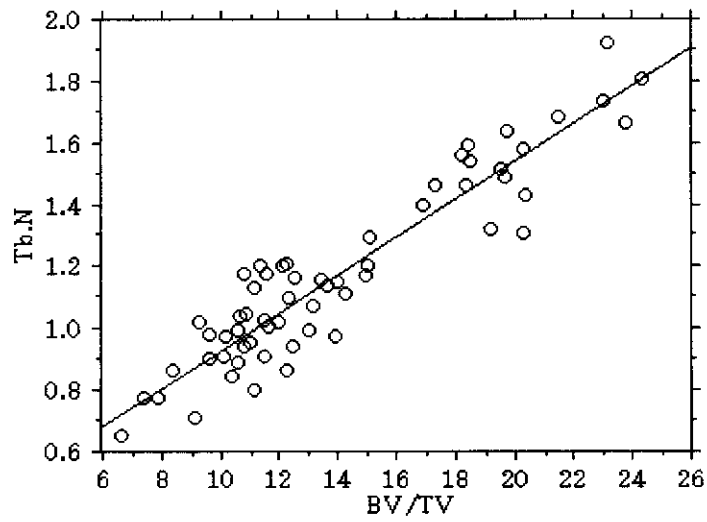




图 10

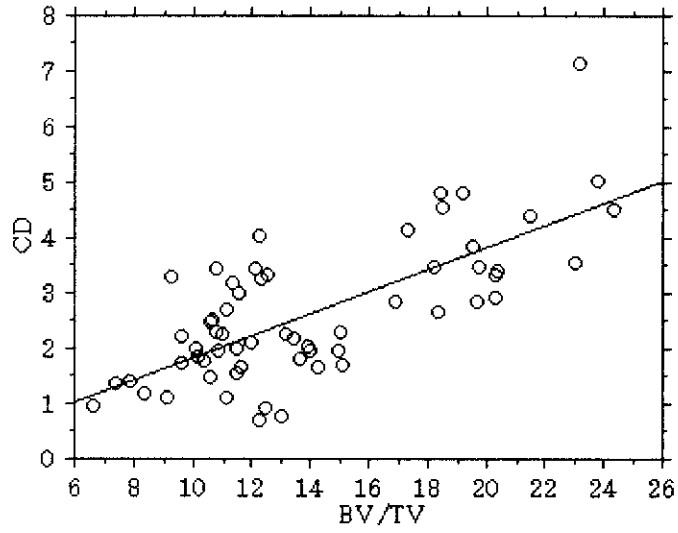


图 11

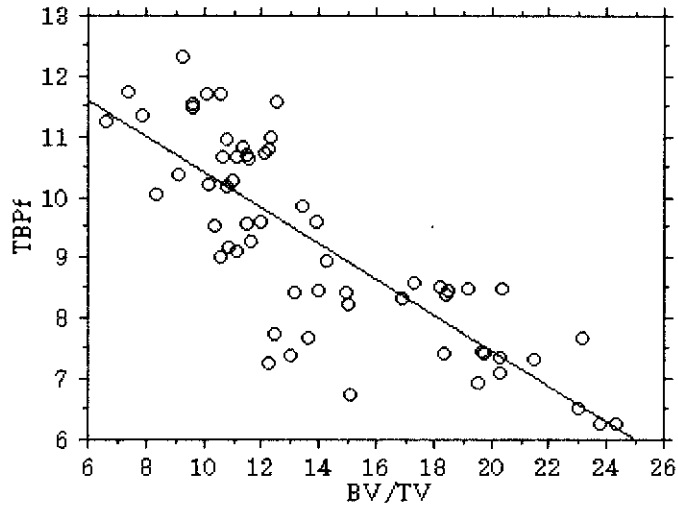
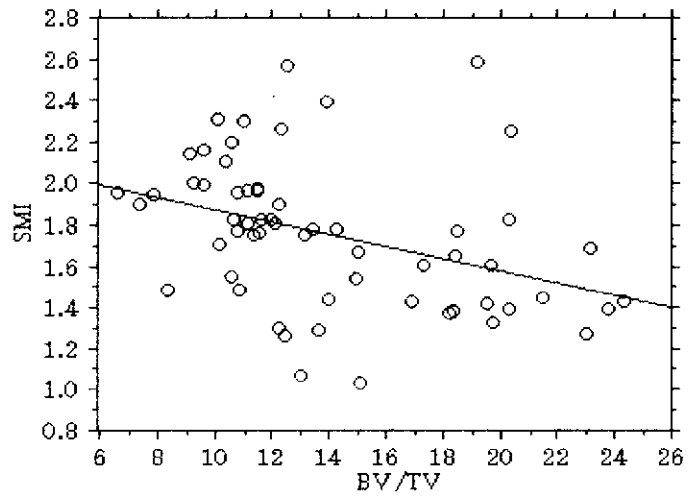
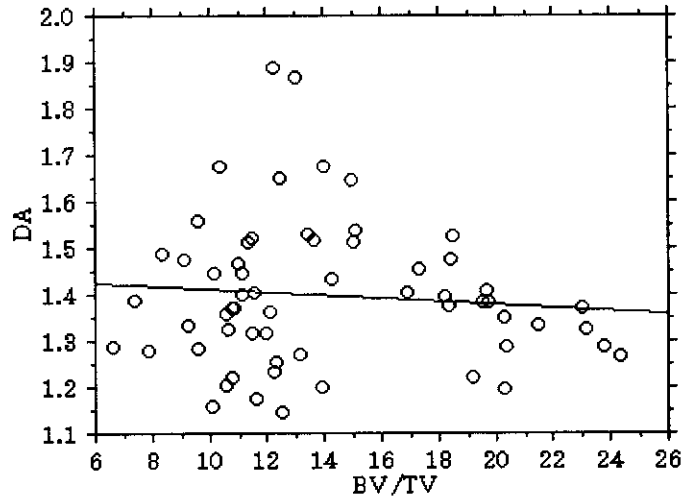


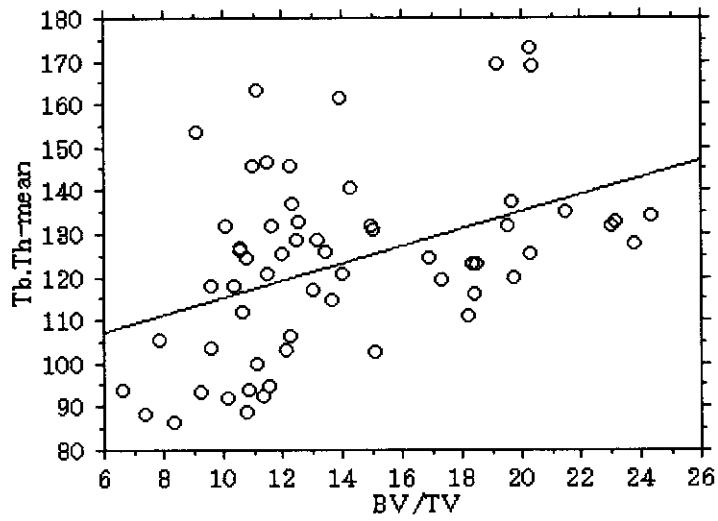
图 12



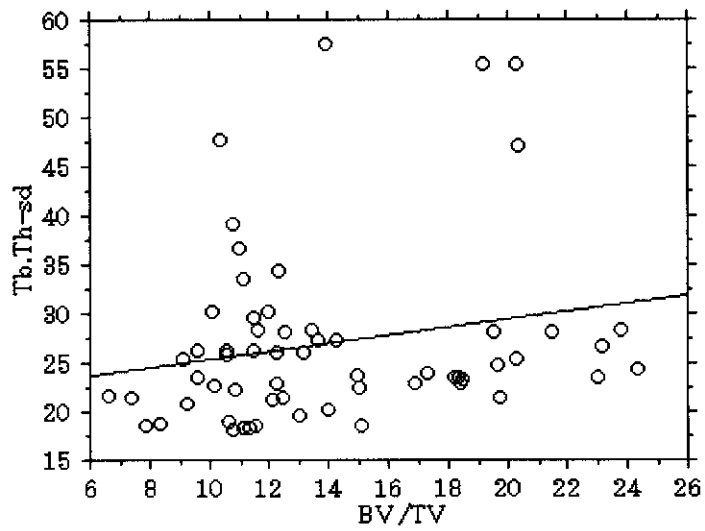
☒ 13



☒ 14



☒ 15



厚生労働省科学研究費補助金（平成 14 年度長寿科学総合研究事業）  
加齢に伴う脊柱変形の危険因子の解明と防止法の開発研究事業  
分担研究報告書

脊椎変性変形に関係する候補遺伝子研究  
分担研究者 白木正孝 成人病診療研究所所長

研究要旨：脊椎変性変形症は加齢に伴い出現し、患者の日常生活能力を奪う典型的疾患である。我々は本研究班において、この疾患の表現型を定量化する試みを行った。結果的に変性変形に連動する要因として、年齢、職業、L2-4BMD、骨棘面積、および L4/2 density ratio が独立因子として抽出された。特に L4/2 density ratio は骨密度非依存性の変性変形の尺度として有用であった。

#### A. 研究目的

脊椎変性変形症は加齢とともにその発症頻度がまし、患者の ADL や QOL を障害する代表的疾患である。本症はその発症要因、病態の推移などが未だに不明であり、従って、その予防方法や保存的治療も存在しないのが現状である。本症がなぜ、このように放置に近い扱いをうけているかといえ、この疾患の早期診断方法がなく、従って、早期の病態解析が全くなされていないことが大きな原因と考えられる。本症の診断は現状では脊椎レントゲン写真の読影による半定量法に依存している。本研究班はこの問題にまずとり組み、以下の点を明らかにしてきた。

- 1) 脊椎変性変形症の表現型は骨硬化、骨棘形成、椎間板間隙の狭小化という三つの phenotype に分類可能であること。
- 2) これら三つの phenotype は互いに関連しあうこともあるが、基本的には別個の病態を反映している可能性があること。

以上の考察から今年度は特に骨硬化の問題をとりあげ、この phenotype を定量化する試みを行った。

#### B. 研究方法

対象：対象は研究計画を倫理委員会の承認を得た後、同意のもとに成人病診療研究所—骨粗鬆症長期介入研究に登録した 3024 名の婦人例のうち、閉経後婦人を 350 名ランダムにサンプリングした。

これらの例については、脊椎レントゲン撮影、腰椎骨密度(LBMD)測定、骨代謝マーカー測定、血液生化学検査を行った。

1) 脊椎レントゲン計測：デジタル化した脊椎レントゲン写真において、正面像より既報の方法に従い骨棘の計測を行った。本計測は共同研究者の成澤ら（産業医科大学整形外科）により行われた。変性変形の程度の半定量は我々の研究所において Lawrence-Kalligrene らの方法に準じて判定した。今回は腰椎骨密度測定(DXA)結果より L4/L2 density ratio を計算した。本指標を採択した理由は以下の理由による。一般に腰椎骨密度は上部腰椎よりも下部腰椎のほうが高値を示す。これは下部腰椎のほうが圧負荷が大きく、上部腰椎に比べより大きな加速度にたえなければならぬためと考えられている。一方、脊椎変性変形症では変性変形が存在する腰椎の骨密度がその上下の椎体に比べ高値であることが知られている。これは骨硬化を反映している。しかし単に高骨密度であるということだけで、脊椎変性変形症と考える訳にはいかない。なぜならば、変性変形がなくとも高骨密度である例は存在するし、また逆に骨密度が低くても脊椎変性変形症をもつ例も存在するからである。そこで、一つの仮説として、脊椎変性変形症はもともと存在する腰椎の荷重方向への骨密度の増大が生理的範囲を逸脱して、荷重への過剰反応をおこした状態と仮定した。もしも腰椎骨密度の L4/2 density ratio が正常範囲を逸脱して増大することが脊椎変性変形症の程度とよく相関すればこの仮説は正しいことになる。

そこで、前述の 350 名について、L4/2 density

ratio を算出し、その指標に対する種々の影響因子に s つき解析すると共に、半定量法により求めた変性変形の程度と相関関係を検討した。この方法によれば、もともと骨密度が高い例はおそらく L2 も L4 も高いことが予想されるため、比それらの間の比率は一定になり、変性変形とは区別しうる可能性がある。問題となる点は、第一に骨以外の石灰化もしくは脊椎後方成分の石灰化が生じている例では検出力が低下するであろうということと、L2 領域に変性変形が存在する例では検出できないという点であろう。しかし、下部腰椎における骨硬化に関しては少なくとも検出しうる可能性が高いと考えた。

### C. 倫理面への配慮

本研究は前述の成人病診療研究所骨粗鬆症骨折介入研究の一環として行われたものであり、本研究のプロトコルは当研究所倫理委員会にて承認済みである。また本研究への参加者からは文書でサンプルの研究目的使用同意を取得済みである。

### D. 結果

#### 1) 対象の背景。

表 1 には対象の背景を示す。殆どが閉経後婦人が対象であるが、比較のため 18 例の閉経前婦人もふくまれている。

表 1 対象の背景(n=350)

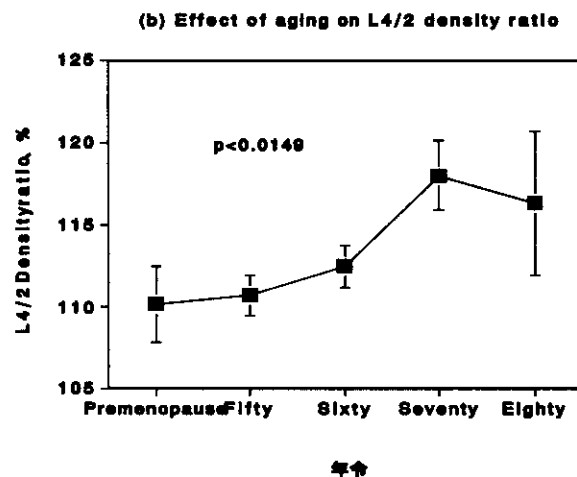
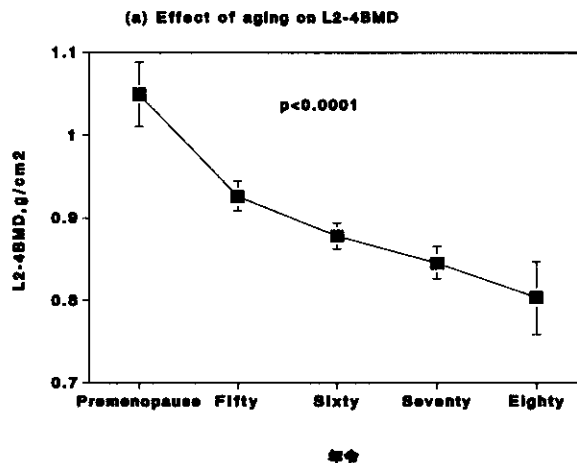
項目	平均±SD
年齢 (才)	65.2±10.2
体重 (Kg)	50.1±8.0
身長 (cm)	150.4±6.3
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	22.1±3.0
閉経後期間 (年)	16.3±9.9
L2-4BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.884±0.186
Z score for LBMD	-0.3±1.4
L4/2 ratio (%)	113.9±16.8

L4/2 density ratio は平均で約 114%であり、L4 の骨密度は L2 のそれに比べ約 14%高値であることを示している。また L2-4BMD の Z Score がほぼ 0 近い値を示していることより、この集団は日本人閉経後女性の平均的な集団であると考えられる。

#### 2) 4/2 density ratio および L2-4BMD に及ぼす加齢の影響。

図 1 (a)および(b)に L2-4BMD と L4/2 density

ratio の加齢変化を示した。図より明らかなように両者は加齢に伴い全く逆の変化を示した。すなわち L4/2 BMD ratio が加齢とともに増加したのに対し L2-4BMD 値は加齢とともに低下した。図 1 L2-4BMD と L4/2 Density ratio に対する加齢の影響。



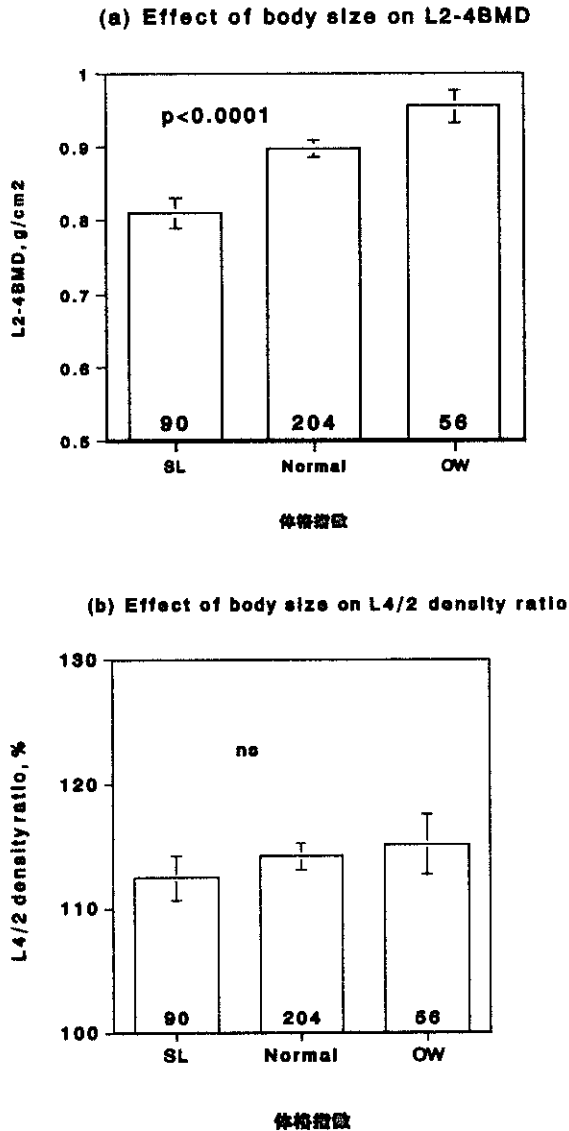
このことは加齢とともに骨密度が低下することは L2-4BMD でよく表現され、一方、圧負荷に対する下部腰椎の応力効果としての骨硬化は加齢とともに増大することを示している。

#### 1) L2-4BMD と L4/2 density ratio に対する体重の影響。

体重は腰椎に対する圧負荷要因としては最も日常的な要因である。一般に変形性関節症が過体重の例によくみられることはよく知られた事実であり、一方骨密度に対しては増大する要因として働くこともよく知られている。図 2 (a)と(b)には L2-4BMD と L4/2Density ratio にたいする体格の影響(BMI)を示した。ここで痩せ(Slender: : SL)は BMI<20kg/m<sup>2</sup>, 正常(Normal)は BMI が 20-

25kg/m<sup>2</sup>, 過体重(over weight; : OW)は BMI が 26Kg/m<sup>2</sup> 以上と規定した。

図 2 L2-4BMD と L4/2 density ratio に対する体格の影響。

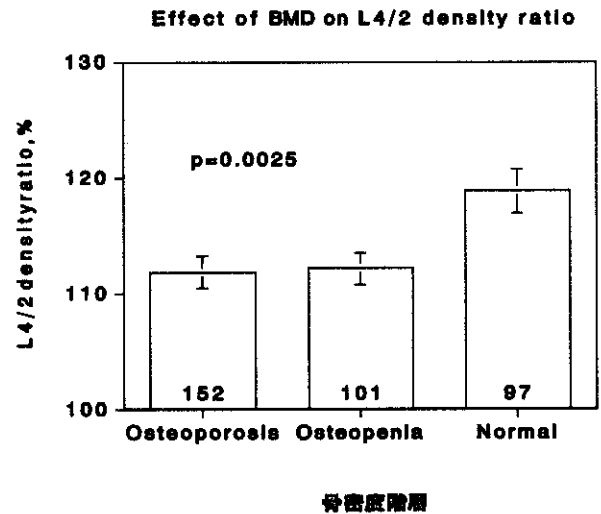


図より明らかなように体格は骨密度(L2-4BMD)に対しては顕著な影響を有し、体格が増大するほど高値となった。一方、濃度比(L4/2 density ratio)は体格の増大とともに増加する傾向を示したが、その増加は有意ではなかった。従って、体格の増大は L2 にも L4 にもほぼ均等に影響し、その濃度比をとると互いに相殺される可能性が示唆された。

4) 4/2 density ratio に対する骨密度の影響。  
骨密度を日本骨代謝学会骨粗鬆症診断基準により骨粗鬆症、骨減少および正常に分類し、各群の L4/2 density ratio を比較した。図より明らかなように正常骨密度例では L4/2 density ratio の顕著な増大がみられた。このことは閉経後婦人にお

いては種々の要因により下部腰椎の骨密度増大を来しやすい例が骨粗鬆症になりにくいという可能性を示しているのかもしれない。

図 3 L4/2 density ratio に対する骨密度の影響。



5) 2-4 BMD および L4/2 density ratio に対する職業の影響。

昨年の報告において、脊椎変性変形には職業の影響が強く観察された。本集団において職業には明らかな cohort 効果が存在する。すなわち比較的高齢の例は農業に従事しているの 비해、比較的低年齢群はその他の職業に従事している場合が多い。高齢者が従事していた農業はかつては極めて労働集約的であり、殆どの作業に機械力を使用することなく、人力で行われていることが多かった。従って農業とその他の職業では労働強度が著しく異なっていることが予想される。しかし、同時に年齢は骨密度に強く影響するので、ここでは対象を年齢と職業(農業およびその他に分類)で区分し比較することにした。表 2 は年齢と職業で分類した、各階層における L2-4BMD と L4/2 density ratio を示す。また産業医科大学において計測された骨棘面積も同時に示した。

興味深いことに L4/2 density ratio や osteophyte 面積は骨密度 (L2-4BMD) とは独立して職業差が存在し、その効果も年齢にある程度依存していた。すなわち、L4/2 density ratio は 60 才代で、osteophyte 面積は 70 才代の農婦で有意の高値を示した。このことは、同一人で経年的に観察すると L4/2 density ratio にしても osteophyte にしても経年的変化を来す可能性を示唆しているものと思われる。今後検討すべき課題であろう。

6) 椎変性変形の程度と L2-4BMD と L4/2 density ratio の変化について。

半定量法にて分類した、脊椎変性変形の程度とこれらの指標につき関連を検討した。表3は単純に変性変形の程度別にみたそれぞれの指標の平均値を示す

表2 年齢調整後職業別 L2-4BMD および L4/2 density ratio (mean±SE)

年齢	職業	年齢	BMI, Kg/m <sup>2</sup>	L2-4BMD, g/cm <sup>2</sup>	L4/2 density ratio, %	Osteophyte
50 n=109	Farmer	54.7±1.4	21.7±0.6	0.88±0.04	116.7±3.1	3.59±0.21
	Others	52.8±0.5	22.1±0.3	0.96±0.02	109.5±1.1	3.29±0.07
	p	ns	ns	ns	ns	ns
60 n=106	Farmer	65.8±0.4	22.4±0.5	0.87±0.02	117.2±2.4	4.02±0.19
	Others	64.2±0.4	22.7±0.3	0.88±0.02	110.0±1.4	3.63±0.11
	p	ns	ns	ns	P=0.0309	ns
70+ n=135	Farmer	74.8±0.5	22.1±0.4	0.82±0.02	116.4±0.3	4.26±0.14
	Others	75.8±0.6	21.4±0.4	0.85±0.03	119.1±2.5	3.92±0.14
	p	ns	ns	ns	ns	0.0435

表3 脊椎変性変形程度と各指標(mean±SE)

変性変形度	年齢 (才)	BMI g/m <sup>2</sup>	L2-4 BMD, g/cm <sup>2</sup>	L4/2 density ratio %	Osteophyte
G1 N=151	60.6±0.8	21.8±0.2	0.857±0.013	109.8±0.9	3.34±0.06
G2 N=106	67.5±0.8	22.3±0.3	0.855±0.017	113.3±1.4	3.76±0.08
G3 N=47	72.2±1.0	22.6±0.4	0.959±0.026	121.7±3.3	4.47±0.15
G4 N=18	72.3±1.2	22.3±0.7	1.086±0.035	131.6±5.6	5.36±0.30
Over all trend (ANOVA)	<0.0001	Ns	<0.0001	<0.0001	<0.0001

表から明らかなごとく変性変形度が進行するほど BMI を除く各指標は増加した。すなわち、変性変形度と年齢は互いに交絡しており、この点を調整する必要を認めた。しかし、そのことを考慮してもなお、L2-4BMD、L4/2 density ratio および Osteophyte は変性変形度とよく連動して変化した。

変性変形に対する年齢要因を調整するため、対象を年代別に分類し、かつ変性変形 Grade 2 以上か以下かで変性変形+または-にそれぞれ分類し、各指標の変性変形有無別の差を年代ごとに検討したのが表 4 である。表 4 からわかるように年代および BMI を調整してもなお、L2-4BMD、L4/2

density ratio および osteophyte 面積は特に高齢群の変性変形をもつもので、もたないものに比べ有意に高値であった。この点についてさらに骨密度階層別に同様の検討をしたものが表 5 である。表 5 では骨密度を骨粗鬆症、骨減少、および正常骨密度の三群に分類し、各群をさらに変性変形の有無で subcategory に区別して各指標を比較した。表から明らかなように L2-4BMD が各群内の変性変形の有無で全く差を示さないのに対し、L4/2 density ratio と osteophyte 面積には明らかな差を認めた。このことは L4/2 density ratio や osteophyte 面積は骨密度を調整すれば感度よく変性変形度を反映しているといえる。

表 4 年齢調整後、変性変形別にみた骨密度(L2-4BMD)、骨硬化度(L4/2density ratio)、および骨棘面積(Osteophyte)の比較。(mean ± SE)

年代	変性変形 有無	Age (yo)	BMI (Kg/m2)	L2-4BMD (g/cm2)	L4/2 density ratio (%)	Osteophyte
50 N=101	-	54.8 ± 0.3	22.1 ± 0.3	0.92 ± 0.02	109.6 ± 1.1	3.29 ± 0.08
	+	56.0 ± 2.1	21.8 ± 1.6	1.06 ± 0.15	142.1 ± 8.5	4.05 ± 0.59
	p	ns	ns	ns	0.0006	ns
60 N=107	-	64.4 ± 0.3	22.5 ± 0.3	0.84 ± 0.01	110.5 ± 1.2	3.49 ± 0.08
	+	65.3 ± 0.5	22.8 ± 0.7	1.04 ± 0.04	120.8 ± 3.9	4.82 ± 0.25
	p	ns	ns	<0.0001	0.0078	<0.0001
70+ N=135	-	75.0 ± 0.4	21.3 ± 0.3	0.77 ± 0.02	113.9 ± 1.9	3.78 ± 0.10
	+	75.8 ± 0.6	22.4 ± 0.5	0.97 ± 0.03	125.0 ± 3.9	4.70 ± 0.18
	p	Ns	Ns	<0.0001	0.0001	<0.0001

表5 骨密度調整後、変性変形有無別の骨密度(L2-4BMD)、骨硬化度(L4/2 density ratio)および osteophyte 面積の比較。(mean±SE)

骨密度階層	変性変形有無	L2-4BMD (g/cm <sup>2</sup> )	L4/2 density ratio (%)	Osteophyte
OP	—	0.73±0.01	108.9±1.3	3.26±0.09
	+	0.71±0.01	115.7±2.5	3.76±0.10
	p	ns	0.0112	0.0011
Osteopenia	—	0.91±0.01	109.8±1.5	3.30±0.09
	+	0.91±0.01	114.0±2.2	4.21±0.17
	p	ns	ns	<0.0001
Normal	—	1.11±0.02	111.9±1.7	3.56±0.11
	+	1.13±0.01	123.0±2.7	4.45±0.14
	p	ns	0.0012	<0.0001

7) 性変形の程度に影響を及ぼす因子の解析 (多変量解析)。

以上の検討から年齢、体格、職業、腰椎骨密度 (L2-4BMD)、腰椎濃度比 (L4/2 BMD) および osteophyte が脊椎変性変形の程度とよく関連することが判明したので、それぞれの因子が変性変形の程度に独立して影響しているか否かをステップワイズ多変量解析にて検討した。変数増加法による回帰分析の結果、変性変形に寄与する独立因子は年齢、職業、L2-4BMD, L4/2 density ratio, osteophyte の5因子であり、体格は有意な交絡因子ではなかった。これら5因子によるR自乗値は0.462であり、約50%の例はこれらの因子のみで変性変形が説明可能であった。このR自乗値はこのような臨床統計としてはかなり高値であり、これらの因子の決定力が極めて高いことが考えられる。

表6 変性変形に寄与する因子解析 (ステップワイズ回帰分析)

要因	回帰係数	SE
切片	-2.89	0.41
Age	0.032	0.004
L2-4BMD	1.37	0.23
Osteophyte	0.25	0.04
Occupation	-0.218	0.08
L4/2 ratio	0.714	0.23

N=322, R=0.688, R<sup>2</sup>=0.465

P<0.0001

#### E 考案

今回の検討において荷重骨である脊椎の変性変形を定量的に表現する方法を考案した。発想の発端は腰椎のように絶えざる圧負荷にさらされた骨部位ではその圧負荷への適応現象とも考えられる密度勾配と骨面積の増大が下部腰椎で生理的にも認められる、という点に着目したことにある。もしも圧負荷に対する過剰適応が存在するのであれば、その場合の下部腰椎の骨密度や骨面積の増大は生理的範囲を超えて増加するはずである。このような現象が将来の変性変形に結びつくのではないかと



と考えた。一般に変性変形をもつ例の腰椎骨密度はもたない例に比べ、より高値であることが知られている。従って単純に腰椎骨密度を変性変形の有無で比較してもよいわけであるが、その場合、腰椎骨密度が低い骨粗鬆症例で変性変形を見のがすおそれがある。そこで、腰椎骨密度よりもより特異性が高い指標を考案する必要があった。今回 L4/2 density ratio という新しい指標を取り上げたのは以下のような理由による。第一に同一人内で上部腰椎と下部腰椎の濃度比をとることで、もともとの骨密度に左右されることなく、圧負荷に対する生体の反応を検討できると考えたからである。このような考え方には前提条件が必要である。すなわち脊椎アラインメントが正常な例にしか、このような考え方が適応できないであろうという条件である。代表的な例外症例は脊椎側彎症である。このような例においては圧負荷のかかる方向が体の正中方向に垂直にはかからず、脊柱の彎曲の短彎側に歪む。従って、脊椎体内の骨密度は不均一となり特に変曲点付近で高骨密度となる。この現象は圧負荷の変化により骨密度分布が異なってくるよい実例であるので、今回の検討仮説に合致した生物現象である。しかし L4/2 density ratio という指標に対しては変動要因として働くので、今回の検討においては極端な側彎症例は除いた。L4/2 density ratio をとりあげた第二の理由は基礎検討により、この指標がもっとも変性変形程度の discrimination が良好であったからである。比較の対照として L4/1 ratio や L3/1 ratio または L3/2 ratio を検討したが、前二者はばらつきが大きく、L3/2 ratio はばらつきは少なかったものの変性変形程度との相関が L4/2 ratio に比べ低かった。今回の検討では腰椎骨密度の測定を行った機器は Lunar 社製 DPX-L または DPX-IQ であったが、本機は測定方式がラインアナリシスであり、この方法では baseline である軟部組織内に骨陰影が混入してくると、そのラインにある椎体の骨密度は正確に計算できない。従って、第 12 肋骨が混入しやすい第一腰椎骨密度は正確には測定できない。これが L1 との濃度比をあきらめた最大の理由である。この点、もしも QDR シリーズのような pixel by pixel analysis であれば L4/1 density ratio のほうがより鋭敏な指標になりうる可能性をもつ。一方、L3/2 density ratio は隣接する二つの椎体濃度の比をとるため、濃度勾配が少なく、ばらつきは少ないものの指標としての鋭敏性に欠けると判断した。本方法の limitation の一つに下部腰椎近傍の骨外石灰化（大動脈石灰化、リンパ節石灰化など）や脊椎後方成分の石灰化（脊椎関節石灰化）が結果に干渉するという点であろう。今回、これらの例は必ず

しも厳密に除外しなかった。このことを防止するためには腰椎の側面方向からの測定を行い、純粋に脊椎体内濃度を検討するべきと考えられたが、側面方向からのスキャンは測定の正確度が確保できず、とくに高齢者では椎体の同定に苦慮する場合はしばしばであり、今回はその利用を断念した。今後、より画像クオリティーがよいソフトが供給されれば、側面スキャンによる濃度比は検討されるべきであろうと考えられた。

以上の imitation はあるものの、L4/2 density ratio は興味深い成績を示した。すなわち、L2-4BMD が加齢とともに減少（図 1a）するのに対し、本指標は逆に増加（図 1b）した。このことは、加齢とともに腰椎全体としては密度が減少するのに対し、密度減少が上部椎体でより激しく起こるか、または下部腰椎では加齢に伴う骨密度減少がより少ないため、結果的に L4/2 density ratio は増加するものと考えられた。実際に L2 BMD と L4 BMD の加齢変化を検討したところ L2 は L3 に比べ加齢に伴う減少速度が約 1.5 倍早かった (data not shown)。従って、L4/2 density ratio の加齢に伴う増加は L2 の減少が急速に生ずるためと考えられた。このことは、おそらく圧負荷が骨形成に働くため、より大きな圧負荷がかかる下部腰椎では加齢に伴う骨密度の減少が抑制されている可能性を示している。このような観点からみると、図 3 の結果は興味深い。すなわち、骨粗鬆症例や骨減少例では L4/2 density ratio が低いのに対し、正常骨密度例ではそれは高値を示した。

このことは骨粗鬆症やその前段階である骨減少例においては圧負荷に対する骨形成能が低下している可能性があることを示しているのかもしれない。骨粗鬆症においては骨吸収の亢進と骨形成の低下がその病因として指摘されているが、L4/2 density ratio はその点でも有力な指標となりうる可能性をもつものと考えられる。骨粗鬆症において変性変形が合併した場合、このような例骨密度は低いので、骨密度単独では変性変化を評価できない。しかし L4/2 density ratio はこのような例でも変性変形をよく評価しうる。このことは表 5 に示した。すなわち骨粗鬆症、骨減少、および骨密度正常の三群内でさらに変性変形の有無別に各指標を検討したところ、osteophyte 面積と L4/2 density ratio が群内で変性変形の有無をよく鑑別できた。一方 L2-4BMD ではこの変化は鑑別できなかったため、少なくとも骨密度を調整すると L4/2 density ratio や osteophyte 面積のほうが骨密度よりも感度のよい指標であることになる。表 6 にはステップワイス回帰分析により、どのような指標が変性変形に対し有意かつ独立した

要因であるかどうかを検討した。結果的に年齢、職業、L2-4BMD, Osteophyte 面積、および L4/2 density ratio の 5 要因が独立した predictor であることが判明した。今後はこれら要因を解析することで、変性変形の定量的解析が行える可能性がある。またその病態解析に際しては、これらの指標それぞれに対する寄与因子を見出すことが今後の目標となることが明らかである。

従来より、加齢、高骨密度、骨棘、などは変性変形との関連が想像されていたが、定量的にこれらの相互の関連を検証したのは今回の検討が初めてである。

## F. 結論

脊椎の変性変形を定量化するため、osteophyte 面積を測定し、また L4/2 density ratio を腰椎の DXA 測定の結果から算出した。結果的に年齢、L2-4BMD, osteophyte 面積、職業および L4/2 density ratio の 5 因子がそれぞれ独立に変性変形程度に寄与していると考えられた。

## G. 研究発表

平成15年度の関連学会にて発表予定。

## H. 知的財産登録

現在その予定なし。

厚生労働科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業)  
分担研究報告書

加齢に伴う脊柱変形の危険因子解明と防止法の開発

分担研究者 細井孝之 東京都老人医療センター医長

研究要旨： 高齢者の脊柱変形をもたらす骨粗鬆症と変形性脊椎症は複数の遺伝的素因と環境因子との相互作用の中で発症する多因子性疾患である。これらの遺伝的素因を解析する方法として、これらの疾患。あるいはそれぞれの疾患における重要な臨床指標と骨代謝関連遺伝子の多型性との関連を検討することが有用である。本年度は骨量との関連が見出された遺伝子多型性の生物学的意義を確認するための検討を行なった。

A. 研究目的

候補遺伝子の多型性と脊柱変形の各種パラメーターとの関連を解析し、脊柱変形における遺伝的素因の検討をおこなう。今回は、これまでの検討で変形性脊椎症との関連が示されていた、eNOSに加えて、代表的な老化関連遺伝子である *klotho*、ビタミン K を補酵素とする  $\gamma$ -glutamylcarboxylase について検討する。*klotho* については、microsatellite polymorphism と変形性脊椎症との関連 (Bone 31:37-42, 2002)、single nucleotide polymorphisms (SNPs) と骨量との関連 (J Bone Mineral Res 17:1744-1752, 2002) は報告しているが、脊柱変形と SNPs との関連は検討していない。骨量との関連が認められた SNPs と脊柱変形との関連を検討する。ビタミン K は骨代謝との関連に加えて、異所性石灰化との関連も示唆されている。ビタミン K を補酵素とするタンパク質である  $\gamma$ -glutamyl carboxylase (VKOR) を脊柱変形における候補遺伝子として取り上げ、degenerative HPLC (dHPLC) による SNP の検出とアレル型のタイピングを行ない、脊柱変形との関連を検討する。

B. 方法

①対象：東京都老人医療センター骨粗鬆症外来を受診し、文書による承諾書を得た患者。②遺伝子解析：eNOS; TaqMan PCR法 *klotho*; TaqMan PCR法 (G-395A, C1818T)

VKOR; dHPLCによるSNPの検索とタイピング。  
③脊柱変形の評価：産業医大整形外科成澤先生らのチームによる。

C. 結果と考察

VKOR については、exon 8 と9における既存の SNP が確認できたことに加え、exon 1 に新たな SNP が検出された。これらのSNPs と *klotho* ならびに eNOS のSNPs について、脊柱変形のパラメーターとの関連が解析された。この結果については別項で報告されている。

D. 結論

脊柱変形の遺伝的素因を解析するための候補遺伝子多型を検索し新規SNPも含めてタイピングを行った。

E. 健康危険情報

今年度の研究においては健康危険情報は得られなかった。

## F. 研究発表

### 論文発表

1. Iwasaki H, Emi M, Ezura Y, Ishida R, Kajita M, Kodaira M, Yoshida H, Suzuki T, Hosoi T, Inoue S, Shiraki M, Swensen J, Orimo H. Association of a Trp16Ser variation in the gonadotropin releasing hormone signal peptide with bone mineral density, revealed by SNP-dependent PCR typing. *Bone*. 2003 Feb;32(2):185-90.
2. Ishida R, Emi M, Ezura Y, Iwasaki H, Yoshida H, Suzuki T, Hosoi T, Inoue S, Shiraki M, Ito H, Orimo H. Association of a haplotype (196Phe/532Ser) in the interleukin-1-receptor-associated kinase (IRAK1) gene with low radial bone mineral density in two independent populations. *J Bone Miner Res*. 2003 Mar;18(3):419-23.
3. Hosoi T, Yoda T, Yamaguchi M, Amano H, Orimo H Elderly women with oral exostoses had higher bone mineral density. *J Bone Miner Metab*. 2003;21(2):120-2.
4. Kajita M, Ezura Y, Iwasaki H, Ishida R, Yoshida H, Kodaira M, Suzuki T, Hosoi T, Inoue S, Shiraki M, Orimo H, Emi M Association of the -381T/C promoter variation of the brain natriuretic peptide gene with low bone-mineral density and rapid postmenopausal bone loss. *J Hum Genet*. 2003;48(2):77-81.
5. Kazama H, Usui S, Okazaki M, Hosoi T, Ito H, Orimo H. Effects of bezafibrate and pravastatin on remnant-like lipoprotein particles and lipoprotein subclasses in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003 Mar;59(3):181-9
6. Ota N, Nakajima T, Ezura Y, Iwasaki H, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, Inoue S, Ito H, Emi M. Association of a single nucleotide variant in the human tumour necrosis factor alpha promoter region with decreased bone mineral density. *Ann Hum Biol*. 2002 Sep-Oct;29(5):550-8.
7. Kawano K, Ogata N, Chiano M, Molloy H, Kleyn P, Spector TD, Uchida M, Hosoi T, Suzuki T, Orimo H, Inoue S, Nabeshima Y, Nakamura K, Kuro-o M, Kawaguchi H. Klotho gene polymorphisms associated with bone density of aged postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2002 Oct;17(10):1744-51.
8. Ogata N, Koshizuka Y, Miura T, Iwasaki M, Hosoi T, Shiraki M, Seichi A, Nakamura K, Kawaguchi H. Association of bone metabolism regulatory factor gene polymorphisms with susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine and its severity. *Spine*. 2002 Aug 15;27(16):1765-71.
9. Ohmori H, Makita Y, Funamizu M, Hirooka K, Hosoi T, Orimo H, Suzuki T, Ikari K, Nakajima T, Inoue I, Hata A. Linkage and association analyses of the osteoprotegerin gene locus with human osteoporosis. *J Hum Genet*. 2002;47(8):400-6
10. Ogata N, Matsumura Y, Shiraki M, Kawano K, Koshizuka Y, Hosoi T, Nakamura K, Kuro-O M, Kawaguchi H polymorphism with bone density and spondylosis of the lumbar spine in postmenopausal women. *Bone*. 2002 Jul;31(1):37-42
11. Urano T, Saito T, Tsukui T, Fujita M, Hosoi T, Muramatsu M, Ouchi Y, Inoue S. Efp targets 14-3-3 sigma for proteolysis and promotes breast tumour growth. *Nature*. 2002 Jun 20;417(6891):871-5
12. Horiuchi T, Onouchi T, Inoue J, Shionoiri A, Hosoi T, Orimo H A strategy for the management of elderly women with primary hyperparathyroidism: a comparison of etidronate therapy with parathyroidectomy. *Gerontology*. 2002 Mar-Apr;48(2):103-8.
13. Hashimoto M, Miyao M, Akishita M, Hosoi T, Toba K, Kozaki K, Yoshizumi M, Ouchi Y Effects of long-term and reduced-dose hormone replacement therapy on endothelial function and intima-media thickness in postmenopausal women. *Menopause*. 2002 Jan-Feb;9(1):58-64