

査と同様全病院を対象として調査を行った。その結果、各層における対象施設数に対する回答施設数の比を報告患者数の合計に乗じて年間発生数を 76,600 人と推計した。また、第 2 回目の調査では第 1 回目の調査方法の精度についても評価し、初回調査方法はほぼ妥当な結果が得られていることも証明した。

さらに 5 年後の 1997 年には、厚生省長寿科学総合研究事業骨粗鬆症予防のための危険因子に関する研究班（班長：折茂 肇）では、第 2 回調査と全く同様の方法を用いて、再々度全国調査を行った<sup>5, 6)</sup>。その結果、年間発生数は 92,400 人と推計され、10 年前よりも 39,400 人、5 年前よりも 15,800 人増加していた。

今回、第 4 回目の大腿骨頸部骨折の全国調査を実施した。第 4 回調査では、ブロック別の標準化発生比の精度をさらに高めるため、病院については全数調査を実施し、これまでの調査と比較できるよう Neyman の最適割付法による全国調査用の抽出を合わせて行った。

## B. 研究方法

今回の調査は全国の患者数推計については、第 2 回、第 3 回の調査に準拠して、全国の病院および有床診療所を病床数の規模により層化した。但し、20 床以上 50 床未満についてはこれまで 3 区分にしていたが、病床数が少ないことから 1 区分にまとめ、全体で 13 層と

した。200 床以上の病院については全病院を対象とし、200 床未満の病院および有床診療所については標準誤差が最も小さくなる Neyman の最適割付法により抽出率を決定し、対象施設を選定した。ブロック別推計には、病院については全病院を対象とし、有床診療所については全国の抽出率を用いた。全国およびブロック別の両方の推計を行うことにより、これまでの推計との比較を可能にしながら、より精度の高いブロック別の推計を可能にした。

調査項目は、2002 年 1 月 1 日より 12 月 31 日までの各施設における大腿骨頸部骨折の新規患者の総数、性別、年齢および居住地（県内、県外）である。調査は郵送法により行った。新発生患者数の推計は各層における対象施設数に対する回答施設数の比を報告患者数の合計に乗じたものの総和を新発生患者数とした。発生率の地域差は、地域を国民栄養調査の分類に従い、全国を 12 のブロックに分け、標準化発生比を算出した。

標準化発生比の算出は新発生患者数の推計値から性・年齢階級別発生率を算出し、ブロック別の性・年齢階級別人口との積で期待発生数を求め、推計値との比から標準化発生比を算出した。ブロック別の年齢階級別人口は、2000 年の国勢調査人口を用いた。

## C. 結果と考察

全国で整形外科を標榜する 9,422 施設のう

ち、対象として全国推計用に抽出されたのは、4,500 施設、ブロック別推計に抽出されたのは 5,919 施設であった。最終的に 3,723 施設より回答があり、回収率は 62.9%であった。

1987 年の推計では、抽出方法の限界から、95%信頼区間を計算することができなかったが、3 県の全数調査から 200 床以上の病院受診率を 50%と仮定して全国推計を行い、年間発生数は 53,200 人(男 13,500 人、女 39,700 人)と推定された。1992 年以降は 95%信頼区間の計算も可能となった。1992 年には総数 76,600 人(男 18,700 人、女 57,900 人)、1997 年には 92,400 人、2002 年には 117,900 人と推計された。男では、1997 年には 5 年前に比べ 2,100 人増え 20,800 人、2002 年にはさらに 4,500 人増え 25,300 人と推計された。女では 1997 年には 5 年前に比べ 13,700 人増え 71,600 人、2002 年にはさらに 21,000 人増え 92,600 人と推計された。男女とも増加率が上昇しており、増加傾向に歯止めが掛かかっていない結果となった。

これを性・年齢別にみると、年間発生率(対 1 万人)は、40 歳未満 0.21(男 0.30、女 0.12)、40 代 0.71(男 0.84、女 0.58)、50 代 2.11(男 1.82、女 2.41)、60 代 7.27(男 5.26、女 9.11)、70 代 30.99(男 17.49、女 41.07)、80 代 123.37(男 58.61、女 156.10)、90 歳以上 271.70(男 141.39、女 315.52)となった。前 2 回に比べ、男では 90 歳以上で、女では 80 歳以上で高く

なっていた。

地域差を標準化発生比で見ると、全国平均よりも 10%以上高かった地域は、男では四国、南九州、北九州で、女では北九州、南九州、近畿、四国であった。

本調査は、5 年ごとに基本的に同じ方法論を用いてわが国の大腿骨頸部骨折の発生頻度を推計しており、疾病予防戦略を立てる上できわめて貴重な資料といえる。今回は、第 4 回目の調査として、第 2 回、第 3 回調査と同様に Neyman の最適割付法を用いて精度の高い推定を行った。また、ブロック別の推計用として、これまでよりもさらに精度を上げるために、病院については全数調査を実施した。これにより、これまでの調査と比較可能性を保ちながら、ブロック別の推計においてもこれまでよりもさらに精度を上げることが可能となった。その結果、40 代までは男性の方が高い傾向にあり、60 歳以降は女性が男性の 2 倍以上高率に発生する傾向はこれまでの結果と同様であった。しかし、患者数では初回に比べ、第 2 回 1.4 倍、第 3 回 1.7 倍、今回は 2.2 倍まで増加した。性別にみると、15 年間で男は 1.9 倍の増加に対し、女では 2.3 倍増加し、総数で女性が男性の約 3.7 倍となり、格差は拡大した。

発生率をみると、男では 90 歳以上、女では 80 歳以上の高齢者で増加しており、患者総数の増加には、人口の高齢化の影響と共に 80 歳

以上の高齢者の発生率自体の上昇が関与していることがわかった。

80 歳よりも若い世代においては、今回もこれまでとほぼ同じ発生率となっており、骨粗鬆症検診の普及や転倒予防の啓蒙、環境改善がこの世代の増加防止に寄与しているものと考えられる。しかしながら、80 歳以上で前回よりもさらに上昇傾向がみられたことには注目する必要がある。80 歳以上の高齢者に対しては、消極的な転倒予防や環境改善だけでなく、積極的な筋力の増強、家庭でできる運動の普及などこれまでよりももっと積極的な予防介入方策を導入する必要があると考える。

地域差でみると、ブロックの推計精度を上げても、これまでに調査と同様に西高東低の傾向がみられた。男女とも北海道、東北、関東の骨折数が少なく、四国、九州、近畿の骨折数が多い。各地域に特有な食生活やライフスタイルが関与しているものと考えられる。今後、栄養調査等のデータをさらに検討することにより要因の解明をすすめる予定である。

〔謝辞〕 今回の調査にあたって、ご多忙中にもかかわらず多大のご協力をいただいた全国の医療機関の先生方に深く感謝の意を表す。また、本研究の一部は骨粗鬆症財団研究助成金を受けて実施致した（共同研究者：福島靖正(熊本市)、橋本勉(和歌山県赤十字血液センター)、吉村典子(和歌山県立医科大学)）。

#### 〔文 献〕

- 1) 折茂肇, 他: 日本醫事新報 No. 3420:43-45, 1989.
- 2) Orimo, H., et al.: J. Bone Miner. Metab. 9(Suppl): 15-19, 1991.
- 3) 折茂肇, 他: 日本醫事新報 No. 3707:27-30, 1995.
- 4) Orimo, H., et al.: J. Bone Miner. Metab. 15:100-106, 1997.
- 5) 折茂肇, 他: 日本醫事新報 No. 3916:46-49, 1999.
- 6) Orimo, H., et al.: J. Bone Miner. Metab. 18:126-131, 2000.

## 厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

## 分担研究報告書

*in vivo* 骨梁構造評価法の検討

分担研究者 伊東昌子（長崎大学医学部・歯学部附属病院 放射線部助教授）

## 研究要旨

今年度の研究成果は、1) 2年間で構築した臨床用 CT による *in vivo* 脊椎骨梁構造解析システムを用いてヒト脊椎の骨梁構造解析パラメータを求めたが、そのパラメータは骨折リスク評価において骨密度測定法 DXA に比べて著しく優れていることを確認した。2) 簡便な *in vivo* 骨梁構造解析法として、二次元 CT 画像データを用いて同様の解析を施行し、女性ホルモン欠乏状態や運動における骨梁構造の変化を捉えることができた。3) 骨質を反映していると考えられている超音波測定法(QUS)が、どの程度に骨梁構造を反映しているかを検討した。QUS は骨密度測定法 DXA 以上に骨梁構造と強く関連していた。

## はじめに

2000 年 NIH コンセンサスステートメントでは、骨強度は骨密度と骨質（骨梁構造、骨代謝回転、微小骨折、石灰化など）の両方で規定されていると提唱された。しかし現状として、骨粗鬆症に伴う骨折リスクの評価は骨密度測定のみで行われ、骨質を *in vivo* で評価する手法は確立されていない。骨質の1つで骨強度に大きく関与すると考えられている骨梁構造は、数年来マイクロCTを用いて *in vitro* において評価されてきたが、それで得られるデータは骨強度と有意に相関することが知られている。マイクロCTと同等の空間分解能を臨床において *in vivo* に得ることは不可能であるが、近年の多列検出器を有する臨床用CT装置(multi-detector row CT=MDCT)では、かなり高い解像度の画像を提供できるようになった。そこで、我々は、MDCTを用いてヒト脊椎骨梁構造を描出し、そのデータの解析によって骨梁構造パラメータを算出する

システムを構築した。これには被曝線量の算出も行い、臨床検査として問題がないことも確認した。次いでこの方法により求めた骨梁構造パラメータがどのように臨床に役立つかを、骨折リスクの評価において検討した。

また臨床における汎用性を考慮すると、より簡便な評価法として二次元CT画像の解析は望ましい。通常の診療用CT装置で得られる200ミクロンの解像度を持つCT画像を、上記の解析システムを用いて解析し、骨梁構造の変化を捉えることが可能であるか否かを検討した。これには、高校女子生徒のバスケットおよび駅伝選手（いずれも全国レベル）と運動部に属していない女子生徒の下腿（脛骨）CT画像を得て解析し、運動による骨梁構造の違いを検討した。また閉経前・後のママさんバレー選手においても同様な脛骨CT画像を得て解析し、女性ホルモンの有無における運動の骨梁構造に対する効果を検討した。これより二次元CT画像による骨梁構造の評

価法が、変化を抽出する感度を有するか否かを知ることができる。

最後の検討として、超音波測定法 QUS と骨梁構造の関係を検討した。QUS は骨密度のほかに骨質を反映した測定法として知られ、広く普及しているが、どの程度に骨梁構造を反映しているかについては、これまで抽出骨を用いた報告のみで臨床例での報告はない。そこで、QUS、踵骨 DXA と踵骨 CT 画像が得られた女性データを対象に、QUS 値と骨密度・骨梁構造パラメーターの関係を検討した。これは今後 QUS 値の解釈において何らかの示唆を与える可能性も考えられる。

#### 研究テーマ 1 : ヒト脊椎骨梁構造解析の骨折リスク評価における有用性

##### A. 目的

ヒト脊椎海綿骨の高解像度 CT 画像に基づいて得られた骨梁構造パラメーターの、脊椎圧迫骨折予知における有用性を検討する。

##### B. 研究方法

###### 1. データ収集

データの収集には、臨床用の多列検出器を有する CT 装置 multi-detector row CT (MDCT) ( Siemens SOMATOM Plus4 VolumeZoom) を用いた。最適撮像条件を決定するために、ヒト抽出椎体を対象に臨床用 CT とマイクロ CT でスキャンし、臨床用 CT 画像およびデータを gold standard であるマイクロ CT と対比させた。これには被曝線量の検討も同時に行った (以上は前年度までに施行)。空間分解能 200 x 200 x 300 ミクロンの骨梁構造 CT 三次元画像の取得を可能にした。

###### 2. データ解析

CT データは DICOM データとして PC に取り込み、RATOC 社製 TRI/3D-BON を用いて、種々の画像処理 (Median filter、ROI 設定、binarization、labeling) を行ったのち、骨梁構造解析を行った。

骨梁構造パラメーターには、次のようなものがある。

bone volume fraction (BV/TV) : 組織量に対する骨量比

trabecular thickness (Tb.Th) : 骨梁幅

trabecular number (Tb.N) : 骨梁数

trabecular separation (Tb.Sp) : 骨梁間距離

fractal dimension : 構造の複雑性を定量化するパラメーター

structure model index (SMI) : 骨梁形態 (棒状・板状) を定量化するパラメーター

degree of anisotropy (DA) : 骨梁の方向性を定量化するパラメーター

connectivity density : 骨梁の連結性を定量化するパラメーター

###### 3. 被曝線量の検討

被曝線量を検討した結果は、120kV、300mAs の撮像条件で Slice-thickness=0.5mm、scan-length=71mm、feed/rotation=0.8 で、CTDI<sub>w</sub>: weighted computed tomography dose index は、77.1 mGy であった。

###### 4. 骨折リスク評価の検討の対象と方法

臨床における骨梁構造パラメーターの有用性の検討として、骨折リスクの評価能に関して、従来の骨密度測定法 DXA と比較した。対象は、閉経後女性で骨折既往のない 33 例

と骨折既往のある 31 例であり、第 3 腰椎を MDCT で撮像し、上記方法で骨梁構造パラメーターを求めた。

#### C. 結果

図 1 に骨折のない 62 歳女性（左）と骨折既往のある 62 歳女性（右）の腰椎の二次元・三次元骨梁構造 CT 画像を示す。

骨折リスクの評価能を 1 標準偏差の変化量におけるオッズ比として算出した結果を表 1 に示す。骨密度測定法 DXA のオッズ比は 5.3 (95%IC: 1.6-17.2) であるのに対して、SMI 13.9 (3.5-55.3), Euler 数 13.7 (4.1-46.7), Tb.N 6.8 (2.2-20.5), Tb.Sp 6.8 (2.2-20.5), Tb.Th 4.0 (1.1-14.3), DA 4.0 (1.1-14.3) であり、DXA より高値を示すパラメーターも多く認められ、骨折リスクの評価には DXA 以上の感度であることが示された。

また、骨梁構造パラメーターと骨密度を併用すると、オッズ比は改善され、臨床において十分有用であると考えられた。

#### D. 考察と結論

臨床用 CT 装置を用いてヒト脊椎骨梁構造を 200x200x300 ミクロンで描出可能であった。本法による脊椎骨梁構造解析は、脊椎 DXA 以上のオッズ比を示した。その中でも、SMI と Euler 数が高いオッズ比を示した。

被曝線量 (CTDI<sub>w</sub>=146.7) は決して低くないが、閉経後女性においての年 1～2 回の検査では問題ないとする。

#### 研究テーマ 2: 2D *in vivo* 骨梁構造計測の有用性

(1) 運動負荷の違いによる皮質骨と海綿骨骨梁構造の差異について

##### A. 目的

より簡便に骨梁構造解析の可能な方法を検討する目的で、200 ミクロンの高解像度二次元 CT 画像に対して二次元的解析により得たパラメーターが、骨梁構造の変化を反映しうるかを検討する。

##### B. 対象と方法

高校女子生徒 (16～17 歳) で、全国レベルのバスケットボール選手 10 名 (体重: 60.4 ± 5.1、身長: 166.1 ± 4.9)、同じく全国レベルの駅伝選手 8 名 (体重: 47.9 ± 3.4、身長: 160.5 ± 4.2) と、対照群として運動部に所属していない女子 9 名 (体重: 49.3 ± 4.0、身長: 156.2 ± 5.3) を研究対象とした。脛骨骨密度を pQCT (Densiscan 1000) で測定し、遠位部海綿骨骨密度と骨幹部皮質骨主体の全骨密度を求め、遠位部と骨幹部脛骨 CT 画像 (解像度 200 ミクロン) も同時に得た。また、脊椎・踵骨 DXA および踵骨超音波測定 QUS も施行した。腰椎 DXA は EXP5000、踵骨 DXA は HeelScan、QUS は A-1000+ を用いて測定した。

##### C. 結果

図 2 に、3 群の代表的な二次元 CT 画像を示す。表 2 に、3 群の骨密度・超音波測定値、2D 骨梁構造パラメーターの比較とその有意差を示す。

バスケットボール選手は対照群に比べて、皮質骨面積、全骨面積が有意に大きく、駅伝選手に比べて皮質骨面積が有意に大きかった。海綿骨骨梁構造に対しては、バスケットボール選手は対照群に比べて、構造がより複雑 (緻密) で骨梁連結性が高かった。駅伝選手より

も骨梁連結性が高かった。駅伝選手はコントロールに対して、皮質骨面積が有意に大きかったが、その他には有意の変化は認めなかった。

#### D. 考察

バスケットボールも駅伝も下腿に強い負荷のかかるスポーツであるが、衝撃の程度に差があると考えられ、より衝撃の強いバスケットボールの方が皮質骨面積、全骨面積は有意に大きく、また骨梁構造の複雑性や連結性に優れていた。

#### (2) 皮質骨と海綿骨骨梁構造における女性ホルモンと運動の影響について

##### A. 目的

より簡易に骨梁構造解析の可能な方法を検討する目的で、200 ミクロンの高解像度 CT 画像に対して、二次元的解析を行い求められたパラメーターが骨梁構造の変化を反映しうるか否かを検討する。女性ホルモンの存在の有無によって、運動の骨梁構造に対する効果の差違を検討する。

##### B. 対象と方法

ママさんバレーボール選手 34名と年齢・月経状況を一致させた対照女性 44名を研究の対象とした。ママさんバレーボール選手には閉経前女性 24名・閉経後女性 10名、対照女性には閉経前女性 21名・閉経後女性 23名を含む。対照群の年齢、閉経時年齢、体重、身長を表 3 に示す。

脛骨骨密度を pQCT (Densiscan 1000) で測定し、遠位部海綿骨骨密度と骨幹部皮質骨主体の全骨密度を求め、遠位部と骨幹部脛骨 CT 画像(解像度 200 ミクロン)も同時に得た。また、脊椎・踵骨 DXA および踵骨超音波測定 QUS も施行した。腰椎 DXA は EXP5000、踵

骨 DXA は HeelScan、QUS は A-1000+ による。

#### C. 結果

図 3 に、3 群の代表的な二次元 CT 画像を示す。表 3 に、3 群の骨密度・超音波測定値、2D 骨梁構造パラメーターの比較とその有意差を示す。

エストロゲン欠乏状態における骨梁構造の変化を知るために、つまり閉経前対照群と閉経後対照群を比較すると、エストロゲン欠乏状態では腰椎・踵骨 BMD、QUS の低下のほか、骨梁連結性の低下、皮質骨面積の減少がみられた。エストロゲンの存在下において、バレーボール運動は腰椎・踵骨 BMD、QUS を増加させ、骨梁構造の複雑性・連結性を向上させた。皮質骨・全骨面積を有意に増加させ、外骨膜性骨増加をきたしたと考えられた。また、エストロゲン欠乏状態においてのバレーボール運動の刺激は、BV/TV、骨梁幅、骨梁連結性を維持し、皮質骨幅も維持した。

#### D. 考察

エストロゲン欠乏によって皮質骨内膜面に骨吸収が生じて皮質骨は菲薄化する。運動負荷は、エストロゲンの存在下で外膜面に骨形成を促進し、エストロゲン欠乏状況では、内膜面骨吸収を抑制すると考えられる。

エストロゲン欠乏によって骨梁連結性は低下する。運動負荷は、エストロゲンの存在下で連結性を増加させ、エストロゲン欠乏状況では維持に働く。骨梁幅の減少予防にも働くと考えられた。

今回は直接荷重が強くなる頸骨を対象に検討したが、それよりも荷重の程度の低い脊椎などでは同じような効果が得られるか否かについては、今後検討の必要がある。

### <研究テーマ2についてのまとめ>

*In vivo* 二次元骨梁構造解析（空間分解能 200 ミクロン）により、臨床的な骨梁構造の評価は可能と考えられた。ただし、その限界については確認されていない。

### 研究テーマ3:超音波測定法 QUS は本当に骨梁構造を反映しているか

#### A. 目的

QUS は骨質を反映した測定値といわれているが、それを裏付ける *in vivo* データは少ない。われわれは QUS 値と踵骨 MDCT による骨梁構造パラメータの関係を求め、QUS は骨梁構造をどのように反映しているかについて検討した。

#### B. 対象と方法

閉経後女性 65 例（年齢 65.3±6.4、閉経時年齢 49.8±3.5）を対象に、踵骨を MDCT (200x200x300 micron)により水平断像を求め、脊椎での評価と同様に三次元骨梁構造を解析した。求めた骨梁構造パラメータは前述した通りである。MDCT による踵骨計測部位を図 4 に示す。同時に、踵骨 DXA と超音波測定 QUS も求めた。踵骨 DXA は HeelScan、QUS は A-1000+による。

#### C. 結果

##### (1) 骨梁構造パラメータと年齢・体重との相関（表 4）

踵骨 BMD、QUS とも加齢、体重と有意に強く相関するが、踵骨骨梁構造のなかで、BV/TV、骨梁形態(SMI) が加齢変化をよく反映していた。一方、BV/TV、骨梁の複雑性(fractal dimension)、骨梁形態(SMI)は体重と相関が高かった。

##### (2) 踵骨骨密度、QUS と骨梁構造パラメータとの相関（表 5）

どの測定値も BV/TV とは  $r=0.5$  くらいの相関であった。全体的に、QUS parameter が骨梁構造との相関が高く、中でも、SMI との相関が高かった。つまり骨梁の形態と関係が強いと考えられる。Stepwise regression の結果では、BMD は Tb.Sp, Euler 数, BV/TV が有意に相関し、stiffness は SMI, Tb.Th, Euler 数と、SOS は SMI, Euler 数、BUA は fractal dimension, SMI, Euler 数と有意の相関を示した。

#### D. 考察

QUS パラメータの方が DXA よりも、骨梁構造との相関が高かった。DXA は骨梁間距離、Euler 数、BV/TV と、QUS は SMI、Euler 数と相関が高かった。これらの結果は、今後 QUS 値の解釈において、何らかの示唆を与える可能性が考えられる。

#### E. まとめ

二次元・三次元 CT 画像を用いた骨梁構造解析を行った。得られるパラメータは臨床応用可能であり、骨折リスクの評価や骨病態説明において有用であると考えられる。

骨梁構造解析には、MRI を用いた方法が国際的に報告されているが、信号—ノイズ比が小さいため、データ収集に時間がかかること、表面コイルを用いてデータ収集が可能であるが、躯幹骨のような深部の骨評価ができない、という問題点がある。その点において、CT ではデータ収集時間は著しく短く、躯幹骨の描出は問題なく可能である。CT を用いた骨梁構造解析法の問題としては被曝線量が比較的高いことにある。しかしながら骨粗鬆症を対象とした場合、閉経後女性において年 1-2 回の検査としては問題ないとする。



今後CT装置の機能は著しく進歩することが予想され、それに伴って今以上の空間分解能の画像を得、かつ被曝線量を低下させることが可能となると期待される。今後本システムは、治療効果判定など長期経過観察において、骨密度測定法以上の感度で骨変化を捉えることができるか検討していく必要がある。さらに今後の研究課題として、三次元骨梁構造データを有限要素解析に適用することで、直接的に骨強度を算出することも可能となるであろう。

#### 研究発表

##### (1) 出版物

伊東昌子. 骨梁構造と骨力学特性についての最近の知見. 整形外科 55: 833-840, 2004

##### (2) 口頭発表

#### 国際学会

1) Masako Ito, Akifumi Nishida, Masataka Uetani, et al.

Assessment of bone quality using micro-CT and synchrotron CT. The 8<sup>th</sup> Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy, 2004.6.7, Kanazawa

2) Masako Ito

Assessment of bone structure and biomechanical strength using micro-CT. The 1<sup>st</sup> Asian Pacific Congress of Bone Morphometry, 2004.6.26, Kagawa

3) Masako Ito, Kyoji Ikeda, Masahiko Nishiguchi, et al.

Multi-detector row CT imaging of vertebral microstructure for evaluation of fracture risk. Second Joint Meeting of the European

Calcified Tissue Society and the International Bone and Mineral Society, 25-29 June 2005, Geneva, Switzerland (発表予定)

#### 国内学会

1) 伊東昌子

骨粗鬆症の画像診断

第23回日本画像医学会、  
2004.2.20、東京

2) 伊東昌子、西田暁史、河野順、ほか

骨折リスク評価における *in vivo* 骨梁構造計測の検討

第22回日本骨代謝学会学術集会、2004.8.6、大阪

#### 国内における一般講演

1) 伊東昌子

骨量・骨質からみた骨力学特性の研究

第4回岐阜骨粗鬆症フォーラム、  
2004.2.28、岐阜

2) 伊東昌子

骨粗鬆症における骨量と骨質とは  
第3回骨折予防とビスフォスフォネート研究会、2004.8.26、高知

3) 伊東昌子

骨粗鬆症治療からみた骨量と骨質  
について

第12回香川オステオポロシス研究会、2004.11.13、高松

知的財産権の出願・登録状況

特になし

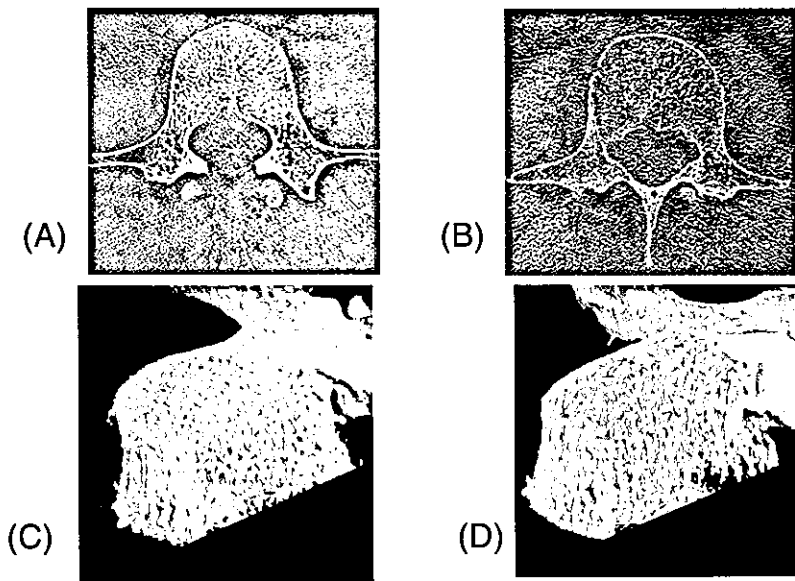


図1 MDCTで撮像したヒト第3腰椎二次元(A,B)・三次元画像(C,D)  
左は骨折のない62歳女性(A,C)、右は胸椎圧迫骨折を有する62歳女性(B,D)  
画像は200 X 200 X 300ミクロンの空間分解能を有する

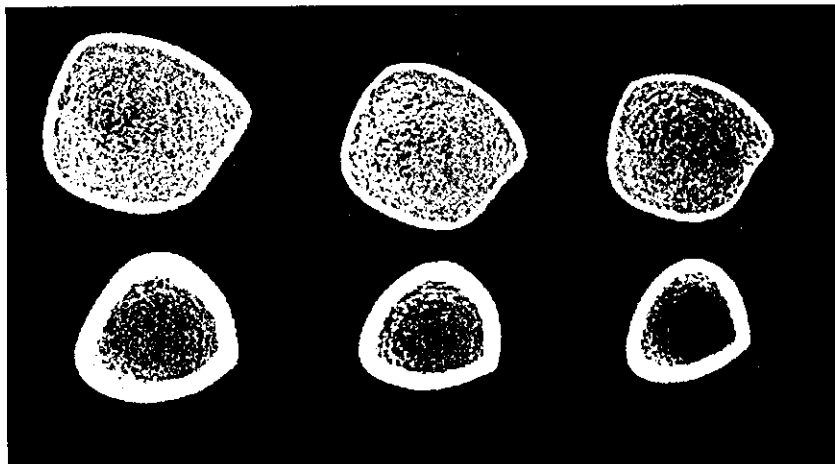


図2 バスケットボール選手、駅伝選手、対照群の脛骨CT画像  
海綿骨ネットワーク・皮質骨幅・骨サイズが評価可能である

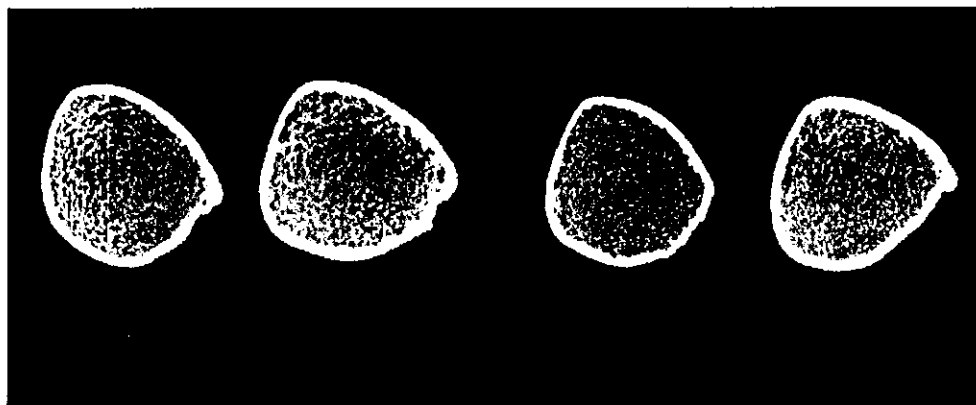


図3 閉経前、閉経早期女性のバレーボール選手とコントロールの脛骨CT画像

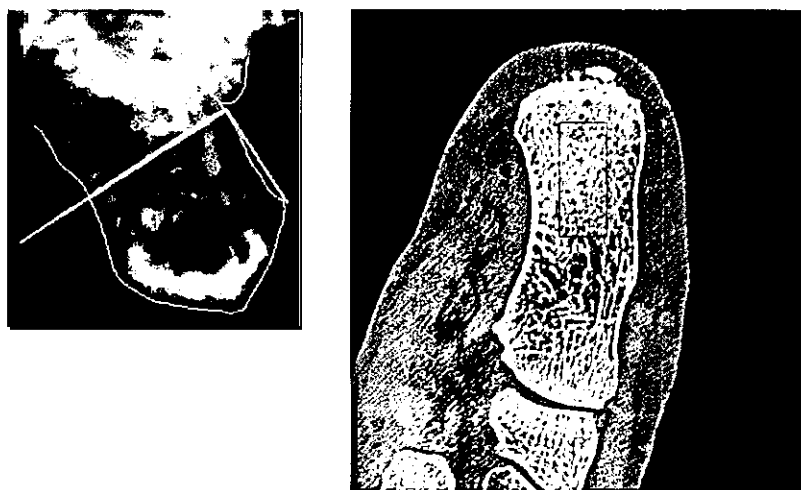


図4 踵骨DXAの測定領域（左）と踵骨CT測定領域（右）  
踵骨DXAでは、踵骨中央骨密度を側面方向の投影として算出、踵骨CTでは水平断像として多スライス画像を得る

表 1 骨折群・非骨折群における脊椎こつ両構造パラメーターの比較

	非骨折群 (n=33)	骨折群 (n=31)	P value	オッズ比 (95 %CI)	P value	オッズ比 (95 %CI)	P value	オッズ比 (95 %CI)	P value	
対象者背景										
年齢 (歳)	66.5 ±14.3	68.1±4.7)	.15	-	-	-	-	-	-	
閉経時年齢 (歳)	50.2±3.1	49.5 (4.4)	.12	-	-	-	-	-	-	
身長 (cm)	152.6±4.4	149.8 (7.4)	.08	-	-	-	-	-	-	
体重 (kg)	51.5±7.2	50.4 (8.1)	.20	-	-	-	-	-	-	
面積骨密度										
DXA (g/cm2)	0.935 (0.148)	0.781 (0.164)	<.0005	5.3 (1.6-17.2)	.010	-	-	-	-	
MDCT データ										
容積骨密度										
QCT (mg/cm3)	101.8 (23.3)	64.9 (24.7)	<.0001	9.1 (2.9-28.4)	<.0005	-	-	-	-	
骨梁構造パラメーター										
SMI	2.02 (0.52)	2.56 (0.40)	<.0001	13.9 (3.5-55.3)	<.0001	骨梁構造パラメーター+QCT	19.2 (5.4-68.4)	<.0001	19.2 (5.4-68.4)	<.0001
Euler's number	-995 (383)	-483 (427)	<.0001	13.7 (4.1-46.7)	<.0001	骨梁構造パラメーター+DXA	13.7 (4.0-46.7)	<.0001	13.7 (4.0-46.7)	<.0001
Tb.N (1/mm3)	0.97 (0.08)	0.78 (0.20)	<.0001	6.8 (2.2-20.5)	.003		13.2 (3.7-47.3)	<.0001	10.7 (3.4-34.0)	<.0001
Tb.Sp (micrometer)	676.8 (124.3)	1050.9 (443.7)	<.0001	6.8 (2.2-20.5)	.003		9.1 (2.9-28.4)	<.0005	6.8 (2.2-20.5)	.003
Tb.Th (micrometer)	366.4 (46.8)	331.7 (44.7)	.004	4.0 (1.1-14.3)	.06		13.7 (4.0-46.7)	<.0001	6.4 (1.6-26.0)	.01
DA	1.44 (0.14)	1.59 (0.39)	.04	4.0 (1.1-14.3)	.06		12.7 (3.9-41.7)	<.0001	4.0 (1.1-14.3)	.06

表 2 バスケットボール選手群、駅伝選手群、対照群における骨密度・骨梁構造パラメーター、骨面積の比較

	バスケットボール選手群 (n=10)	p	駅伝選手群 (n=8)	p	対照群 (n=9)
body height	166.1±4.9	‡ †	160.5±4.2		156.2±5.3
body weight	60.4±5.1	‡ †	47.9±3.4		49.3±4.0
骨密度					
DXA(L2-4)	1.280±0.338		1.077±0.170		1.141±0.083
DXA(heel)	1.037±0.052	‡ †	0.886±0.039		0.840±0.083
Stiffness	120.2±12.8	‡ †	102.6±11.6		95.5±15.4
pQCT trab.	340±21		332±40		305±48
pQCT cort.	1039±84		1041±113		1001±87
骨梁構造パラメーター					
BV/TV	69.9±3.7		68.8±3.2		70.8±5.1
Tb.Th	2525±465		2711±1328		3213±1026
Tb.N	0.284±0.045		0.285±0.077		0.236±0.059
Tb.Sp	1073±164		1172±362		1304±404
Fractal D.	1.307±0.053	‡	1.295±0.093		1.229±0.079
TBPF	-4.477±0.556	‡ †	-3.391±1.275		-3.531±0.937
CT断面 骨面積					
Cortical bone area	165.6±12.3	‡ †	141.9±8.0	‡	122.0±16.7
Total bone area	582.7±56.9	‡	517.8±73.9		474.6±76.6

‡ p<0.05 vs. 対照群, † p<0.05 vs. 駅伝選手群

表 3 閉経前、閉経後のママさんバレー選手と対照群の背景・骨密度・骨梁構造パラメーター・骨面積の比較

	(A) 閉経前			(B) 閉経早期			
	対照群 (n=21)	バレーボール選手 (n=24)	p	対照群 (n=23)	p vs. (A)	バレーボール選手 (n=10)	p vs. (A) p
対象者背景							
age	45.2±6.1	46.1±4.4		53.0±3.8	†	52.7±5.5	†
age at menopause	—	—		50.0±2.9		48.2±5.4	
BW	54.6±6.4	58.9±7.6	‡	54.2±6.4		57.0±4.9	
BH	157.0±4.8	157.6±5.5		154.7±4.3		155.5±5.6	
骨密度							
DXA(L2-4)	1.183±0.175	1.351±0.203	‡	0.975±0.113	†	1.197±0.194	‡
DXA(heel)	0.832±0.085	0.936±0.075	‡	0.744±0.067	†	0.863±0.078	‡
Stiffness	87.3±10.7	98.1±12.1	‡	77.0±10.7	†	89.3±13.0	‡
pQCT trabecular BMD	207.1±57.8	230.5±53.5		188.8±39.4		231.6±67.9	‡
pQCT cortical BMD	1039.7±108.2	1081.0±128.6		983.8±138.7		1045.4±120.1	
骨梁構造パラメーター							
BV/TV	35.4±8.7	36.7±4.3		33.6±4.5		38.1±7.9	‡
Tb.Th	508.1±94.9	507.2±42.2		481.7±33.9		540.2±88.5	‡
Tb.N	0.693±0.079	0.723±0.063		0.697±0.080		0.703±0.085	
Tb.Sp	956.3±239.0	886.4±131.0		970.3±170.4		903.6±235.1	
fractal dimension	1.533±0.062	1.570±0.047	‡	1.515±0.049		1.553±0.057	
TbPf	-2.266±0.755	-2.444±0.633	‡	-1.759±0.610	†	-2.586±1.010	‡
骨面積							
Cortical area	136.1±11.4	159.6±17.6	‡	126.8±15.7	†	150.3±15.3	‡
Total area	297.1±37.8	324.3±38.3	‡	293.2±35.5		311.3±45.9	

‡p<0.05 vs. 対照群, †p<0.05 vs. 閉経前 (A)

表 4 踵骨骨梁構造パラメーター、骨密度、超音波測定値の年齢・体重との相関

	vs. 年齢		vs. 体重	
	r	p	r	p
骨梁構造パラメーター				
BV/TV	-0.44	0.0005	0.39	0.005
Tb.N	0.10	ns	-0.11	ns
Tb.Th	-0.33	0.01	0.33	0.01
Tb.Sp	0.38	0.05	-0.30	0.05
fractal dimension	-0.29	0.05	0.38	0.005
Euler's number	-0.30	0.05	0.02	ns
SMI	0.43	0.0005	-0.41	0.001
DA	0.07	ns	-0.04	ns
骨密度				
DXA	-0.57	0.0001	0.39	0.005
超音波測定値				
stiffness	-0.48	0.0001	0.30	0.05

表 5 各骨梁構造パラメーターと骨密度・超音波測定値との相関

parameters	BMD	stiffness	SOS	BUA
BV/TV	0.49 †	0.59 †	0.52 †	0.47 †
Tb.N	-0.14	-0.35 †	-0.27 †	-0.33 †
Tb.Th	0.41 †	0.61 †	0.54 †	0.50 †
Tb.Sp	-0.47 †	-0.41 †	-0.38 †	-0.32 †
fractal dimension	0.15	0.34 †	0.05	0.50 †
Euler's number	0.38 †	0.43 †	0.52 †	0.23
SMI	-0.46 †	-0.71 †	-0.54 †	-0.66 †
DA	-0.07	-0.07	0.03	-0.15

†p<0.05

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

骨吸収マーカーとしての尿中  $\gamma$ -GTP 測定の意義

分担研究者 池田恭治（国立長寿医療センター研究所 運動器疾患  
研究部長）

研究要旨：骨吸収が亢進した動物モデルを用いて、尿中  $\gamma$ -GTP の排泄動態について検討した。尿中への排泄される  $\gamma$ -GTP の状態についても、尿を分画採取して調べた。結果は、尿中  $\gamma$ -GTP 排泄量が生体内の骨吸収活性を反映すること、 $\gamma$ -GTP が遊離型としてではなく、なんらかの構造物と会合して排泄される可能性を示唆している。

キーワード：骨粗鬆症、骨吸収、破骨細胞、 $\gamma$ -GTP

A. 研究目的

骨粗鬆症は、骨強度が低下して骨折のリスクが高まった病態で、推定患者数は 1,000 万人を超す。我が国における骨折の発生件数は、年々増加の一途をたどっており、寝たきりの重大な原因のひとつとなっている。

骨の脆弱性は、骨量と骨質に規定される。骨量に関しては、3次元での真の意味の骨量測定は普及しておらず、2次元に投射して X 線で測定する“骨密度 ( $\text{g}/\text{cm}^2$ )”が、骨粗鬆症の診断や治療効果の判定に広く用いられている。

骨密度測定は、骨折リスクを評価する手段として重要である。一方、骨密度のみでは、骨折リスクを総合的に評価するには十分でないとの認識も高

まっている。最近の米国からの報告では、骨折を起こした閉経後女性の大部分は、骨密度が“骨粗鬆症”と診断される域にまでは低下しておらず、骨密度測定のみで治療の必要性を決定するだけでは、骨折防止につながらないことが懸念される。また、薬物治療によって抑制される骨密度低下の程度と、骨折発生の抑制の度合いにはあまり相関がないことも、骨密度以外の要因が骨折の発生には関わっていることを示唆する証拠である。

骨の脆弱性を規定するもう一つの要素である骨質の重要性が認識されている。骨質には、骨の材料特性など狭義の意味に加えて、骨のサイズ・geometry・微細構造・骨の代謝回転などが含まれる。これらのうち、現在の

ところ診療レベルで用いられているのは、血液・尿の生化学マーカーのみであるが、高価な検査のため、治療方針決定の際と、治療後の効果判定の 2 回にしか保険適応が認められていない。

退行期骨粗鬆症、なかでもエストロゲンの欠乏を主因とする閉経後骨粗鬆症の発症には、骨吸収の亢進が大きく寄与する。骨吸収は、血球系の細胞から分化して形成される多核の破骨細胞によって営まれる。骨吸収を反映する生化学マーカーとして臨床で広く用いられているのは、破骨細胞により分解され、血液中へ放出もしくは尿へ排泄される I 型コラーゲンの分解産物である。

我々は、新規の骨吸収促進因子を探索する過程で  $\gamma$ -GTP を同定した。 $\gamma$ -GTP は、本来腎臓でもっとも高発現する細胞外酵素であるが、腎臓から精製した  $\gamma$ -GTP、あるいは遺伝子組み換え型ヒト  $\gamma$ -GTP タンパク質は、破骨細胞の形成を促進する活性を有する。一方、骨吸収が高まった病態において、尿中への  $\gamma$ -GTP 排泄が増加することを発見した。本研究では、骨吸収マーカーとしての尿中  $\gamma$ -GTP 測定の意義について検討を行った。

## B. 研究方法

国立長寿医療センター病院を 2003 年 4 月から 2004 年 8 月までに受診した閉経後骨粗鬆症患者において、アレンドロネート治療前後の尿中  $\gamma$ -GTP 排泄と I 型コラーゲン N 端テロペプチ

ド (NTX) を測定した。

住民検診に参加した 551 人の閉経後女性 (50-89 歳、平均 66 歳) から尿を採取した。 $\gamma$ -GTP 活性は、 $\gamma$ -GTP C-テストワコー試薬 (和光純薬) を用いて、クレアチン濃度は、デタミナ-L CRE 試薬 (協和メデックス) を用いて測定した。 $\gamma$ -GTP 活性は、クレアチニン濃度で補正後、データ解析を行った。NTX およびデオキシピリジノリン濃度は、ELISA 法 (オステオリンクス・DPD、住友製薬) で測定した。研究計画は、国立長寿医療センターの倫理委員会で認められ、提供者から文書による同意を得て行った。

## C. 研究結果

閉経後骨粗鬆症患者 10 人において、アレンドロネートによる治療の前後で、尿中デオキシピリジノリンは、 $131.4 \pm 51.2$  から  $48.0 \pm 31.6$  nmo/mmol Cr に 63%減少するのに伴って、尿中  $\gamma$ -GTP 排泄は、 $58.2 \pm 151.1$  から  $44.2 \pm 13.2$  IU/g Cr まで 24%減少した。

住民検診に参加した 551 人の閉経後女性において、確立された骨吸収のマーカーである尿中デオキシピリジノリンとクレアチニンで補正した尿中  $\gamma$ -GTP 排泄との間に強い相関が認められた ( $p < 0.0001$ )。全体の尿中  $\gamma$ -GTP は  $35.1 \pm 51.1$  IU/g Cr、デオキシピリジノリンは  $6.5 \pm 8.7$  nmol/mmol Cr であった。明らかな骨吸収亢進のカットオフ値として、デオキシピリジノリンの  $7.6$  nmol/mmol Cr が定められている

が、これを超える群の尿中  $\gamma$ -GTP 排泄は、 $85.7 \pm 95.0$  IU/g Cr であり、デオキシピリジノリンがカットオフ値以内におさまっている群の  $22.0 \pm 12.0$  IU/g Cr より有意に高値を示した。

#### D. 考察

骨吸収の亢進病態を代表する閉経後骨粗鬆症の患者において、骨吸収抑制薬の投与によって、尿中  $\gamma$ -GTP 排泄が減少すること、また 551 人の閉経後女性の検診の結果、尿中  $\gamma$ -GTP 排泄が、確立された骨吸収マーカーであるデオキシピリジノリンと強い相関を示すことから、尿中  $\gamma$ -GTP 排泄は、生体内の骨吸収活性を反映することが示唆される。また症例数が少ないが、アレンドロネート治療前後の低下の度合いが、NTX では従来報告と一致して約 60%以上であるのに対して、尿中  $\gamma$ -GTP 排泄の減少の程度は 24%にとどまることから、治療の指標としては NTX ほど鋭敏ではないと考えられる。

しかしながら、NTX をはじめとする骨代謝マーカーの測定は高価であり、現在のところ、治療方針決定の際と、治療後の効果判定の 2 回にしか保険適応が認められていない。また測定は検査会社に外注する場合はほとんどで、結果の通知には 1 週間程度かかるのが通例である。一方、 $\gamma$ -GTP は、自動測定装置を用いて短時間に多数の検体を処理することが可能でコストも比較的安価である。住民検診などに利用して、骨吸収が高まることによ

り骨折のリスクが大きい集団を一次スクリーニングするのに適していると考えられる。 $\gamma$ -GTP 測定によって抽出した集団は、骨折の既往や家族歴・やせ・喫煙・身長低下など骨折のリスク評価を行った後、骨密度測定を行い、NTX などの精密検査で骨代謝の状態を評価し、生活習慣の見直し、骨折への対策や薬物治療を開始することで、これまで放置され骨折によってはじめて骨の脆弱性が露見する症例を少なくすることが可能と思われる。

尿中に検出される  $\gamma$ -GTP 活性の由来については、現時点では糸球体を濾過してくる可能性も否定できないが、近位尿細管の管腔側の膜に存在する  $\gamma$ -GTP が、骨吸収の亢進状態では管腔内への排泄が促進される可能性が高いと考える。骨吸収マーカーとしての臨床応用に向けて、今後、尿中  $\gamma$ -GTP の分子形態、骨由来の近位尿細管刺激物質と排泄促進のメカニズムの解明が必要である。

#### E. 結論

クレアチニン値で補正した尿中  $\gamma$ -GTP 排泄量は、生体内の骨吸収活性を反映し、住民検診などでのスクリーニングに応用できる可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表



Niida S, Kawahara M, Ishizuka Y, Ikeda Y, Kondo T, Hibi T, Suzuki Y, Ikeda K, Taniguchi N:  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase stimulates RANKL expression independent of its enzymatic activity and serves as a pathological bone-resorbing factor.

**J Biol Chem 279: 5752-5756, 2004**

Kondo K, Ikeda K, Matsuo K: Detection of osteoclastic cell-cell fusion through retroviral vector packaging.

**Bone 35:1120-1125, 2004**

## 2. 学会発表

平松聖史, 辰巳佐和子, 新飯田俊平, 伊東昌子, 仁村雄次、池田恭治： $\gamma$ -GTP と骨・カルシウム代謝、第 41 回日本臨床分子医学会、7 月 16、17 日、福岡

平松聖史, 辰巳佐和子, 高須 尚、新飯田俊平, 伊東昌子, 仁村雄次、池田恭治： $\gamma$ -GTP を過剰発現するマウスにおける骨粗鬆症、第 22 回日本骨代謝学会、8 月 4-7 日、大阪

Hiramatsu K, Tatsumi S, Nimura Y, Takasu H, Niida S, Ito M, Ikeda K: GGT (gamma-glutamyltranspeptidase) as a pathogenic factor of bone loss. The 26th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 10 月 1 日～10 月 5 日 Seattle, Washington, USA.

池田恭治：骨粗鬆症の病因を分子レベルから探る、第 6 回日本骨粗鬆症学会特別講演、大宮、11 月 20 日、2004

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

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

骨芽細胞における新たな骨形成制御因子の同定

分担研究者 浦野友彦 東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座助手

研究要旨 骨粗鬆症の治療においては積極的な骨形成促進薬は存在せず、また骨形成を制御し骨粗鬆症発症へと関与する原因遺伝子群に関しても十分な解明はなされていない。このことは骨粗鬆症治療の多様性を制限しておりテーラーメイド医療の確立において重要な問題である。骨芽細胞における骨形成のシグナル伝達においては Wnt- $\beta$ -カテニンシグナルにおけるレセプターとして機能する LDL receptor-related protein 5(LRP5)が近年、注目されてきた。昨年度の研究報告書において、我々はこの LRP5 のイントロン 17 における一塩基置換遺伝子多型(single nucleotide polymorphisms: SNPs)が骨量に与える影響に対して検討を行い、閉経後女性の骨量を規定する遺伝子マーカーとして有用である可能性を示した。近年、Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達を制御する因子が哺乳動物において多数同定されているにもかかわらず Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達因子の骨代謝に与える影響に関しては LRP5 遺伝子以外に検討、報告がなされていない。本年度新たに、Kremen1 ならびに sFRP4 に存在する SNP を新たな遺伝子マーカーとして同定した。来年度以降、これら Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル遺伝子群を遺伝子マーカーとして発展させ、骨形成に主眼をおいた骨粗鬆症でのテーラーメイド医療の確立を目指す。

A. 研究目的

骨粗鬆症とそれに伴う骨折は高齢者が寝たきりとなる主要な原因であり、老人医療において重要な問題として知られている。骨粗鬆症の大きな原因は、以下の二つである。

- 1) エストロゲン欠乏による骨吸収の上昇(閉経後骨粗鬆症)
- 2) 骨芽細胞老化による骨形成の低下(老人性骨粗鬆症)

このような骨量減少は骨吸収量に骨形成能が追いつかない非共役状態が原因と考えられている。この治療においては積極的に骨形成を亢進させて骨量増加作用をおこす

ことが理想ではあるが現在まで強力な骨形成促進薬は存在していない。しかしながら、*in vitro* で骨芽細胞の分化を誘導する内分泌ホルモンやサイトカインは複数存在することから、これらの下流シグナルを詳細に検討、解明することが骨形成を主眼においた骨粗鬆症の病態解明ひいては骨形成に主眼をおいたテーラーメイド医療の確立において最も重要なステップであると考えた。

脊椎動物のシグナル伝達においては Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路が様々な細胞の増殖と分化を制御していることが多くのグループにより明らかにされ、重要視されてきた。特に骨芽細胞における骨形成

のシグナル伝達においては Wnt に対するレセプターとして機能する LDL receptor-related protein 5(LRP5)が注目されてきた。昨年度の研究報告書において、我々はこの LRP5 のイントロン 17 における一塩基置換遺伝子多型 (single nucleotide polymorphisms: SNPs)が骨量に与える影響に対して検討を行い、閉経後女性の骨量を規定する遺伝子マーカーとして有用である可能性を示した。近年、Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達を制御する因子が哺乳動物において多数同定されている。しかしながら骨における Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達因子の発現や骨代謝に与える影響に関しては LRP5 遺伝子以外に検討、報告がなされていない。そこで本年度においては Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達因子の遺伝子多型が骨量にあたる影響ならびに Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達因子の骨芽細胞や破骨細胞における発現パターンに関して検討を行った。

## B. 研究方法

1, Kremen1 ならびに sFRP4 遺伝子多型の骨量に及ぼす影響

JSNP に報告のある Kremen1 遺伝子イントロン 1 における遺伝子多型ならびに、sFRP4 遺伝子エクソン内における Arg262 の SNP(CGC→CGT)に関して、Taqman PCR 法を用いて genotype の分類を行った。閉経後女性 379 人を対象として BMD との関連を検討した。

2, 初代培養破骨細胞、骨芽細胞における Wnt- $\beta$ -カテニンシグナル伝達因子の発現パターンに関する検討

ラット由来骨髄細胞に M-CSF と RANKL を添加し、破骨細胞に分化誘導させ RNA

を採取した。

ラット頭蓋骨を酵素処理することにより初代培養骨芽細胞を作製した。 $\beta$ グリセロリン酸ならびにアスコルビン酸を添加し骨芽細胞分化を誘導した。培養後 2 日、4 日、6 日、9 日、16 日、19 日、24 日、30 日後の RNA を採取した。

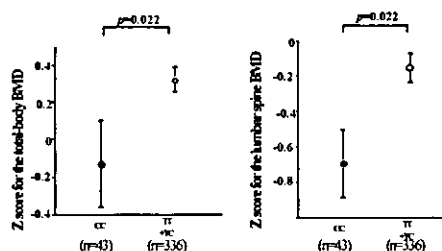
それぞれの時点での LRP5、sFRP4、Kremen1、さらに骨芽細胞の分化マーカーとしてアルカリホスファターゼ(ALP)遺伝子発現の変化を SYBR Green Real Time PCR 法にて解析した。

## C. 研究結果

1, Wnt- $\beta$ カテニンシグナル伝達因子 sFRP4 ならびに Kremen1 の遺伝子多型が骨量に及ぼす影響と骨芽細胞分化における発現変化に関する検討

Kremen1 のイントロン 1 に存在する SNP に関して、T アレルを持つ群(TT+CT; n=336)では持たない群(CC; n=43)に比べ有意に骨密度が高いことを見出した(Total BMD Z score; 0.33 vs -0.13; p=0.022, Lumbar Spine BMD Z score; -0.14 vs -0.69; p=0.022)(図 1)。

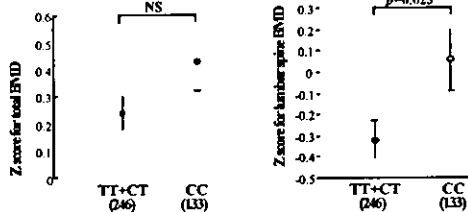
図 1, Kremen1 イントロン 1 における遺伝子多型と骨量との相関



また、Secreted Frizzled Related Protein 4 (sFRP4)エクソン内の Arg262 の SNP (CGC→CGT) に関して、T アレルを持つ群

(CT+TT; n=246)では持たない群(CC; n=133)に比べ有意に腰椎骨密度が低いことを認めた(Z score; -0.33 vs 0.03; p=0.023) (図 2)。

図2. sFRP4 Arg262 での多型における 遺伝子多型と骨量との相関



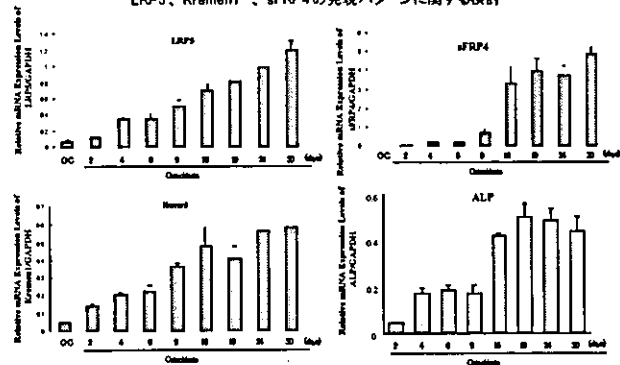
## 2. 初代培養破骨細胞、骨芽細胞における Wnt-β-カテニンシグナル伝達因子の発現パターンに関する検討

昨年度報告した遺伝子多型と骨量との間に相関があった LRP5 遺伝子と今回、骨量との相関が明らかになった sFRP4 ならびに Kremen1 の骨芽細胞(osteoblasts)分化に伴う mRNA レベルでの発現変化に関して検討を行った。その結果 LRP5、sFRP4 ならびに Kremen1 はともにその発現が培養開始後 16 日以降でピークを迎えることが明らかとなった。これは骨芽細胞の分化マーカーであるアルカリホスファターゼ(ALP)遺伝子の発現ピークとほぼ一致していた (図 3)。一方、破骨細胞(osteoclasts: OC)での LRP5、sFRP4 ならびに Kremen1 遺伝子の発現は骨芽細胞に比して劇的に低下していた (図 3)。

### D. 考察

Wntβカテニンシグナル伝達経路は哺乳動物での細胞増殖や分化の制御において重要な役割を果たす。近年このシグナル伝達系の構成因子のひとつである LRP5 遺伝子は、ヒトでの遺伝子変異やノックアウトマ

図3. 初代培養破骨細胞、骨芽細胞における LRP5、Kremen1、sFRP4 の発現パターンに関する検討



ウスの解析から骨芽細胞による骨形成において中心的な役割を果たしていることが明らかにされた。我々は昨年度の研究報告書に示したように、LRP5 の SNP と骨量との関連について検討し、LRP5 が閉経後女性の骨量を規定する遺伝子マーカーである可能性を示した(Urano et al. J. Bone Miner. Metab. in press)。Wntβカテニンシグナル伝達因子は多数同定されており LRP5 のみならず、他の因子に関しても骨量を規定する遺伝子マーカーが存在する可能性がある。そこで今回、我々は Wntβカテニンシグナル伝達因子における SNP と骨量との関連について検討した。今回 Kremen1 と sFRP4 における SNP が骨量と有意に相関することを明らかとした。Kremen1 は Wntβカテニンシグナルを負に制御する因子である DKK1 のレセプターとして作用し、DKK1 と協調して Wntβカテニンシグナルの伝達を抑制する因子として同定された。また、sFRP4 は、構造から Wnt のレセプターのデコイレセプターとして働くと考えられ、Kremen1 と同様に Wntβカテニンシグナルの抑制に関与することが示唆される遺伝子である。近年、LRP5 の研究により Wntβカテニンシグナルの骨形成における重要性が注目されるようになってきているが、多数存在する Wntβカ