

厚生労働省科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業)
分担研究報告書

骨折予防対策の理論的検証に関する研究

分担研究者 伊藤 道哉 東北大学大学院医学系研究科 講師

研究要旨:骨粗鬆症関連骨折の医療費を推計した。入院医療費は、出来高払いと診断群分類包括評価(DPC)を推計した。出来高払いの場合、骨粗鬆症関連骨折で入院している患者の診療報酬明細請求書(レセプト)35件を対象とした。レセプトより1日あたりの費用を算出し、患者調査の退院患者平均在院日数より、1入院あたりの入院費用を算出した。その結果、骨粗鬆症関連骨折患者に要する医療費は、年額 63,095,858 千円であった。DPC の場合、入院Ⅰ期とⅡ期の合計点数に、出来高の点数を加算し、1入院あたりの費用を算出した。その結果、年額 33,084,729 千円であった。外来医療費は、骨粗鬆症の治療に要する年間医療費を文献から算出した107,670円であると仮定し、骨折後1年以内に死亡する患者を除外した結果、退院後5年間で要する外来医療費は 24,031,298 千円であった。

A.研究目的

適切な運動習慣、食生活の改善、予防薬の服用等による骨粗鬆症および骨折の予防効果について、QOLと医療経済の両面から明らかにするための基礎データを得ることを目的とする。

B.研究方法

アンケート調査の対象である東北地方の中核病院 40 施設のうち、出来高及び DPC (Diagnosis Procedure Combination)採用の各3施設における、骨粗鬆症関連骨折で入院中の患者レセプトを用いた。調査期間は平成17年9月～平成18年3月。研究の趣旨を理解し、同意を得た55歳以上の患者のレセプトを、研究協力施設の担当者による匿名化後、郵送で回収した。

調査項目としては、対象年月、傷病名、診療実日数、療養の給付における請求点、食事療

養における請求点、投薬・注射・処置・手術・検査・画像・その他に記載されてある薬剤名、検査名等である。骨粗鬆症関連骨折に関する医療費の推計を、入院および外来別に以下の方法で行う。

1)入院分の推計

骨粗鬆症関連骨折患者数の推計:骨折の部位別の推計骨折患者数は、厚生労働省患者調査にて明示されている。本研究は、高齢者の4大骨折である橈骨遠位端骨折、上腕骨頸部骨折、脊椎圧迫骨折、大腿骨頸部骨折を含む、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む)、大腿骨の骨折、四肢の骨折の医療費に限定した。そのうち骨粗鬆症関連骨折を推計するため、本研究ではオランダにおける骨粗鬆症の有無別骨折の罹患率を参考とし推計を行う。

年間入院費の算定:1入院あたりの負担額については、出来高採用とDPC採用があるため、

両者を分けて算定する。

出来高払いの場合：レセプトより骨粗鬆症関連骨折に直接関係のない治療や検査を特定し、これらを除外する。次に、1ヶ月分の総額を診療実日数で割り、1日あたりの医療費を算出。また食事も同様に計算をし、両者を合算して1日あたりの医療費とする。この1日あたりの医療費に、厚生労働省患者調査の退院患者平均在院日数を乗じ、1入院あたりの費用を算出。さらに、骨粗鬆症関連の骨折患者数を乗じて、1年間の入院費用を算出する。

DPCの場合：DPCは診断分類別に包括的な医療費を算出するため、まずは診断分類名を特定する作業を行う。頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む)、大腿骨の骨折、四肢の骨折ごとに、最も件数頻度が多い診断分類名称を特定し、部位別の医療費を算出。件数頻度は、診断群分類名称別に、平成15～17年度におけるDPC病院、DPC試行的適用病院、平成15年度からのDPC調査協力病院の登録件数を総計して算出し、最も件数頻度が多い診断分類を判断する。

在院日数は、入院Ⅰ期とⅡ期における在院日数の合計と仮定。そのため、診療点数の計算は、入院Ⅰ期、Ⅱ期各々における1日あたりの点数および適応日数を乗じて、合計点数を算出する。また、手術費に関しては外だしのため、診療報酬点数表から手術費用を積み上げ、1入院あたりの費用を算出。さらに、骨粗鬆症関連の骨折患者数を乗じて、1年間の入院費用を算出する。

2) 外来分の推計

外来患者数の推定：本研究では退院後の死亡を考慮し、骨粗鬆症の骨折患者の人数に生存率をかけた上で、外来患者人数を推計することとし、大腿部骨折における1年生存率を89%と設定。一方、大腿部骨以外の部位における生

命予後の検討は現在のところ不十分であり、本研究では大腿部頸部骨折と同様の生存率を適用し算出する。

退院後5年間の外来医療費：1年間医療費について、75歳女性における薬物の単剤・併用療法各々についての年間医療費を算出した報告によると、アルファカルシドール単剤による年間医療費は、10,600点、エチドロネート単剤は8,300点、アルファカルシドール及びエチドロネート併剤は13,400点である。本研究では、各治療法における医療費を平均し、骨粗鬆症の治療に要する年間医療費を算出する。

倫理面への配慮：本研究は、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会より承認を受けた。各施設ではレセプトを連結可能匿名化した。

C. 結果

レセプト回収件数：今回、出来高払い方式を採用している対象病院3施設より、レセプト35件が得られた。骨折部位別の内訳は、胸椎・脊椎骨折が62.9%(n=22) 大腿骨折が20.0%(n=7)、その他四肢の骨折17.1%(n=6)であった。一方、DPC採用施設は1施設より2件のみであったため、今回は解析の対象から除外した。

1) 入院分の推計

骨粗鬆症関連骨折患者数の推計：厚生労働省患者調査における推計骨折患者数による55歳以上の骨折患者数は、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む)26,300人、大腿骨の骨折14,000人、四肢の骨折55,100人、計95,400人である。これに、骨粗鬆症の有無別骨折の罹患率を乗じた骨粗鬆症関連の骨折患者数は、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む)13,493人、大腿骨の骨折8,346人、四肢の骨折27,102人、計48,941人である。

出来高支払いの場合：1日あたりの入院費医療費は、頸部、胸部および骨盤の骨折(脊椎を

含む) 18,310 円、大腿骨の骨折 24,600 円、その他の四肢の骨折 21,400 円であり、骨粗鬆症関連骨折患者に要する医療費は、年額 63,095,858 千円である。

DPC の場合: 部位別に最も件数が多い診断分類は、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む)では胸椎、腰椎以下骨折損傷(胸・腰髄損傷を含む)手術なし、大腿骨の骨折では股関節大腿近位骨折 関節脱臼観血的整復術 肩、股、膝等 副傷病なし、四肢の骨折では肘関節周辺の骨折・脱臼/骨折観血的手術 肩甲骨、上腕、大腿等である。1入院あたりの費用は、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む)では 630,890 円、大腿骨の骨折では 1,328,800 円、四肢の骨折では 497,340 円であり、骨粗鬆症関連の骨折患者に要する医療費は、年額 33,084,729 千円である。

2) 外来分の推計

外来患者数の推計: 退院後1年以降も生存しうる外来患者数は、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む) 12,011 人、大腿骨の骨折 7,428 人、四肢の骨折 24,122 人、計 43,562 人である。また、1年目以内に死亡する患者は、頸部、胸部及び骨盤の骨折(脊椎を含む) 1,484 人、大腿骨の骨折 918 人、四肢の骨折 2,981 人、計 5,384 人である。

退院後5年間の医療費: 骨粗鬆症の治療に要する年間医療費は 107,670 円である。骨折後1年以降も生存しうる患者 43,562 人が5年間に要する外来医療費は、43,562 人×107,670 円/年×5 年=23,451,603 千円である。一方、1年以内に死亡する患者 5,384 人では、5,384 人×107,670 円/年×1 年=579,695 千円である。以上より、退院後5年間で要する外来医療費は、両者を合算した 24,031,298 千円である。

D. 考察

骨粗鬆症に伴う骨折のリスクは人種や地域により異なるとの報告があり、今後さらに検討が必要である。入院費用の DPC 部分は、術式や在院日数が骨折部位別に同一であると仮定した場合の算出であり、実態に即した費用の算出には、同一部位においても診断分類別に術式や在院日数を算出する必要があると思われる。

外来費用も同様に、退院後の通院回数や治療内容は骨折部位や対象者の属性に応じて異なることが考えられるため、より実態に即した費用算出のためには、外来におけるレセプトデータ等を用いた算定を行う必要性が示唆された。

DPC 部分は、術式や在院日数が骨折部位別に同一であると仮定したのに対し、出来高払いは平均在院日数を性・年齢別に算出している。平均在院日数は、年齢が増すにつれて長期化しており、その影響により年間医療費額が DPC に比べ約 2 倍になったと考えられる。

今回は、出来高および DPC 両方の医療費を算出したが、DPC 採用施設は限られていることから、通常骨折の治療は出来高採用施設で行われることが多い。そのため、より実態を反映しているのは出来高採用施設の算定であると思われる。

退院後に継続的に行われる骨粗鬆症の治療に関し、その作用機序から、わが国においては、カルシウム製剤、活性型ビタミンD₃ 製剤、ビタミンD₂ 製剤、エストロゲン製剤、イブリフラボン製剤、カルシトニン製剤、蛋白同化ステロイド製剤、そしてビスフォスフォネート製剤といった 8 種類の薬剤に対して保険が適用されている。薬剤の選択には、骨密度や骨代謝マーカー等の臨床所見の他、栄養状況や患者のコンプライアンス等を考慮する必要があるため、代表的な治療法は特定されていないのが現状である。そこで本研究は、文献上に明示されてある骨粗鬆症治療の外来医療費を参考とし、退院後5年間の外

来医療費を算出することにした。

しかし、退院後の通院回数や治療内容は部位別・治療別・対象者の属性に応じて異なることが考えられるため、より妥当な費用の算出のためには外来におけるレセプトデータ等を用いた医療費算出を行う必要性が示唆された。

E. 結論

今後も、骨粗鬆症関連骨折患者数およびレセプトの回収数を増やすことが必要である。今回は医療費に限定したが、次年度は退院後の介護費用等も含めて骨粗鬆症関連骨折に関わる費用を算出したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許申請

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
田中靖久, 国分正一	骨粗鬆症性椎体圧潰後の 麻痺に対する脊柱短縮術	骨・関節・靭帯	18(5)	409-414	2005
Irie T, Aizawa T, Kokubun S	The role of sex hormones in the kinetics of chondrocytes in the growth plate. A study in the rabbit	J Bone Joint Surg Br	Sep;87 (9)	1278-84	2005
Sasaki D, Hatori M, Kotajima S, Kokubun S	Fatigue fracture of the distal femur arising in the elderly	Arch Orthop Trauma Surg	125 (6)	422-5	2005
Ohnuma M, Sugita T, Kokubun S, Yamaguchi K, Rikimaru H	Muscle activity during a dash shown by (18)F- fluorodeoxyglucose positron emission tomography	J Orthop Sci.	Jan; 11(1)	42-5	2006
Izumi S	Postgraduate training and certification of Psychiatrists (Rehabilitation Physicians) in Japan	Jpn J Rehabil Med	42	199-204	2005
出江紳一	痴呆のリハビリテーションと その効果—日常生活の視 点から当事者を支援する—	臨床と研究	82(3)	449-454	2005
出江紳一	リハビリテーション医学にお ける症例報告の重要性	理学療法のあゆ み	16(1)	2-4	2005
出江紳一, 鈴鴨よしみ	健康関連 QOL とリハビリテ ーション	総合リハ	33 (11)	997-1002	2005

IV研究成果の刊行物・別刷



The role of sex hormones in the kinetics of chondrocytes in the growth plate

A STUDY IN THE RABBIT

T. Irie,
T. Aizawa,
S. Kokubun

From Tohoku
University School of
Medicine, Sendai,
Japan

Sex hormones play important roles in the regulation of the proliferation, maturation and death of chondrocytes in the epiphyseal growth plate. We have investigated the effects of male castration on the cell kinetics of chondrocytes as defined by the numbers of proliferating and dying cells. The growth plates of normal rabbits and animals castrated at eight weeks of age were obtained at 10, 15, 20 and 25 weeks of age.

Our study suggested that castration led to an increase in apoptosis and a decrease in the proliferation of chondrocytes in the growth plate. In addition, the number of chondrocytes in the castrated rabbits was less than that of normal animals of the same age.

The growth plate of a long bone is divided morphologically and functionally into three zones: resting, proliferating and hypertrophic. Resting chondrocytes located on the epiphyseal side of the growth plate are stimulated to proliferate and then to hypertrophy through several maturation stages.¹⁻³ It is generally accepted that the terminal chondrocytes undergo apoptosis or programmed cell death.⁴⁻⁸ During these processes, several hormones such as sex steroids and some cytokines, for example insulin-like growth factor-1, play important roles.

Androgens and oestrogens are recognised as male and female hormones, respectively, but both are present in each sex.⁹ They induce secondary sexual characteristics and give rise to the pubertal growth spurt.¹⁰⁻¹³ The androgens include several hormones such as testosterone, a major part of androgen, 1-dihydrotestosterone, 5-dihydrotestosterone and androsterone. About 95% of testosterone is produced by the Leydig cells in the testis and the rest from the adrenal gland in both sexes.¹⁴ The hormone stimulates the activity of accessory male sexual organs and promotes the development of male sexual characteristics, the formation of sperm and the anabolic action in musculoskeletal development.¹⁵⁻¹⁷

Castration models have been used for many years to study the effects of male hormones on the growth of long bones.¹⁷⁻²³ The effects of castration on growth and on the chondrocytes in the growth plate remain unclarified. We have therefore performed an immunohistological study *in vivo* using markers for apopto-

sis and for proliferation to investigate the kinetics of chondrocytes in the growth plate in castrated male rabbits.

Materials and Methods

The experiment was carried out according to the guidelines of the Ethics Committee of Tohoku University. Thirty-two male Japanese white rabbits were divided into eight groups of four. The normal rabbits were killed by intravenous injection of pentobarbital sodium at 10, 15, 20 and 25 weeks of age and were designated as the 10W, 15W, 20W and 25W groups. Sixteen rabbits were castrated at eight weeks and killed at 10, 15, 20 and 25 weeks. They were described as the 8-10W, 8-15W, 8-20W and 8-25W groups. The level of serum testosterone in both the normal and castrated rabbits was measured at the time of castration and when they were killed using a radioimmunoassay solid phase procedure. The right leg of each rabbit was dismembered and the length of the femur was measured using soft radiography (low power > 30 kv).

Tissue preparation and morphological observation. The epiphyseal growth plate, together with the metaphyseal and epiphyseal bone, was taken from the centre of the femoral head of each rabbit. The growth plates were sectioned coronally into blocks 5 mm thick. These were fixed in 10% formalin for three days, decalcified by ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) at 4°C for ten days, embedded in paraffin and cut into slices 2.5 µm thick.²⁴⁻²⁶

After deparaffinisation and rehydration, some sections from each specimen were stained

□ T. Irie, MD, Orthopaedic Surgeon
□ T. Aizawa, MD, PhD, Orthopaedic Surgeon, Assistant Professor
□ S. Kokubun, MD, PhD, Orthopaedic Surgeon, Professor & Chairman Department of Orthopaedic Surgery Tohoku University, School of Medicine, 1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan.

Correspondence should be sent to Dr T. Aizawa; e-mail: toshi-7@ra2.so-net.ne.jp

©2005 British Editorial Society of Bone and Joint Surgery
doi:10.1302/0301-620X.87B9.15583 \$2.00

J Bone Joint Surg [Br]
2005;87-B:1278-84.
Received 20 April 2004;
Accepted after revision
14 December 2004

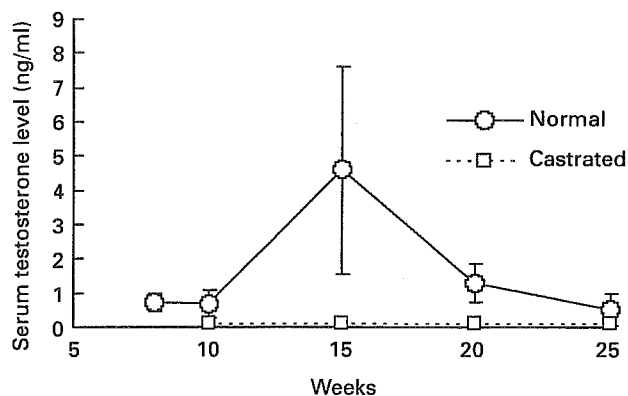


Fig. 1

The serum level of testosterone in the normal and castrated rabbits.

Table I. The mean (SD; cm) length of the rabbit femora according to age in both groups

Group	Age (wks)			
	10	15	20	25
Normal	8.2 (0.2)	9.3 (0.2)	9.8 (0.4)	10.1 (0.7)
Castrated	8.1 (0.6)	9.5 (0.5)	10.2 (0.2)	10.4 (0.4)

with haematoxylin and eosin (HE). These were used to determine the morphological changes in the growth plate with age. The height of the growth plate was measured microscopically at six points which were located at regular intervals within each growth plate. Immunostaining for osteonectin (ONT) was performed using the labelled streptavidin-biotin (LSAB) method with a reaction time of 60 minutes for anti-ONT antibody (Takara Bio Inc, Otsu, Japan) at a dilution of 1:100 in order to detect the hypertrophic chondrocytes which had strongly-stained cytoplasm.^{25,27} Both HE and immunostained sections were used to determine the division of the growth plates into the three zones. The cell numbers were counted three times in five fields selected randomly at a magnification of x200 on the HE sections.²⁴⁻²⁶

Immunohistochemistry. For *in situ* visualisation of apoptotic cells we performed immunostaining for caspase-3, which is activated downstream of initiator caspases and is essential for the regulation of apoptosis in the chondrocytes of the growth plate.^{28,29} The sections were stained using the avidin-biotinylated peroxidase complex (ABC) method with a reaction time of 60 minutes for anti-caspase-3 antibody (Biotech Inc., Santa Cruz, California) at a dilution of 1:50. They were counterstained using haematoxylin. Proliferating chondrocytes were detected by immunostaining for proliferating cell nuclear antigen (PCNA), an auxiliary protein of DNA polymerase.³⁰ The LSAB method with a re-

action time of 60 minutes for anti-PCNA antibody (Dako, Cytomation, Glostrup, Denmark) at a dilution of 1:50 was used. Counterstaining was carried out using Methyl Green. In both caspase-3 positive and PCNA immunostaining, negative controls were incubated with mouse serum before processing and only background staining was found.

For each antibody and each rabbit block, immunocytochemistry for caspase-3, PCNA and ONT was performed on several sections until at least two showed the same immunostaining pattern.

Quantification of caspase-3 and PCNA expression. Chondrocytes with diffusely stained cytoplasm or nuclei after immunostaining for caspase-3 were regarded as positive cells.³¹ Those with diffusely stained nuclei for PCNA were also positive. The caspase-3-positive and the PCNA-positive ratios were calculated in the whole growth plate and in the three zones.²⁴⁻²⁶ The ratios in the castrated groups were compared with those of the normal groups of similar age.

Statistical analysis. This was performed to determine the significance of the differences in the caspase-3 and the PCNA-positive ratios between the normal and castrated groups at each age. We used an unpaired Student's *t*-test between the paired groups at 10, 15, 20 and 25 weeks. The level of significance was set at $p < 0.05$. All statistical analyses were performed with commercially available software (Statview; Abacus Concepts, Berkeley, California).

Results

In the normal rabbits, less than 1 ng/ml of serum testosterone was detected at 8 and 10 weeks. The highest level, 4.7 ng/ml, was recorded at 15 weeks after which it decreased again at 20 and 25 weeks (Fig. 1). In the castrated rabbits, the serum testosterone was below the detection limit of 0.1 ng/ml (Fig. 1). There was no significant difference in the femoral length of the normal and castrated groups at the same age (Table I).

In the normal rabbits, the proliferating and upper hypertrophic chondrocytes maintained obvious columnar structures until 20 weeks of age with a decreasing number of chondrocytes, particularly in the proliferating zone (Figs 2a to 2c, top). In the 25W group, one of the four rabbits showed closure of the growth plate and the other three disarrangement of the columnar structure and narrowing of all zones. Some areas had a wide growth plate with many hypertrophic chondrocytes and a few proliferating cells (Fig. 2d) and others had a few chondrocytes within an irregular narrowed cartilage matrix. In each age group, the cells with large round to oval cytoplasm and those stained positively with ONT were considered to be hypertrophic chondrocytes (Figs 2e and 2f, top).

In the castrated rabbits in the 8-10W group, the columnar structure and the morphology of the chondrocytes in the proliferating zone were almost similar to those of the 10W group but between the proliferating and hypertrophic zones, these columns became disarranged (Fig. 2a, bottom). In the 8-15W group, the flattened proliferating cells were

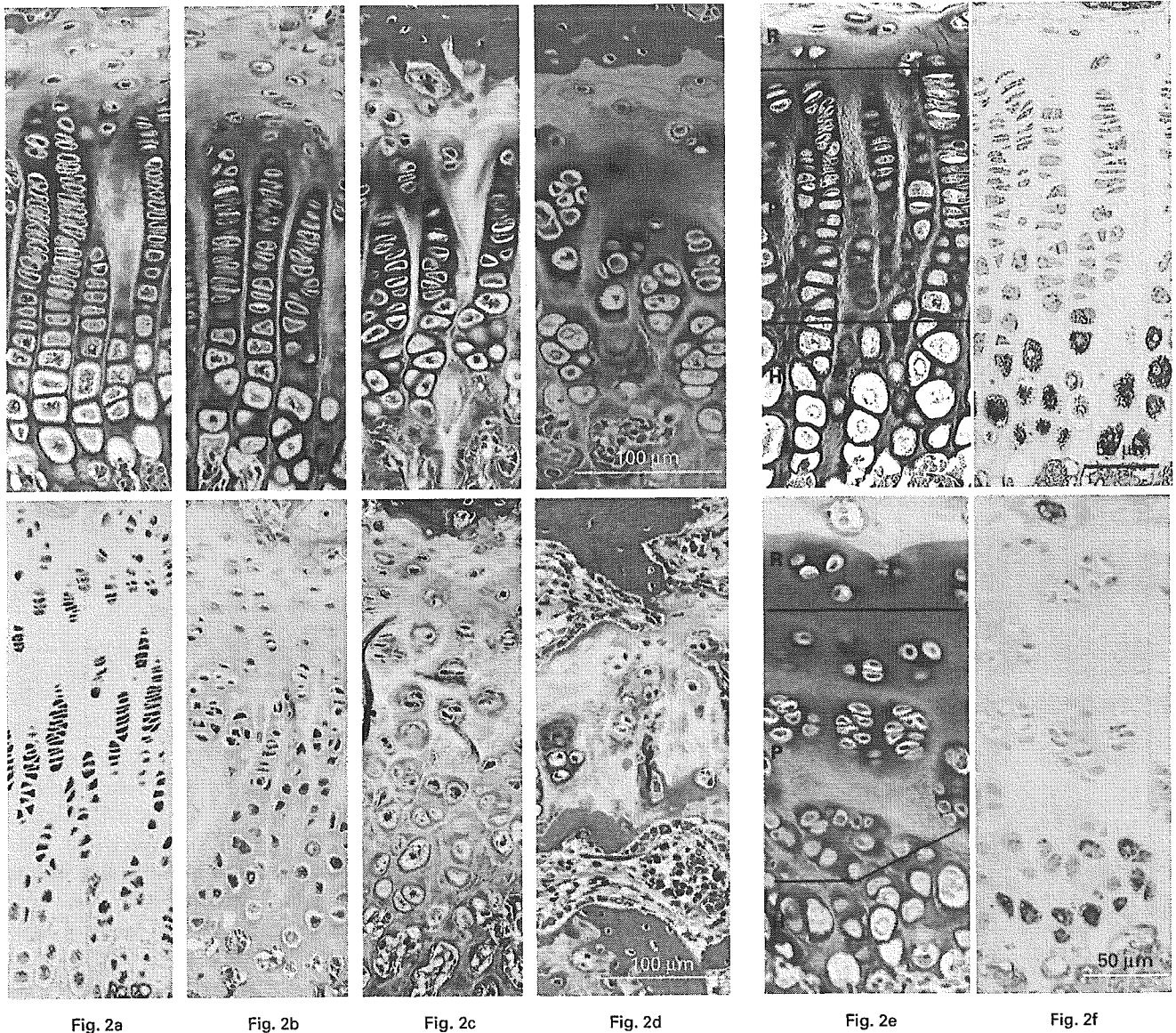


Fig. 2a

Fig. 2b

Fig. 2c

Fig. 2d

Fig. 2e

Fig. 2f

The growth plate in the normal (top) and castrated (bottom) rabbits. Figures 2a to 2d – Photomicrographs at a) 10, b) 15, c) 20 and d) 25 weeks of age (haematoxylin & eosin (HE) $\times 120$). Figures 2e and 2f – Photomicrographs at 15 weeks using e) HE and f) immunostaining for osteonectin ($\times 120$). The growth plate is divided into resting (R), proliferating (P) and hypertrophic zones (H).

obviously decreased in number and the proliferating zone was narrowed (Fig. 2b, bottom). In this group, slightly flattened chondrocytes, located in the upper part of the hypertrophic zone, stained negatively for ONT (Figs. 2e and f, bottom) indicating that they were proliferating cells. In the 8-20W group, the columnar structure was irregular and the cellularity was reduced, particularly in the proliferating zone (Fig. 2c, bottom). In the 8-25W group, the growth plate was closed in one of the four rabbits. In the other rabbits, a few hypertrophic chondrocytes were still detected (Fig. 2d, bottom).

The height of the growth plate of the normal rabbits in the 10W, 15W, 20W and 25W groups measured 432 (SD 32), 357 (SD 20), 324 (SD 42) and 206 μm (SD 149), respec-

tively. That of the castrated animals in the 8-10W, 8-15W, 8-20W and 8-25W groups was 423 (SD 70), 297 (SD 9), 217 (SD 69) and 70 μm (SD 68), respectively. The differences between the 15W and 8-15W groups and between the 20W and 8-20W groups were statistically significant. Those at 25 weeks were not significant because of the large variation among animals. Overall, the height of the growth plate was much narrower after castration than that in the normal rabbits, particularly at 20W and 25W. The timing of the closure of the growth plate, however, did not indicate much difference between the normal and castrated groups.

The cell numbers of the whole growth plate and the three divided zones are shown in Figure 3. The number of cells decreased in both the normal and castrated groups. At a

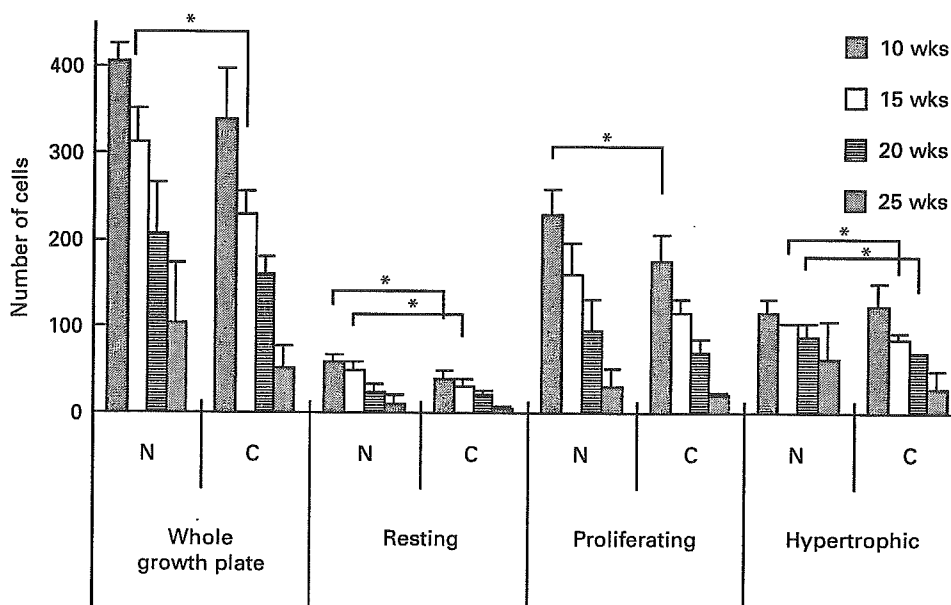


Fig. 3

Histogram showing the mean (SD) number of chondrocytes in the whole growth plate and individual zones over the various time periods in the normal (N) and castrated (C) rabbits.

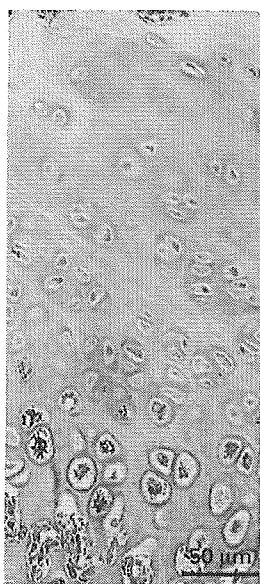


Fig. 4

Photomicrograph showing immunostaining for caspase-3 in a growth plate of a castrated 20-week-old rabbit (x200).

given age, higher cellularity was always observed in the normal than in the castrated group.

Caspase-3-positive chondrocytes were found in every harvested growth plate of both the normal and castrated rabbits, mainly in the hypertrophic zone (Fig. 4). The caspase-3-positive ratios of the normal rabbits in the whole

growth plate at 10, 15, 20 and 25 weeks was 8.7 (SD 1.6), 9.1 (SD 2.5), 11.8 (SD 1.8) and 15.0% (SD 5.4), respectively. The positive ratio in the castrated rabbits of the 8-10W, 8-15W, 8-20W and 8-25W groups was 8.1 (SD 0.7), 10.2 (SD 1.8), 13.3 (SD 3.6) and 19.5% (SD 3.3), respectively. These ratios were higher than those in the corresponding normal groups. No statistically significant difference was found between the normal and castrated groups over the entire growth plate and in the three divided zones (Fig. 5). In the hypertrophic zone, where most caspase-3-positive cells were detected, the ratio in the normal and castrated groups increased with age and the latter ratio was higher than the former. Conversely, in the resting and proliferating zones, the positive ratio was extremely small and there was little change with age and little difference between the two groups of the same age.

PCNA-positive chondrocytes were found in every harvested growth plate of both the normal and castrated rabbits and in all three individual zones. Most of the positive chondrocytes were found in the proliferating zone and in the upper hypertrophic zone (Fig. 6). The PCNA-positive ratio of the normal rabbits in the whole growth plate at 10, 15, 20 and 25 weeks was 14.5 (SD 2.5), 12.5 (SD 2.9), 7.8 (SD 1.2) and 5.1% (SD 0.3), respectively. That in the 8-10W, 8-15W, 8-20W and 8-25W groups was 10.8 (SD 1.0), 5.8 (SD 1.7), 4.5 (SD 0.4) and 4.0% (SD 1.2), respectively. The ratio decreased with age in both the normal and castrated groups with that in the castrated rabbits being lower than the ratio in the corresponding normal rabbits. There were significant differences between the 10W and 8-10W groups, the 15W and 8-15W groups, and the 20W and 8-

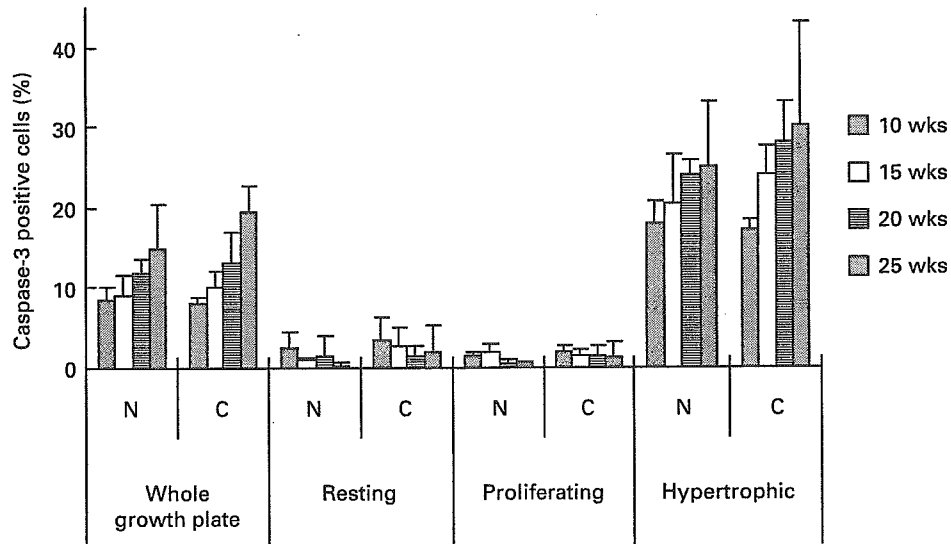


Fig. 5

Histogram showing the mean (SD) caspase-3-positive ratios in the whole growth plate and three divided zones in the normal (N) and castrated (C) rabbits. Each bar represents the mean (SD) (x200). The ratios increase with growth in the whole growth plate and the hypertrophic zone in both rabbits.

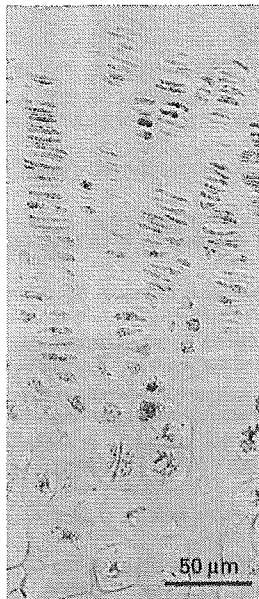


Fig. 6

Photomicrograph showing immunostaining for PCNA in a growth plate of a 10-week-old rabbit. Positive chondrocytes with diffusely-stained nuclei were found mainly in the proliferating and upper hypertrophic zones (x200).

20W groups (Fig. 7). In addition, in the three divided zones the positive ratio tended to decrease with age and the castrated groups showed a lower positive ratio than the corresponding normal groups. However, a significant dif-

ference was found only between the proliferating zones of the 15W and 8-15W groups (Fig. 7).

Discussion

The increase in the level of testosterone initiates puberty and promotes pubertal changes including epiphyseal maturation.^{9,32-34} In our study, the serum level of testosterone remained low until ten weeks but was maximal at 15 weeks in the normal Japanese white rabbits, which suggested that the prepubertal phase lasted at least until ten weeks of age. Therefore, it was thought reasonable to castrate the rabbits at eight weeks in order to study the effects of testosterone since they had not, by then, been exposed to male hormones.

Testosterone acts through at least three pathways. First, it converts to oestrogen which accelerates growth and epiphyseal maturation.⁹ Secondly, it increases production of growth hormone and insulin-like growth factor (IGF-1), which stimulate proliferation of the chondrocytes in the growth plate.^{20,33,34} Finally, it stimulates the proliferation of chondrocytes by local upregulation of IGF-1 receptor gene expression.²⁰ Testosterone accelerates proliferation of the chondrocytes of the growth plate *in vivo*, although *in vitro*, it inhibits proliferation,^{9,20,33-36} which suggests that testosterone has little direct effect on the proliferation of chondrocytes in the growth plate *in vivo*.

The effects of testosterone on the death of chondrocytes are less understood. Okada³⁷ reported that it increased apoptosis in the resting and hypertrophic zones *in vitro* and that oestrogen also stimulated apoptosis of chondrocytes *in vivo* and *in vitro*. IGF-1 has been detected in terminal hypertrophic chondrocytes suggesting that it has a function of local control of the initiation of terminal cells into apop-

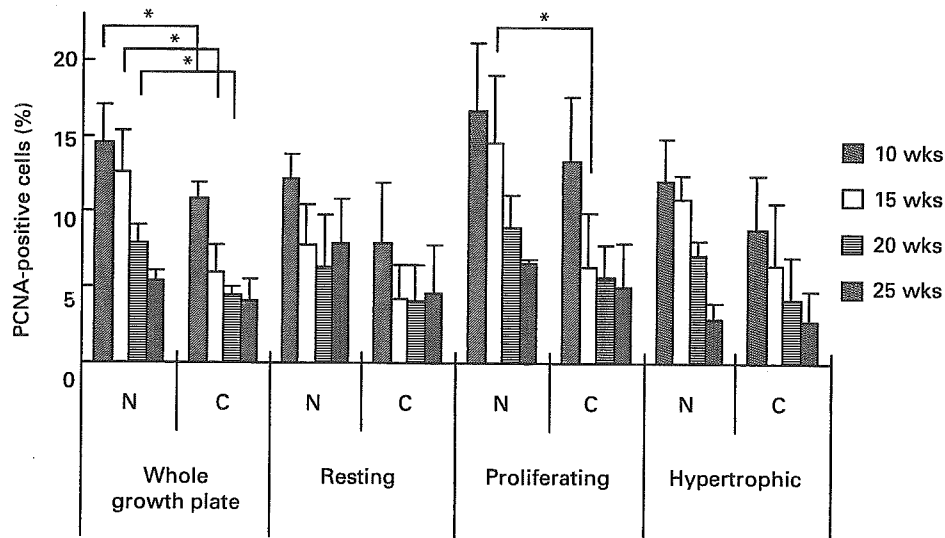


Fig. 7

Histogram showing the mean (SD) PCNA-positive ratios in the whole growth plate and the three divided zones. The ratios decrease with growth in the normal (N) and castrated (C) rabbits.

tosis.³⁸ On the other hand, IGF-1 showed anti-apoptotic effects on intervertebral disc cells *in vitro*.³⁹ Growth hormone inhibited apoptosis in osteoblast-like cells and myoblasts.^{40,41}

The effects of castration on the growth of long bones remains controversial. Some studies have reported an increased length of long bones and delayed closure of the growth plate in castrated animals while others described a decrease in the length.^{15,17,21,22} In addition, the effects of castration on chondrocytes in the growth plate remain unclarified. An increased number of proliferating chondrocytes and a delay in hypertrophy have been reported in castrated animals,^{15,17} while a decreased ability to synthesise DNA after gonadectomy has recently been described.²³ These diverse results may be caused by a difference in the animal model that was used. In addition, the testosterone pathway which is dominant may depend on the type and the age of the animals.^{15,17,21-23}

The maturation involving mineralisation and ossification of the epiphyseal growth plate is mainly controlled by oestrogen.^{9,21,22} In our study, the castrated and normal rabbits had almost the same timing of closure of the growth plate although the former showed a tendency for a decline in the height and cellularity of the growth plates. This may be because the oestrogen produced from testosterone would have been low in the castrated rabbits.

We wish to acknowledge the technical assistance of Katsukichi Shoji for his help of this study. We also thank Dr. Helmut I. Roach in the University of Southampton for her useful advice.

This work was supported in part by Grants-in Aid for Scientific Research (C) (2) (Project number 14571355) from Japan Society for the Promotion of Science.

No other benefits in any form have been received or will be received from a commercial party related directly or indirectly to the subject of this article.

References

- Brighton CT. Structure and function of the growth plate. *Clin Orthop* 1978;136:22-32.
- Hunziker EB, Schenk RK, Cruz-Orive L. Quantitation of chondrocyte performance in growth-plate cartilage during longitudinal bone growth. *J Bone Joint Surg [Am]* 1987;69-A:162-73.
- Robertson WW Jr. Newest knowledge of the growth plate. *Clin Orthop* 1990;253:270-8.
- Farnum CE, Wilsman N. Cellular turnover at the chondro-osseous junction of growth plate cartilage: analysis by serial sections at the light microscopical level. *J Orthop Res* 1989;7:654-66.
- Fujita I, Hirata S, Ishikawa H, Mizuno K, Ito H. Apoptosis of hypertrophic chondrocytes in rat cartilaginous growth plate. *J Orthop Sci* 1997;2:328-33.
- Lewinson D, Silbermann M. Chondroblasts and endothelial cell collaborate in the process of cartilage resorption. *Anal Rec* 1992;233:504-15.
- Roach H, Erenpreisa J, Aigner T. Osteogenic differentiation of hypertrophic chondrocytes involves asymmetric cell divisions and apoptosis. *J Cell Biol* 1995;131:483-94.
- Zenmyo M, Komiya S, Kawabata R, et al. Morphological and biochemical evidence for apoptosis in the terminal hypertrophic chondrocytes of the growth plate. *J Pathol* 1996;180:430-3.
- Frank GR. Role of estrogen and androgen in pubertal skeletal physiology. *Med Pediatr Oncol* 2003;41:217-21.
- Cassorla FG, Skerda MC, Valk IM, et al. The effects of sex steroids on ulnar growth during adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:717-20.
- Faiman C, Winter JS, Reyes FI. Patterns of gonadotrophins and gonadal steroids throughout life. *Clin Obstet Gynaecol* 1976;3:467-83.
- Caruso-Nicoletti MC, Cassorla FG, Skerda MC, et al. Short term, low dose estradiol accelerated ulnar growth in boys. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;61:896-8.
- Ren SG, Malozowki S, Sanchez P, et al. Direct administration of testosterone increase rat tibial epiphyseal growth plate width. *Acta Endocr* 1989;121:401-5.
- Braunstein GD. Testis. In: Greenspan FS, Strewler GJ, eds. *Basic & clinical endocrinology*. Fifth ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997:403-33.
- Lebovitz HE, Eisenbarth GS. Hormonal regulation of cartilage growth and metabolism. *Vitam Horm* 1975;33:575-648.
- McClure RD. Male infertility. In: Tanagho EA, McAninch JW, eds. *Smith's general urology*. Fourteenth ed. London: Prentice-Hall International Inc., 1995:739-71.
- Silberberg M, Silberberg R. Steroid hormones and bone. In: Bourne GH, ed. *The biochemistry and physiology of bone*. Vol 3, Second ed. New York: Academic Press Inc., 1971:401-84.
- Ornoy A, Giron S, Aner R, et al. Gender dependent effects of testosterone and 17 beta-estradiol on bone growth and modelling in young mice. *Bone Miner* 1994;24:43-58.

19. **Peralta JM, Arnold AM, Currie WB, Thonney ML.** Effects of testosterone on skeletal growth in limbs as assessed by labeling index of chondrocytes in the metacarpal bone growth plate. *J Anim Sci* 1994;72:2629-34.
20. **Phillip M, Maor G, Assa S, Silbergeld A, Segev Y.** Testosterone stimulates growth of tibial epiphyseal growth plate and insulin-like growth factor-I receptor abundance in hypophysectomized and castrated rats. *Endocrine* 2001;16:1-6.
21. **Salmeri KR, Bloomberg MS, Scruggs SL, Shille V.** Gonadectomy in immature dogs: effects on skeletal, physical, and behavioural development. *J Am Vet Med Assoc* 1991;198:1193-203.
22. **Salmeri KR, Olson PN, Bloomberg MS.** Elective gonadectomy in dogs: a review. *J Am Vet Med Assoc* 1991;198:1183-92.
23. **Somjen D, Mor Z, Kaye AM.** Age dependence and modulation by gonadectomy of the sex-specific response of rat diaphyseal bone to gonadal steroids. *Endocrinology* 1994;134:809-14.
24. **Aizawa T, Kokubun S, Tanaka Y.** Apoptosis and proliferation of growth plate chondrocytes in rabbits. *J Bone Joint Surg [Br]* 1997;79-B:483-6.
25. **Aizawa T, Roach HI, Kokubun S, Tanaka Y.** Changes in the expression of Fas, osteonectin and osteocalcin with age in the rabbit growth plate. *J Bone Joint Surg [Br]* 1998;80-B:880-7.
26. **Aizawa T, Kokubun S, Kawamata T, Tanaka Y, Roach HI.** c-Myc protein in the rabbit growth plate: changes in immunolocalisation with age and possible roles from proliferation to apoptosis. *J Bone Joint Surg [Br]* 1999;81-B:921-5.
27. **Pacifici M, Oshimo O, Fisher LW, et al.** Changes in osteonectin distribution and levels are associated with mineralization of the chicken tibial growth cartilage. *Calcif Tissue Int* 1990;47:51-61.
28. **Chrysis D, Nilsson O, Ritzen EM, Savendahl L.** Apoptosis is developmentally regulated in rat growth plate. *Endocrine* 2002;18:271-8.
29. **Lee D, Long SA, Adams JL, et al.** Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptosis and maintain cell functionality. *J Biol Chem* 2000;275:16007-14.
30. **Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al.** Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol* 1990;162:285-94.
31. **Matsuno M, Nishida K, Yoshida A, Murakami T, Inoue H.** Expression of caspase-3 and -9 relevant to cartilage destruction and chondrocyte apoptosis in human osteoarthritic cartilage. *Acta Med Okayama* 2001;55:333-40.
32. **Berger M, Jean-Faucher C, de Turckheim M, et al.** Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma of rabbit from birth to adulthood: correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1982;99:459-65.
33. **Keenan BS, Richards GE, Ponder SW, et al.** Androgen-stimulated pubertal growth: the effects of testosterone and dihydrotestosterone on growth hormone and insulin-like growth factor-I in the treatment of short stature and delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:996-1001.
34. **Zung A, Phillip M, Chalew SA, et al.** Testosterone effect on growth and growth mediators of the GH-IGF-I axis in the liver and epiphyseal growth plate of juvenile rats. *J Mol Endocrinol* 1999;23:209-21.
35. **Olney RC, Wang J, Sylvester JE, Mougey EB.** Growth factor regulation of human growth plate chondrocyte proliferation in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;317:1171-82.
36. **Schwartz Z, Nasatzky E, Ornoy A, et al.** Gender-specific, maturation-dependent effects of testosterone on chondrocytes in culture. *Endocrinology* 1994;134:1640-7.
37. **Okada M.** Growth plate and sex hormone. *Med J Kinki Univ* 2001;26:43-50 (in Japanese).
38. **McQueeney K, Dealy CN.** Roles of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-I binding protein-2 (IGFBP-2) and -5 in developing chick limbs. *Growth Horm IGF Res* 2001;11:346-63.
39. **Gruber HE, Norton HJ, Hanley EN Jr.** Anti-apoptotic effects of IGF-I and PDGF on human intervertebral disc cells in vitro. *Spine* 2000;25:2153-7.
40. **Morales O, Samuelsson MK, Lindgren U, Haldosen LA.** Effects of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and growth hormone on apoptosis and proliferation in UMR 106 osteoblast-like cells. *Endocrinology* 2003;145:87-94.
41. **Segard HB, Moulin S, Boumard S, et al.** Autocrine growth hormone production prevents apoptosis and inhibits differentiation in C2C12 myoblasts. *Cell Signal* 2003;15:615-23.

[資料]

骨粗鬆症と骨折に対する予防対策の経済効果に関する調査

目次

1. 調査票

日常生活に関するアンケート調査（患者用）調査票	33
退院時用調査票	39
医療者用調査票	40
日常生活に関するアンケート調査（地域住民用）調査票	43

2. 集計結果

(1) アンケート調査

表 1) 対象者の属性	49
表 2) QOL	50
表 3) サプリメント（栄養補助食品）	51
表 4) 食品（5段階）	52
表 5) 食品（2段階によるオッズ比算出）	57
表 6) 飲み物（5段階）	61
表 7) 飲み物（2段階によるオッズ比算出）	62
表 8) 喫煙・運動・睡眠時間	63
図 1) 対象者の属性	64
図 2) QOL	65
図 3) 食品、飲み物、喫煙・運動・睡眠時間	67

(2) 医療費調査

表 1) 年齢階級別、骨粗鬆症有無別の骨折者の割合	125
表 2) 骨粗鬆症による骨折者の推計人数	126
表 3) 1入院あたりの医療費（DPC）	127
表 4) 骨粗鬆症による骨折にかかる入院分費用（DPC）	128
表 5) 1日あたりの医療費（出来高払い）	129
表 6) 1入院あたりの医療費（出来高払い）	130
表 7) 骨粗鬆症による骨折にかかる入院分費用（出来高払い）	131
表 8) 退院後外来患者数（5年生存）	132
表 9) 退院後外来患者数（1年生存）	133

番号: _____

日常生活に関するアンケート調査のお願い

責任者：濃沼 信夫（東北大学 教授） 国分 正一（ 同 ）
出江 紳一（ 同 ） 永富 良一（ 同 ）

厚生労働省・長寿科学総合研究事業「骨粗しょう症と骨折に対する予防対策の経済効果に関する研究」による、健康状態や生活習慣、食生活等に関するアンケートです。

個人情報保護法および疫学研究に関する倫理指針に従って、プライバシーの保護を徹底いたしますので、ご協力のほどお願い申し上げます。

連絡先：東北大学大学院 医療管理学分野
伊藤道哉、門馬靖武、尾形倫明、高橋聡美
電話：022-717-8128 FAX：022-717-8130

あてはまる項目にご記入、またはチェック✓してください

年齢 () 歳	性別	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 女
身長 () cm	体重 () kg		

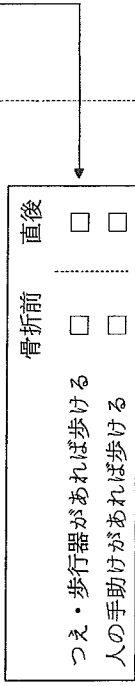
女性の方

閉経年齢 () 歳頃	出産数 () 人
-------------	-----------

1 骨折前と骨折直後の健康状態について

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

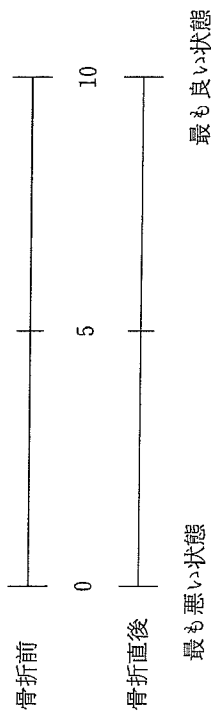
痛み/不快感

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

2 健康状態について横線にチェック✓してください



3 過去1年間の転倒について

ころぶ回数は月に約()回→ 0回の方は、質問4へ

主にいつ	<input type="checkbox"/> 朝方 <input type="checkbox"/> 特に決まっていない	<input type="checkbox"/> 昼間 <input type="checkbox"/> 夕方	<input type="checkbox"/> 夜間 <input type="checkbox"/> 覚えていない
主にどこで	<input type="checkbox"/> 屋内 具体的に() <input type="checkbox"/> 特に決まっていない	<input type="checkbox"/> 屋外 <input type="checkbox"/> 覚えていない	
主にどうして	<input type="checkbox"/> つまづいて <input type="checkbox"/> すべって <input type="checkbox"/> 特に決まっていない	<input type="checkbox"/> 踏みはずして <input type="checkbox"/> その他() <input type="checkbox"/> 覚えていない	
主にどのような	<input type="checkbox"/> 前にころんだ <input type="checkbox"/> 横・斜めにころんだ <input type="checkbox"/> 特に決まっていない	<input type="checkbox"/> 後ろにころんだ <input type="checkbox"/> 覚えていない	
ヒッププロテクターは、つけていましたか	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ

4 今回の骨折について

今回の骨折は、ころんだことによるものですか

はい いいえ → いいえの方は、質問5へ

いつ	<input type="checkbox"/> 朝方 <input type="checkbox"/> 覚えていない	<input type="checkbox"/> 昼間 <input type="checkbox"/> 夕方	<input type="checkbox"/> 夜間
どこで	<input type="checkbox"/> 屋内 具体的に() <input type="checkbox"/> つまづいた <input type="checkbox"/> すべった <input type="checkbox"/> 覚えていない	<input type="checkbox"/> 屋外 <input type="checkbox"/> 踏みはずした <input type="checkbox"/> その他() <input type="checkbox"/> 覚えていない	
どのように	<input type="checkbox"/> 前にころんだ <input type="checkbox"/> 横・斜めにころんだ	<input type="checkbox"/> 後ろにころんだ <input type="checkbox"/> 覚えていない	
ヒッププロテクターは、つけていましたか	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> はい	<input type="checkbox"/> いいえ

5 骨折前にとっていたサプリメント(栄養補助食品)について

ほとんどとらない 週に3~4回 ほとんど毎日

ビタミンB群	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ビタミンC	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ビタミンD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
カルシウム	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
鉄分	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
マグネシウム	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
亜鉛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
コラーゲン	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
キトサン	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
食物せんい	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

6 食生活について

骨折前

40歳の頃を思い出して

20歳の頃を思い出して

	骨折前				40歳の頃を思い出して				20歳の頃を思い出して			
	月に 1~2回 食べない	週に 1~2回 3~4回	週に 1~2回 3~4回	ほとんど 毎日	月に 1~2回 食べない	週に 1~2回 3~4回	週に 1~2回 3~4回	ほとんど 毎日	月に 1~2回 食べない	週に 1~2回 3~4回	週に 1~2回 3~4回	ほとんど 毎日
ごはん類 (白米)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
玄米	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
麦	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
雑穀	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
いも	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
パン	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
めん類 (うどん、そばなど)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
肉類(牛肉、豚肉 など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
鳥肉	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
くじら肉	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
レバー(内臓を含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ハム・ソーセージ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
卵	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
牛乳(脱脂粉乳を含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ヨーグルト	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
チーズ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
バター・マーガリン	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ごま油	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
フライ・天ぷら類	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
炒め物	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
鮮魚(焼き魚、煮魚を含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
干し魚・加工用塩魚	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
魚の缶詰	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

つづき

骨折前

40歳の頃を思い出して

20歳の頃を思い出して

	骨折前				40歳の頃を思い出して				20歳の頃を思い出して			
	月に 食べない 1~2回	週に 1~2回	週に 3~4回	ほとんど 毎日	月に 食べない 1~2回	週に 1~2回	週に 3~4回	ほとんど 毎日	月に 食べない 1~2回	週に 1~2回	週に 3~4回	ほとんど 毎日
川魚(うなぎ、どじょうを含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
えび・かに	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
貝類	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
かまぼこ・ちくわ・さつまあげ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
葉の色が淡い野菜 (キャベツ、レタス、白菜 など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
葉の色が濃い野菜 (ほうれん草、シュンギク など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ニンジン、カボチャ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
トマト	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
山菜・野草	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
キノコ類	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
いも類(栗を含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
豆類(大豆、あずき など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
大豆加工品(豆腐、おから など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
納豆	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
海草	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
漬け物	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
つくだ煮	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ミカン類	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
他の果物	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ドライフルーツ(干し柿 など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ナッツ類 (落花生 など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
菓子類(まんじゅう、ケーキ など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>