

原田 敦**

[整形外科 57 巻 12 号 : 1635~1642, 2006]

はじめに

死亡時点でみた生前の要介護期間を先死期という。先死期は，“動けない”，“失禁”，“認知症”を三大主徴としている。この中で“動けない”の基本的な原因として，加齢による筋肉の減少を背景としたきわめて緩徐に進行する運動機能の低下がある。この運動機能低下を主要な要因として起る事故の代表が転倒で，転倒エネルギーからは程度の軽重を問わず，身体的損傷だけでなく精神的損傷を被るが，骨に伝播した外力が骨強度を超えれば骨折が生じる。骨折のような重度の身体損傷が生じれば，それ自身が運動機能を急激に低下させ，“動けない”状況にいたり，ある程度の回復後もすすむさらなる運動機能低下が，次の転倒骨折を招く悪循環に陥る。このように運動機能が徐々に低下しつつも“動ける”高齢者が，転倒骨折をきっかけに一気に“動けない”状況になり先死期を迎えるという構図があり，骨折・転倒は要介護となった原因の第3位で13%を占める。この傾向は後期高齢期（75歳以上）の女性でもっとも顕著となる（図1）¹⁾。その典型が，大腿骨頸部骨折の患者である。したがって，世界で最速の高齢化が進行しつつあるわが国にとっては，この骨折をただ治療するだけでなく，その発生を予防することには大きな意義がある。

大腿骨頸部骨折の予防には，転倒による外力が骨に作用しないようにする対策と骨強度を維

持，改善させる対策（骨粗鬆症治療）とが考えられている。前者には，転倒そのものを減少させる対策（転倒予防）と転倒時の外力を減少させる対策がある。本稿では，これらについて概説する。

1 大腿骨頸部骨折と転倒の現状

大腿骨頸部骨折の新発生患者数は，2002年の全国調査によれば約117,900人と推定され，女性が男性の約3.7倍であった。この発生数は，過去15年間で2.2倍に急増している。その増加は，母集団である高齢者数の増加に加えて80歳以上の女性と90歳以上の男性における発生頻度そのものの増加が原因となっている。発生頻度は後期高齢期から指数関数的に上昇する（図2）²⁾。そのため，本骨折の大多数は80歳代と90歳代の女性で占められている。

前述したように，高齢期の転倒は運動機能低下の象徴である。在宅高齢者の10%が年間1回以上転倒し，その10%が骨折するとされている。運動機能のいっそう低下した層では転倒率はいっそう高く，介護施設入所高齢者の年間転倒率は17%とされている。転倒頻度は年齢とともに上がるとされている。ちなみに大腿骨頸部骨折は1%といわれている³⁾。

2 転倒から大腿骨頸部骨折にいたるメカニズム（図3）

大腿骨頸部骨折を発生させる外力は，ほとん

Key words : hip fracture, fall, osteoporosis, hip protection, prevention

* Hip fractures and fall prevention in the elderly

** A. Harda (部長) : 長寿医療センター病院整形外科 (☎ 474-8511 大府市森岡町源吾 36-3 ; Dept. of Orthop. Surg., National Hospital for Geriatric Medicine, Obu).

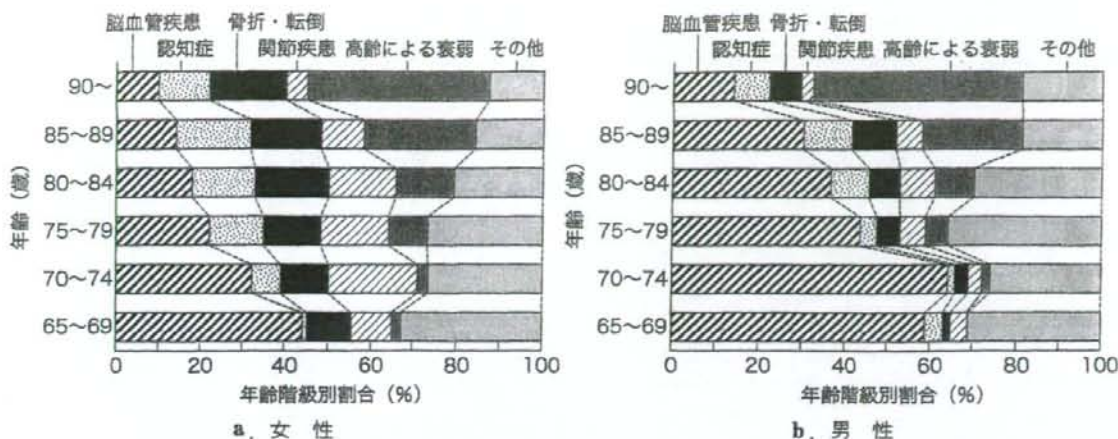


図 1. 65 歳以上の要介護となった原因の年齢階級・性別割合 (文献 1 より引用). 平均的高齢者は死亡する前に一定の要介護期間 (先死期) を過ごす. その原因となった疾患の占める割合は年齢差, 性差が明らかである. 脳血管疾患の割合は男性で高く, 若いほど高いのに対して, 骨折・転倒の占める割合は認知症, 関節疾患, 高齢による衰弱と同じ傾向で, 女性で高く高齢ほど高い.

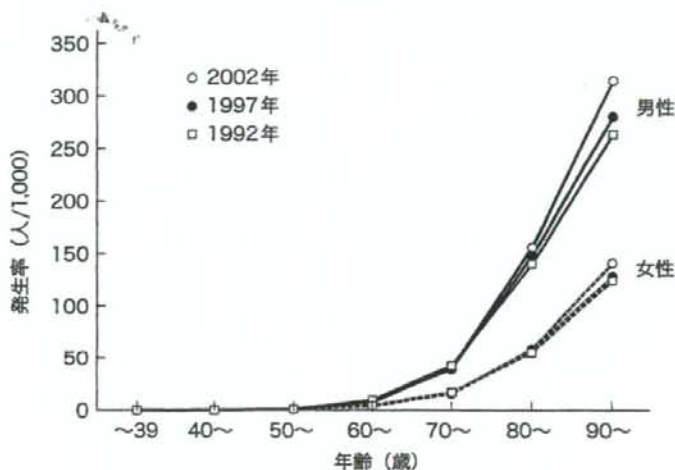


図 2. わが国の大腿骨頸部骨折の年齢別発生頻度 (文献 2 より引用). 2002 年の大腿骨頸部骨折の新発生患者は, 年間約 117,900 人と推定され, 女性が男性の約 3.7 倍で, 60 歳以降は女性が男性の 2 倍以上高率に発生した. 以前に行われた全国調査に比べると, 患者数は 15 年間で 2.2 倍まで増加した. 年齢別発生率を前 2 回に比べると, 男性では 90 歳以上で, 女性では 80 歳以上でさらに発生率が高くなっていった.

どが転倒に由来している. 日本整形外科学会の全国調査では, 大腿骨頸部骨折 110,747 人における骨折の原因は 74% が転倒, 8% が椅子からの小転落であったことが判明している⁴⁾. しかし, 前述したように転倒から本骨折を生じる率

はわずか 1% であり, 多種多様に起る転倒のうち, 大腿骨頸部骨折になる転倒はどのような特徴を有しているのであろうか. 交通事故における外傷発生のメカニズムは, 現場検証からグミー人形による衝突試験, さらに有限要素モ

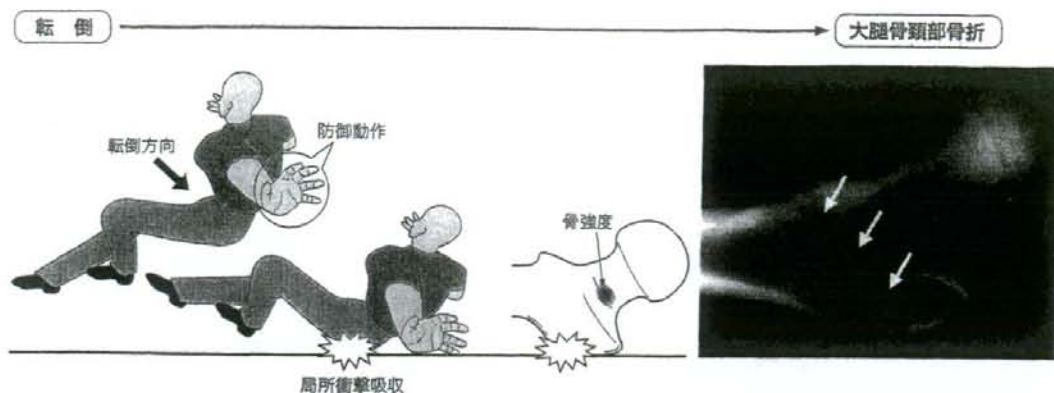


図 3. 転倒から大腿骨頸部骨折発生までのメカニズム。立位からの転倒は、その転倒方向、転倒中の防御動作、大転子で着地時の局所衝撃吸収、大腿骨近位部の骨強度などが絡んで大腿骨頸部骨折を引き起す。

デルによるシミュレーションなどを通じてかなりよく解明されている。一方、転倒から大腿骨頸部骨折発生までのメカニズムに関しては不明な部分が多く残されているとはいうものの、転倒開始から大腿骨頸部骨折までに予想されているメカニズムは図3のごとくで⁹⁾、大腿骨頸部骨折発生の決定因子として、転倒方向、防御動作、局所衝撃吸収、骨強度があげられている。転倒方向は重要で、側方から後側方への転倒がもっとも大腿骨頸部骨折に関連する。ただその方向に倒れても、途中で体をひねったり手を使ったりして防御できれば、さらに着地しても着地面や軟部組織の衝撃吸収量が大きければ、そして骨強度が高ければ、いずれもそれぞれ大腿骨頸部骨折の危険性を低下させる。

1. 大転子への外力

転倒による最終的な打撲部位が大転子部の側方から後側方であると、骨盤と大転子のあいだに位置する骨頭から大腿骨頸部移行部と頸部と転子部との移行部には形状が急激変化する部位であるために高い応力が集中しやすく(図3)、大腿骨頸部骨折を生じる危険性が高く⁹⁾、この条件を再現した衝撃試験では高率に大腿骨頸部骨折が発生する⁷⁾。そのさいの大転子への外力の大きさは、若年成人の立位からの転倒では5,600~8,600 Nとされている⁹⁾。ただし、高齢者における転倒時の大転子への外力値は未だ不

明である。前述したように、危険な転倒方向は側方から後側方であるが、その方向に転倒すると大転子から転倒していき、打撲部位が危険領域である大転子部の側方から後側方となる可能性が高くなるからと考えられる。

2. 大腿骨近位部の骨強度

骨折の発生は骨強度と外力の関係で規定され、骨強度は基本的に骨の Young 率などの材料特性と大きさ・形などの形状で規定される。しかし実際の骨強度は、皮質骨から海綿骨の解剖学的構造の差と部位別形状の差などにより複雑に変化するので、正確に計算することはむずかしい。この骨強度が骨折の危険水準にまで低下した病態が骨粗鬆症であり、「骨量の減少と微細構造の劣化によって骨強度が低下し、骨折の危険性が高まった全身性疾患」と定義されている⁹⁾。微細構造の劣化は近年骨質と表現されるものと考えられるが、現段階ではまだ臨床応用はできないので、骨折リスクの判定にあたっては骨密度で代表される骨量に対する診断が主流であり、かつもっとも有用である。大腿骨頸部骨折に関しても、大腿骨近位部骨密度が1 SD 低下することにより大腿骨近位部骨折の危険率は2.6倍になるとされ¹⁰⁾、どの部位の骨密度も骨折リスク判定に有用であるが、もちろん大腿骨近位部自身の骨密度が大腿骨頸部骨折リスクをもっとも反映する(表1)¹¹⁾。

表 1. 骨密度 1 SD 減少あたりの相対危険度* (文献 11 より引用)

骨密度測定部位**	大腿骨頸部骨折	脊椎骨折	前腕骨折	全部位の骨折
大腿骨近位	2.4	1.9	1.3	1.6
腰椎	1.5	1.9	1.5	1.5
橈骨遠位	1.5	1.7	1.7	1.4
踵骨	1.8	1.7	1.6	1.5
超音波踵骨	1.6			1.5

*相対危険度はすべて有意, **超音波踵骨以外はすべて二重エネルギーX線吸収法 (dual energy X-ray absorptiometry: DXA) による測定

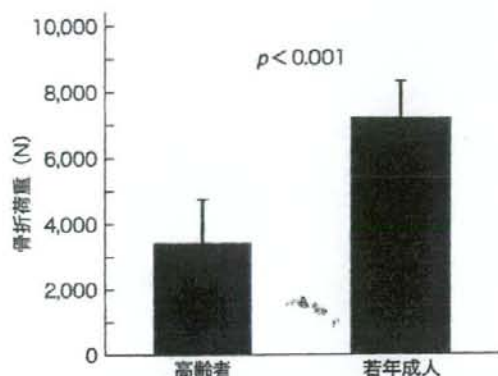


図 4. 若年成人と高齢者の大腿骨頸部骨折荷重 (文献 12 より引用). 衝撃荷重試験の結果は, 高齢者の大腿骨頸部骨強度が若い人の半分まで低下していることを示している.

大腿骨近位部の骨強度には明らかな年齢差が存在し, 成人期と比較して当然ながら高齢期の骨強度は大きく減少しており, 骨折する荷重は平均 33 歳の大腿骨近位部では 7,200 N であったのに対して平均 74 歳では 3,500 N と半減していた (図 4)¹²⁾. これは米国人の場合であるが, 日本人ではわれわれの実験では 2,200 N とさらに低値であった⁷⁾.

3 転倒予防

高齢者の転倒による骨折を防ぐ有望な方法として, わが国の整形外科医により第 1 位の回答数を得たのが転倒予防である¹³⁾. 骨折したばかりの患者を直接扱う整形外科医にとっては, 脆弱性骨折を骨粗鬆症の発症と考えるより, 転倒などの事故による外傷と理解する習性が強いからであろう. そこで, 高齢者の骨折を予防しようとする, まず転倒予防から発想するのはきわめて自然と思われる.

さて, 転倒の予防にはその危険因子を理解しなければならない. 転倒の危険因子は内的因子と外的因子に分けられ (図 5)¹⁴⁾, 非常に多数の具体的項目があげられている. このうち介入によって改善が期待できる因子は, 歩行能力低下と薬物, 物理的環境に関連する部分で, これらに対して以前から多くの無作為比較対照試験 (randomized controlled trial: RCT) がなされている.

1. 内的因子への介入による転倒予防

歩行能力低下の原因となるさまざまな病態の中で, 主に筋力, バランス, 巧緻性の低下, 反応時間の延長に対する代表的な介入としては, 筋力訓練, バランス訓練, 歩行訓練などの運動療法がある. たとえば, 開眼片足立ちは筋力・バランスを簡便に, ほとんど負担なく訓練できる優れた方法である. また睡眠薬, 精神安定薬, 降圧利尿薬, 抗痙攣薬などの転倒を惹起しうる薬物に対する介入としては, 総合的な判断のもと, それらの中止・減量などの薬剤指導を行う. さらに Parkinson 病, 起立性低血圧, てんかん発作, 認知症, 骨・関節炎, 視力障害などの合併疾患に対しては, 未治療であれば内科的コントロールや白内障手術など専門医による治療を積極的に行う.

2. 外的因子への介入による転倒予防

段差, 戸口の踏み段, 絨毯の端, 電気コード類などのつまづきやすいもの, 室内や浴槽の床などすべりやすい素材, 暗い照明や光をさえぎる物などの視覚を妨げる要因などが外的因子となる. これらを評価して高齢者の身体的状況と比較し有用と判定される除去・改善を行うことは, つまづきやすさなど物理的きっかけが関

表 2. 転倒予防介入の転倒減少効果 (文献 15~19 より引用)

報告者	介入法	転倒の相対危険度*
Province ら	バランス訓練	0.83
	運動訓練	0.90
Gillespie ら	向精神薬中止	0.34
	太極拳	0.51
	家庭環境因子の評価修正	0.64
	転倒危険因子の包括的評価修正/選択条件をつけない在宅高齢者	0.73
Robertson ら	転倒危険因子の包括的評価修正/転倒リスクをもつ高齢者	0.79
	筋力強化とバランス改善のプログラム	0.80
	筋力強化とバランス改善のプログラム (家庭で個別)	0.65
	転倒危険因子の包括的評価修正	0.82
Chang ら	運動訓練	0.86
	介入全体	0.88
Weatherall ら	転倒危険因子の包括的評価修正	0.62

*相対危険度はすべて有意

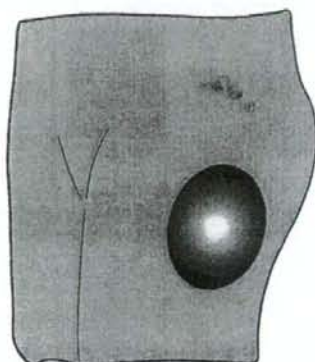


図 6. ヒッププロテクター。さまざまな構造のプロテクターが主に下着の大転子部に組み入れられ、転倒時に大転子部を保護して骨折を防ごうとする装置

きる工夫をあらかじめ大転子部しておくことが有効と考えられる。これがヒッププロテクターである。

1. ヒッププロテクターの原理

ヒッププロテクターは、ヘルメットやクッションの様式で種々のデザインでプロテクター部分が設計され、それが下着の大転子部に入れられて日常使用するというもので、大転子から転倒したときに荷重を分散や吸収することによって大腿骨頸部へ伝わるぶんを減らすことができる (図 6)。

2. ヒッププロテクターのエビデンス

ヒッププロテクターも開発されて 10 年以上を経過し、RCT も 10 以上行われてきた。その結果明らかになったことは、自立した生活が営めなくなった高齢者 (介護施設生活者) では大腿骨頸部骨折を 23% 減少させることができ、有効性が期待できることである²⁰⁾。ちなみに筆者の試験では、特別養護老人ホームの大腿骨頸部骨折を 90% も減らすことができている¹⁹⁾。反面、自立した生活が可能な高齢者 (在宅生活者) には無効であることもはっきりしてきた²⁰⁾ (表 3)。この原因はヒッププロテクターのコンプライアンスにあると考えられる。ヒッププロテクターは大転子からの転倒時に使用していなければ無効なので、いつ転ぶかわからないような自立した者は転倒する前に着けなくなり、逆に、いつ転んでもおかしくない要介護者は着けているあいだに転んでしまうという差違が骨折率の差に結びついていると考えられる。

5 骨粗鬆症の治療

多くある骨粗鬆症治療薬剤の中で、RCT で大腿骨頸部骨折予防のエビデンスが得られている薬剤はアレンドロネート、リセドロネート、ビタミン D、エストロゲンの 4 剤である (表 4)²¹⁾。このうちエストロゲンは悪性腫瘍や脳血管障害などの全身的有害事象の増加のため推奨されなくなり、残りの 3 剤が大腿骨頸部骨折を予防しようとするときの第一選択薬剤になると

表 3. ヒッププロテクターの大腿骨頸部骨折予防効果 (文献 20 より引用)

報告者 (年)	対象者	無作為化法	大腿骨頸部骨折の相対危険度
Lauritzen	介護施設生活者	クラスター無作為化試験	0.44
Ekman	介護施設生活者	クラスター無作為化試験	0.34
Kannus	介護施設生活者	クラスター無作為化試験	0.34
Harada	介護施設生活者	クラスター無作為化試験	0.11
Meyer	介護施設生活者	クラスター無作為化試験	0.57
O'Halloran	介護施設生活者	クラスター無作為化試験	1.05
Jantti	介護施設生活者	個人別無作為化試験	0.2
Chan	介護施設生活者	個人別無作為化試験	0.39
Hubacher	介護施設生活者	個人別無作為化試験	1.49
Cameron	介護施設生活者	個人別無作為化試験	1.17
van Schoor	介護施設生活者	個人別無作為化試験	0.93
計			0.77*
Cameron	在宅生活者	個人別無作為化試験	0.94
Birks (2003)	在宅生活者	個人別無作為化試験	3.03
Birks (2004)	在宅生活者	個人別無作為化試験	1.18
計			1.16**

*相対危険度は有意, **相対危険度は有意性なし

表 4. 薬剤の大腿骨頸部骨折予防効果 (文献 23~24 より引用)

報告者	薬剤	大腿骨頸部骨折の相対危険度*	
Bischoff-Ferrari ら	ビタミンD	0.74	ビタミンD補充量 700~800 IU/日で有効
Papapoulos ら	アレンドロネート	0.55	70歳代までの骨粗鬆症在宅生活者で有効
McClung ら	リセドロネート	0.70	70歳代までの骨粗鬆症在宅生活者で有効

*相対危険度はすべて有意

考えられる。アレンドロネート²³⁾とリセドロネート²⁴⁾は大腿骨頸部骨折をそれぞれ45%および30%減らすことができている。ともにビタミンD不足には十分な補給をしながら、70歳代までの骨粗鬆症を有する在宅生活者を対象とした結果であり、頻度がもっとも高い80歳以上でのエビデンスではない。対照的に、26%の骨折減少が得られているビタミンD²⁴⁾は、カルシウムを併用しながらの80歳代の施設生活者を対象とした成績が中心であり、在宅生活者だけを対象とした試験でのエビデンスではない。

おわりに

大腿骨頸部骨折の予防は、転倒に関する危険度と骨強度に関する危険度の両者が評価され、それに応じた対策が総合的になされることが望ましい。本稿では触れなかったが、そこには医療経済的節度も求められることは当然である。

文 献

- 1) 国民生活基礎調査報告/厚生省大臣官房統計情報部 (編): 高齢者をとりまく世帯の状況, 厚生統計協会, 東京, p3, 2001
- 2) 折茂 肇, 坂田清美: 第4回大腿骨頸部骨折全国頻度調査成績—2002年における新発症患者数の推定と15年間の推移. 医事新報 4180: 25-30, 2004
- 3) 安村誠司: 高齢者の転倒・骨折の頻度. 日医会誌 122: 1945-1949, 1999
- 4) Committee for Osteoporosis Treatment of the Japanese Orthopaedic Association: Nationwide survey of hip fractures in Japan. J Orthop Sci 9: 1-5, 2004
- 5) Cummings SR, Nevitt MC: A hypothesis: the cause of hip fractures. J Gerontol 44: M107-M111, 1989
- 6) Hayes WC: Biomechanics of falls and hip fracture in the elderly. Prevention of Falls and Hip Fractures in the Elderly, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, p41-65, 1993
- 7) Okuizumi H, Harada A, Iwata H et al: Effect on the femur of a new hip fracture preventive system using dropped-weight impact testing. J Bone Miner Res 13: 1940-1945, 1998

- 8) Robinovitch SN, Hayes WC, McMahon TA : Prediction of femoral impact forces in falls and on the hip. *J Biomech Eng* **113** : 366-374, 1991
- 9) Anonymous : Consensus development conference ; diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* **94** : 646-650, 1993
- 10) Marshall D, Johnell O, Wedel H : Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* **312** : 1254-1259, 1996
- 11) Cummings SR, Bates D, Black DM : Clinical use of bone densitometry ; scientific review. *JAMA* **288** : 1889-1897, 2002
- 12) Courtney AC, Wachtel EF, Myers ER et al : Age-related reductions in the strength of the femur tested in a fall-loading configuration. *J Bone Joint Surg* **77-A** : 387-395, 1995
- 13) Harada A, Matsui Y, Mizuno M et al : Japanese orthopedists' interests in prevention of fractures in the elderly from falls. *Osteoporos Int* **15** : 560-566, 2004
- 14) 林 泰史(監), 鈴木隆雄(編) : 「転倒予防」の実践的リスク評価法—日本骨粗鬆症学会教育講座転倒予防シリーズ2. *Osteopor Jpn* **11** : 75-82, 2003
- 15) Province MA, Hadly EC, Hornbrook MC et al : The effects of exercise on falls in elderly patients ; a preplanned meta-analysis of the FICSIT Trials. *JAMA* **273** : 1341-1347, 1995
- 16) Gillespie LD, Gillespie WJ, Robertson MC et al : Interventions for preventing falls in elderly people. *Cochrane Database Syst Rev* **3** : CD 000340, 2001
- 17) Robertson MC, Campbell AJ, Gardner MM et al : Preventing injuries in older people by preventing falls ; a meta-analysis of individual-level data. *J Am Geriatr Soc* **50** : 905-911, 2002
- 18) Chang JT, Morton SC, Rubenstein LZ et al : Intervention for the prevention of falls in older adults ; systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ* **328** : 680, 2004
- 19) Weatherall M : Prevention of falls and fall-related fractures in community-dwelling older adults ; a meta-analysis of estimates of effectiveness based on recent guidelines. *Int Med J* **34** : 102-108, 2004
- 20) Parker MJ, Gillespie WJ, Gillespie LD : Hip protectors for preventing hip fractures in older people (review). *Cochrane Database Syst Rev* **3** : CD 001255, 2005
- 21) 日本整形外科学会診療ガイドライン委員会大腿骨頸部/転子部骨折ガイドライン策定委員会, 厚生労働省医療技術評価総合研究事業「大腿骨頸部骨折の診療ガイドライン作成」班(編) : 大腿骨頸部/転子部骨折の危険因子. 大腿骨頸部/転子部骨折診療ガイドライン, 南江堂, 東京, p 27-41, 2005
- 22) Papapoulos SE, Quandt SA, Liberman UA et al : Meta-analysis of the efficacy of alendronate for the prevention of hip fractures in postmenopausal women. *Osteoporos Int* **16** : 468-474, 2005
- 23) McClung MR, Geusens P, Miller PD et al : Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women ; hip intervention program study group. *N Engl J Med* **344** : 333-340, 2001
- 24) Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB et al : Fracture prevention with vitamin D supplementation. *JAMA* **293** : 2257-2264, 2005

*

*

*



整形外科医のための手術解剖学図説 (原書第3版)

●著 Hoppenfeld, S. & deBoer, P. ●監訳 寺山和雄/辻 陽雄

整形外科手術手技における代表的なアプローチについて局所外科解剖を基軸として、数多くの美麗なわかりやすい図を用いて解説した手術基本指導書。今改訂では、図をすべてオールカラーにして、よりわかりやすくすると同時に、新しく、肩・膝の関節鏡アプローチ、上腕骨近位部・大腿骨近位部への最小皮切アプローチなどの記載を追加。

■A4変型判・734頁 定価39,900円(本体38,000円+税5%) ISBN4-524-23946-4

南江堂

運動指導・転倒防止のリハビリテーション

原田 敦

Exercise for fall prevention and osteoporosis treatment

Atsushi Harada

Department of Restorative Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology

Abstract

The recent meta-analyses of many randomized controlled trials that examined the effectiveness of exercise on the fall frequency and the bone mineral density were reviewed. All of the various exercise programs showed the significant reduction of the number of falls. In addition, the bone mineral density also increased with aerobics, resistance training, and walking in the lumbar spine and increased with walking in the femoral neck. Although exercise programs have not yet showed evidence for fracture prevention, it seemed to reduce the risk of fall and osteoporosis.

Key words: exercise, fall prevention, osteoporosis, bone mineral density, fracture prevention

はじめに

高齢者は誰もが死を迎える前に自立が低下して介護を要する一定の時期(先死期)を過ごす。この先死期をいかに短くするかは、大多数の高齢者、その家族、そして社会全体の願いであると考えられる。この時期に自立が低下する原因となる老年病の三大主徴は、'動けない'、'わからない'、'失禁'である。これらが単独で、あるいは複合して高齢期の自立損失をもたらしている。したがって、先死期を少しでも短縮するためには、各徴候の病因のうち可変性の要因については、できるだけ減らし、かつ改善して、現れる徴候の量を少しでも減らし、程度を少しでも軽くすることが肝要である。なかでも、三大主徴を引き起こしている多数の病因のうちで、

メカニズムが明らかになっていて実際にリスクを除去、あるいは軽減する医学的方法が可能な部分には、積極的に介入をすべきであると思われる。

さて、'動けない'状態を高齢者にもたらす原因の主なものには、脳血管疾患やParkinson病などの中枢神経疾患と骨折・転倒、関節疾患や脊柱管狭窄症などの運動器疾患がある。平成13年度の国民生活基礎調査によれば、これらの運動器疾患の中で要介護者の原因となった割合が最も高いのは、骨折・転倒である¹⁾。特に下肢の骨折、とりわけ大腿骨頸部骨折は、その頻度の高さ、重篤さ、機能回復の不良さの点から高齢者の運動機能にとって最大の脅威となっている。大腿骨頸部骨折の直後に完全な歩行不能まで著しく低下する運動機能は、治療によっ

国立長寿医療センター病院機能回復診療部

て経時的に改善するが、受傷前と同じレベルまで最終的に回復する率は高くなく、受傷前に歩行可能であった大腿骨頸部骨折患者の半数が最終的に自立した歩行能力を再獲得できず、受傷前に自立生活可能であった患者のやはり半数が、最終的に長期の介護・支援を受けるようになり、介護施設入所のリスクが1/3以上で高まるとされる²⁾。このように高齢者が‘動けない’状態になる確率が非常に高い大腿骨頸部骨折は、大腿骨頸部骨密度の1SD低下によりそのリスクが2.6倍になるとされ³⁾、欧米でも我が国でも転倒が発生原因の80-90%を占めることはよく知られており、これらの事実が示すように、防ぐべき高齢期の骨折の主要因は、骨強度の低下と転倒による外力の2つであることがわかる。

本稿の主題である運動を主体としたリハビリテーションの目的も、この2種類のリスクを改善して骨折予防に結びつけることにある。そこで以下に、転倒リスク、骨粗鬆症リスク、骨折リスクに分けて、これらに対する運動療法について概説する。

1. 転倒リスクに対する運動療法

転倒リスクは外的リスクと内的リスクに分けられる。外的リスクは、つまずきやすい段差や滑りやすい床や暗い照明などの生活環境における物理的障害であり、運動が介入する余地は少ない。一方、低い運動機能、転倒歴、転倒関連の疾病・薬物などが含まれる内的リスクのうちで、低下した運動機能は、運動療法による改善が見込める格好の要因である。転倒に直接関連する運動機能には、最大筋力、持続筋力、反応時間、姿勢反射、平衡機能、運動速度などがあるが、低下したこれらの運動機能を鍛えることで向上できれば、それに応じて転倒が減るはずと容易に想像できるが、実際にはどうであろうか。

これまでに、運動療法による転倒予防のための臨床試験は、単独因子に対する介入から多因子に対する包括的介入プログラムまで多様な運動介入試験が多数行われてきているが、その研究レベルには差違が大きい。ここでは、そのう

ちで無作為対照比較試験(RCT)に関するメタアナリシス⁴⁻⁶⁾を紹介する(図1)。

米国における老人ホームでの2試験と地域在宅高齢者での5試験に行われたメタアナリシスでは、短期間の運動療法が平均年齢73-88歳の高齢者(2,328例)において転倒を減少させるかを検討した結果、運動療法は転倒率を10%減少させた。運動療法の内容は多様であったが、バランス訓練は17%減少と特に有効で、高齢者に対する運動療法は転倒リスクを減少すると結論している⁴⁾。更に、11試験を検討したGardnerらのメタアナリシスでは、運動療法は選択条件に合致した中等度の自立障害のある高齢者においても効果的かつ安全に転倒リスクを低下させると結論づけている。すなわち、筋力強化、バランス訓練、持久力訓練、太極拳などが、60歳以上の地域在宅住民(4,933例)に大きな有害事象なく、転倒率を減少させたとしている⁵⁾。また、ニュージーランドの質的均一性の高い4試験を検討したRobertsonらは、平均82歳の地域在宅住民(1,016例)に、転倒予防のために家庭で個別に実施された筋力強化とバランス訓練のプログラムが、転倒数を35%減らし、オッズ比0.67とリスク抑制に成功している。転倒による外傷数も35%減らし、オッズ比が0.56と報告している。加えて、80歳以上とそれ未満で比べると、運動プログラムによる転倒数減少には差はないものの、傷害性転倒数は80歳以上群の方が少なかった。更に、1年以内の転倒歴の有無による解析を加えると、家庭での個別運動プログラムは、転倒歴のある80歳以上高齢者において転倒や傷害性転倒のリスクを最もよく抑制できていた。これは、自立運動機能を喪失しかけているような対象では、筋力とバランスのわずかな改善でさえも、大きな改善に結びつくことになることを示唆している⁶⁾。更に、Cochrane Libraryのメタアナリシスは、在宅、施設、入院など様々な住居環境の高齢者に対する転倒予防を目的とした運動指導プログラムの効果を解析し、転倒減少率は、筋力強化とバランス改善の家庭個別指導プログラム(566例)で20%、太極拳(200例)で49%、家庭環境

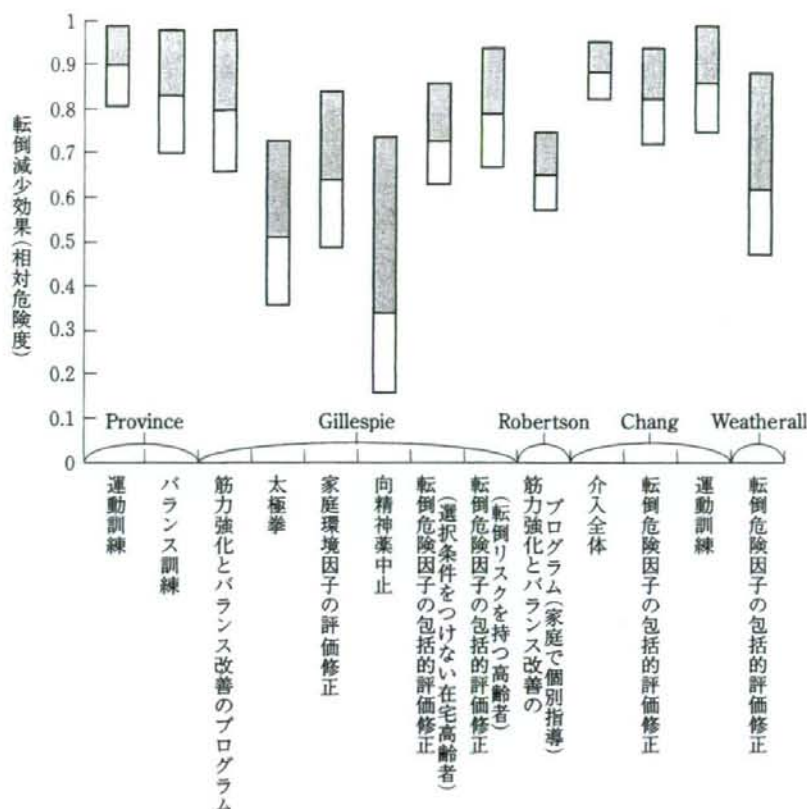


図1 運動療法の転倒に対する効果(文献⁴⁹⁾より引用)

白色部と黒色部は95%信頼区間の下位と上位の範囲を示す。多種多様な運動プログラムはそれぞれ有効に転倒を抑制した。

の評価改善(530例)で36%，向精神薬中止(93例)で66%，包括的プログラムで，転倒リスク有無不明の在宅者(1,973例)において27%，転倒リスクを有する者(713例)において21%であった。各介入はそれぞれ転倒予防に有効で，実践できるものであると結論されている⁷⁾。

ほかに最近発表されたメタアナリシスでは，転倒予防に最も効果的な介入法は，包括的プログラムで，運動だけでも有効であるとしている^{8,9)}。

2. 骨粗鬆症リスクに対する運動療法

運動療法は，骨粗鬆症に対する様々な介入法の効果における主要な間接的尺度となっている骨密度にどう影響するであろうか。Cochrane Libraryによるメタアナリシスで，選択された

18のRCTから閉経後女性における骨粗鬆症予防・治療に関する運動療法の効果が検討されている(図2)¹⁰⁾。そこでは，骨密度への効果は変化率(%)の差で評価されており，エアロビクス(856例)では，骨密度測定部位は腰椎7試験，大腿骨頸部5試験，前腕骨2試験で，変化率差は腰椎で0.83，前腕で1.12と有意にエアロビクスで増加したが，大腿骨頸部では-0.7と無効であった。コンプライアンスは39-83%までであった。抵抗運動は個別筋の訓練(158例)で，骨密度への効果をみるためにはより強い抵抗運動が行われた研究群の検討がなされ，骨密度測定部位は腰椎3試験，大腿骨頸部3試験，前腕骨が1試験で，変化率差は腰椎では2.50と有意な増加を得たが，前腕では-0.28，大腿骨頸部では0.41と有意な増加はなかった。コンプ

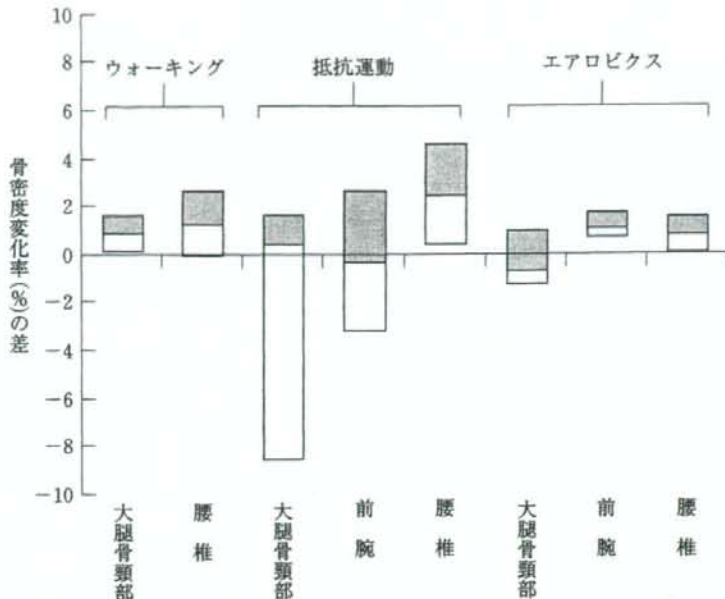


図2 運動療法の骨密度に対する効果(文献¹⁰⁾より引用)

白色部と黒色部は95%信頼区間の下位と上位の範囲を示す。骨密度は、腰椎では3種の運動すべてで増加し、大腿骨頸部ではウォーキングで増加した。

ライアンスは高く、79-100%であった。更に、ウォーキング(156例)は通常歩行より若干速い程度のもからトレッドミルによるエアロビクスに近いものまで負荷の幅が広いが、骨密度の変化率差は、腰椎で1.31、大腿骨頸部では0.92と有意な増強効果がみられた。

結論として、エアロビクス、抵抗運動はいずれも閉経女性の腰椎骨密度の増強効果を有することが示され、加えて、ウォーキングは大腿骨頸部でも有効であるとされた。このように、運動療法と骨密度部位の一部の組み合わせ以外では、運動療法が骨密度を有意に増加させる効果を有することは明らかで、特に特殊な器具が必要なく、コンプライアンスも一般的に良好と考えられているウォーキングが推奨されている。ただし、長期効果については、この検討では、追跡期間が短いことや扱った試験の方法論的質が決して高くはなく、特に割付秘匿と盲検化において低いことなどから不明とされている。

3. 骨折リスクに対する運動療法

これまで見てきたように、運動療法には骨密度の増強効果と転倒の減少効果もある。ここから期待される点は、やはり転倒による重度外傷、特に骨折の予防効果であるが、これまでのところその点に関してのエビデンスは不十分である。Provinceらによるメタアナリシスでも、傷害性転倒に対しては有意な効果はなかった。これは、頻度がより低い傷害性転倒を評価するには統計学的パワーが低いとされている⁴⁾。また、Gardnerらによるメタアナリシス⁵⁾や、運動療法による80歳以上での傷害性転倒の減少効果がいっそう優れることを指摘したRobertsonらの解析⁶⁾でも、大腿骨頸部骨折はもちろん、骨折を有意に抑制したという明確な記載はない。結局、骨強度リスクと転倒リスクという骨折リスクの両輪を改善する点までは確認されているが、骨折抑制の明確な証拠は得られていないのが現状である。

■ 文 献

- 1) 高齢者を取りまく世帯の状況：国民生活基礎調査報告 第3号，平成13年(厚生省大臣官房統計情報部編)，厚生統計協会，2001.
- 2) Cummings SR, Melton LJ: Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 359: 1761-1767, 2002.
- 3) Marshall D, et al: Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 312: 1254-1259, 1996.
- 4) Province MA, et al: The effects of exercise on falls in elderly patients. A preplanned meta-analysis of the FICSIT Trials. Frailty and Injuries: Cooperative Studies of Intervention Techniques. *JAMA* 273: 1341-1347, 1995.
- 5) Gardner MM, et al: Exercise in preventing falls and fall related injuries in older people: a review of randomised controlled trials. *Br J Sports Med* 34: 7-17, 2000.
- 6) Robertson MC, et al: Preventing injuries in older people by preventing falls: a meta-analysis of individual-level data. *J Am Geriatr Soc* 50: 905-911, 2002.
- 7) Gillespie LD, et al: Interventions for preventing falls in elderly people. *Cochrane Database Syst Rev* (3): CD000340, 2001.
- 8) Weatherall M: Prevention of falls and fall-related fractures in community-dwelling older adults: a meta-analysis of estimates of effectiveness based on recent guidelines. *Intern Med J* 34: 102-108, 2004.
- 9) Chang JT, et al: Interventions for the prevention of falls in older adults: systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ* 328(7441): 680, 2004.
- 10) Bonaiuti D, et al: Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* (3): CD000333, 2002.

骨粗鬆症、骨折における性差医療

Gender Differences in Osteoporosis and Osteoporotic Fracture

原田 敦

Atsushi HARADA

国立長寿医療センター 機能回復診療部

Key Words

骨粗鬆症 (osteoporosis), 骨折 (fracture), 性差 (gender differences), 高齢者 (elder), 閉経 (menopause)

はじめに

高齢期になると、医療のあり方は多様化して明らかに成人期におけるそれとは異なったものとなり、医療の目的は、生存そのものより生存中の生活の質、自立度などに向けられるようになる。その観点から骨粗鬆症は大変重要な意義を有する疾患である。その理由は、骨が骨粗鬆症に陥ると脆弱性が増して、骨が果たすべき運動器の支柱として機能に破綻を来す骨折が発生するからである。その結果、洗顔、食事、排便、排尿、トイレ動作、移乗、移動、更衣、入浴などの日常生活の基本的動作が障害されて、生活の質と自立が損なわれてしまう。

この骨粗鬆症と骨粗鬆症性骨折には大きな性差が存在し、女性における頻度が大変高いことはよく知られている。とりもなおさず、男性より長い女性の生前の要介護期間（先死期）の状況に大きな影響を及ぼしていると言える。厚生労働省の国民生活基礎調査の結果が示す性差がそのことを端的に示唆している（図1）。

この要介護の原因疾患における性差をみると、男性においては脳血管疾患が最重要であるのに対して、女性においては脳血管疾患だけでなく、認知症、関節疾患そして転倒・骨折の予防が同じような割合で必要であること

が示唆されている。特に後期高齢期ではその傾向はより顕著となり、その年代の女性では年齢とともに脳血管疾患と関節疾患の割合は低下するが、転倒・骨折の割合はむしろ上昇傾向を示す（図2）。

このように、女性が人生の最後に迎える要介護期間において介護の量をできるだけ少なく、質をできるだけよくするためには、骨粗鬆症と骨折に対する理解を深めることが重要であると考えられ、本稿ではその解説を行う。

1. 骨粗鬆症における性差

骨粗鬆症は、「骨量の減少と微細構造の劣化によって骨強度が低下し、骨折の危険性が高まった全身性疾患」と定義されている¹⁾。骨強度を低下させる一方の要因である骨量減少は骨密度減少で、臨床で使用できる検査指標である。他方の微細構造の劣化は、最近の解釈で骨そのものに起因する骨折リスクのうち、骨密度で説明できない部分を表す言葉として使われる骨質に該当するものであるが、臨床では使用できない。したがって、骨粗鬆症の診断に当たっては、骨折リスクをよりよく抽出するための診断基準として骨密度のみを用いた世界保健機構（WHO）の診断基準がグローバルスタンダードとなっている。しかし、骨密度だけに頼るため、骨折予測能に

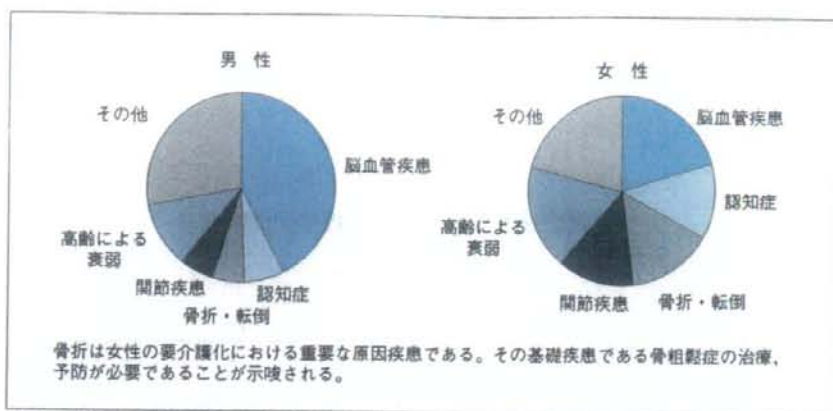


図1 要介護の原因疾患における性差（平成13年度国民生活基礎調査による）

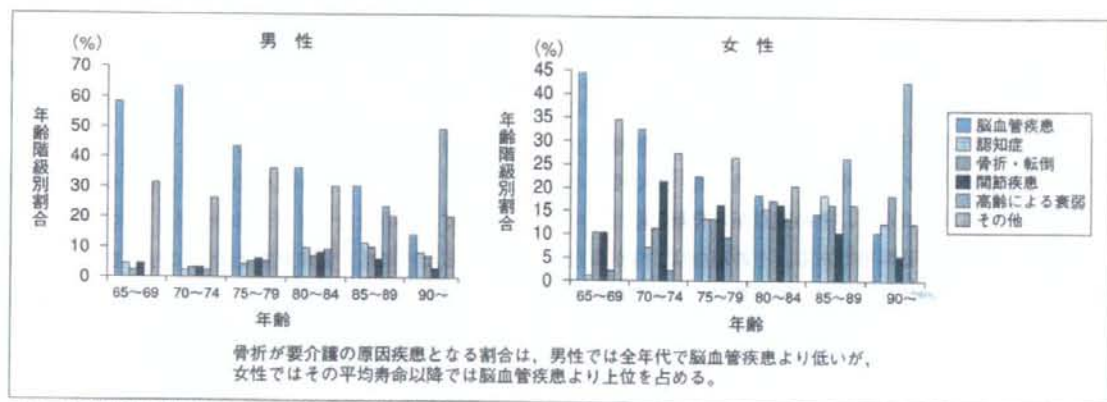


図2 要介護の原因疾患における年代別性差（平成13年度国民生活基礎調査による）

限界があり、わが国では、骨折既往歴の骨折予測能を採用して、脆弱性骨折と骨密度で判定する診断基準となっている。診断基準がダブルスタンダードとなっているため、骨粗鬆症の疫学データもどの診断基準を使うかで差が生じる状況であるが、WHOの診断基準による調査で見ると、骨粗鬆症の有病率における性差は歴然としている。広島での藤原らによる調査では、50歳以上の男女を大腿骨頸部骨密度による診断で比較すると、女性では13%、男性では4%と女性の有病率は男性の3.4倍にも及んでいた²⁾。この性差は欧米でも同様で、カナダで1.6倍、英国で3.9倍女性の骨粗鬆症有病率が高いと報告されている（表2）^{3,4)}。

当然、患者数そのものも性差が明らかで、わが国の2004年における年齢・性別人口構成で推計される50歳以上の女性と男性の人口と大腿骨頸部骨密度による有病率から見積もられる骨粗鬆症患者数は、50歳以上女性が367万人と、50歳以上男性が96万人と推計される⁵⁾。

このような骨粗鬆症における性差は、エストロゲン欠乏による骨量減少の惹起という女性の側に特有な要因が存在することが大きく影響していると考えられる。すなわち、閉経前後から卵巣機能が低下してエストロゲンの不足が始まるのを契機に急速な骨代謝回転の亢進が、骨吸収が骨形成を上回る負のバランスのアンカップリングという形で起こるために急速な骨量減少を来す。エス

表1 骨粗鬆症の有病率の性差 (WHO診断基準による大腿骨頸部骨密度での診断) [文献2~4より]

年齢・性	国	有病率 (%)	報告者	報告年
50歳以上女性	日本	12.8	藤原佐枝子ほか	1997
	英国	22.5	Kanis JA, et al	1994
	カナダ	7.9	Tenenhouse A, et al	2000
50歳以上男性	日本	3.8	藤原佐枝子ほか	1997
	英国	5.8	Kanis JA, et al	1994
	カナダ	4.8	Tenenhouse A, et al	2000

トロンには強い骨吸収抑制作用があるので、閉経による欠乏は骨吸収を著しく高め、それに応じて二次的に骨形成を亢進するものの骨量維持には足りない。閉経後の急速な骨量減少は5年ほど継続し、その後、減少カーブはいったん緩やかとなり、閉経の影響も消失していくが、前期高齢期(65~74歳)から再び加齢とともに減っていく。閉経によって中年期に早くも始まる骨量減少が、それ以降の骨折リスクにおける性差を決定づけるものである。

2. 骨粗鬆症性骨折における性差

骨粗鬆症性骨折は、日本骨代謝学会の診断基準によれば、脆弱性骨折と呼ばれ、骨量低下がある状態で、軽微な外力にて発生した骨折と定義されている。軽微な外力とは立位からの転倒による程度のことを指す。この骨折は、全身のどの部位に起こりうるが、脊椎、大腿骨頸部、橈骨遠位端、上腕骨頸部、肋骨、骨盤などがその代表的部位である。ここでは、最も重篤な大腿骨頸部骨折と最も高頻度な脊椎骨折の性差について述べる。

1) 大腿骨頸部骨折

この骨折は、歩行能力を奪うため、入院して90%以上が手術を受けており、しかも、その後の機能回復は必ずしも良好ではなく、大腿骨頸部骨折による寝たきりの発症は42%となるとされている¹⁾。このように、最も重篤な本骨折には著しい性差がみられる。この骨折は、骨粗鬆症による骨強度低下に陥った大腿骨に股関節の強い打撲が加わって起こっており、日本でも転倒が原因の71%を占めている。前述したように、女性は骨粗鬆症による

骨折リスクが男性より高いのに加えて、転倒頻度も高く、転倒頻度が有意に上昇する75歳以上の後期高齢期で本骨折リスクが高まる²⁾。

2002年の1年間における日本の大腿骨頸部骨折新規発生数は、女性が9万2,600例、男性が2万5,300例と推計され、女性が男性の約3.7倍であった³⁾。発生率は、40歳代までは男性の方が高い傾向にあったが、これは女性にまだ閉経後骨粗鬆症の影響がなく、労働やスポーツなどでの外傷機会が男性に多いのが理由と考えられる。一方、60歳以降では女性が男性の2倍以上高率であった。閉経後すぐに女性の大腿骨頸部骨折発生率の性差がみられないのは、本骨折の直接の引き金となる転倒リスクが高くなるのが前期高齢期以降であるためと思われる。まだ発生率の性差は、15年間で男性は1.9倍の増加であったのに対し、女性では2.3倍も増加し、その格差は拡大した。年齢別発生率を前の2回の全国調査と比べると、男性では90歳以上で、女性では80歳以上でさらに発生率が高くなっていた。年齢別発生頻度(年間1万人当たり)は、男性では40~49歳が0.84、50~59歳が1.82、60~69歳が5.26、70~79歳が17.49、80~89歳が58.61、90歳以上が141.39であり、女性では40~49歳が0.58、50~59歳が2.41、60~69歳が9.11、70~79歳が41.07、80~89歳が156.10、90歳以上が315.52と70歳代から90歳代にかけて指数関数的増加を呈している(図3)⁴⁾。

このように、女性は、大腿骨頸部骨折発生が著しく男性より高いものの、骨折後の死亡率は男性より低い。元来、大腿骨頸部骨折は生命予後に影響する唯一の骨折であり、女性は骨折後1年間に骨折のない同年代者より10~20%多く死亡するが、この死亡率悪化は男性におい

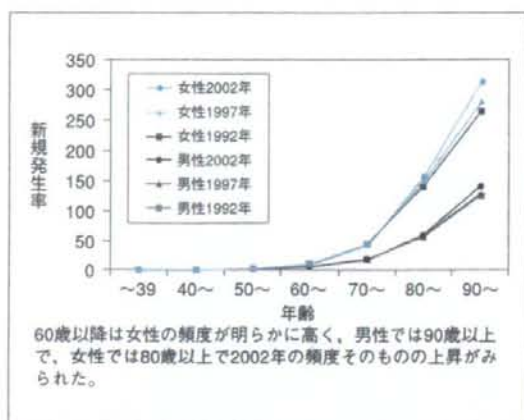


図3 日本の大腿骨頸部骨折新規発生率にみられる性差
〔文献6より〕

てはさらに大きい⁹⁾。

2) 脊椎骨折

脊椎骨折は、大腿骨頸部骨折と比較して生命予後や機能予後への影響は少ないが、疼痛や脊柱後彎、身長低下などにより生活の質を低下させる。また、発生に転倒の関与する割合は少なく、痛みもなく脊椎X線写真で初めて見つかる無症候性の骨折が2/3を占める。転倒より骨強度低下そのものの関連が強いので、閉経後の骨粗鬆症による骨量減少にその発生率が反映しており、性差が生じている。

骨粗鬆症性骨折のなかで最も頻度が高いにも関わらず、上記のような理由で骨折発生の把握が困難であるため、日本の脊椎骨折の有病率などを推定できる調査は限られているが、その一つに広島調査がある¹⁰⁾。これは2,356人の日本人高齢者の平均4年のコホート縦断追跡で、男性では3.5%、女性では9.5%に新規脊椎骨折発生が確認され、男性と女性の年代別新規脊椎骨折発生率(1,000人年)は、Fujiwaraによれば、男性では50~59歳が2.71、60~69歳が7.51、70~79歳が40.15、80歳以上が84.28で、女性では50~59歳が6.6、60~69歳が13.77、70~79歳が40.15、80歳以上が84.28であった。このように、

閉経後より女性の発生率が高くなり、60歳以上で年代とともにその差がさらに大きく開いている。

まとめ

骨粗鬆症と骨粗鬆症性骨折は明らかに女性に著しく多いという性差があり、それによる高齢者の要介護化にも大きな負の影響を及ぼしている。女性は男性より平均余命が長いことも考えれば、このような差違によって自立を失う高齢女性数は今後大きく増加し続けると予想される。骨粗鬆症への関心は日々高まっているものの、その早期発見と治療は必ずしも十分にされていないのが現状であり、骨粗鬆症と骨折への対策に一層の啓発と実践が必要と考えられる。

参考文献

- Anonymous: Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 94: 646-650, 1993.
- 藤原佐枝子, 増成直美, 児玉和紀ほか: 腰椎・大腿骨骨量カットオフ値を使った骨粗鬆症有病率の検討. *Osteoporos Jpn* 5: 223-226, 1997.
- Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, et al: The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 9: 1137-1141, 1994.
- Tenenhouse A, Joseph L, Kreiger N, et al: Estimation of the prevalence of low bone density in Canadian women and men using a population-specific DXA reference standard; the Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos). *Osteoporos Int* 11: 897-904, 2000.
- 原田敦, 松井康素, 竹村真里枝ほか: 骨粗鬆症の医療経済—疫学, 費用と介入別費用・効用分析—. *日本老年医学会雑誌*: 596-608, 2005.
- 太田壽城, 徳田治彦, 原田敦: 日本における大腿骨頸部骨折の医療経済. *日本老年医学会雑誌* 39: 483-488, 2002.
- 松下隆, 糸満盛憲, 中野哲雄ほか: 大腿骨頸部/転子部骨折診療ガイドライン. 南江堂, 2005.
- 折茂肇, 坂田清美: 第4回大腿骨頸部骨折全国頻度調査成績—2002年における新発患者数の推定と15年間の推移—. *日本医事新報* 4180: 25-30, 2004.
- Cummings SR, Melton LJ: Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 359: 1761-1767, 2002.
- Fujiwara S, Kasagi F, Masunari N, et al: Fracture prediction from bone mineral density in Japanese men and women. *J Bone Miner Res* 8: 1547-1553, 2003.



Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Plays a Role in Sphingosine 1-Phosphate-Stimulated HSP27 Induction in Osteoblasts

Shinji Takai,¹ Haruhiko Tokuda,^{1,2} Rie Matsushima-Nishiwaki,¹ Yoshiteru Hanai,^{1,2} Kanefusa Kato,³ and Osamu Kozawa^{1*}

¹Department of Pharmacology, Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu 501-1194, Japan

²Department of Clinical Laboratory, National Hospital for Geriatric Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Aichi 474-8511, Japan

³Department of Biochemistry, Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center, Kasugai 486-0392, Japan

Abstract We previously reported that p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase plays a part in sphingosine 1-phosphate-stimulated heat shock protein 27 (HSP27) induction in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In the present study, we investigated whether phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) is involved in the induction of HSP27 in these cells. Sphingosine 1-phosphate time dependently induced the phosphorylation of Akt. Akt inhibitor, 1L-6-hydroxymethyl-*chiro*-inositol 2-(*R*)-2-*O*-methyl-3-*O*-octadecylcarbonate, reduced the HSP27 induction stimulated by sphingosine 1-phosphate. The sphingosine 1-phosphate-induced phosphorylation of GSK-3 β was suppressed by Akt inhibitor. The sphingosine 1-phosphate-induced HSP27 levels were attenuated by LY294002 or wortmannin, PI3K inhibitors. Furthermore, LY294002 or Akt inhibitor did not affect the sphingosine 1-phosphate-induced phosphorylation of p38 MAP kinase and SB203580, a p38 MAP kinase inhibitor, had little effect on the phosphorylation of Akt. These results suggest that PI3K/Akt plays a part in the sphingosine 1-phosphate-stimulated induction of HSP27, maybe independently of p38 MAP kinase, in osteoblasts. *J. Cell. Biochem.* 98: 1249–1256, 2006. © 2006 Wiley-Liss, Inc.

Key words: sphingosine 1-phosphate; heat shock protein; protein kinase; osteoblast

Sphingosine 1-phosphate is a metabolite of sphingomyelin. It is generally recognized that sphingomyelin is catalyzed by sphingomyelinase, resulting in the formation of ceramide, which is subsequently metabolized to sphingosine and sphingosine 1-phosphate [Spiegel and Merrill, 1996]. Accumulating evidence indicates that sphingosine 1-phosphate plays an important role in essential cellular functions such as proliferation, differentiation, and migration

[Spiegel and Merrill, 1996; Spiegel and Milstein, 2003; Sanchez and Hla, 2004]. Bone metabolism is regulated by two functional cells, osteoblasts and osteoclasts, responsible for bone formation and bone resorption, respectively [Nijweide et al., 1986]. As for osteoblasts, it has been reported that sphingosine 1-phosphate prevents apoptosis via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) in primary calvaria rat osteoblasts and human osteosarcoma SaOS-2 cells [Grey et al., 2002]. In our study [Kozawa et al., 1997a], we have previously reported that sphingosine 1-phosphate stimulates interleukin-6 synthesis in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. However, the exact mechanism of sphingosine 1-phosphate in bone metabolism has not yet been precisely clarified.

Heat shock proteins (HSP) are expressed in both prokaryotic and eukaryotic cells in response to the biological stress such as heat stress and chemical stress [Hendrick and Hartl, 1993]. HSPs are classified into high-molecular-weight

Grant sponsor: Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan; Grant numbers: 16590873, 16591482; Grant sponsor: Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan; Grant numbers: 15A-1, 15C-2.

*Correspondence to: Osamu Kozawa, Department of Pharmacology, Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu 501-1194, Japan. E-mail: okozawa@cc.gifu-u.ac.jp

Received 7 November 2005; Accepted 29 December 2005

DOI 10.1002/jcb.20846

Published online 2 March 2006 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

© 2006 Wiley-Liss, Inc.

HSPs and low-molecular-weight HSPs based on apparent molecular sizes. Low-molecular-weight HSPs with molecular masses from 10 to 30 kDa, such as HSP27 and α B-crystallin have high homology in amino acid sequences [Inaguma et al., 1993; Benjamin and McMillan, 1998]. Though the functions of the low-molecular-weight HSPs are known less than those of the high-molecular-weight HSPs, it is generally accepted that they may have chaperoning functions like the high-molecular-weight HSPs [Inaguma et al., 1993; Benjamin and McMillan, 1998]. HSP27 becomes rapidly phosphorylated in response to various stresses, as well as to exposure to cytokines and mitogens [Gaestel et al., 1991; Landry et al., 1992]. Under unstimulated conditions, HSP27 exists as a high-molecular weight aggregated form. It is rapidly dissociated as a result of phosphorylation [Kato et al., 1994; Rogalla et al., 1999]. The phosphorylation-induced dissociation from the aggregated form correlates with the loss of molecular chaperone activity [Kato et al., 1994; Rogalla et al., 1999]. In a previous study [Kozawa et al., 1999], we have shown that sphingosine 1-phosphate stimulates the induction of HSP27 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells and that p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase is involved in the HSP27 induction.

It is well known that Akt, also called protein kinase B, is a serine/threonine protein kinase that plays crucial roles in mediating intracellular signaling of variety of agonists including insulin-like growth factor-I, platelet-derived growth factor (PDGF), and cytokines [Downward, 1995; Franke et al., 1995; Coffey et al., 1998]. It has been shown that Akt regulates biological functions such as gene expression, survival, and oncogenesis [Coffey et al., 1998]. Accumulating evidence suggests that PI3K functions at an upstream from Akt [Chan et al., 1999; Cantley, 2002]. Akt containing a pleckstrin homology domain is recruited to the plasma membrane by the lipid product of PI3K and activated. As for osteoblasts, it has been reported that IGF-I and PDGF induce translocation of Akt to the nucleus [Borgatti et al., 2000]. In addition, recently, Akt is reportedly activated by cyclic stretch or androgen [Danciu et al., 2003; Kang et al., 2004]. We have recently shown that Akt plays an important role in insulin-like growth factor-I-stimulated alkaline phosphatase activity in MC3T3-E1 cells [Noda et al., 2005]. However, the correlation between

HSP27 and PI3K/Akt in osteoblasts has not yet been clarified.

In the present study, we investigated whether PI3K/Akt is involved in sphingosine 1-phosphate-stimulated phosphorylation of HSP27 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. We here show that PI3K/Akt pathway is involved in the sphingosine 1-phosphate-stimulated induction of HSP27, maybe independently of p38 MAP kinase, in these cells.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Sphingosine 1-phosphate and β -actin antibodies were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Akt inhibitor (1L-6-hydroxymethyl-*chiro*-inositol 2-(*R*)-2-*O*-methyl-3-*O*-octadecylcarbonate), LY294002, wortmannin, and SB203580 were obtained from Calbiochem-Novabiochem (La Jolla, CA). Phospho-specific Akt antibodies, Akt antibodies, phospho-specific p38 MAP kinase antibodies, p38 MAP kinase antibodies, phospho-specific GSK-3 β antibodies, and GSK-3 β antibodies were purchased from Cell Signaling Technology, Inc. (Beverly, MA). HSP27 antibodies were obtained from R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN). An ECL Western blotting detection system was obtained from Amersham Japan (Tokyo, Japan). Other materials and chemicals were obtained from commercial sources. Sphingosine 1-phosphate, Akt inhibitor LY294002, wortmannin, and SB203580 were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO). All inhibitors became soluble in the cell culture media after once dissolved in DMSO. The maximum concentration of DMSO was 0.1%, which did not affect Western blot analysis.

Cell Culture

Cloned osteoblast-like MC3T3-E1 cells derived from newborn mouse calvaria [Sudo et al., 1983] were maintained as previously described [Kozawa et al., 1997b]. Briefly, the cells were cultured in α -minimum essential medium (α -MEM) containing 10% fetal calf serum (FCS) at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂/95% air. The cells were seeded into 90-mm diameter dishes (25 × 10⁴/dish) in α -MEM containing 10% FCS. After 5 days, the medium was exchanged for α -MEM containing 0.3% FCS. The cells were used for experiments after 48 h. When indicated, the cells were pretreated with Akt

inhibitor, wortmannin, LY294002, or SB203580 for 60 min prior to stimulation of sphingosine 1-phosphate.

Western Blot Analysis

Cultured cells were stimulated by sphingosine 1-phosphate in serum-free α -MEM for the indicated periods. Cells were washed twice with phosphate-buffered saline and then lysed, homogenized, sonicated, and immediately boiled in a lysis buffer containing 62.5 mM Tris/Cl, pH 6.8, 2% sodium dodecyl sulfate (SDS), 50 mM dithiothreitol, and 10% glycerol. The sample was used for the analysis by Western blotting. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed by the method of Laemmli [Laemmli, 1970] in 10% polyacrylamide gel. Western blot analysis was performed as described previously [Kato et al., 1996], using phospho-specific Akt antibodies, Akt antibodies, HSP27 antibodies, phospho-specific p38 MAP kinase antibodies, p38 MAP kinase antibodies, phospho-specific GSK-3 β antibodies, or GSK-3 β antibodies with peroxidase-labeled antibodies raised in goat against rabbit IgG being used as second antibodies. Peroxidase activity on PVDF membranes was visualized on X-ray film by means of the ECL Western blotting detection system and was quantitated using NIH image software. All of Western blot analyses were repeated at least three times in independent experiments.

Statistical Analysis

The data were analyzed by ANOVA followed by Bonferroni method for multiple comparisons between pairs, and a $P < 0.05$ was considered significant. All data are presented as the mean \pm SD of triplicate determinations.

RESULTS

Time-Dependent Effects of Sphingosine 1-Phosphate on the Phosphorylation of Akt in MC3T3-E1 Cells

Sphingosine 1-phosphate significantly stimulates the phosphorylation of Akt in osteoblast-like MC3T3-E1 cells in a time-dependent manner (Fig. 1). The phosphorylation of Akt was markedly observed at 5 min after the sphingosine 1-phosphate-stimulation. The phosphorylation reached its peak at 15 min after the stimulation and decreased thereafter.

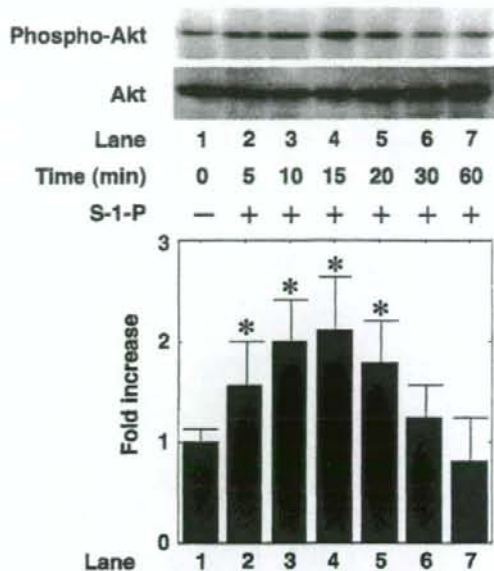


Fig. 1. Effect of sphingosine 1-phosphate (S-1-P) on the phosphorylation of Akt in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were stimulated with 30 μ M S-1-P for the indicated periods. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific Akt or Akt. The histogram shows quantitative representations of the levels of S-1-P-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations. Each value represents the mean \pm SD of triplicate determinations from triplicate independent cell preparations. * $P < 0.05$, compared to the value of control.

Effect of Akt Inhibitor on the Induction of HSP27 in MC3T3-E1 Cells

Then we examined the effect of Akt inhibitor (1L-6-hydroxymethyl-*chiro*-inositol 2-*(R)*-2-*O*-methyl-3-*O*-octadecylcarbonate) [Hu et al., 2000] on the sphingosine 1-phosphate-stimulated induction of HSP27. Akt inhibitor partially suppressed the sphingosine 1-phosphate-induced up-regulation of HSP27 levels (Fig. 2). Akt inhibitor (50 μ M) caused about 40% reduction in the sphingosine 1-phosphate-effect.

We have previously shown that sphingosine 1-phosphate stimulates HSP27 induction at least in part via p38 MAP kinase in osteoblasts [Kozawa et al., 1999]. However, Akt inhibitor did not influence the sphingosine 1-phosphate-induced phosphorylation of p38 MAP kinase in MC3T3-E1 cells (data not shown). It is well known that GSK-3 β is one of