

様式 1)

## 平成 25 年度研究報告書

研究代表者

所属 島根大学医学部内科学講座 内科学第一

氏名 山内 美香、杉本利嗣

### 1. 研究テーマ

骨細胞分泌因子と Ca・骨代謝との関係の検討

### 2. 研究者氏名

山内美香<sup>1)</sup>、名和田清子<sup>1)2)</sup>、田中賢一郎<sup>1)</sup>、小川典子<sup>1)</sup>、杉本利嗣<sup>1)</sup>  
島根大学医学部内科学講座内科学第一<sup>1)</sup>、島根県立大学健康栄養学科<sup>2)</sup>

### 3. 研究概要

(目的)

介護予防、健康寿命の延伸の点からその対策が急務となっている疾患の一つに骨粗鬆症がある。これまで、骨粗鬆症の診断は骨密度によって行われてきたが、骨密度で表される骨強度は 70%程度で、骨密度のみでは表されないことが明らかとなった。骨密度以外の骨強度に関与する因子を明らかにすることを目的とする。

Vitamin D(VD)は骨・ミネラル代謝に必須のホルモンであり、その欠乏状態は低 Ca 血症や低 P 血症、くる病・骨軟化症の原因となる。また、VD 不足程度であっても骨に影響をおよぼし、骨粗鬆症における骨脆弱性に関与する。つまり VD の充足状態を最も反映する 25hydroxyvitamin D [25(OH)D]の低値は明らかな骨折リスク因子であることが海外の報告で示されている。我々は 25(OH)D 低値が日本人においても年齢、PTH、骨代謝マーカーや骨密度とは独立した脆弱性骨折のリスク因子であることを報告した<sup>1)</sup>。VD 不足が骨脆弱性に関与する機序として、VD 不足は PTH の上昇をきたし、この続発性副甲状腺機能亢進状態が関与するとされる。しかし我々は VD 不足にもかかわらず PTH が上昇していない群で骨折リスクが高まっていることを明らかにした<sup>1)</sup> (図 1)。そこで、その機序を明らかにするため、VD 不足に

も関わらず PTH が上昇しない機序に、骨細胞から分泌され PTH 分泌に関わるリン調節因子である Fibroblast Growth Factor-23 (FGF-23)が関与するかを検討する。さらに、近年、骨細胞が分泌する sclerostin が骨形成に重要な Wnt  $\beta$  カテニン系シグナルの抑制因子であることが明らかとなった。そこで、VD 不足にもかかわらず PTH が上昇していない群における骨脆弱性亢進の機序に、FGF23 や Dickkopf-1 (Dkk-1)、sclerostin が関与するかについて検討する。

#### (方法)

##### 1) 対象

骨粗鬆症健診受診者のうち、本研究に対して同意の得られた健常閉経後女性 190 名を対象とした。骨代謝に影響を及ぼす疾患の合併や薬剤の服用歴を認めるものは除外した。

##### 2) 検査項目

血液検査において 25(OH)D(ng/mL)、Ca(mg/dL)、P(mg/dL)、Cr(mg/dL)、intact PTH(pg/mL)、骨形成マーカーである I 型プロコラーゲン N-プロペプチド(P1NP) (ng/mL)、オステオカルシン(OC) (ng/mL)、骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド (CTX) (ng/ml)、FGF-23(pg/ml)、sclerostin(ng/ml)、Dkk-1(pmol/l)を測定した。DXA 法で腰椎、大腿骨頸部骨密度を測定し、椎体骨折の有無を判定した。非椎体骨折の有無は医師による聴取により確認した。非外傷性の椎体骨折および非椎体骨折のいずれかを有する者を脆弱性骨折有りと判定した。

##### 3) 統計学的解析

骨折の有無での各因子の比較を  $t$  検定にて検討した。骨折の有無で有意差を認めた場合はロジスティック解析を行った。統計学的解析は SPSS-17.0 を用い、いずれの場合も危険率 5%未満をもって有意とした

#### (結果)

##### 1) 対象者の背景

対象群の平均年齢は 63.4  $\pm$  7.5 歳で、脆弱性骨折既往者数は 66

名であった(表 1)。

2) 低 25(OH)D 低 PTH 群と低 25(OH)D 高 PTH 群の比較

VD 不足状態にもかかわらず、PTH が上昇しない原因を検討するため、低 25(OH)D 低 PTH 群と低 25(OH)D 高 PTH 群で各々の因子を比較した。2 群間で年齢、BMI、骨密度、空腹時血糖や HbA1c、Cr、eGFR (estimated glomerular filtration rate)(ml/min/1.73m<sup>2</sup>)などに差は認めなかった。FGF-23(33.4±1.3, 33.4±1.2, p=0.989)も 2 群間で差を認めなかった (表 2)。

3) sclerostin と腎機能の関係

sclerostin は Cr (r=0.302, p<0.001)と有意な正、および eGFR (r=-0.270, p<0.001)と有意な負の相関を認めた(図 2)。

4) 低 25(OH)D 低 PTH 群における脆弱性骨折の有無での比較

VD 不足状態にもかかわらず、PTH が上昇しない群で骨の脆弱性が高まっている原因を検討するため、低 25(OH)D 低 PTH 群のみで脆弱性骨折の有無で比較検討を行った。骨折の有無で年齢、BMI、骨密度、骨代謝マーカーに差を認めなかったが、eGFR(74.9±10.2, 86.3±19.3, p<0.05)、CCr(88.3±13.7, 104.0±27.8, p<0.05)、sclerostin(1.48±0.38, 1.16±0.38, p<0.01)に 2 群間で差を認めた。FGF-23(35.1±8.8, 31.7±0.6.8, p=0.20)と Dkk-1(6.0±2.4, 5.8±2.4, p=8.35)は差を認めなかった(表 3)。

ロジスティック回帰分析にて低 25(OH)D 低 PTH 群における脆弱性骨折のリスク因子として sclerostin が選択された。sclerostin が腎機能指標と強い相関を示したため、独立因子として年齢、BMI、Cr、CTX、大腿骨骨密度、FGF-23、Dkk1 で補正し検討したが、sclerostin がそれらとは独立した有意なリスク因子として選択された[OR 4.9 (1.3 - 18.7), p=0.019]。同様に eGFR、BMI、CTX、大腿骨骨密度、FGF23、Dkk1 で補正後も有意であった[OR 4.9 (1.3 - 18.1), p=0.019]。

一方、Cr、あるいは eGFR について sclerostin で補正した場合、Cr、eGFR は低 25(OH)D 低 PTH 群における脆弱性骨折の有意なリスク因子として選択されなくなった。

(考察)

25(OH)D 低値、つまり VD 不足は有意な骨折リスク因子であることを日本人閉経後女性において報告してきた<sup>1)</sup>。25(OH)D 低値により PTH 上昇をきたし、この続発性副甲状腺機能亢進状態が骨脆弱性に関与するとされていたが、我々の検討では、低 25(OH)D 高 PTH 群よりもむしろ低 25(OH)D 低 PTH 群で骨折リスクが高いことを示した<sup>1)</sup>。25(OH)D 低値にもかかわらず PTH 高値とならない原因を明らかにするために、低 25(OH)D 低 PTH 群と低 25(OH)D 高 PTH 群を比較検討した。尿細管でのリン再吸収、1,25(OH)2D の活性化に関与するリン調節因子である FGF-23 は PTH 分泌にも関与する。FGF-23 は Klotho を介して PTH 分泌を抑制するとされるため、この機序における FGF-23 の関与を考えたが、2 群間で差を認めなかった。その他 PTH 上昇をきたさない原因を示唆する所見はみられなかった。

低 25(OH)D 低 PTH 群における骨脆弱性の機序に PTH の骨形成促進作用(bone anabolic action)の低下が関与している可能性が推察された。PTH の骨形成促進作用の重要なシグナル伝達経路として Wnt- $\beta$ -カテニンシグナルがある。PTH はこのシグナル伝達系の抑制因子である sclerostin や Dkk-1 を抑制することでその作用を発揮するとされる。低 25(OH)D 低 PTH 群における骨脆弱性の機序にこれらが関与しているか否かを検討したところ、sclerostin が選択された。近年、閉経後女性における sclerostin と骨折の関係についていくつかの研究が報告されている。sclerostin は骨折に関与しないとの報告があるが<sup>2)</sup>、関与すると報告では高値が骨折リスクとなるとの一致した結果である<sup>3,4)</sup>。今回の検討でも sclerostin 高値が低 25(OH)D 低 PTH 群における骨脆弱性のリスクとなり、同様の結果である。また、sclerostin は腎機能と強い負の相関を認め、低 25(OH)D 低 PTH 群における骨脆弱性への腎機能低下の関与は sclerostin を介するものであった。また、sclerostin と同様に Wnt- $\beta$ -カテニンシグナルの抑制因子である Dkk-1 は関与しないことが明らかとなった。

(結語)

閉経後女性において、25(OH)D 低値にも関わらず、PTH が上昇していない群で骨脆弱性が高まる機序について、sclerostin が関与していることを明らかにした。

## 文献

- 1) Yamauchi M, et al: Role of parathyroid hormone in bone fragility of postmenopausal women with vitamin D insufficiency. *Calcified tissue international* 88: 362-369, 2011.
- 2) Garnero P, et al: Association of serum sclerostin with bone mineral density, bone turnover, steroid and parathyroid hormones, and fracture risk in postmenopausal women: the OFELY study. *Osteoporos Int* 24: 489-494, 2013.
- 3) Arasu A, et al: Serum sclerostin and risk of hip fracture in older Caucasian women. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 2027-2032, 2012.
- 4) Ardawi MS, et al: Determinants of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 26: 2812-2822, 2011.

## 図表

図 1. 25(OH)D と PTH レベルと全脆弱性骨折の有無

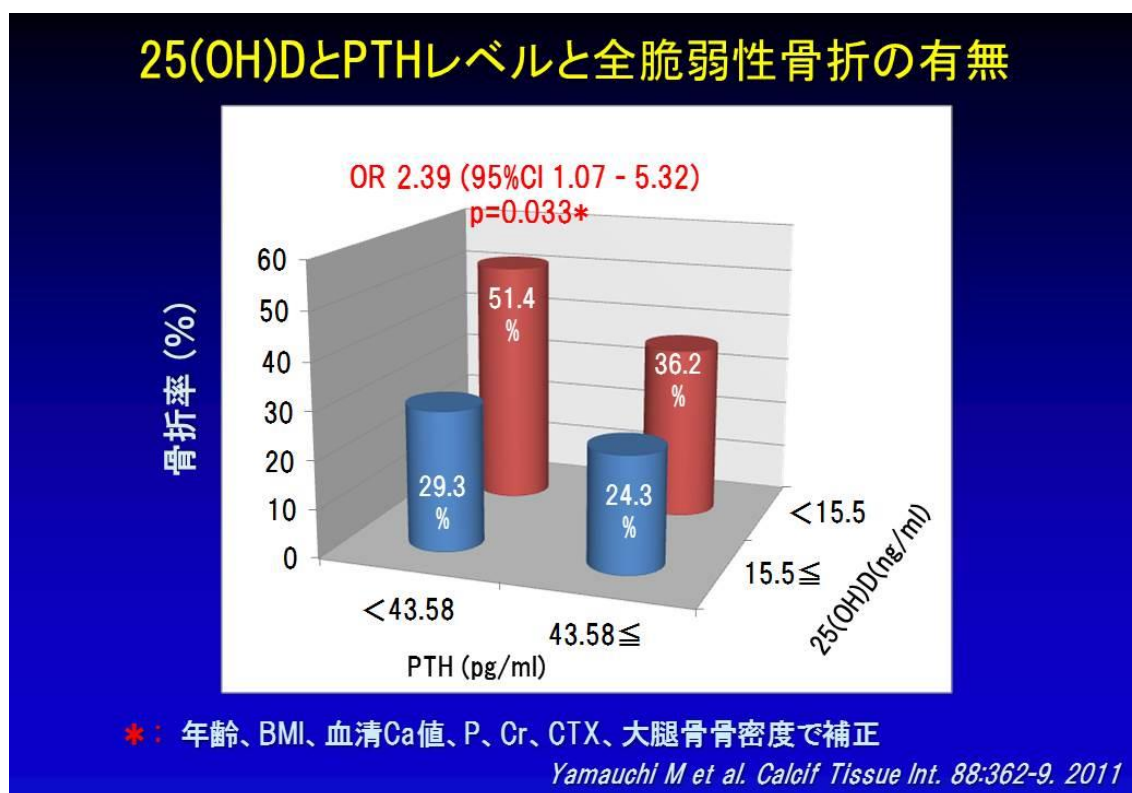


表 1. 対象群の背景

Background Data			
	Mean ± SD		Mean ± SD
n (名)	190	intactPTH (ng/mL)	45.6 ± 14.3
椎体骨折者 (名)	41	P1NP (ng/mL)	54.0 ± 16.6
非椎体骨折者 (名)	33	CTX (ng/mL)	0.40 ± 0.15
全脆弱性骨折者 (名)	66	Sclerostin (ng/ml)	1.281 ± 0.384
年齢 (歳)	63.4 ± 7.5	DKK-1 (pmol/L)	5.471 ± 1.897
閉経後年数 (年)	13.3 ± 8.2	FGF23 (pg/mL)	33.9 ± 9.1
身長 (cm)	151.6 ± 5.3	BMD(L2-4) (g/cm <sup>2</sup> )	0.842 ± 0.149
体重 (kg)	52.6 ± 7.3	Z値(L2-4)	0.3 ± 1.1
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.9 ± 3.1	T値(L2-4)	-1.6 ± 1.3
Serum Cr (mg/dl)	0.58 ± 0.10	BMD(FN) (g/cm <sup>2</sup> )	0.621 ± 0.090
Ca (mg/dL)	9.1 ± 0.3	Z値(FN)	0.1 ± 1.0
P (mg/dL)	3.5 ± 0.4	T値(FN)	-1.5 ± 0.8

表 2. 低 25(OH)D 低 PTH 群と低 25(OH)D 高 PTH 群の比較

低25(OH)D低PTH群と低25(OH)D高PTH群での比較			
	低25(OH)D低PTH群	低25(OH)D高PTH群	P
n	37	58	
年齢 (歳)	64.5 ± 7.8	64.6 ± 8.2	0.979
閉経後年数 (年)	14.0 ± 7.5	15.4 ± 9.4	0.428
BMI	22.9 ± 3.3	22.4 ± 3.2	0.480
空腹時血糖 (mg/dl)	89.4 ± 9.7	91.5 ± 6.8	0.239
HbA1c (%)	5.4 ± 0.4	5.2 ± 0.4	0.109
Cr (mg/dl)	0.59 ± 0.09	0.59 ± 0.11	0.826
CCr (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	96.0 ± 22.8	94.1 ± 19.4	0.677
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	80.4 ± 16.2	80.4 ± 15.1	0.997
sclerostin	1.33 ± 0.38	1.27 ± 0.42	0.495
FGF23	33.4 ± 1.3	33.4 ± 1.2	0.989

図 2. sclerostin と腎機能の関係

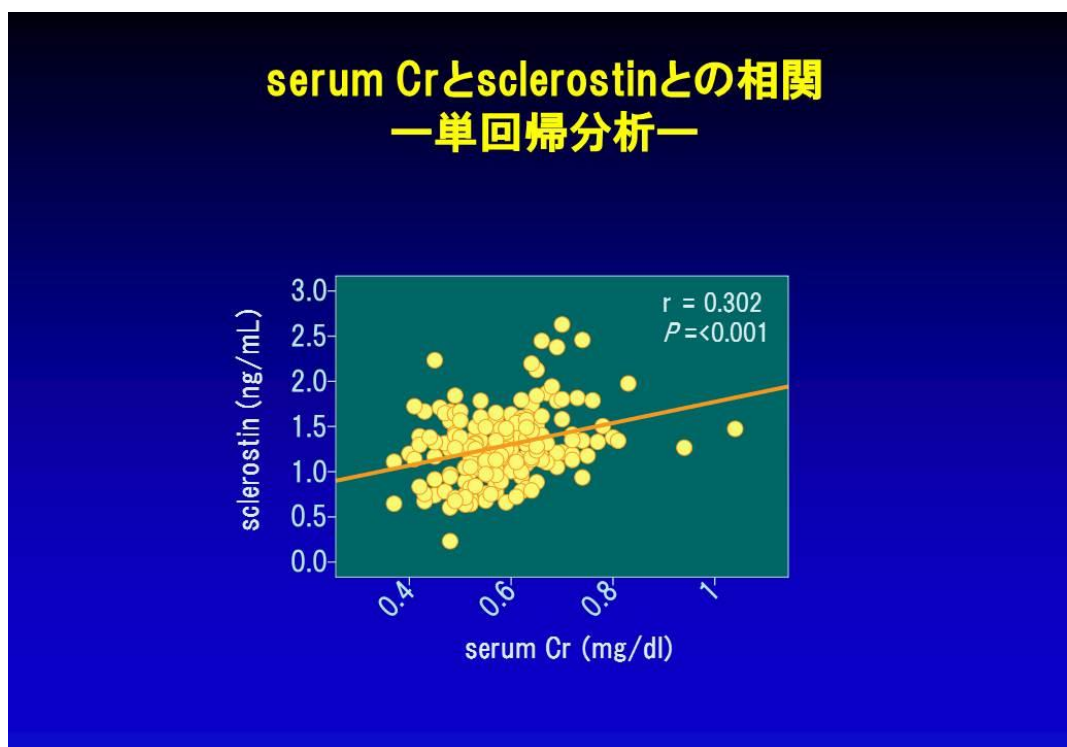


表 3. 低 25(OH)D 低 PTH 群における脆弱性骨折の有無での比較

**低25(OH)D低PTH群における全脆弱性骨折の有無での比較**

	全脆弱性骨折		P
	有	無	
n	19	18	
年齢(歳)	66.7 ± 7.2	62.3 ± 8.0	0.087
BMI	23.3 ± 3.4	22.5 ± 3.1	0.475
腰椎骨密度 (g/cm <sup>2</sup> )	0.82 ± 0.15	0.89 ± 0.09	0.106
大腿骨頸部 (g/cm <sup>2</sup> )	0.61 ± 0.10	0.62 ± 0.09	0.687
PINP (ng/mL)	49.0 ± 11.6	55.8 ± 19.9	0.218
CTX (ng/ml)	0.40 ± 0.11	0.40 ± 0.18	0.971
Cr (mg/dl)	0.61 ± 0.80	0.60 ± 0.10	0.083
CCr (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	88.3 ± 13.7	104.0 ± 27.8	<b>0.041 *</b>
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	74.9 ± 10.2	86.3 ± 19.3	<b>0.036 *</b>
sclerostin	1.48 ± 0.38	1.16 ± 0.31	<b>0.007 *</b>
Dkk-1	6.0 ± 2.4	5.8 ± 2.4	0.835
FGF23	35.1 ± 8.8	31.7 ± 6.8	0.200



表 4. sclerostin と全脆弱性骨折の有無との関連：ロジスティック回帰分析

<b>sclerostinと全脆弱性骨折の有無との関連</b> <b>- ロジスティック回帰分析 -</b>		
独立因子	Sclerostin オッズ比(95%CI)	p値
補正なし	1.47(1.08-2.00)	0.014
+ 年齢	1.40(1.02-1.92)	0.036
+ 年齢, BMI	1.45(1.05-2.02)	0.025
+ 年齢, BMI, Cr	1.29(0.91-1.82)	0.149
+ 年齢, BMI, CTX	1.45(1.05-2.02)	0.026
+ 年齢, BMI, 腰椎骨密度	1.77(1.23-2.55)	0.002
+ 年齢, BMI, 大腿骨頸部骨密度	1.69(1.19-2.30)	0.004
Multivariate adjusted #	1.56(1.04-2.35)	0.032

# : 年齢、BMI、握力、継足歩行能、Cr、PTH、CTX、腰椎骨密度

4. 学会機関誌もしくは学会への関連論文（演題）発表状況

論文

- 1) Nawata K, Yamauchi M, Takaoka S, Yamaguchi T, Sugimoto T. Association of n-3 polyunsaturated fatty acid intake with bone mineral density in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int.* 93(2):147-54, 2013
- 2) Yamamoto M, Yamauchi M, Sugimoto T. Elevated sclerostin levels are associated with vertebral fractures in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 98(10):4030-7, 2013
- 3) Yamauchi M, Yamaguchi T, Nawata K, Tanaka K, Takaoka S, Sugimoto T. Increased low-density lipoprotein cholesterol level is associated with non-vertebral fractures in postmenopausal women. *Endocrine.* in press

学会発表

- 1) Yamauchi M, Yamamoto M, Nawata K, Tanaka K, Ogawa N, Sugimoto T.



Relationships between serum sclerostin levels and bone metabolism-related indices as well as bone fragility. the ANZBMS Annual Scientific Meeting. Melbourne, Australia. September 8 – 11, 2013

- 2) Nawata K, Yamauchi M, Yamamoto M, Tanaka K, Ogawa N, Sugimoto T. Relationships between serum levels of sclerostin and bone metabolism-related indices as well as bone fragility fracture in postmenopausal women. International Osteoporosis Foundation Regionals – 4th Asia-Pacific Osteoporosis Meeting. Hong Kong, China, December 12-15, 2013
- 3) 山内 美香, 山本 昌弘, 名和田 清子, 高岡 伸, 杉本 利嗣. 閉経後女性における血中 Sclerostin 濃度と Ca・骨代謝の関係. 第 86 回日本内分泌学会学術総会 (仙台) 2013 年 4 月 2013.4.25-27
- 4) 山本 昌弘, 山口 徹, 山内 美香, 杉本 利嗣. 2 型糖尿病男性において高ホモシステイン血症は椎体骨折の危険因子である. 第 86 回日本内分泌学会学術総会 (仙台) 2013 年 4 月 2013.4.25-27
- 5) 山内 美香, 山本 昌弘, 名和田 清子, 高岡 伸, 杉本 利嗣. 血中 sclerostin 濃度と骨代謝関連指標および骨脆弱性との関係. 第 31 回日本骨代謝学会学術集会, 神戸, 2013 年 5 月 2013.5.30