

平成 20 年度研究報告書

研究代表者

島根難病研究所老年医学研究部門

所属 島根大学医学部内科学第一

氏名 杉本 利嗣

1. 研究テーマ

骨・血管連関に関わる因子の検討：女性における低カルボキシ化オステオカルシンとビタミンK摂取量、骨代謝回転および骨密度との関係

2. 研究者氏名

杉本 利嗣¹、山内 美香¹、高岡 伸¹、名和田 清子¹⁰

3. 研究概要

(目的)

骨粗鬆症と動脈硬化はいずれも加齢に伴い増加する疾患であるが、動脈硬化が著明な例ほど重度の骨粗鬆症を認めることが知られている。この骨・血管連関の機序の解明が進みつつあるが、その詳細は明らかとなっていない。ビタミンKは骨代謝に重要な栄養素の一つであるが、血管石灰化に関与する可能性も示唆されている¹⁾。このようにビタミンKは骨・血管連関に関与する因子の一つである可能性がある。一方、低カルボキシ化オステオカルシン (undercarboxylated osteocalcin; ucOC) は骨におけるビタミンKの充足状態を示す指標とされる。骨密度以外の骨強度に関わる因子を骨質というが、この骨質を臨床上測定できる唯一の方法として、骨代謝マーカーによる骨代謝回転の評価法がある。ucOCは骨代謝マーカーと同様に生化学的指標であるが、骨代謝マーカーとは異なる骨質評価指標の一つとされる。つまり、骨基質蛋白であるオステオカルシンはビタミンK存在下でGlu残基がGla残基に変換 (Gla化) され、骨石灰化に関与するとされるが、骨においてビタミンKが不足した場合にGla化されていないucOCの血中濃度が上昇する。ucOC高値は大腿骨頸部骨折のリスクファクターとされる^{2, 3)}。白木らの報告によると、日本人における骨でのビタミンK充足状態を予測するucOCのカットオフ値は4.5ng/ml、新規骨折を予測するカットオフ値は5.5 ng/mlとされる⁴⁾。

ucOCと骨密度の関係について、女性ではucOCと骨密度に相関を認めないが、男性ではucOCと大腿骨の骨密度に負の相関を認めるとの報告があるが⁵⁾、ucOCと骨密度の関係について検討した報告は少なく、その詳細は明らかとなっていない。我々はこれま

¹ 島根大学医学部内科学第一

¹⁰ 島根県立大学短期大学部 健康栄養学科

で閉経後女性において、ビタミンK 製剤であるメナテトレノン投与がGla化されたOCの血中濃度を増加させ、ucOCを有意に低下させることを報告しており⁶⁾、その後同様の結果が報告されている⁷⁾。しかし、薬理量ではなく通常の食事による摂取量がucOCにどのような影響を及ぼしているかについては未だ明らかとなっていない。

今回我々は、ビタミンK摂取量とucOCの関係、およびucOCと骨密度や骨代謝マーカーの関係を明らかにするために以下の検討を行った。

(方法)

1) 対象

骨粗鬆症健診を受けた成人女性 212 名（未閉経女性 29 名、閉経後女性 183 名）を対象とし Ca・骨代謝に影響を及ぼす薬剤の服用者は除外した。

2) 検査項目

血液検査にて血中 Ca、P、ALP、ucOC 濃度を測定し、尿検査にて骨吸収マーカーである尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (urinary type-I collagen cross-linked-N-telopeptide：尿中NTX) を測定した。骨密度検査は DXA 法 (QDR-4500、Hologic 社) を用い、腰椎の骨密度を測定した。

3) 食事調査

3 日間の食事記録と食物摂取頻度調査法を用いて、栄養士が個別の聞き取り調査を行った。栄養量の計算は五訂増補日本食品標準成分表及び栄養価計算ソフト (エクセル栄養君 食物摂取頻度調査 FFQ Ver. 2.0 建帛社) を用いて行った。

4) 統計解析

年齢および身長、体重と ucOC、ビタミン K 摂取量と ucOC、ucOC と骨密度および尿中 NTX の相関を単回帰分析にて検討した。相関を有した場合は重回帰分析を行った。統計解析は StatView J-5.0 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)

対象者の背景因子を表 1 に示す。平均年齢は 61.3 ± 9.8 歳で、尿中 NTX は 49.5 ± 24.7 ($9.3 \sim 54.3$) $\text{mmol BCE / mmol} \cdot \text{Cr}$ と正常高値であった。ucOC の平均値は $5.01 \pm 3.38 \text{ ng/ml}$ で、白木らの報告によるビタミン K の充足状態を予測するカットオフ値 4.5 ng/ml 以下が 66%、新規骨折を予測するカットオフ値 5.5 ng/ml 以下が 55%と、半数以上が骨におけるビタミン K 不足状態であることが明らかとなった。

腰椎骨密度 Z 値は 0.208 ± 1.040 と年齢相応の骨密度を有する対象群であった。

各栄養素の摂取量を表 2 に示す。厚生労働省による日本人の食事摂取基準 2005 年版による各栄養素の摂取目標量と比較すると、カルシウム摂取量以外の栄養素が目標量や目安量、推奨量を満たしていた。

1) 年齢と ucOC との相関

ucOC と年齢および身長、体重と有意な相関は認めなかった (図 1)。

2) ucOC とビタミン K 摂取量との相関

ucOC とビタミン K 摂取量は、単回帰分析にて有意な負の相関を認めた ($r=-0.26$, $p=0.001$) (図 2)。さらに年齢、身長、体重を独立変数とし、ucOC を従属変数とした重回帰分析にて、ビタミン K 摂取量と ucOC は年齢、身長、体重を考慮しても有意な負の相関を認めた。

2) ucOC と骨密度との相関

単回帰分析にて、腰椎骨密度、Z 値とも ucOC と有意な負の相関を認めた (腰椎骨密度; $r=-0.19$, $p=0.033$, Z 値; $r=-0.17$, $p=0.018$) (図 3)。さらに重回帰分析にて、年齢や身長、体重で補正後も ucOC と腰椎骨密度には有意な負の相関を認めた。

3) ucOC と骨吸収マーカーとの相関

単回帰分析にて ucOC は尿中 NTX と有意な正の相関を認めた (図 4)。重回帰分析にて年齢、身長、体重、ビタミン K 摂取量で補正後も ucOC と尿中 NTX は有意な正の相関を認めた。

表 1 Background Data

	Mean $\pm$ SD
n(名)	212
年齢(歳)	61.3 $\pm$ 9.8
身長(cm)	152.4 $\pm$ 5.8
体重 (kg)	52.4 $\pm$ 7.1
BMI (kg/m ²)	22.6 $\pm$ 3.0
Ca(mg/dL)	9.1 $\pm$ 0.4
P(mg/dL)	3.5 $\pm$ 0.4
ALP(IU/L)	228 $\pm$ 66
尿中 NTX(nmol BCE/mmol·Cr)	49.5 $\pm$ 24.7
ucOC(ng/mL)	5.01 $\pm$ 3.38
BMD(L2-4)(g/cm ²)	0.850 $\pm$ 0.157
Z 値(L2-4)	0.208 $\pm$ 1.040
T 値(L2-4)	-1.446 $\pm$ 1.421

表2 各栄養素の摂取量

	Mean $\pm$ SD	目標量	Mean $\pm$ SD
エネルギー (kcal)	1942 $\pm$ 343	推定エネルギー必要量	1795 $\pm$ 213
たんぱく質 (g)	70.1 $\pm$ 15.5	推奨量	50
脂質 (g)	58.8 $\pm$ 16.1		
(エネルギー%)	27.0 $\pm$ 4.4	目標量	20 以上 25 未満
カルシウム (mg)	662 $\pm$ 190	目安量	678 $\pm$ 34
マグネシウム (mg)	281 $\pm$ 70	推奨量	284 $\pm$ 8
リン (mg)	1100 $\pm$ 245	目安量	900 $\pm$ 7
ビタミンD (μ g)	9.6 $\pm$ 4.0	目安量	5
ビタミンK (μ g)	267 $\pm$ 84	目安量	65.0 $\pm$ 0.7
		充足量	200

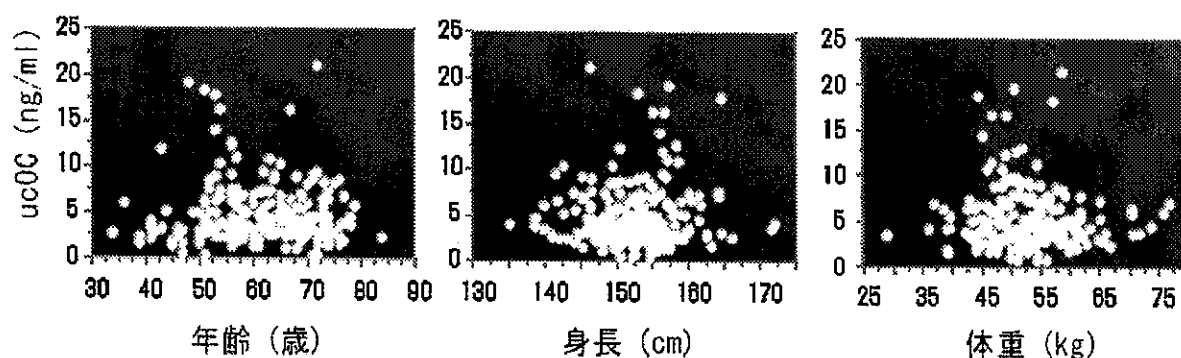
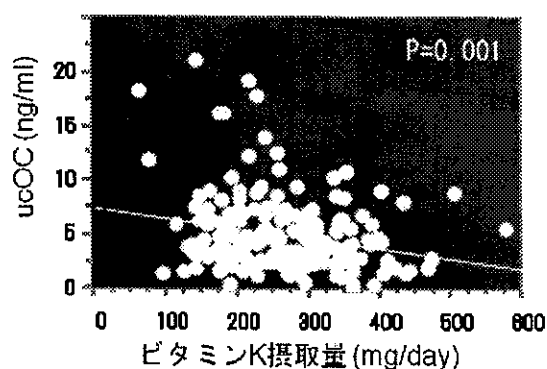


図1 ucOC と年齢および体格との相関

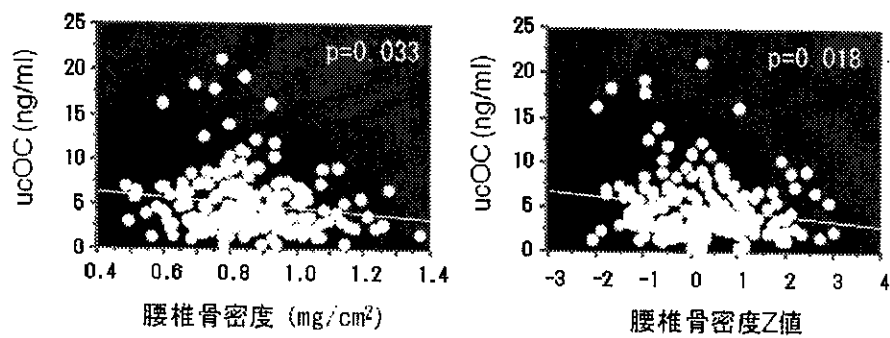


重回帰分析

	ucOC	
ビタミンK摂取量	r	p
	-0.251	0.0009

独立変数：年齢、身長、体重

図2 ucOC とビタミンK 摂取量の相関

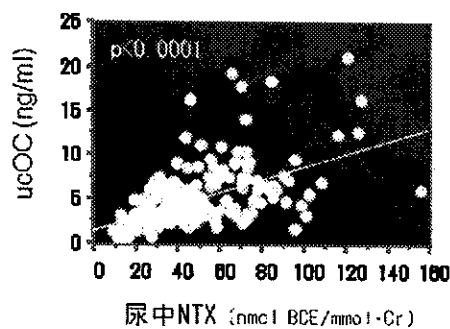


重回帰分析

独立変数	ucOC	
	r	p
腰椎骨密度	-0.200	0.0142

独立変数：年齢、身長、体重

図3 ucOC と骨密度との相関



重回帰分析

独立変数	ucOC	
	r	p
尿中NTX	0.493	<0.0001

独立変数：年齢、身長、体重、ビタミンK摂取量

図4 ucOC と尿中 NTX との相関

(考察)

ucOC は骨でのビタミンK 充足状況を反映し、骨密度とは独立した骨強度指標の一つとされる。高齢女性における検討で、ucOC が高い群は低い群に比し、大腿骨頸部骨折の発生率が有意に高いことが報告されている²⁾。さらに高齢女性を対象とした大腿骨頸部骨折の前向き試験において、ucOC が高値であることは、骨密度とは独立した大腿骨頸部骨折の危険因子であるということが示され³⁾、WHO のテクニカルレポートでも ucOC は骨折のリスクファクターとして取り上げられている。本検討は健康女性を対象としているが、ucOC による骨でのビタミンK 不足を半数以上の66%に認め

た。日本人の食事摂取基準におけるビタミンKの目安量は十分充足していたが、本邦のビタミンK摂取基準は肝臓での充足量を反映する凝固系を指標とした値である。目安量は65 μ g/日、充足量は200 μ g/日とかなり低い設定となっており、骨での充足状態は考慮されていない。最近の海外の報告では、骨にとっての必要量は450 μ g/日とされる⁸⁾。本群のビタミンK摂取量は281 μ g/日と、日本人の平均摂取量と同程度の値であったが、骨の必要量とされる摂取量には及ばない。我々は薬理量でなく、食事からのビタミンK摂取量の程度でもucOCに影響を及ぼすことを、初めて明らかにした。つまり、ビタミンK摂取量の増加によりucOCの低下、およびそれに伴う骨折リスクを低減させる可能性が示唆される。骨での充足状況を視野に入れたビタミンK摂取量の設定が望まれる。

ucOC高値は骨密度とは独立した骨折リスクとされるが、本検討では、ucOCと腰椎骨密度に負の相関を認めた。米国での検討ではucOCは骨密度と相関を認めなかったとされるが、平均ビタミンK摂取量は我々の検討した群よりもさらに少ない⁵⁾。ucOCと骨密度の相関にビタミンK摂取量の程度が関与するかもしれない。また、ucOCは骨吸収マーカーである尿中NTXとも強い正相関を認めることを、明らかにした。骨芽細胞からオステオカルシンの前駆体が産生され、骨におけるビタミンKが充足していればGla化され正常なオステオカルシンとして骨基質に取り込まれる。しかし、不足していると、ucOCとして骨基質に取り込まれることなく血中に放出される。つまり、骨代謝回転が亢進した状態ではオステオカルシンの前駆体の産生が亢進し、これがucOC濃度に反映されと考えられる。また、ビタミンK2が骨吸収を抑制するとの*in vitro*の報告があり^{9, 10)}、我々の臨床検討でもビタミンK2の投与で尿中デオキシピリジノリンが一過性ではあるが、有意の低下を認めている⁶⁾。これが、ucOCと尿中NTXの正相関を一部説明する可能性があるが、ucOCと骨吸収マーカーの相関の機序の詳細については明らかになっておらず、さらなる検討を要する。

(結語)

女性において、薬理量のビタミンKのみならず、さらに少ない量である食事からのビタミンK摂取量もucOCに影響を及ぼすことが明らかになった。日本人女性では、半数以上が骨におけるビタミンKの不足状態にあり、骨粗鬆症におけるビタミンKの食事指導の、さらなる有用性が示された。また、ucOCは骨密度とは独立した骨折の危険因子とされるが、骨密度や骨代謝マーカーといった他の骨強度指標とも関連を有する可能性が示された。

(文献)

- 1) Geleijnse JM, Vermeer C, Grobbee DE, Schurgers LJ, Knapen MH, van der Meer IM, Hofman A, Witteman JC: Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: the Rotterdam Study. J Nutr 134:3100-3105, 2004

- 2) Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD: Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest* 91:1769-1774, 1993
- 3) Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Breart G, Kamihagi K, Delmas PD: Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS Study. *J Clin Endocrinol Metab* 82:719-724, 1997
- 4) 白木正孝, 青木長寿, 山崎典美, 伊藤喜久, 津川尚子, 須原義智, 岡野登志夫: 電気化学発光免疫法による血清中低カルボキシ化オステオカルシン (ucOC) 測定キットの臨床的有用性の検討 カットオフ値の設定と骨粗鬆症患者におけるビタミンK2剤選択時の有用性の検討. *医学と薬学* 57:537-546, 2007
- 5) Booth SL, Broe KE, Peterson JW, Cheng DM, Dawson-Hughes B, Gundberg CM, Cupples LA, Wilson PW, Kiel DP: Associations between vitamin K biochemical measures and bone mineral density in men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 89:4904-4909, 2004
- 6) Ozuru R, Sugimoto T, Yamaguchi T, Chihara K: Time-dependent effects of vitamin K2 (menatetrenone) on bone metabolism in postmenopausal women. *Endocr J* 49:363-370, 2002
- 7) Knapen MH, Schurgers LJ, Vermeer C: Vitamin K2 supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 18:963-972, 2007
- 8) Booth SL, Martini L, Peterson JW, Saltzman E, Dallal GE, Wood RJ: Dietary phylloquinone depletion and repletion in older women. *J Nutr* 133:2565-2569, 2003
- 9) Hara K, Akiyama Y, Tajima T, Shiraki M: Menatetrenone inhibits bone resorption partly through inhibition of PGE2 synthesis in vitro. *J Bone Miner Res* 8:535-542, 1993
- 10) Kameda T, Miyazawa K, Mori Y, Yuasa T, Shiokawa M, Nakamaru Y, Mano H, Hakeda Y, Kameda A, Kumegawa M: Vitamin K2 inhibits osteoclastic bone resorption by inducing osteoclast apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 220:515-519, 1996

4. 学会機関誌もしくは学会への関連論文（演題）発表状況 論文発表

- 1) Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, Sugimoto T. Serum DHEA-S Level Is Associated with the Presence of Atherosclerosis in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr J.* 55 (4) :667-675, 2008

- 2) Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Combination of obesity with hyperglycemia is a risk factor for the presence of vertebral fractures in type 2 diabetic men. *Calcif Tissue Int.* 83(5):324-331, 2008
- 3) Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, Sugimoto T. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 94(1):45-49, 2008
- 4) Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Relationships between serum adiponectin levels versus bone mineral density, bone metabolic markers, and vertebral fractures in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 160(2):265-273, 2008
- 5) Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Kaji H, Sugimoto T. Diabetic Patients Have an Increased Risk of Vertebral Fractures Independent of Bone Mineral Density or Diabetic Complications. *J Bone Miner Res.* 24(4):702-709, 2009
- 6) Hayashi K, Yamamoto M, Murakawa Y, Yamauchi M, Kaji H, Yamaguchi T, Sugimoto T. Bone fragility in male glucocorticoid-induced osteoporosis is not defined by bone mineral density. *Osteoporos Int.* 2009 Apr 22. [Epub ahead of print]
- 7) 山本昌弘、山口徹、山内美香、矢野彰三、杉本利嗣. 2型糖尿病女性の血中ペントシジン濃度は椎体骨折の予測因子である. *Osteoporos Jpn* 16:244-248, 2008
- 8) 林公美、山本昌弘、村川洋子、山内美香、梶博史、山口徹、杉本利嗣. 男性ステロイド性骨粗鬆症における腰椎・大腿骨頸部・橈骨骨密度での椎体骨折閾値の検討. *Osteoporos Jpn* 16:236-239, 2008
- 9) 金沢一平、山口徹、山本昌弘、山内美香、矢野彰三、杉本利嗣. 男性2型糖尿病において肥満かつ血糖コントロール不良であることは多発椎体骨折の危険因子である. *Osteoporos Jpn* 16:199-201, 2008
- 10) 金沢一平、山口徹、山本昌弘、山内美香、矢野彰三、杉本利嗣. 2型糖尿病における血中アディポネクチンの骨密度、骨質、骨脆弱性への関与の検討. *Osteoporos Jpn* 16:632-635, 2008

学会発表

- 1) Nawata K, Yamauchi M, Takaoka S, Imaoka M, Kageyama A, Yamaguchi T, Sugimoto T: Association of n-3 polyunsaturated fatty acid ingestion with bone mineral density in postmenopausal women, 15th International Congress of Diererics. Tokyo, Japan, 2008. 9
- 2) Nawata K, Yamauchi M, Takaoka S, Imaoka M, Kageyama A, Yamaguchi T, Sugimoto T: Ingestion of n-3 polyunsaturated fatty acid is positively associated with

- bone mineral density in postmenopausal women, 2008 International Conference on Osteoporosis and Bone Research Diererics. Beijing, China, 2008. 9
- 3) Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T: Undercarboxylated osteocalcin/osteocalcin ratio is negatively associated with hyperglycemic conditions, but not with the presence of vertebral fractures, in patients with type 2 diabetes. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Sydney, Australia, 2009. 3.
 - 4) Mika Yamauchi, Toru Yamaguchi, Hiroshi Kaji, Toshitsugu Sugimoto: Postmenopausal women with mild to moderate renal dysfunction are at increased risk for bone loss and vertebral fractures. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Sydney, Australia, 2009. 3.
 - 5) Kiyoko Nawata K, Mika Yamauchi, Shin Takaoka, Mina Imaoka, Akemi Kageyama, Toru Yamaguchi, Toshitsugu Sugimoto Calcium intake is negatively associated with bone turnover independent of PTH in postmenopausal women. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Sydney, Australia, 2009. 3.
 - 6) Toru Yamaguchi, Ippei Kanazawa, Masahiro Yamamoto, Mika Yamauchi, Soichi Kurioka, Shozo Yano, Toshitsugu Sugimoto: Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in patients with type 2 diabetes. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Sydney, Australia, 2009. 3.
 - 7) 山内美香, 山口徹, 梶博史, 杉本利嗣. グルココルチコイド服用女性における骨代謝マーカーによる椎体骨折予測の検討:第81回日本内分泌学会学術総会 (弘前) 2008年5月
 - 8) 山本昌弘, 山口徹, 小川典子, 林公美, 金沢一平, 山内美香, 栗岡聡一, 矢野彰三, 杉本利嗣. 閉経後2型糖尿病女性における動脈硬化指標と椎体骨折危険度との関連性 骨血管連関の存在:第81回日本内分泌学会学術総会 (弘前) 2008年5月
 - 9) 山口徹, 金沢一平, 山本昌弘, 山内美香, 矢野彰三, 栗岡聡一, 杉本利嗣. メタボリック症候群が骨密度、椎体骨折に与える影響の検討:第10回日本骨粗鬆症学会学術総会 (大阪) 2008年10月
 - 10) 金沢一平, 山口徹, 山本昌弘, 山内美香, 矢野彰三, 杉本利嗣. 2型糖尿病における血中アディポネクチンの骨代謝への関与の検討 男性2型糖尿病においては総アディポネクチン値が骨脆弱性の指標となりうる:第10回日本骨粗鬆症学会学術総会 (大阪) 2008年10月
 - 11) 金沢一平, 山口徹, 山内美香, 山本昌弘, 矢野彰三, 杉本利嗣. 血糖コントロール

不良な2型糖尿病患者の短期治療介入における骨代謝マーカー、アディポネクチンの経時的推移とその変化量の相互関連性についての検討:第10回日本骨粗鬆症学会学術総会 (大阪) 2008年10月

- 12) 山本昌弘, 山内美香, 矢野彰三, 山口徹, 杉本利嗣. 閉経後2型糖尿病患者におけるHip structure analysisによる大腿骨皮質骨構造の解析 (第一報):第10回日本骨粗鬆症学会学術総会 (大阪) 2008年10月
- 13) 名和田清子, 山内美香, 高岡伸, 景山明美, 今岡美奈, 山口徹, 杉本利嗣. 低カルボキシル化オステオカルシンとビタミンK摂取量、骨代謝マーカーおよび骨密度との関係 成人女性における検討:第10回日本骨粗鬆症学会学術総会 (大阪) 2008年10月
- 14) 山本昌弘, 山口徹, 山内美香, 矢野彰三, 杉本利嗣. 2型糖尿病患者における高血糖状態ではucOC/OC比が低下する:第10回日本骨粗鬆症学会学術総会 (大阪) 2008年10月