

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659298

研究課題名(和文)骨粗鬆症の免疫系リスク要因の探索

研究課題名(英文)Exploration of immunological risk factors for osteoporosis

研究代表者

中村 和利 (Nakamura, Kazutoshi)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：70207869

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は骨粗鬆症およびそれに関連する健康状態のリスク要因を明らかにすることであった。血清中の免疫・炎症マーカーを測定し、骨量および認知機能との関連を調査した。横越研究においてサイトメガロウイルス抗体価は腰椎骨密度と有意な相関が見られた ($r=-0.12$)。また、大和研究においてサイトメガロウイルス抗体価は認知機能スコアの2年間の変化と有意な相関が見られた ($r=0.30$)。過去のウイルス感染が骨粗鬆症または認知機能を予測する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of the study was to explore potential risk factors for osteoporosis and its related health conditions in epidemiologic studies. Immunological and inflammation markers in serum were measured, and their associations with bone mass and cognitive function were tested. Serum Cytomegalovirus antibody titers were significantly correlated with spinal bone mineral density in the Yokogoshi Study ($r=-0.12$), and Cytomegalovirus antibody titers were significantly correlated with 2-year changes in Mini-Mental State Examination scores in the Yamato Study ($r=0.30$). It is concluded that previous viral infection could predict osteoporosis and/or cognitive decline.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：免疫 骨粗鬆症 疫学研究 骨密度 抗体

1. 研究開始当初の背景

人口の高齢化が急速に進む中、骨粗鬆症が急増しており、それに伴う医療費の増加も甚大である。医療経済学的見地から、骨粗鬆症の予防は喫緊の課題である。

骨粗鬆症の発症には炎症・免疫系が関与することはよく知られており、この分野の研究は、骨免疫学と呼ばれる新しい研究分野として発展している。しかしながら、骨免疫学における骨粗鬆症の予防研究の成果はまだ非常に少ない。

このような状況下、著者らは炎症マーカー（C反応性タンパク：CRP）を用いた骨粗鬆症性骨折のコホート研究（村松研究）を行い、血中CRPが骨粗鬆症性骨折発生に関連することを初めて見出した（Nakamura et al. Osteoporos Int 2011;22:2145-50）。CRP高値は心血管系疾患の発生と関連し、血管内炎症が動脈硬化を促進すると解釈されている。しかしながら、同様のメカニズムで血管内炎症が骨折発生を増加させているとは考え難く、別のメカニズムが存在すると予想される。そこで著者は、「炎症・免疫系の活性化が骨粗鬆症骨折増加に関与する」との新仮説（図1）を立てた。

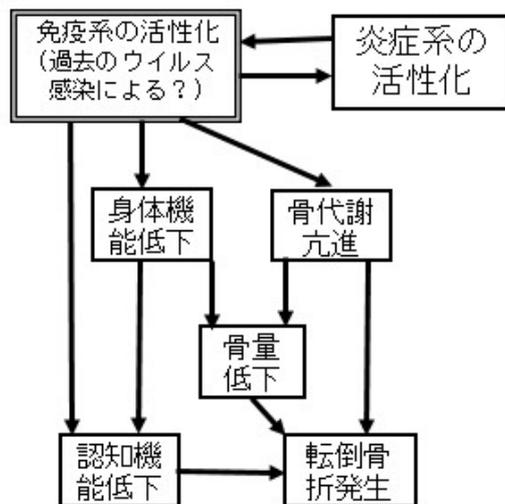


図1 免疫系の活性化と骨折発生の関連フローチャート(仮説)

また、免疫系の活性化に関連する様々な要因（過去の感染歴および生活習慣）を探索することも興味深く、特にウイルス潜伏感染に着目している。その理由は、高齢者におけるヘルペスウイルス(HSV)やサイトメガロウイルスの抗体価と加齢変化および死亡率との関連が報告されているからである(Aiello et al. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2008 63:610-8, Roberts et al. Am J Epidemiol 2010 ;172:363-71.)。よって、これらのウイルスの潜伏感染が骨代謝や身体機能低下に関わっている可能性は十分あると考えている。このような状況において、炎症・免疫系

の活性化と骨粗鬆症・身体機能低下の関連性を研究することは、メカニズム解明の観点からブレイクスルーとなり得るもので、「感染症と加齢疾患とのリンク」という全く新しい学問分野の開拓につながると思われる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「炎症・免疫系の活性化が骨粗鬆症骨折増加に関与する」という仮説の検証を行い、骨粗鬆症の炎症・免疫系予測因子を探索することである。本研究は、以下の3つの研究よりなる。すなわち、横越研究(5年間追跡):免疫系マーカーと骨密度、骨代謝、運動機能の関連を解析、大和研究(2年間追跡):免疫系マーカーと身体・認知機能の関連を解析、村上研究(サブコホート断面研究):免疫・炎症系マーカーと生活習慣の関連を解析、である。

3. 研究の方法

(1)横越研究

2005年の11月に横越研究のベースライン調査を行った。新潟県横越町(現新潟市横越地区)在住で、平成18年3月31日の時点で55-74歳になる全女性を対象とし、食事調査および血液検査を行った。対象となる全住民1,310人に調査の案内を郵送した結果、674人が調査に参加した。参加者は全員地域で自立した生活を送っていた。インフォームドコンセントは書面で行った。本調査研究計画は新潟大学医学部倫理委員会の承諾を得た。基本属性、ライフスタイルなどの情報はインタビューによって得た。体重を身長の高乗で除しBody Mass Index(BMI)を算出した。年齢、既往歴、服薬状況を記録した。腰椎、大腿骨頸部、大腿骨近位部の骨密度(BMD)をDXA法(Hologic QDR4500aによる)にて測定した。握力は左右の平均値を得た。保存血清を用いた血液検査ではリウマチ因子(RF, ラテックス凝集比濁法, 基準値15IU/mL以下)免疫グロブリンのうち、IgG(免疫比濁法, 基準値820~1740mg/dL)、IgA(免疫比濁法, 基準値90~400mg/dL)、IgM(免疫比濁法, 基準値M:31~200, F:52~270mg/dL)の活性および単純ヘルペスウイルス(HSV, CF法, 基準値4倍未満)、サイトメガロウイルス(CMV, CF法, 基準値4倍未満)の抗体価定量値を測定した。また骨代謝マーカーとして、血中25-hydroxyvitamin D(25[OH]D)はRadio-immunoassayで、インタクト副甲状腺ホルモン(PTH)はTwo-site immunoradiometric assayで、NTXはenzyme-linked immunosorbent assayで、オステオカルシン(OC)はImmunoradiometric assayで測定した。5年後フォローアップ調査は2010年の10月に行い、再度BMDを測定した。ベースライン調査に参加した674人中、542人が参加した。骨密度はベースライン調査と同様に行なった。

(2)大和研究

2002年10月時点で大和町在住の介護保険認定を受けた人のうち、入院・施設利用者、死亡者などを除いた518名に調査協力を依頼し、同意が得られた245名に対して調査を行った。実際の調査対象者は、調査実施時に拒否した人、調査日に入院した人、体調不良者、四肢屈曲により調査ができない人を除いた205名であった。このうち、血液検査を行うことができた人は186名であった。調査期間は、2003年2月～3月であった。基本属性の他、日常生活動作(ADL)をBarthel index(BI)を用いて面接調査で把握し、身体機能に関しては左右の握力を測定した。認知機能についてはMini-Mental State Examination(MMSE)を、抑うつについてはGeriatric Depression Scale-15(GDS-15)を、Quality of Life(QOL)については日本版EuroQolを使用し、質問面接調査により把握した。QOL測定では5項目法(効用値)と視覚評価法(VAS値)を用いた。保存血清を用いた血液検査では、高感度CRP(ネフロメトリー法)、単純ヘルペスウイルス(HSV:CF法 基準値4倍未満)、サイトメガロウイルス(CMV:CF法 基準値4倍未満)の抗体価定量値を測定した。2年後フォローアップ調査は2005年の1～3月に行なった。ベースライン調査参加者中、118人がフォローアップ調査に参加した。医学検査はベースライン調査と同様に行なった。本調査研究計画は新潟大学医学部倫理委員会の承諾を得た。

(3)関川研究

2011年の5月に実施された新潟県関川村での基本健診において、40歳から74歳までの健診受診者に、本研究への参加を依頼した。その結果、230人より血液検体(血清)の提供が得られ、同時に自記式健康調査票の記入も行われた。保存血清を用いた血液検査では、高感度CRP(ネフロメトリー法)の測定が行われた。調査票により、基本属性、教育歴、運動、食生活・栄養摂取、嗜好品等の生活習慣の情報を得た。運動に関しては、激しい運動(METS 4.5)、歩行や立ち仕事などの中等度の運動(METS 2.0)、座位での活動(METS 1.5)、睡眠など(METS 0.9)の時間と頻度から、METSスコア(/日)を算出した(Inoue et al. Am J Epidemiol 168:391-403)。骨代謝に関連が深いビタミンD摂取量については、半定量的食物摂取頻度調査法により算出した(Ishihara et al. J Epidemiol 13 Suppl 1:S134-147)。喫煙の有無と飲酒習慣の情報も得た。飲酒習慣については、1)飲まない、2)1-3日/月、3)1-4日/週、4)≥5日/週以上から選択してもらった。緑茶、コーヒーの摂取に関しては、1)1カップ/週未満、2)1-6カップ/週、3)1-3カップ/日、4)≥4カップ/日以上とした。本調査研究計画は新潟大学医学部倫理委員会の承諾を得た。

4. 研究成果

【結果】

(1)横越研究

対象者の特性を表1に示した。

表1 横越研究対象者の特性

	N	平均値	標準偏差
年齢(歳)	674	63.7	5.7
身長(cm)	674	150.7	5.5
体重(kg)	674	53.3	8.3
BMI(kg/m ²)	674	23.5	3.4
握力(kg)	671	23.2	3.9
腰椎 BMD(g/cm ²)	673	0.84	0.15
頸部 BMD(g/cm ²)	672	0.67	0.09
近位部 BMD(g/cm ²)	672	0.75	0.11
25(OH)D(nmol/L)	674	56.1	14.6
PTH(pmol/L)	674	4.2	1.4
OC(mg/mL)	674	9.9	4.1
NTX(nmol BCE/L)	667	21.2	7.4
CRP(mg/dL)	614	0.10	0.22
RF(IU/mL)	453	5.3	28.5
HSV(倍)	408	32.9	28.1
CMV(倍)	408	38.2	34.2
IgG(mg/dL)	362	1534.3	450.9
IgA(mg/dL)	362	258.5	112.4
IgM(mg/dL)	362	107.4	57.9

表2 CRP、RFとアウトカムとの相関係数(横越研究)

	CRP	P値	RF	P値
年齢	0.07	0.07	0.03	0.47
身長	-0.03	0.41	-0.03	0.58
体重	0.16	<0.01	0.04	0.46
BMI	0.18	<0.01	0.05	0.27
握力	-0.01	0.82	-0.11	0.02
腰椎 BMD	0.00	0.97	0.12	0.01
頸部 BMD	0.04	0.37	0.08	0.10
近位部 BMD	0.01	0.81	0.06	0.22
25(OH)D	-0.03	0.51	-0.06	0.21
PTH	0.04	0.33	-0.04	0.35
OC	-0.03	0.45	-0.03	0.50
NTX	0.02	0.69	0.06	0.19
握力	-0.03	0.49	0.01	0.88
腰椎 BMD	0.10	0.02	-0.01	0.86
頸部 BMD	-0.05	0.25	0.02	0.66
近位部 BMD	0.07	0.11	0.09	0.08

表3 HSV、CMVとアウトカムとの相関係数(横越研究)

	HSV	P値	CMV	P値
年齢	0.01	0.80	0.12	0.02
身長	-0.01	0.92	-0.05	0.32
体重	-0.02	0.71	-0.07	0.13
BMI	-0.02	0.74	-0.05	0.32
握力	-0.11	0.02	-0.16	<0.01
腰椎 BMD	-0.09	0.08	-0.12	0.01
頸部 BMD	-0.04	0.45	-0.09	0.08
近位部 BMD	-0.03	0.55	-0.09	0.07
25(OH)D	0.01	0.82	-0.04	0.39

PTH	0.05	0.34	0.03	0.55
OC	-0.04	0.40	0.05	0.31
NTX	-0.03	0.57	0.01	0.89
握力	0.07	0.20	0.11	0.05
腰椎 BMD	0.10	0.08	0.04	0.43
頸部 BMD	0.03	0.59	0.02	0.74
近位部 BMD	0.10	0.06	0.07	0.21

炎症・免疫マーカーとその他の変数の相関を調べるため、ピアソンの相関係数を算出した。基本属性、ベースライン骨密度、骨代謝マーカー、5年後骨密度の変化()と血中CRPおよびRF(表2)、HSVおよびCMV(表3)、免疫グロブリン(表4)の相関係数を示した。

表4 IgG、IgA、IgM とアウトカムとの相関係数(横越研究)

	IgG	P 値	IgA	P 値
年齢	0.04	0.43	0.15	<0.01
身長	0.00	0.95	-0.03	0.62
体重	-0.02	0.76	0.03	0.56
BMI	-0.02	0.71	0.05	0.36
握力	-0.07	0.18	-0.05	0.31
腰椎 BMD	0.00	0.94	0.03	0.59
頸部 BMD	0.01	0.84	-0.05	0.38
近位部 BMD	-0.06	0.29	-0.03	0.53
25(OH)D	-0.06	0.24	0.07	0.21
PTH	-0.07	0.21	-0.05	0.31
OC	-0.02	0.76	0.01	0.81
NTX	0.13	0.01	0.09	0.09
握力	-0.01	0.87	0.03	0.67
腰椎 BMD	-0.02	0.75	0.01	0.85
頸部 BMD	0.08	0.17	-0.01	0.93
近位部 BMD	0.09	0.12	-0.04	0.52

表4(続き) IgG、IgA、IgM とアウトカムの相関係数(横越研究)

	IgM	P 値
年齢	-0.02	0.70
身長	0.09	0.09
体重	-0.03	0.54
BMI	-0.08	0.11
握力	0.03	0.59
腰椎 BMD	0.08	0.12
頸部 BMD	0.02	0.65
近位部 BMD	0.00	0.99
25(OH)D	-0.09	0.09
PTH	-0.08	0.14
OC	0.03	0.63
NTX	0.11	0.03
握力	0.04	0.46
腰椎 BMD	-0.09	0.12
頸部 BMD	0.03	0.67
近位部 BMD	-0.03	0.62

CRP は体重、BMI、腰椎 BMD と、RF は握力、腰椎 BMD と、有意な相関が見られた。HSV は握力と、CMV は年齢、握力、腰椎 BMD、握力と、IgG は NTX と、IgA は年齢と、IgM は NTX と有意な相関が見られた。

(2)大和研究

対象者の特性を表5に示した。

表5 大和研究対象者の特性(女性69.8%)

	N	平均値	標準偏差
年齢(歳)	205	83.6	8.0
身長(cm)	205	151.0	8.8
体重(kg)	205	45.1	10.0
体重	117	-1.3	4.2
BMI(kg/m ²)	205	19.7	3.8
握力(kg)	189	14.9	6.4
握力	105	0.1	3.6
BI	205	63.9	29.8
BI	118	-8.0	23.4
MMSE	156	22.3	5.3
MMSE	79	-2.0	5.15
QOL 効用値	182	0.50	0.22
効用値	104	-0.03	0.22
QOL VAS 値	154	64.8	17.7
VAS 値	81	2.5	19.5
GDS-15	176	4.6	3.2
GDS-15	98	-0.1	2.7
25(OH)D(nmol/L)	197	53.4	26.9
25(OH)D	112	-8.5	14.8
PTH(pmol/L)	200	4.1	2.4
PTH(pmol/L)	115	1.6	3.5
CRP(mg/dL)	614	0.10	0.22
HSV(倍)	408	32.9	28.1
CMV(倍)	408	38.2	34.2

BI: Barthel Index

表6 CRP とアウトカムの相関係数(大和研究)

	CRP	P 値
性	-0.13	0.07
年齢	-0.23	<0.01
身長	0.09	0.22
体重	0.11	0.12
体重	-0.07	0.47
BMI	0.07	0.37
握力	0.19	0.01
握力	-0.07	0.45
BI	-0.12	0.12
BI	0.11	0.24
MMSE	0.05	0.50
MMSE	0.02	0.84
QOL 効用値	-0.17	0.02
効用値	0.17	0.08
QOL VAS 値	0.00	0.97
VAS 値	0.07	0.52
GDS-15	-0.03	0.70
GDS-15	0.02	0.83
25(OH)D	-0.10	0.19
25(OH)D	0.13	0.16
PTH	0.15	0.05
PTH	-0.14	0.14

BI: Barthel Index

表7 HSV、CMV とアウトカムとの相関係数(大和研究)

	HSV	P 値	CMV	P 値
性	0.08	0.28	-0.02	0.79
年齢	0.15	0.05	0.06	0.40
身長	-0.12	0.12	0.11	0.15
体重	0.00	0.95	-0.17	0.02
体重	0.04	0.71	0.04	0.68
BMI	0.05	0.48	-0.25	<0.01
握力	-0.06	0.46	0.04	0.58
握力	-0.03	0.73	-0.10	0.31
BI	0.03	0.67	-0.17	0.02
BI	-0.13	0.15	-0.02	0.80
MMSE	-0.13	0.11	0.08	0.34
MMSE	-0.17	0.13	0.31	0.01
QOL 効用値	-0.04	0.60	-0.07	0.36
効用値	-0.15	0.14	-0.04	0.67
QOL VAS 値	0.09	0.28	0.05	0.51
VAS 値	0.02	0.89	-0.20	0.07
GDS-15	-0.07	0.33	0.03	0.67
GDS-15	0.00	0.98	0.05	0.61
25(OH)D	-0.12	0.10	-0.05	0.51
25(OH)D	-0.06	0.55	-0.09	0.33
PTH	0.03	0.67	0.06	0.43
PTH	0.01	0.94	0.12	0.21

BI: Barthel Index

表6, 7に、血中CRP、HSV、CMVと各アウトカムとの相関係数を示した。CRPは年齢、握力と、CMVは体重、BMI、Barthel Index、MMSEと有意な相関が見られた。HSVと有意な相関を示すアウトカムは見られなかった。

(3) 関川研究

対象者の特性を表8に示した。平均年齢は横越研究と同様であった。女性の割合が高く、喫煙者も少ないなど、比較的健康な集団であると考えられた。CRPと基本属性および生活習慣変数の相関係数を表9に示した。有意な相関は見られなかったが、BMIの関連には有意な傾向が見られた。

表8 関川研究対象者の特性

	N	平均値 または人数(%)	標準偏差
年齢	290	62.8	8.2
BMI (kg/m ²)	289	23.6	4.9
CRP (mg/dL)	290	0.07	0.18
MET (/日)	261	33.8	8.6
ビタミンD (μg/日)	290	11.0	14.5
性			
男性		102 (35.2%)	
女性		188 (64.8%)	
喫煙習慣			
非喫煙者		246 (85.4%)	
喫煙者		42 (14.6%)	
飲酒習慣			
飲まない		147 (50.7%)	
1-3 日/月		28 (9.7%)	
1-4 日/週		37 (12.8%)	

5 日以上	78 (26.9%)
緑茶	
1 カップ/週末満	24 (8.9%)
1-6 カップ/週	72 (26.6%)
1-3 カップ/日	81 (29.9%)
4 カップ/日以上	94 (34.7%)
コーヒー	
1 カップ/週末満	52 (19.6%)
1-6 カップ/週	86 (32.5%)
1-3 カップ/日	107 (40.4%)
4 カップ/日以上	20 (7.6%)

表9 CRP と基本属性、生活習慣変数との相関係数(関川研究)

	CRP	P 値
年齢	0.08	0.18
BMI	0.10	0.09
MET	-0.07	0.23
ビタミンD	-0.04	0.45
性	-0.05	0.37
喫煙習慣	-0.02	0.69
飲酒習慣	-0.07	0.25
緑茶	0.10	0.11
コーヒー	-0.09	0.13

【考察と結論】

横越研究においては、CRPはBMIおよび腰椎骨密度と有意な正の相関が見られた。高BMIはメタボリック症候群の主要な所見であり、CRPが血管内炎症を反映していることが示唆される。大和研究においてCRPは年齢と負の相関が見られた。平均年齢の高い虚弱高齢者では高齢になるほど血管内炎症が弱まることを示唆している。CRPと腰椎骨密度の関連は正の相関であり、CRPが骨粗鬆症性骨折発生と正に関連する(Nakamura et al. Osteoporos Int 2011;22:2145-50)とした所見とは一致しないため、さらなる検討が必要である。

単純ヘルペスウイルス抗体価については、横越研究で握力と有意な負の相関が見られた以外は、目立った所見は見られなかった。一方、サイトメガロウイルス抗体価についてはより多くの陽性所見が見られた。横越研究では、サイトメガロウイルス抗体価と年齢に有意な正の相関が見られ、握力、腰椎BMDとは有意な負の相関が見られた。また、大和研究では、サイトメガロウイルス抗体価は体重、BMI、Barthel Indexと有意な負の相関が見られた。これらの所見は、サイトメガロウイルス抗体価が低い人の方で身体的な健康度が高いことを示唆している。また、大和研究では、サイトメガロウイルス抗体価とMMSEとに比較的高い正の相関(相関係数0.31、P=0.01)が見られた。これは、サイトメガロウイルス抗体価が低いと認知機能の低下が大きいことを示唆しており、精神的健康度には不利であることが示唆された。

免疫グロブリンおよびリウマチ因子に関しては、目立った所見は得られなかった。ま

た、同様に、CRP と生活習慣についても有用な所見は見られなかった。

結論として、過去のサイトメガロウイルス感染は、成人または高齢者の身体的および精神的健康度に関連するという新所見が示された。今後、サイトメガロウイルス感染のマーカーと慢性疾患のアウトカムの関連性を調査することにより、感染症と慢性疾患との関わりを解明し、慢性疾患予防の可能性を追求したい。

5．主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

中村 和利 (NAKAMURA KAZUTOSHI)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：70207869