

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590882

研究課題名(和文) 骨・血管連関の解明を目指したLDLコレステロールが骨に及ぼす影響の検討

研究課題名(英文) Examination of relationships between serum levels of LDL cholesterol and bone metabolism-related indices as well as bone fracture

研究代表者

山内 美香 (Yamauchi, Mika)

島根大学・医学部・講師

研究者番号：40379681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化性疾患と骨粗鬆症が併存することから、骨-血管連関が注目されている。動脈硬化をきたす高LDLコレステロール(LDL-C)血症がこれを介する因子である可能性を考え、LDL-Cの骨への影響について検討した。閉経後女性での検討において、LDL-C高値が骨代謝マーカーや骨密度とは独立した非椎体骨折のリスク因子であることを明らかにした。高LDL-C血症は骨-血管相関に関与する因子のひとつである可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Clinical studies have shown that both atherosclerosis and osteoporosis are frequently present in one patient. Dyslipidemia is an established risk factor for atherosclerosis, and it may be a candidate that links both disorders. To clarify these issues, this study examined the relationships between serum LDL-C and bone mineral density (BMD) and fractures in postmenopausal women. Logistic regression analyses showed that the increased serum LDL-C level was selected as an index affecting the presence of prevalent non-vertebral fractures. This result was still significant after adjustments for bone markers, BMD and various indices [odds ratio 1.76 (1.13-2.73), $p=0.012$]. In conclusion, a high serum LDL-C level may be a risk factor for non-VFs independent of bone turnover, BMD, vitamin D, frail status, or use of drugs for dyslipidemia in postmenopausal women, and it may be detrimental to bone, as well as blood vessels, by being involved in both bone fragility and atherosclerosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、内科学一般

キーワード：骨粗鬆症 脂質

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症治療の進歩はめざましく、これまで中心であった骨吸収抑制剤に加え、骨形成促進剤も使用可能となった。これに伴い、骨粗鬆症治療も様々な選択肢から選べるようになり、これまで増え続けていた本邦の骨折率は一部の年代では横ばいとなった。しかし、ますます進む超高齢社会の中で、実際の大腿骨骨折者数は未だ増加の一途をたどっている。推定骨粗鬆症患者数 1100 万人のうち、現在治療を受けているのは 30%未満とされる。骨折リスクの高い患者を効率よく抽出し、適切な治療法を選択することは医療経済上も重要な課題である。近年、2 型糖尿病が骨折のリスク因子であることが明らかとなった。臨床上、著明な動脈硬化を認める患者に骨粗鬆症が併存することは古くから知られていた。これらは骨・血管連関として認知されているが、その機序は明らかとなっていない。動脈硬化に影響をおよぼす 2 型糖尿病が骨折のリスク因子であることが明らかとなり、この骨・血管相関の機序に糖尿病が関与する可能性が考えられている。一方、同様に動脈硬化の明らかなリスク因子である脂質異常症が骨に及ぼす影響は不明である。

2. 研究の目的

脂質異常症の中でも特に動脈硬化に影響をおよぼす LDL-コレステロール(LDL-C)高値が骨に及ぼす影響を明らかにする。臨床検討では、LDL-C が骨代謝マーカーや骨密度、あるいは椎体骨折や非椎体骨折に関与するか否かを明らかにする。加えて、基礎実験で LDL-C の骨芽細胞や未分化間葉系細胞への影響を検討し、LDL-C の骨への影響の機序を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 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者を対象とし、筋力テスト、Ca、P、Cr、ALP、T-chol、TG、HDL-C、LDL-C、血糖、HbA1c、PTH、25 位水酸化ビタミン D、骨形成マーカーである I 型プロコラーゲン架橋 N-プロペプチド(PINP)、骨吸収マーカーの I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド(CTX)、オステオカルシン(OC)、低カルボキシ化オステオカルシン(ucOC)、sclerostin、FGF23 を測定する。腰椎と大腿骨の骨密度測定、頸動脈エコー、脈波伝播速度の測定を行う。LDL-C と骨折の関係につき横断検討を行う。ロジスティック回帰分析にて骨密度や骨代謝マーカー、各種栄養摂取量や運動機能、動脈硬化指標が、LDL-C 高値と骨脆弱性の関係に関与するかを検討する。ROC 解析や四分位解析にて骨折の有無を識別する LDL-C のカットオフ値の算出を試みる。1 回目の健診から 1 年以上経過した例について 2 回目の健診を実施する。また、新規骨折発生のリスクへの LDL-C の関与について縦断的統計解析を行う。

(2) 基礎実験では MC3T3E1 マウス骨芽細胞様細胞を用いて、LDL-C や酸化 LDL が骨芽細胞増殖、分化および石灰化に影響を及ぼすかを検討する。増殖能は細胞数カウントと BrdU アッセイ、石灰化は von Kossa 染色、Arizarin Red にて検討する。骨芽細胞分化マーカーである ALP 活性やオステオポンチン、オステオカルシン、オステリックスの発現を mRNA、RT-PCR、Western blot 法にて検討する。さらに、未分化間葉系細胞 ST-2 細胞を用いて、LDL-C が骨芽細胞への分化能に影響を及ぼすかを検討する。

4. 研究成果

(1) 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 211 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。

平均年齢 63.5 ± 7.5 歳で、骨密度 Z Score は腰椎が 0.3 ± 1.1 、大腿骨頸部 0.1 ± 1.0 と年齢相応の骨密度を有する群であった。非椎体骨折の既往がある 36 名の骨折の部位は大腿骨近位部が 1 名、下腿骨 4 名、膝関節部 5 名、足部 12 名、前腕骨 15 名であった。

単回帰分析にて LDL-C は、年齢($r=-0.06$, $p=0.38$)、閉経後年数($r=-0.05$, $p=0.46$)、BMI($r=0.06$, $p=0.38$)、骨形成マーカーである PINP($r=-0.003$, $p=0.96$)、骨吸収マーカーである CTX($r=0.01$, $p=0.86$)と相関を認めなかった。また、腰椎骨密度($r=-0.09$, $p=0.19$)、大腿骨頸部骨密度($r=0.04$, $p=0.56$)のいずれとも相関を認めなかった。その他、PTH、25 位水酸化ビタミン D、OC、ucOC、骨形成抑制因子である sclerostin、P 調節因子である FGF23 とも相関を認めなかった。

骨折の有無での検討において、LDL-C は椎体骨折の有無で差を認めなかったが(椎体骨折有群; 128 ± 25 、無群; 131 ± 27 : $p=0.45$)、非椎体骨折の有無では、骨折有群で有意に高値を示した。さらにロジスティック回帰分析にて、年齢、BMI、大腿骨頸部骨密度、CTX、脂質治療薬の有無で補正後も LDL-C の上昇は有意な非椎体骨折のリスク因子として選択された。LDL-C が 1SD 上昇時の非椎体骨折のオッズ比は 1.52 倍(95%CI:1.02-2.27, $p=0.038$)であった。さらに、LDL-C が心血管イベントに関与することから、心血管イベントの有無を独立変数に加えた。骨折は筋力や転倒、バランス機能と関連を有することから、これらの影響を考慮するために独立変数に加えた。さらに最近、LDL-C はビタミン D 不足と密接な関係を有することが明らかになりつつあり、ビタミン D 不足は骨折のリスク因子であることが分かっていることから、ビタミン D 不足を介するものである可能性を考えこれも独立変数に加えた。つまり、年齢、BMI、閉経後年数、身体活動度、心血管イベントの有無、握力、つぎ足歩行能、血中 Ca、P、Cr、25(OH)D(ビタミン D 充足状態の指標)

CTX 濃度、大腿骨骨密度、脂質治療薬の有無で補正後も LDL-C が 1SD 上昇時の非椎体骨折のオッズ比は 1.76 倍(95%CI:1.13-2.73, p=0.012)であった。

以上の結果から、横断検討において閉経後女性において、LDL-C 高値が骨代謝マーカーや骨密度、ビタミン D 充足状態とは独立した非椎体骨折のリスク因子であることを初めて明らかにした。高 LDL 血症は動脈硬化の明らかなリスク因子であることから、高 LDL 血症は骨 - 血管相関に關与する因子のひとつである可能性が示唆された。

縦断検討において、LDL-C が新規骨折のリスク因子となるかを検討したが、閉経後女性 63 名の検討では、新規椎体骨折、非椎体骨折のリスク因子として LDL-C は選択されなかった。しかし、今回の検討例数は新規骨折におよぼす影響を検討するには例数が少ないため、影響がないとは結論づけることができない。今後さらに例数を重ね検討を進める予定である。

(2) 基礎実験では MC3T3E1 マウス骨芽細胞様細胞、酸化 LDL-C が骨芽細胞増殖、分化および石灰化に影響を及ぼすかを検討した。増殖能は細胞数カウントと BrdU アッセイ、石灰化は von Kossa 染色、Arizarin Red にて検討を行ったが、有意な影響を認めなかった。

そこで、さらに未分化な細胞から骨芽細胞への分化能に対する LDL-C の影響を調べるために、10T1/2 マウス未分化間葉系細胞を用いて、酸化 LDL-C が骨芽細胞への分化に影響を及ぼすかを検討した。増殖能は細胞数カウント、分化能はアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性、type I collagen と osteocalcin の発現を検討したが、有意な影響を認めなかった。次にマウス stromal ST2 細胞、骨髄間質細胞を用いて、これらの細胞の石灰化能におよぼす酸化 LDL の影響を検討したが、影響を認めなかった。今回の実験系では酸化 LDL-C の骨芽細胞様細胞、未分化間葉系細胞、骨髄間質細胞への影響は認めず、LDL-C の骨におよぼす作用の機序について明らかにすることはできなかった。

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 7 件)

Mika Yamauchi, Toru Yamaguchi, Kiyoko Nawata, Ken-ichiro Tanaka, Shin Takaoka, Toshitsugu Sugimoto, Increased low-density lipoprotein cholesterol level is associated with non-vertebral fractures in postmenopausal women. Endocrine, 査読有、2014 May 23. Epub ahead of print.

山内美香、杉本利嗣、生活習慣病が骨へ与える影響、実験治療、査読無、709 巻、

2013、3-8

山内美香、骨粗鬆症の最新の知見；生活習慣病、日本臨牀、査読無、71 巻、2013、451-456

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. 査読有、93 巻、2013、147-54.

Takaoka S, Yamaguchi T, Tanaka K, Morita M, Yamamoto M, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Fracture risk is increased by the complication of hypertension and treatment with calcium channel blockers in postmenopausal women with type 2 diabetes. J Bone Miner Metab. 査読有、31 巻、2013、102-107.

Yamamoto M, Yamaguchi T, Nawata K, Yamauchi M, Sugimoto T. Decreased PTH levels accompanied by low bone formation is associated with vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab. 査読有、97 巻、2012、1277-1284.

山内美香、山口徹、名和田清子、高岡伸、杉本利嗣。閉経後女性における高 LDL 血症の骨脆弱性に及ぼす影響、Osteoporosis Japan. 査読無、20 巻、2012、257-260

[学会発表](計 7 件)

Yamauchi M, Yamaguchi T, Nawata K, Takaoka S, Sugimoto T. Increased low-density lipoprotein cholesterol level is associated with non-vertebral fractures in postmenopausal women. World Congress on Osteoporosis - International Osteoporosis Foundation - The European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis. April、2-5、2014、Seville

Nawata K, Yamauchi M, Tanaka K, Takaoka S, Sugimoto T. Relationship between motor function tests and existing vertebral fractures in postmenopausal women. International Osteoporosis Foundation Regionals - 3rd Asia-Pacific Osteoporosis Meeting. 2012 年 12 月 13 日 ~ 16 日、Kuala Lumpur. 名和田清子、山内美香、田中賢一郎、高岡伸、杉本利嗣。閉経後女性における運動機能検査と既存椎体骨折の関連についての検討、第 14 回日本骨粗鬆症学会学術集会、2012 年 09 月 27 日 ~ 29 日、新潟

山内美香、山口徹、名和田清子、高岡伸、杉本利嗣。高 LDL コレステロール血症の非椎体骨脆弱性に及ぼす影響 閉経後

女性における検討. 第 30 回日本骨代謝学会学術集会、2012 年 07 月 19 日~21 日、東京

Yamauchi M、Nawata K、Kaji H、Takaoka S、Yamaguchi T、Sugimoto T. Functional hypoparathyroidism is a risk factor for bone fragility of postmenopausal women with vitamin D insufficiency. 15th International and 14th European Congress of Endocrinology、2012 年 5 月 5 日~9 日、Florence

山内美香、山口徹、名和田清子、高岡伸、杉本利嗣. 閉経後女性における高 LDL 血症の骨脆弱性に及ぼす影響、第 13 回日本骨粗鬆症学会、2011 年 11 月 3 日、神戸

山内美香、骨粗鬆症診療 update、第 29 回日本骨代謝学会学術集会(招待講演)、2011 年 7 月 28 日、大阪

〔図書〕(計 1 件)

山内美香、杉本利嗣. ライフサイエンス出版、骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2011 年版、2011、167(114-115)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

山内 美香 (YAMAUCHI, Mika)
島根大学・医学部・講師
研究者番号：4 0 3 7 9 6 8 1

(2) 研究分担者

杉本 利嗣 (SUGIMOTO Toshitsugu)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：0 0 2 2 6 4 5 8

(3) 連携研究者

()

研究者番号：