

【総 説】

骨粗鬆症の新たな治療戦略 —骨質評価の重要性—

齋 藤 充 丸 毛 啓 史

東京慈恵会医科大学整形外科学講座

(受付 平成 26 年 2 月 20 日)

NEW STRATEGIES FOR THE TREATMENT OF OSTEOPOROSIS: THE IMPORTANCE OF ESTIMATING BONE QUALITY

Mitsuru SAITO and Keishi MARUMO

Department of Orthopaedic Surgery, The Jikei University School of Medicine

Osteoporosis is a condition in which bone resorption by osteoclasts overtakes bone formation by osteoblasts; as a result, bone density is reduced, the bone microarchitecture is damaged, and the risk of fractures is increased. To date, the increase in bone resorption has been explained by a reduction in female hormones, which control the activity of osteoclasts. More recently, however, it has become clear that a reduction in male hormones from middle age onwards, increasing age, and an increase in oxidative stress related to lifestyle-related diseases can also activate osteoclasts and reduce osteoblast function. These changes lead to both qualitative and quantitative abnormalities in collagen, which is the major bone matrix protein. In contrast to microstructure and calcification levels, among other bone-density and bone-matrix factors, which are controlled by bone remodeling, the intermolecular cross-link formation of collagen, which regulates bone-material attributes, is a mechanism independent of bone remodeling. In other words, cross-link formation is controlled by the environment surrounding the bone matrix, comprising cellular functions, oxidative stress, carbonyl stress, and glycation level. Therefore, bone quality is regulated both by bone remodeling and by a remodeling-independent mechanism, and markers for evaluating bone quality should be established. When pentosidine, an advanced glycation end product, is formed within bone collagen, bone brittleness is increased. High levels of pentosidine in urine or blood, or high homocysteine values, which suggest bone collagen abnormalities, might be used as surrogate markers for evaluating bone quality, assessing the risk of bone fracture and risk factors for advanced collapse after vertebral fracture, and selecting treatments. Patients with osteoporosis can be divided into 3 types on the basis of bone density and with bone quality. We are entering an age in which the treatment of osteoporosis will be personalized, with drugs administered depending on these types.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2014;129:107-18)

Key words: osteoporosis, bone quality, collagen cross-links, Advanced glycation end products, pentosidine

I. はじめに

閉経に伴う女性ホルモンの減少や加齢に伴う骨吸収の亢進やカルシウム吸収能の低下により、骨密度の減少が生じ骨折リスクが高まる。しかし、その後、骨密度以外の骨強度因子として、2010年、

骨質という概念がNational Institutes of Health (NIH) のコンセンサス会議で提唱された。同会議において、骨粗鬆症は骨強度が低下する疾患であり、骨強度は骨密度と骨質により規定されると定義された¹⁾。骨質は、骨の材質特性と構造特性(微細構造:皮質骨の多孔化,海綿骨の骨梁構造)

により規定される²⁾。

骨密度や微細構造は、骨の新陳代謝機構（骨吸収に伴う骨形成）である骨リモデリングによって制御されている。骨リモデリングにより海綿骨は年間約40%、皮質骨では4-7%が絶えず入れ替わり、構造を維持しつつ骨密度を保つ。この際、骨は破骨細胞による骨吸収を受け、その後、骨芽細胞により吸収されたのと同程度の骨形成がおこるため骨量は減少しない。しかし、加齢や、閉経によるエストロゲンの減少、もしくは男性ではアンドロゲンの減少により骨吸収が骨形成を上回り、骨の微細構造は破綻し、骨密度も減少する。

骨は、骨リモデリングにより老朽化した骨組織が修繕されるものの、加齢や性ホルモンの減少に伴う酸化ストレス、糖化ストレス、活性酸素、カルボニルストレスの増大により、老朽化が著しくすすむ。骨の構成成分は、ハイドロキシアパタイトからなるミネラル成分と有機成分であるコラーゲン蛋白からなる。コラーゲンは骨の単位重量当たりでは20%程度であるが体積当たりに換算すると骨の50%はコラーゲンで占められる²⁾。骨は鉄筋コンクリートの建物に例えられる。鉄筋に相当するのがコラーゲンで、コンクリートに相当するのがミネラルである。鉄筋コンクリートの建物は老朽化すれば修繕工事を行い、倒壊を免れようとする。しかし、海沿いに建てられた鉄筋コンクリートの建造物は定期的に修繕工事を行っていても、塩害により鉄筋は高度に錆び付き耐震性は低下していく。骨でも同じことが言えることが明らかにされている²⁾。すなわち、塩害に相当する活性酸素や酸化ストレス、糖化ストレス、カルボニルストレスの増大により、コラーゲンは老化し、骨強度は低下する。原発性骨粗鬆症においては、

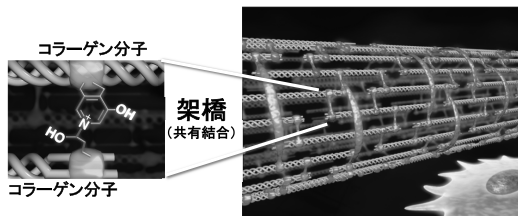
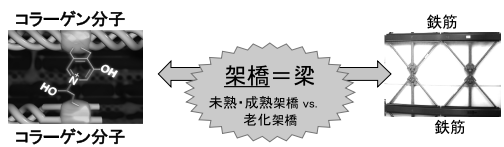


図1 コラーゲン架橋
コラーゲン分子の集合体であるコラーゲン線維の強度は、分子間架橋の形成に依存する。

骨強度の約30%は骨質によって規定される。さらに続発性骨粗鬆症である生活習慣病（糖尿病、動脈硬化、腎機能低下:後述）関連骨粗鬆症では、骨強度低下に及ぼす骨質劣化の影響度は著しく高まることを見出している^{3) 4)}。

骨粗鬆症において認められるコラーゲンの過老化は、骨リモデリングの亢進では説明ができない。すなわち、骨コラーゲンの劣化は、骨リモデリングを反映するマーカー（骨形成、骨吸収マーカー）や、カルシウムベースの解析法では評価出来ない。コラーゲンの劣化は、骨芽細胞機能の低下や、基質蛋白を取り巻く酸化ストレスや糖化の影響をうけている²⁾。このため骨折リスクの評価は、骨リモデリングに依存するカルシウムベースのパラメーターや構造の評価のみならず、コラーゲンの材質特性を評価することが、必要である。最近、筆者らの基礎および臨床研究から骨粗鬆症は単一の病型ではなく、骨密度と骨質（骨コラーゲン）の良し悪しで病型分類が可能なことを見出し、病型分類に応じたテーラーメイド治療を提唱している⁵⁾。



	酵素依存性架橋	非生理的架橋 Advanced glycation end products (AGEs)
形成誘導因子	酵素反応 ・リジロオキシダーゼ	・酸化・カルボニルストレス ・糖化
	石灰化に必須	石灰化を抑制
骨強度	↑ しなやか・粘り強い	↓ 脆い・チョーク様
	未熟→成熟架橋(善玉)	老化AGE架橋(悪玉)

未熟架橋: リジノロイシン架橋 成熟架橋: ベリジノリン架橋

図2 コラーゲン架橋の分類と機能

コラーゲン分子の集合体であるコラーゲン線維の強度を規定しているのが、隣り合う分子同士をつなぎ止める構造体「コラーゲン架橋」である。コラーゲン架橋は鉄筋同志をつなぎ止める「梁」に相当する。コラーゲン架橋は、骨強度を高める善玉の生理的架橋と、骨を脆弱にする悪玉の非生理的架橋に分類される。悪玉架橋の本態は、老化産物として知られる Advanced glycation end products (AGEs) である。悪玉架橋は、鉄筋に蓄積する錆びと考えることができる。

II. 骨質（材質）因子：骨コラーゲン

コラーゲンの成熟や老化を規定するのは翻訳後修飾である分子間の架橋形成である²⁾。コラーゲンは、コラーゲン分子が「架橋（鉄筋同士を結びつける梁に相当する構造体）」という橋渡しで強固に結合されて作られている（図1）。コラーゲン架橋には、骨芽細胞の制御により分泌される酵素の作用により秩序正しく分子をつなぎとめ、適度な弾力を保ちながら石灰化を誘導し、骨をしなやかに強くする酵素依存性架橋（善玉架橋）と⁶⁾ -⁸⁾、無秩序に分子をつなぎとめ、骨を過剰に硬くして陶器のようにもろくしてしまう悪玉の老化架橋である終末糖化産物（Advanced glycation end products：AGEsに分類される²⁾（図2, 3）。酵素依存性架橋の減少やAGEsの増加により骨の脆弱性が高まる²⁾ -⁴⁾、コラーゲンの分子間架橋形成は、骨リモデングとは独立した機序、すなわち、細胞機能の善し悪しや、酸化ストレス（ホモシステイン高値、動脈硬化罹患）あるいは糖化（糖尿病）といった骨基質を取り巻く全身性の因子によって制御されている（図2, 4）。こうした事実を裏付けるように、骨密度測定と同時に、コラーゲンからみた骨質の評価を行うことで、骨折リスク評価の精度を高めることが可能である^{2) 4) 9) -11)}。骨のAGEs量と正の相関をもつ血中や尿中のペントシ

ジン高値が骨折リスク因子となる^{9) -11)}。ペントシジンはAGEsの一構造体であるが、総AGEs量を反映するサロゲートマーカーとして体組織や体液中の測定法が開発されている²⁾。なお、血中もしくは尿中ペントシジン測定や、コラーゲンの架橋異常を誘導するホモシステインの測定は、骨マトリックスマーカーとして、「骨代謝マーカー適正使用ガイドライン2012年度版（ライフサイエンス出版）」に掲載されている。さらに、骨コラーゲンの劣化による骨脆弱化の機序という東京慈恵会医科大学整形外科学講座（当講座）発の世界初の概念は、本邦の日本骨粗鬆症学会編の「骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン2011年度版（ライフサイエンス出版）」および「生活習慣病骨折リスクに関する診療ガイド」に盛り込まれている。同内容の分担執筆は当講座で担当し、我が国における骨粗鬆症の概念を大きく変えるに至った。

III. 骨質劣化マーカーの必要性

原発性骨粗鬆症^{12) -14)}（図5a）や糖尿病¹⁵⁾（図5b）、腎不全¹⁶⁾（図5c）といった酸化や糖化の亢進する病態では、骨コラーゲンの酵素依存性架橋の低形成とAGEsの過剰な形成が誘導され、骨強度が低下することを明らかにした。また、加齢と共に骨コラーゲンにはAGEsが増加し、骨強度は

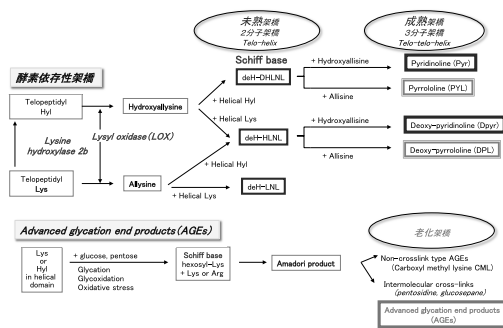


図3 コラーゲン架橋の生化学

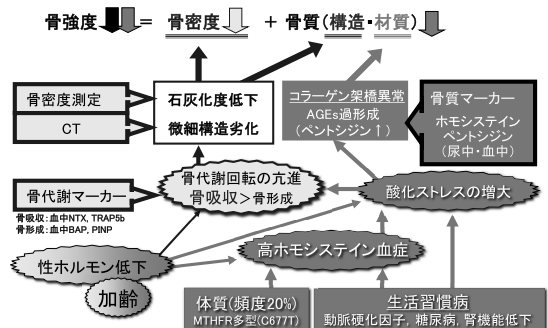


図4 骨強度低下のメカニズム

骨質は、骨の材質特性と、その素材を元に作り上げられた構造特性（微細構造）により規定される。性ホルモン欠乏や加齢、生活習慣病は、骨密度のみならず骨質、特にコラーゲンへのAGEの増加を誘導し骨強度に対して悪影響をもたらす。骨密度や骨微細構造は、骨リモデングに依存した骨強度パラメーターであるのに対し、骨質因子の内、材質特性は、細胞機能の良し悪し、基質周囲の環境（酸化ストレスや糖化のレベル）によって制御されている。

低下することも見出している²⁾⁻⁴⁾¹⁷⁾。男女を問わず加齢、性ホルモンの減弱により骨リモデリングは亢進する。当然の事ながら骨リモデリングの亢進により、コラーゲンの新陳代謝は旺盛に営まれるため、ライフスパンの長い蛋白質に形成されるAGEsが骨コラーゲンで増加するとは予想されていなかった。しかし、AGEsの形成に関与する因子は、基質のライフスパンの長短だけではない。酸化や糖化もしくはカルボニルストレスが増大するような環境（加齢、生活習慣病罹患）にさらされれば、例えば骨リモデリングが亢進し、コラーゲンのライフスパンが短くなったとしても容易にAGEsが誘導される²⁾ (図2, 4)。当然のことながら、骨リモデリングも低下した状態に、酸化や糖化の亢進が加われば、骨コラーゲンのAGEs化は著しく促進される。糖尿病がこうした病態に相当する¹⁵⁾。以上のことから、骨脆弱化の評価は、骨リモデリングを反映する骨代謝マーカーの測定やカルシウムベースのパラメーターのみならず、骨質の劣化を同時に評価する必要がある。こうした観点からも、コラーゲンの善玉架橋である酵素依存性架橋や悪玉のAGE架橋の形成のメカニズムについて理解することは重要である²⁾⁻⁴⁾。

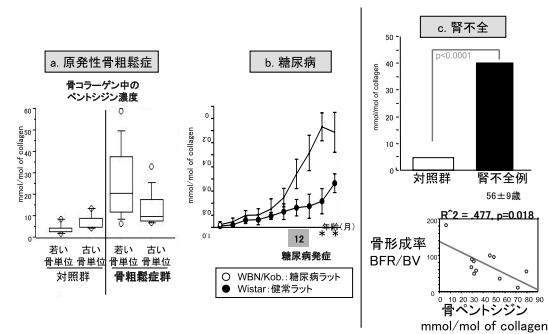


図5 骨コラーゲン中のAGEs架橋ペントシジン
 a. 原発性骨粗鬆症例における骨コラーゲンへのペントシジンの過形成。骨は若い骨単位と古い骨単位とに分けて分析した。骨折群では若い骨単位にもペントシジンが増加しており、骨形成の早期からAGEs化が生じていることがわかる^{12) 13)}。
 b. 自然発症糖尿病ラットにおけるコラーゲン架橋と骨強度。糖尿病の進行と共にペントシジンが増加している（○：WBN/Kob群，●：Wistar群）。
 * $p < 0.05$: Age-matched controlのWistarとの比較¹⁵⁾。
 c. 透析例における骨コラーゲン中のAGEペントシジン濃度と骨形態計測。透析例の骨にはペントシジンが著しく増加しており、その増加に伴い骨形成率は低下していた¹⁶⁾。

IV. 酵素依存性(善玉)架橋と骨強度(図2)

酵素依存性架橋は、コラーゲンの成熟過程で秩序だって形成され石灰化を促す。その総数は、骨芽細胞自身が分泌する酵素リジロキシダーゼの活性に依存している⁶⁾⁻⁸⁾。本架橋の形成は類骨が石灰化するまでの間にプラトーに達する⁸⁾。しかしこの間、酵素活性を十分に高めることができないと善玉架橋が低形成となり、コラーゲン線維は十分な強度を獲得することができない¹⁵⁾。当講座では、リジロキシダーゼの必須の補酵素であるビタミンB6を欠乏させると骨コラーゲン中の酵素依存性の善玉架橋が25%減少し、骨密度の低下を伴わずに骨強度低下をきたすことを、健常ラット¹⁸⁾ および糖尿病ラット¹⁵⁾ を用いた検討から明らかにしている。また、骨密度が低下する以前に骨折リスクの高まるステロイド性骨粗鬆症のラットモデルにおいても、グルココルチコイドによるリジロキシダーゼの抑制作用により酵索性架橋は低形成となり、高い骨密度でも骨強度が低下する¹⁹⁾。これらの事実から酵索性架橋は骨強度にはプラスの効果をもつ善玉架橋と言える。また、生理的な環境下においては、ヒト骨に形成される酵索性架橋の総数は幼年期から30歳代でピークに達して過剰に誘導されることはない^{20) 21)}。

V. AGEs(悪玉)と骨強度(図2)

酸化ストレスやカルボニルストレスの増大、高血糖の持続によりAGEsは誘導される。ペントシジンやグルコセパンが代表的なAGEs架橋である²⁾。骨組織分析から、ペントシジン形成量は総AGEs量と正の相関を示すことからAGEs全体のサロゲートマーカーとして測定されている²⁾。AGEs架橋は、糖化や酸化の亢進のみならず、生理的な環境下では時間依存的に形成されるためライフスパンの長い蛋白質に形成されていく^{2) 12) 13) 20)}。加齢と共に骨コラーゲンにはペントシジンが増加し、骨強度は低下する²⁾。さらに、糖化や酸化が亢進するような病態をもつ症例では、時間依存的なAGEsの形成を遙かに超えた過剰な形成が生じる^{2)-4) 14)-16)}。AGEsは2つの側面から骨強度を低下させる。すなわち、架橋形成による直接的な影響と²⁾⁻⁴⁾、細胞上

に存在するAGE受容体 (RAGE) を介して惹起される骨芽細胞機能低下やアポトーシスの誘導といった生物学的な機能の低下を介した負の作用である²²⁾²³⁾。抽出した骨ブロックを常温でインキュベーションしAGEs架橋を誘導すると、その骨ブロックの強度は低下することから、細胞機能の低下のみならずAGEsによる過剰な架橋形成のみで骨強度は低下することは骨質劣化を理解する上で重要な知見である²⁴⁾。

VI. 加齢に伴う骨・血・尿中ペントシジンの相関性と問題点 (図6)

加齢に伴う骨コラーゲン中のペントシジンの増加を反映するように、尿中¹⁰⁾ および血中²⁵⁾ のペントシジン量は加齢に伴い増加する (図6a, b)。加齢に伴う骨へのAGEの増加は、男女に共通して認められる現象である¹²⁾¹³⁾¹⁷⁾²⁰⁾²⁶⁾。

現在、ペントシジン測定は、高速液体クロマトグラフィーという精密機器分析法と、ペントシジンに対する抗体を用いたELISAが確立されている。後者のELISA法は、日常検査で腎機能低下の保険病名での測定がなされている (SRL)。そこで、骨コラーゲン中のペントシジン量と、血液、尿中のペントシジン量との相関性を確認した。高

速液体クロマトグラフィーを用いて精密に測定した結果と、ELISA法で測定した値の相関性を整形外科手術症例 (n=100) の検体で検証した²⁷⁾。その結果、高速液体クロマトグラフィー法で測定したペントシジン量は、各組織間で良好な正の相関を示したが、ELISA法で測定した血漿ペントシジン量は高速液体クロマトグラフィー法で測定した尿や骨ペントシジン量と有意な相関性は確認できなかった。その一つの要因として、現行のELISA法が、ペントシジンを測定する前処理として熱処理を加えることが指摘されている²⁸⁾。熱処理を加えることで、ペントシジンやカルボキシルメチルリジンといったAGEsがアーチファクトとして増加することが示された。なお、熱処理を加える場合でも酸性条件下では、アーチファクトは生じないことから、前処理法を改良する必要がある²⁸⁾。すでに、熱処理を加えずに測定可能な改良ELISA法も開発されつつあり、今後に期待が寄せられる。

VII. 骨質 (マトリックス) マーカー：ペントシジンとホモシステイン

大腿骨頸部骨折をきたした原発性骨粗鬆症例 (15-25例) における骨コラーゲン分析から、骨折例では酵素的架橋の低形成とペントシジンの過形成が生じていることが知られている²⁾⁻⁴⁾ (図5a)。こうした事実を反映するように、尿中ペントシジン濃度の高値が骨密度とは独立した骨折リスク因子となることをShirakiらとの共同研究で明らかにした (図7)¹⁰⁾。同研究では未治療閉経後女性432名を対象にして、新規骨折発生をエンドポイントに縦断研究を行った。その結果、尿中ペントシジンの最高4分位群 (クレアチニン補正で、47.5 pM/mg Cr) が、骨密度や年齢、骨代謝マーカー、既存骨折、腎機能 (クレアチンクリアランス) とは独立した骨折危険因子であることを見出した (オッズ比1.3)、このリスク値は、トラディショナルな骨折危険因子である骨密度より高値であった。さらに骨コラーゲン中のペントシジンが高値の症例では、血中のホモシステインが高値であることを明らかにした¹³⁾。ホモシステインは、リジルオキシダーゼの活性を抑制して善玉架橋の低形成を招くのと同時に、コラーゲンのAGE化

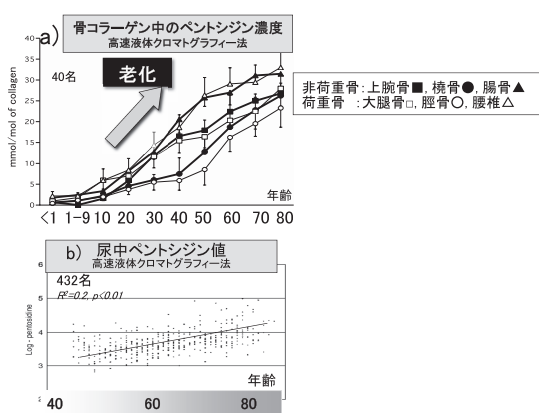


図6 ヒト骨・血液・尿中ペントシジンの加齢変化
 a. 骨コラーゲン中のペントシジン量: (■): 上腕骨近位部, (●): 橈骨遠位部, (▲): 腸骨中央部, (□): 大腿骨, (○): 脛骨中央部, (△): 腰椎椎体¹⁷⁾。
 b. 尿中ペントシジン濃度 (クレアチニン補正)¹⁰⁾。全てサンプルを加水分解後、高速液体クロマトグラフィーで測定。

を促進する酸化ストレスを高める¹⁴⁾。すでにロツテルダム研究²⁹⁾、フラミンガム研究³⁰⁾、WHI (Women's Health Initiative) コホート研究³¹⁾ などから、軽度の高ホモシステイン血症が、骨密度とは独立した骨折リスク因子となることが示されており、高ホモシステイン血症は骨質を低下させる要因と考えられるようになった²⁾⁴⁾³²⁾。さらに最近、高ホモシステイン血症が男女に共通した骨密度非依存性の骨折リスクとなることがメタ解析からも示された³³⁾。

そこで、高ホモシステイン血症が骨コラーゲンへのAGE化を誘導するかを、卵巣摘出を施した家兎を用いて検証した¹⁴⁾。その結果、1%メチオニン負荷食により高ホモシステイン血症を誘導すると、骨コラーゲンに酵索性架橋の低形成とペントシジンの過形成が誘導され、骨密度の低下を伴うことなく骨強度が低下することを明らかにした。すなわち、一般住民 (general population) でも、血中ホモシステイン高値は、骨コラーゲンの架橋異常を誘導し、骨質を低下させ骨折リスクを高めていると考えられる²⁾。最近、OFELY studyで、尿中ペントシジン高値群では骨折イベント数が多いことが示され、骨質評価の重要性が追試された³⁴⁾。

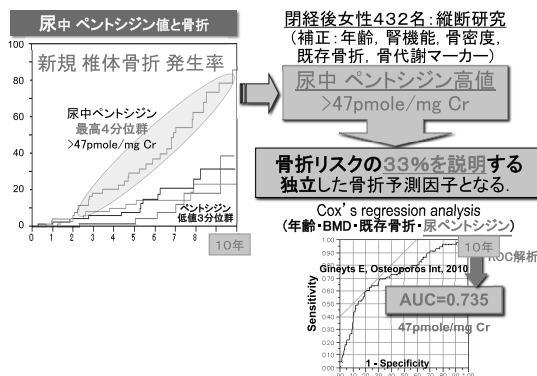


図7 尿中ペントシジン値と骨折リスク
閉経後女性432名を対象にして、新規骨折発生をエンドポイントに前向き研究を行った。その結果、尿中ペントシジンの最高4分位群(クレアチニン補正で、47.5 pM/mg Cr)が、骨密度や年齢、骨代謝マーカー、既存骨折、腎機能(クレアチニンクリアランス)とは独立した骨折危険因子であることを見出した。さらに、骨密度、既存骨折、年齢、尿中ペントシジン濃度で、新規脊椎骨折の93%が説明できること、さらには尿中ペントシジン高値が骨折リスクの33% (AUC=0.735) を説明する骨折予測マーカーになることが明らかとなった¹⁰⁾。

VIII. その他の骨質劣化要因：糖尿病および腎機能低下

2型糖尿病では高い骨密度であっても骨折することがメタ解析から明らかにされ、骨質劣化がその原因と考えられるようになった³⁵⁾。著者らは自然発症糖尿病ラット (WBN/Kobラット) の検討からインスリン作用不全に起因するビタミンB6不足と持続的高血糖が、骨コラーゲン中の酵素依存性架橋の低形成と、AGEs架橋の過形成をもたらし、骨密度の低下を伴わない骨強度低下の原因になることを明らかにした (図5b)¹⁵⁾。こうした骨コラーゲンへのペントシジンの増加と骨強度低下との関連性を示すように、2型糖尿病症例において、血中³⁶⁾ もしくは尿中³⁷⁾ のペントシジン高値が独立した骨折リスクとなることが報告された。また、筆者らは、コラーゲンのAGE化を促進する酸化ストレス・カルボニルストレスが増大する腎機能低下においても骨コラーゲンへのペントシジンの増加することを見出した¹⁶⁾ (図5c)。さらに骨コラーゲンへのAGE化が強い程、骨芽細胞機能が低下することも明らかにした¹⁶⁾。糖尿病や腎機能低下例においても骨質マーカーの臨床応用は期待できる²⁾⁻⁴⁾。

IX. 骨密度と骨質マーカーによる病型分類の試み (図8)

加齢に伴う骨折リスクの増大は、骨密度の低下だけでも説明出来ないし、骨質の低下だけでも説明出来ない。個々の症例ごとに骨密度と骨質の低下の程度はさまざまである。そこで、閉経後女性502名(長野コホート)を対象に、個々の骨脆弱化のタイプを骨密度と骨質で3つに分類し、タイプ別の骨折リスクを評価した (図8)⁹⁾。3つのタイプとは、低骨密度型骨粗鬆症、骨質低下型骨粗鬆症と、その両者を併せ持つ低骨密度+骨質低下型骨粗鬆症の3タイプである。低骨密度型骨粗鬆症は、骨密度が若年平均値 Young adult mean : : YAM値<70%の症例、骨質低下型骨粗鬆症は、血中ホモシステインもしくは尿中ペントシジンが高値の症例である。それぞれの骨折リスクは、低骨密度型骨粗鬆症は、骨密度がYAM値80%以上

の症例と比べて、骨折リスクが3.6倍上昇した。また、骨質劣化型骨粗鬆症では1.5倍に上昇、さらに、低骨密度+骨質低下型骨粗鬆症では、相乗的に高まり7.2倍と著しく骨折リスクが上昇することがわかった。また、各タイプの人数比率を見てみると、骨密度低下型：骨質低下型：混合型＝5：3：2であり、骨質劣化型が決して希では無いことが明らかとなった。

X. 骨密度と骨質マーカーによる治療薬使い分けの可能性

筆者らは最近、骨密度と骨質による病型分類により骨粗鬆症治療薬の使い分けが可能となることを明らかにした³⁸⁾。閉経後骨粗鬆症例251名に、骨吸収抑制剤であるビスフォスフォネートを投与し、その後の新規骨折発生に及ぼす影響因子を解析した。検討したのは、骨密度、骨吸収・骨形成マーカー、既存骨折（prevalence fracture）の有無、年齢、骨質マーカー（血中ホモシステイン、尿中ペントシジン）である。その結果、治療開始時の血中ホモシステイン値、尿中ペントシジン値の高値が独立した新規骨折リスク因子であった。低骨

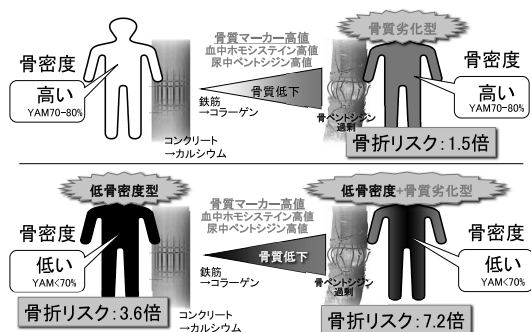


図8 骨密度・骨質マーカー（ホモシステイン・ペントシジン）による病型分類

高ホモシステイン血症が骨へのAGE（ペントシジン）蓄積をもたらすというデータから、骨粗鬆症における骨折リスク増大は3つのパターンに分けることができる。すなわち、骨密度が若年成人平均値（YAM値）の70%以上であっても、ホモシステイン代謝異常が存在すると、それだけで骨折リスクが上昇する「骨質低下型骨粗鬆症」と、ホモシステイン代謝が良くても低骨密度により骨折リスクが高まる（骨密度低下型骨粗鬆症）、さらには骨密度低下とホモシステイン代謝が共に低下している「骨密度低下+骨質劣化型骨粗鬆症」である。骨質低下型の骨折リスクは1.5倍、骨密度低下型は3.6倍、骨密度低下+骨質低下型は7.2倍であった。YAM：骨密度若年平均値（文献9改変）。

密度+骨質劣化型骨粗鬆症例に対しては単に骨密度を高めても新規骨折のリスクが1.6倍高いことを明らかにした（図9）。ビスフォスフォネート剤は骨吸収を抑制し、骨密度を高める薬剤であるが、骨コラーゲンの酵素依存性架橋の形成には及ばさない薬剤である³⁸⁾。また、ビスフォスフォネートにより長期間にわたり過剰な骨代謝抑制がかかると骨コラーゲンの新陳代謝が抑制され、時間依存的に増加するAGEs架橋が増加し、骨にマイクロクラックが生じることから、臨床においては骨吸収および骨形成マーカーにより骨の新陳代謝の程度を経時的にモニタリングすることが重要である。こうした事実は、低骨密度+骨質劣化型骨粗鬆症例では、骨密度を高めることは重要であるが、同時に骨コラーゲンからみた質の改善を行う必要があることを示している⁵⁾。

XI. 椎体高度圧壊の危険因子としての骨質マーカー測定の有用性

最近、筆者らは、骨質マーカーの高値が椎体高度圧潰（椎体高40%以上の圧潰）の独立したリスクファクターになることを長野コホート1、

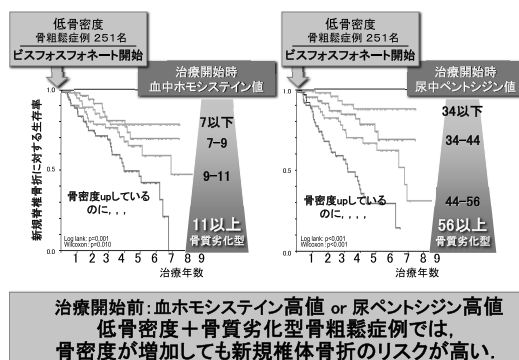


図9 ビスフォスフォネート治療抵抗例としての骨質マーカー事前測定の有用性

閉経後骨粗鬆症（低骨密度）251名にビスフォスフォネートを投与し、その後の新規骨折の発生を縦断的に調査した。その結果、骨代謝マーカーが改善し、骨密度が増加しても、治療開始時の骨質マーカー（血中ホモシステイン、尿中ペントシジン）が高値である症例ほど、骨折防止効果が現れにくいことが明らかとなった³⁸⁾。

475名の調査から見出した³⁹⁾(図10)．当然，低骨密度も独立した高度圧潰のリスクファクターとして抽出されたが，骨質マーカーである尿中ペントシジン高値を伴うと，著しく椎体高度圧潰例の頻度が増加する．すなわち，低骨密度と骨質マーカーである尿中ペントシジン高値を併せ持つ症例では，新規骨折のリスクも高まるが，同時に高度圧潰のリスクも高いことを念頭に置く必要がある．こうした高度圧潰のある症例は，新たな骨折（椎体，大腿骨近位部骨折）を起こす高リスク集団であることから，骨密度と骨質を同時に評価し，適切な治療介入を行う必要があるといえる．

XII. 骨コラーゲンからみた骨質改善効果をもつビタミンおよび薬剤（表）ビタミンB6，ビタミンK2

ビタミンB6は，酵素性架橋の形成にかかわる酵素リジロキシダーゼの必須の補酵素であるのと同時に，抗AGEs作用があるビタミンである．筆者らは，ビタミンB6不足による酵素性架橋の低形成と高血糖や酸化ストレスの増大に伴うAGEs架橋の増加をきたす糖尿病ラット（WBN/Kobラット）に，ビタミンB6としてピリドキサル5リン酸を投与し，骨強度，骨密度，骨質に及ぼす影響を検討した⁴⁰⁾．また，同ラットに骨芽細胞に作用し，骨質改善効果の期待できるビタミン

K2としてメナテトレノンを投与し，同様の検討を行った⁴⁰⁾．その結果，ビタミンB6，ビタミンK2ともに投与2ヵ月では有意な骨コラーゲンの改善や骨強度改善は認めなかったが，4ヵ月投与により酵素性架橋の有意な増加とAGEs架橋の有意な減少により，骨密度増加を伴わなくても骨強度は有意に高まることを見出した．すなわち，ビタミンB6は骨質改善剤として期待がもてる薬剤といえる．また，メナテトレノンは既に日本では骨粗鬆症治療薬として使用が可能であることから骨質劣化型骨粗鬆症に対して有効性が期待出来る．

XIII. 活性型ビタミンD3

活性型ビタミンD3は，腸管からのカルシウムの吸収を促進するといった栄養素としてのビタミンDとしての作用のみならず，骨芽細胞の核内受容体（vitamin D receptor；VDR）に結合して薬理作用を有することが示されている．活性型ビタミンD3は，骨芽細胞の核内受容体に作用してコラーゲンの架橋形成を改善することが示されている．Nagaokaらは，骨芽細胞培養系に活性型ビタミンD3としてアルファカルシドール，あるいはnativeのビタミンDを添加した際のコラーゲン架橋への影響を検討したところ，アルファカルシドールにおいてのみ，リジロキシダーゼ活性を高めて酵素性架橋の形成を促進することが示された⁴¹⁾．また，筆者らは，骨粗鬆症モデルである卵巣摘出ラットに対して，アルファカルシドールを投与したところ，骨コラーゲンの酵素性架橋の増加により骨強度が高まることを見出した⁴²⁾．すなわち，活性型ビタミンD3は骨質改善薬と考えることができる．

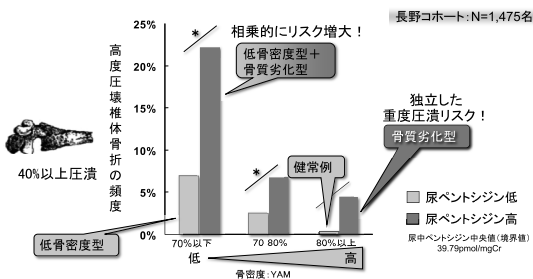


図10 椎体高度圧潰のリスクファクターとしての骨質マーカー高値
 脊椎の椎体重度圧潰は，その後の新規の骨折発生の独立した危険因子であるため，骨粗鬆症「重症型」と捉えることができる．骨密度と骨質はそれぞれが独立した重度椎体圧潰の危険因子であるが，骨密度と骨質が同時に異常がある「低骨密度＋骨質劣化型」では，重度圧潰の危険性は極めて高くなることを長野コホートで明らかにした．例えば，コンクリート（骨密度）も鉄筋（コラーゲン）も劣化した建造物は，倒壊する確率も高いが，一度，倒壊すると一気に潰れてしまうと考えられる³⁹⁾．

表1 骨粗鬆症治療薬：骨密度・骨質への影響

		骨吸収抑制 基質成熟化	抗酸化作用 ホリスチン低下	骨芽細胞 機能改善	骨芽細胞 機能改善	骨芽細胞機能改善 新コラーゲン増 加
骨強度		ビスフォスフォ ネート	SERM	活性型Vit. D3 (7αメチルカルシトール)	Vit. K2 Vit. B6	PTH製剤 テリパラチド
骨密度	石灰化度 骨密度	↑↑	↗	→	→	↑
骨	酵素性架橋 (未熟・成熟型)	→	↑	↑	↑	↑
	AGEs架橋 (ペントシジン)	→~↗	↓	→	↘	↓
	文献	21	14	19,42	40	45

XIV. エストロゲン受容体モジュレーター (estrogen receptor modulator : SERM)

SERMでは骨質劣化をもたらす血中ホモシステイン濃度や酸化ストレスの低下作用がある⁴³⁾⁴⁴⁾。著者らは、高ホモシステイン血症を誘導した卵巣摘出した家兎モデルに対してラロキシフェンを投与し、骨石灰化度、コラーゲン架橋の分析を行い、骨強度改善効果への影響を検討した¹⁴⁾。本家兎モデルは、我々が報告したヒト骨質劣化型骨粗鬆症と同様の架橋異常、すなわち酵素依存性の酵素性架橋の低形成と、AGEs架橋ペントシジンの過形成が誘導され骨密度の低下を伴うことなく骨強度が低下する。同モデルにSERMとしてラロキシフェンを4ヵ月間投与したところ、骨密度と骨代謝マーカーに明らかな変化は認められなかったものの、血中ホモシステイン濃度は約40%減少した。つぎにコラーゲン架橋分析を行ったところ、ラロキシフェン投与により、酵素性架橋の有意な増加と、AGEs架橋の減少(65%減少)が確認された。以上の事実から、ラロキシフェンは骨質マーカーである血中ホモシステインあるいは尿中・血中ペントシジン高値群で、著しい骨密度の低下を伴わない症例に対して良い適応があると考えられる。

XV. テリパラチド(副甲状腺ホルモン)剤

副甲状腺ホルモンは、骨形成、骨吸収ともに促進するカルシウム調節ホルモンである。同ホルモンが持続的、かつ過剰に作用する状態である副甲状腺機能亢進症では、著しい骨リモデリングの亢進(骨吸収>骨形成)が生じ骨粗鬆症をきたす。しかし、連日投与あるいは週1回の間歇投与の場合、骨吸収の上昇を凌駕する骨形成の促進により骨量や骨質の改善により骨折リスク低減する。テリパラチドは、副甲状腺ホルモンの生理活性部位であるN末端から34個のアミノ酸からなる骨形成促進剤である。筆者らは、ヒト骨粗鬆症と類似した骨質異常を呈するサル卵巣摘出骨粗鬆症モデルに対してテリパラチドを18ヵ月間投与し、骨量、骨石灰化度、骨微細構造、骨コラーゲン量、コラーゲン架橋といった骨強度を規定するすべてのパラメーターを解析した⁴⁵⁾。その結果、PTH投

与により、骨密度の増加のみならず、コラーゲン量および酵素依存性架橋の有意な増加と、AGEs架橋ペントシジンの減少が生じていることが明らかとなった。こうした骨コラーゲン架橋の改善は骨強度を高める独立した因子であった。こうした事実から、テリパラチドは、低骨密度+骨質劣化型骨粗鬆症に良い適応があると考えている。とくに、ビスフォスフォネート含めた骨粗鬆症治療薬を1年以上内服しているにもかかわらず新規骨折をおこすような症例では、骨質も同時に劣化している症例も含まれることから、テリパラチドへの変更を考慮すべきである。

XVI. おわりに

慈恵整形発の世界初の概念「骨質劣化型骨粗鬆症」は、Yale大学名誉教授よりnatureの関連雑誌に、「今後の発展に期待をよせる」とのコメントが出された後、国内外から追試を受け、その妥当性が検証された(図11)⁴⁶⁾。その結果、本邦のガイドライン3つ(「骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン2013年度版」「生活習慣病骨折リスクに関する診療ガイド」「骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン」)に盛り込まれた。これら3つの



図11 慈恵整形発の世界初の概念「骨質劣化型骨粗鬆症」同概念は、Yale大学名誉教授よりnatureの関連雑誌に、「今後の発展に期待をよせる」とのコメントが出された後、国内外から追試を受け、その妥当性が検証された。その結果、本邦のガイドライン3つ(「骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン2013年度版」「生活習慣病骨折リスクに関する診療ガイド」「骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン」)に盛り込まれた。これら3つのガイドラインの章立て責任を担当した。

ガイドラインの章立て責任を当講座が担当した。

まとめると、骨コラーゲンの分子間に生理的な酵素依存性架橋が減少し、同時に老化架橋である AGEs が増加することにより骨強度は低下し骨折リスクが高まる。ペントシジン測定は、総 AGEs 量を反映するサロゲートマーカーである。骨コラーゲンへのペントシジンの増加は、骨吸収の亢進とは独立した機序、すなわち、1) 高ホモシステイン血症、2) 酸化ストレスの亢進、3) カルボニルストレスの増大、4) 糖化の亢進によってもたらされることから、既存の骨吸収マーカーの測定ではコラーゲンの過剰老化状態を評価することはできない。血中ホモシステイン測定や尿中および血中ペントシジン測定は、骨密度のみでは評価しきれない骨質の低下に起因する骨折リスクを予測できる骨質（マトリックス）マーカーになる可能性がある。現時点では骨粗鬆症の病名で保険適応がないが、骨折リスクを評価する骨マトリックスマーカーとして、さらにエビデンスが集積されれば臨床応用に期待がもてるとして、「骨代謝マーカー適正使用ガイドライン2012年度版」にペントシジンとホモシステイン測定が収載された。しかし、幾つかの問題点も有している。すなわち、現行依託分析の可能な血中ペントシジン測定に用いられている ELISA 法は、前処理に熱処理を加えることで AGEs アーチファクトが形成されるため低濃度領域の正確性に少なからず問題点が指摘されているため、改良 ELISA 法の確立と高速液体クロマトグラフィー法との相関性の確認が必要である。また、血液や尿中のペントシジン濃度は、腎機能の影響を受けることや、ペントシジンは骨のみならず血管や軟骨や皮膚でも加齢と共に増加することなどである。しかし、筆者らの長野コホート検討では、尿中ペントシジン高値による骨折リスクの上昇は、腎機能（クレアチニンクリアランス）で補正してもなお独立した骨折リスクであったことから、単なる腎機能低下による骨質低下を反映するマーカーではない。さらに全身性に酸化ストレスが高まっているような「過老化集団」では全身のコラーゲンの AGE 化が進行し、血管では動脈硬化を、骨では骨質劣化による骨折を同時に起こしてくる可能性は十分考えられる。すなわち血中や尿中のペントシジン測定は、心血管イベ

ントや骨質劣化による骨折を予測する「過老化マーカー」と捉えることもできる。また、骨粗鬆症は骨密度と骨質の低下の組み合わせで多様な患者像を呈することから、骨密度と骨質を同時に評価し、より効果的な治療薬の選択および併用を行う必要があると考えている。

著者の利益相反 (conflict of interest:COI) 開示:

本論文の研究内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) NIH consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy Osteoporosis prevention, diagnosis and therapy. JAMA. 2001; 285: 785-95.
- 2) Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. Osteoporos Int. 2010; 21: 195-214.
- 3) Saito M, Marumo K. Bone quality and diabetes. Front Endocrinol (Lausanne). 2013 Jun 14; 4: 72.
- 4) Saito M, Kida Y, Kato S, Marumo K. Diabetes, Collagen, and Bone Quality. Curr Osteoporos Rep. 2014 Mar 13. Epub ahead of print.
- 5) 齋藤充, 丸毛啓史. 骨粗鬆症治療のテーラーメイド化と薬剤選択—骨強度の規定因子の多様性における骨密度と骨質の関与—. THE BONE. 2011; 25: 25-32.
- 6) Saito M, Soshi S, Fujii K. Effect of hyper- and microgravity on collagen post-translational controls of MC3T3-E1 osteoblasts. J Bone Miner Res. 2003; 18: 1695-705.
- 7) Maruhashi T, Kii I, Saito M, Kudo A. Interaction between periostin and BMP-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. J Biol Chem. 2010; 85: 13294-303.
- 8) Saito M, Soshi S, Tanaka T, Fujii K. Intensity-related differences in collagen post-translational modification in MC3T3-E1 osteoblasts after exposure to low and high intensity pulsed ultrasound. Bone. 2003; 35: 644-55.
- 9) Shiraki M, Urano T, Kuroda T, Saito M, Tanaka S, Miyao-Koshizuka M, et al. The synergistic effect of bone mineral density and Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism (C677T) on fractures. J Bone Miner Metab. 2008; 26: 595-602.
- 10) Shiraki M, Kuroda T, Tanaka S, Saito M, Fukunaga M, Nakamura T. Non-enzymatic collagen cross-links induced by glycoxidation (pentosidine) predicts vertebral fractures. J Bone Miner Metab. 2008; 26: 93-100.

- 11) Tanaka S, Kuroda T, Saito M, Shiraki M. Urinary pentosidine improves risk classification using fracture risk assessment tools for postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2011; 26: 2778-84.
- 12) Saito M, Fujii K, Soshi S, Tanaka T. Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation induced pentosidine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporos Int.* 2006; 17: 986-95.
- 13) Saito M, Fujii K, Marumo K. Degree of mineralization-related collagen crosslinking in the femoral neck cancellous bone in cases of hip fracture and controls. *Calcif Tissue Int.* 2006; 79: 160-8.
- 14) Saito M, Marumo K, Soshi S, Kida Y, Ushiku C, Shinohara A. Raloxifene ameliorates detrimental enzymatic and nonenzymatic collagen cross-links and bone strength in rabbits with hyperhomocysteinemia. *Osteoporos Int.* 2010; 21: 655-66.
- 15) Saito M, Fujii K, Mori Y, Marumo K. Role of collagen enzymatic and glycation induced cross-links as a determinant of bone quality in the spontaneously diabetic WBN/Kob rats. *Osteoporos Int.* 2006; 17: 1514-23.
- 16) Mitome J, Yamamoto H, Saito M, Yokoyama K, Marumo K, Hosoya T. Nonenzymatic cross-linking pentosidine increase in bone collagen and are associated with disorders of bone mineralization in dialysis patients. *Calcif Tissue Int.* 2011; 88: 521-9.
- 17) 齋藤充. ヒトの荷重・非荷重骨におけるコラーゲンの生化学的特性とその加齢変化. *慈恵医大誌.* 1999; 114: 327-37.
- 18) Fujii K, Kajiwara T, Kurosu H. Effect of vitamin B6 deficiency on the crosslink formation of collagen. *FEBS Lett.* 1979; 97: 193-5.
- 19) Saito M, Marumo K, Ushiku C, Kato S, Hayakawa M, Shiraishi A. Effects of alfacalcidol on mechanical properties and collagen cross-links of the femoral diaphysis in glucocorticoid-treated rats. *Calcif Tissue Int.* 2011; 88: 314-24.
- 20) Saito M, Marumo K, Fujii K, Ishioka N. Single column high - performance liquid chromatographic - fluorescence detection of immature, mature and senescent cross-links of collagen. *Anal Biochem.* 1997; 253: 26-32.
- 21) Saito M, Mori S, Mashiba T, Komatsubara S, Marumo K. Collagen maturity, glycation induced-pentosidine, and mineralization are increased following 3-year treatment with incadronate in dogs. *Osteoporos Int.* 2008; 19: 1343-54.
- 22) Sanguineti R, Storace D, Monacelli F, Federici A, Odetti P. Pentosidine effects on human osteoblasts in vitro. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1126: 166-72.
- 23) Ogawa N, Yamaguchi T, Yano S, Yamauchi M, Yamamoto M, Sugimoto T. The combination of high glucose and advanced glycation end-products (AGEs) inhibits the mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells through glucose-induced increase in the receptor for AGEs. *Horm Metab Res.* 2007; 39: 871-5.
- 24) Garnero P, Borel O, Gineyts E, Duboeuf F, Solberg H, Bouxsein ML, et al. Extracellular post-translational modifications of collagen are major determinants of biomechanical properties of fetal bovine cortical bone. *Bone.* 2006; 38: 300-9.
- 25) Takahashi M, Oikawa M, Nagano A. Effect of age and menopause on serum concentrations of pentosidine, an advanced glycation end product. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2000; 55: M137-40.
- 26) Odetti P, Rossi S, Monacelli F, Poggi A, Cirmigliaro M, Federici M, et al. Advanced glycation end products and bone loss during aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1043: 710-7.
- 27) 木田吉城, 齋藤充, 曾雌茂, 丸毛啓史. 非侵襲的骨質(材質)評価法の確立 皮膚AGEsリーダー・血/尿中ペントシジンおよび腎機能を指標として. *Osteoporos Jpn.* 2010; 18: 639-42.
- 28) Nakano M, Kubota M, Owada S, Nagai R. The pentosidine concentration in human blood specimens is affected by heating. *Amino Acids.* 2013; 44: 1451-6.
- 29) McLean RR, Jacques PF, Selhub J, Tucker KL, Samelson EJ, Broe KE, et al. Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons. *N Engl J Med.* 2004; 350: 2042-9.
- 30) van Meurs JB, Dhonukshe-Rutten RA, Pluijm SM, Pluijm SM, van der Klift M, de Jonge R, et al. Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med.* 2004; 350: 2033-41.
- 31) Leboff MS, Narweker R, LaCroix A, Wu L, Jackson R, Lee J, et al. Homocysteine levels and risk of hip fracture in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 1207-13.
- 32) McLean RR, Hannan MT. B vitamins, homocysteine, and bone disease: epidemiology and pathophysiology. *Curr Osteoporos Rep.* 2007; 5: 112-9.
- 33) Yang J, Hu X, Zhang Q, Cao H, Wang J, Liu B.. Homocysteine level and risk of fracture: A meta-analysis and systematic review. *Bone.* 2012; 51: 376-82.
- 34) Gineyts E, Munoz F, Bertholon C, Sornay-Rendu E, Chapurlat R. Urinary levels of pentosidine and risk of fracture in post menopausal women: the OFELY study. *Osteoporosis Int.* 2010; 21: 243-50.
- 35) Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a

- meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2007; 18: 427-44.
- 36) Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Serum pentosidine levels are positively associated with the presence of vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 93: 1013-9.
- 37) Schwartz AV, Garnero P, Hillier TA, Sellmeyer DE, Strotmeyer ES, Feingold KR, et al. Pentosidine and increased fracture risk in older adults with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 2380-6.
- 38) Shiraki M, Kuroda T, Shiraki Y, Tanaka S, Higuchi T, Saito M. Urinary pentosidine and plasma homocysteine levels at baseline predict future fractures in osteoporosis patients under bisphosphonate treatment. *J Bone Miner Metab.* 2011; 29: 62-70.
- 39) Kuroda T, Tanaka S, Saito M, Shiraki Y, Shiraki M. Plasma level of homocysteine associated with severity of vertebral fracture in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int.* 2013; 93: 269-75.
- 40) Saito M, Fujii K, Soshi S, Marumo K. Effects of vitamin B6 and Vitamin K2 on bone mechanical properties and collagen cross-links in spontaneously diabetic WBN/Kob rats. *J Bone Miner Res.* 2005; 20 Suppl.1: S286.
- 41) Nagaoka H, Mochida Y, Atsawasuwan P, Kaku M, Kondoh T, Yamauchi M. 1, 25(OH)2D3 regulates collagen quality in an osteoblastic cell culture system. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 377: 674-8.
- 42) Saito M, Shiraishi A, Ito M, Sakai S, Hayakawa N, Mihara M, et al. Comparison of effects of alfacalcidol and alendronate on mechanical properties and bone collagen cross-links of callus in the fracture repair rat model. *Bone.* 2010; 46: 1170-9.
- 43) Walsh BW, Paul S, Wild RA, Dean RA, Tracy RP, Cox DA, et al. The effects of hormone replacement therapy and raloxifene on C-reactive protein and homocysteine in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 214-8.
- 44) Mann V, Huber C, Kogianni G, Collins F, Nobble B. The antioxidant effect of estrogen and Selective Estrogen Receptor Modulators in the inhibition of osteocyte apoptosis in vitro. *Bone.* 2007; 40: 674-84.
- 45) Saito M, Marumo K, Kida Y, Ushiku C, Kato S, Takao-Kawabata R, et al. Changes in the contents of enzymatic immature, mature, and non-enzymatic senescent cross-links of collagen after once-weekly treatment with human parathyroid hormone (1-34) for 18 months contribute to improvement of bone strength in ovariectomized monkeys. *Osteoporos Int.* 2011; 22: 2373-83.
- 46) Insogna K. Can serum pentosidine levels predict risk of vertebral fracture in patients with type 2 diabetes mellitus? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008; 4: 366-7.