

原 著

高感度 Chemiluminescence-ELISA 法を用いた骨粗鬆症における
血中 Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor- α の検討¹⁾東京女子医科大学 医学部 衛生学公衆衛生学 (主任: 香川 順教授)²⁾東京女子医科大学 附属第二病院 整形外科カネ コ ショウイチ サ トウ トシヒコ チ バ ジュン ジ ノ ハラ ミチ コ イノウエ カズヒコ カガワ ジュン
金子 勝一¹⁾²⁾・佐藤 敏彦¹⁾・千葉 純司²⁾・野原 理子¹⁾・井上 和彦²⁾・香川 順¹⁾

(受付 平成12年12月16日)

**Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- α Levels in Serum of Patients with Osteoporosis
Determined by the High Sensitive Chemiluminescence-ELISA****Shohichi KANEKO¹⁾²⁾, Toshihiko SATOH¹⁾, Junji CHIBA²⁾, Michiko NOHARA¹⁾
Kazuhiko INOUE²⁾ and Jun KAGAWA¹⁾**¹⁾Department of Hygiene and Public Health (Director: Prof. Jun KAGAWA),
Tokyo Women's Medical University, School of Medicine²⁾Department of Orthopedics, Tokyo Women's Medical University Daini Hospital

We measured the serum cytokine levels and bone ultrasound values of 397 females and 71 males aged from 29 to 64 years old and who were divided into osteoporosis and healthy groups based on the X-ray findings of their vertebral body. And we measured the serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) using the chemiluminescence-ELISA (CL-ELISA) method, which has a 100~1,000 times higher sensitivity than the conventional ELISA method. A correlation between aging and serum IL-6 and TNF- α levels wasn't observed in both male and female healthy subjects. Pacifici et al reported overproduction of bone resorbing cytokines, such as IL-1 by peripheral blood monocytes of post-menopausal osteoporosis patients, but in the present study, we did not observe an elevation of serum IL-6 and TNF- α levels in osteoporosis patients in comparison to healthy subjects. Since wide variation exists in the serum cytokine values among individuals because of the effects of factors, such as smoking, allergies, other diseases and aging on cytokines throughout the body, and the overproduction of bone-resorbing cytokines from peripheral monocytes is not reflected in the serum cytokine levels. In addition, a trend for a decrease in the ultrasound values with aging was observed from the results of ultrasound measurement. Furthermore, a correlation between velocity of sound (VOS) and broadband ultrasound attenuation (BUA) was observed in both male and female healthy subjects and a significant difference in the VOS and BUA values was found between the osteoporosis and healthy subjects. These findings point to the usefulness of ultrasound measurement for osteoporosis.

緒 言

骨粗鬆症は骨梁構造の変化も伴う骨の絶対量が減少した状態で、わずかな外力でも容易に骨折を引き起こす疾患である。骨組織では骨芽細胞、破骨細胞の近隣に血液、免疫系細胞が存在し、サイトカインは autocrine, paracrine, 細胞接着を介した作用で、骨細胞の活性の調節、骨の吸収、形成の調節に重要な役割を果たしている¹⁾。閉経後骨粗鬆症の患者では、エストロゲン欠落による末梢血単球からの interleukin 1 (IL-1) などの骨吸収性サイトカインの産生過剰が示唆された²⁾。現在、閉経後骨粗鬆症の一成因として、IL-1 や IL-6 の産生亢進説が提唱されている²⁾³⁾。

今回我々は、骨粗鬆症患者の血中サイトカイン濃度を従来の ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法と比べ感度の高い chemiluminescence-ELISA (CL-ELISA) 法⁴⁾⁵⁾を用いて測定した。この Tollerud ら⁵⁾が開発した新しいサイトカイン測定法は、化学発光 (CL) を ELISA 法に取り入れたもので、従来の ELISA 法と比較して感度を 100~1000 倍高めている。この新しい測定法を用いて、骨粗鬆症患者の血清中の IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) 濃度を比較検討した。さらに、骨粗鬆症患者の血中サイトカイン濃度 (IL-6, TNF- α) を、臨床所見 (年齢, 喫煙, 閉経, 腰痛の有無, X 線評価, 骨超音波伝播速度, 骨超音波減衰係数), サイトカイン以外の生化学的パラメーター (WBC, CRP, ALP) との比較検討を行い、生体中のサイトカインレベルと疾病との関係を考察した。

対象および方法

1. 対象

1997 年 3 月から 1999 年 3 月の間の東京女子医科大学関連病院の人間ドッグを受診しインフォームドコンセントの得られた 29~64 歳までの女性 397 例 (最小値~最大値, mean \pm SD; 29~64, 47.8 \pm 6.89 歳) と男性 71 例 (33~64, 50.5 \pm 7.52 歳) を対象として、椎体 X 線所見 (慈大式分類), 骨超音波値, 臨床所見, 血液検査の他, 血清中のサイトカインの測定を行った。対象者のうち腰椎 X 線判定法の慈大式骨萎縮度分類⁶⁾ (表) を用いて分類

表 慈大式骨萎縮度分類⁶⁾

初期	全体の骨陰影濃度の低下と骨梁の最小化をみるもの
I 度	横の骨梁が減少し, 縦の骨梁が目立つもの
II 度	横の骨梁はさらに減少し, 縦の骨梁は粗になっているもの
III 度	横の骨梁はほとんど消失し, 縦の骨梁も不鮮明となり, 全体にぼやけた感じを示すもの

し、骨粗鬆症 (初期から III 度) と判定された者は女性 68 例 (31~64, 50.7 \pm 7.57 歳, 閉経前 30 例, 閉経後 38 例), 男性 10 例 (47~64, 54.6 \pm 5.74 歳) であった。本研究の解析にはこの 78 例と、年齢をマッチさせた女性 230 例 (44~61, 50.6 \pm 4.39 歳), 男性 39 例 (48~63, 54.5 \pm 4.51 歳) の健常対照者群を用いた。採取した血液は 30 分以内に 3,000 回転, 10 分間で遠心後, 血清 2ml を -70°C で凍結保存した。

2. 方法

1) 測定項目

我々のこれまでの検討により測定の信頼性が確立されているサイトカインのうち、炎症性のサイトカインである IL-6, TNF- α につき、骨粗鬆症患者, 対照群の血清中のそれぞれのレベルを測定した。

2) CL-ELISA 法

血清中の各サイトカインは化学発光 ELISA 法を用いて測定した。この測定法は感度を上げるために化学発光をサンドイッチ ELISA 法に取り入れたものである。以下に簡単にその測定法を記載する。

96 穴透明マイクロプレート (Microlite 1, Dynatech, Chantilly, VA, USA) に Tris 緩衝液で希釈した抗ヒトサイトカインモノクローナル抗体 100 μ l/well (希釈濃度 1~4 μ g/well) を分注し、緩やかな振盪を加えた上, 4°C で一晩放置し、それぞれの抗ヒトサイトカインモノクローナル抗体 (Capture mAb) を固相化させた。次にプレートをプレート洗浄液 (0.1% PBS-Tween 20) 300 μ l/well で数回洗浄した後, 2.5% (w/v) BSA/0.1% PBS-Tween 20 を 200 μ l/well 分注し、室温で 2 時間放置し、ブロッキングを行った。その後、再びプレート洗浄し、標準サンプル用の 1% BSA/0.1% PBS-

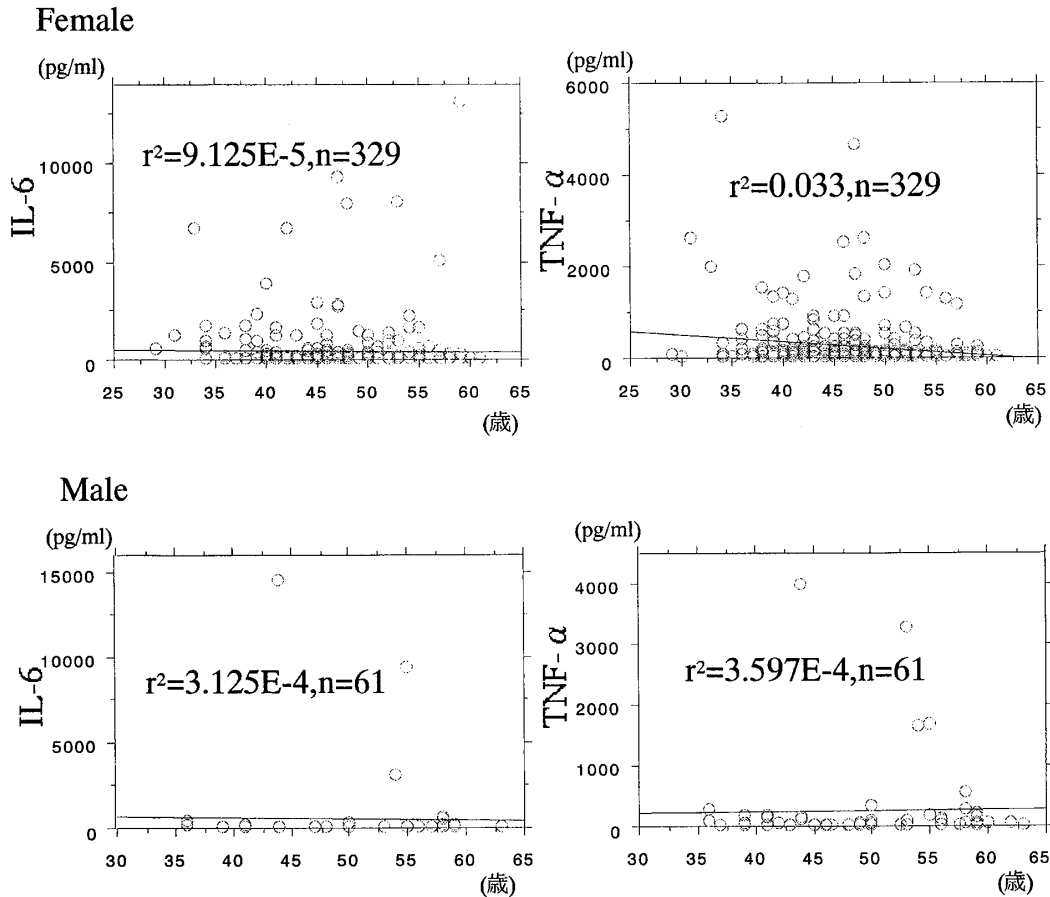


図1 健康者女性および男性における年齢とIL-6およびTNF- α の関係

Tween 20 で希釈した各リコンビナントサイトカインおよび、被験者血清サンプル(BSA/0.1%PBS-Tween 20 で4倍希釈)100 μ l/wellを、トリPLICATEで分注し、緩やかな振盪を加えた上、再び4 $^{\circ}$ Cで一晩放置した。翌日、プレート洗浄後、0.5%BSA/0.1%PBS-Tween 20 希釈のビオチン標識されたそれぞれの抗ヒトサイトカインモノクローナル抗体 (Detecting mAb) (希釈濃度 25~500ng/ml) を100 μ l/well 加えた。室温で1時間反応後、プレート洗浄し、アルカリフォスファターゼ (Extra Avidinm, Sigma, St. Louis) を加え、再び室温で1時間反応させた。プレート洗浄後、蛍光剤 (Lumiphos 530, Lumigen, Michigan) を加えた。室温で30分反応後、発光強度をマイクロルミノメーター (ML1000, Dynatech Labs.) で測定した。

得られた化学発光強度は各サンプルにつき平均値をとり、各プレート毎に作成された標準曲線より、各サンプルの濃度を算定した。

3) 腰椎 X 線判定法

臨床的な萎縮度の評価分類のために、椎体骨梁の吸収の程度を読影し、慈大式骨萎縮度分類⁶⁾ (表) を用いて分類した。この分類による初期からⅢ度までを骨粗鬆症群として比較検討した。

4) 踵骨超音波測定法

超音波測定法は、骨量のみでなく骨構造にかかわる情報も提供している可能性が高く、骨折のリスク評価に応用可能とされている⁷⁾。CUBA Clinical (McCue 社, Winchester Hampshire) の踵骨超音波測定装置を用いて、超音波伝播速度 VOS (velocity of sound), 超音波減衰係数 BUA (broadband ultrasound attenuation) を計測した。超音波伝播速度⁸⁾は、 $VOS = \text{骨幅} / \text{超音波骨透過時間}$ で算出した。超音波減衰係数 BUA⁹⁾は、0.1~2MHz 程度の広帯域の周波数成分を骨に透過させると各周波数ごとに異なった減衰率を示し、それぞれの周波数における透過後の振幅をフーリエ変換し広

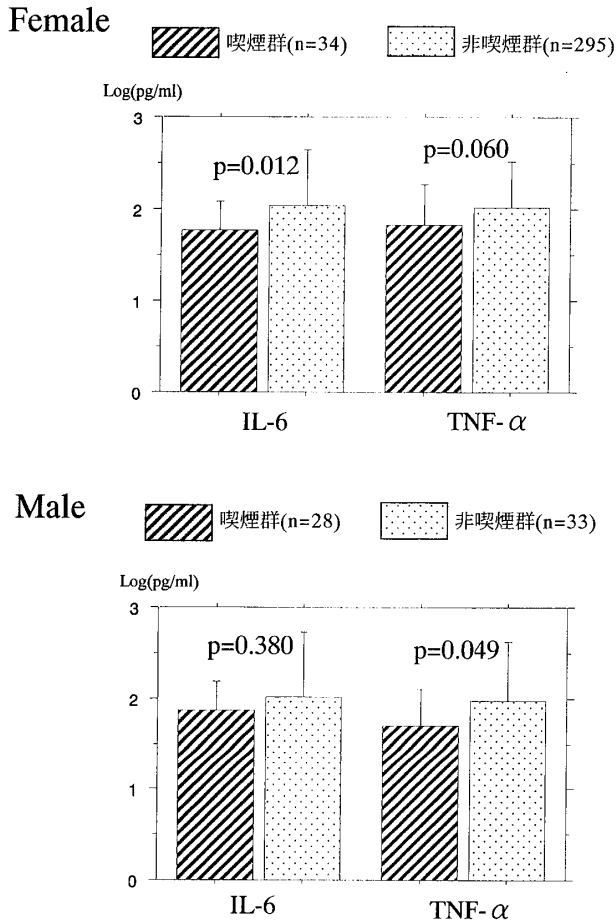


図2 喫煙群と非喫煙群におけるIL-6およびTNF- α の関係

帯域の透過スペクトラムを得る。さらに水同等物質を透過させた際の透過スペクトラムも求め、骨の透過スペクトラムを引き算する。これによって水同等物質に対する骨の透過スペクトラムが求められ、そのスロープの傾き (bB/MHz) は、透過した踵骨の骨硬度を反映し、より骨密度の高い骨では傾き、すなわちBUAが大きい値を示す。

3. データ解析

データ解析には、マッキントッシュ用統計ソフトウェア StatView ver. 4.0 を使用した。群間の比較検定では各サイトカイン濃度を正規分布に近似させるため、対数変換した上で行った。統計学的処理は、対応のない2群間の比較にはt検定を、対応のある2群間の比較にはpaired-t検定を、3群間の比較にはANOVA: analysis of variance followed by post-hoc test (Games-Howell test) を用いた。相関関係には必要により値を対数変換した

上でピアソンの相関係数を用いて示した。また各サイトカイン間の相関には単純直線回帰を用いた。

結果

1. 健常者と骨粗鬆症患者—分別基準とその結果—

慈大式骨萎縮度分類⁶⁾ (表) の結果は、健常者388例 (29~63歳, 女性327例, 男性61例), 初期40例 (31~64歳, 女性36例, 男性4例), I度35例 (32~64歳, 女性29例, 男性6例), II度3例 (36~55歳, 女性3例), III度0例であった。この分類による健常者を健常群とし、初期からIII度までを骨粗鬆症群として比較検討した。

踵骨超音波測定法の結果は、VOSでは健常群の女性230例 1548 ± 40 , 1475~1695m/sec, 男性39例 1539 ± 39 , 1469~1618m/sec, 骨粗鬆症群の女性68例 1529 ± 37 , 1457~1603m/sec, 男性10例 1521 ± 43 , 1454~1587m/secであった。BUAは、健常群の女性230例 88.0 ± 13.8 , 62~129dB/MHz, 男性39例 91.1 ± 13.7 , 71~131dB/MHz, 骨粗鬆症群の女性68例 66.8 ± 9.88 , 40~96dB/MHz, 男性10例 72.9 ± 8.28 , 59~86dB/MHzであった。

2. CL-ELISA法によるIL-6, TNFの結果

1) IL-6, TNF- α と年齢, 喫煙, 閉経, 腰痛の有無

健常者における年齢とIL-6, TNF- α の関連では、女性男性ともに明らかな相関関係が認められなかった (図1)。また閉経および腰痛の有無により2群に分けた場合、2群のIL-6 (閉経の有無: $p=0.57$, $n=329$, 腰痛の有無, 女性: $p=0.23$, $n=329$, 男性: $p=0.53$, $n=61$), TNF- α (閉経の有無: $p=0.11$, $n=329$, 腰痛の有無, 女性: $p=0.31$, $n=329$, 男性: $p=0.43$, $n=61$) の間に有意差は得られなかった。

喫煙に関しては内訳が、健常者女性の喫煙群34例 (47.0 ± 6.64 , 29~61歳), 非喫煙群295例 (48.7 ± 6.09 , 36~60歳), 健常者男性の喫煙群28例 (48.7 ± 7.49 , 36~62歳), 非喫煙群33例 (51.2 ± 7.65 , 33~63歳)であり、女性のIL-6 ($p=0.012$) およびTNF- α ($p=0.060$) と男性のTNF- α ($p=0.049$) において、喫煙群では非喫煙群に比べて有

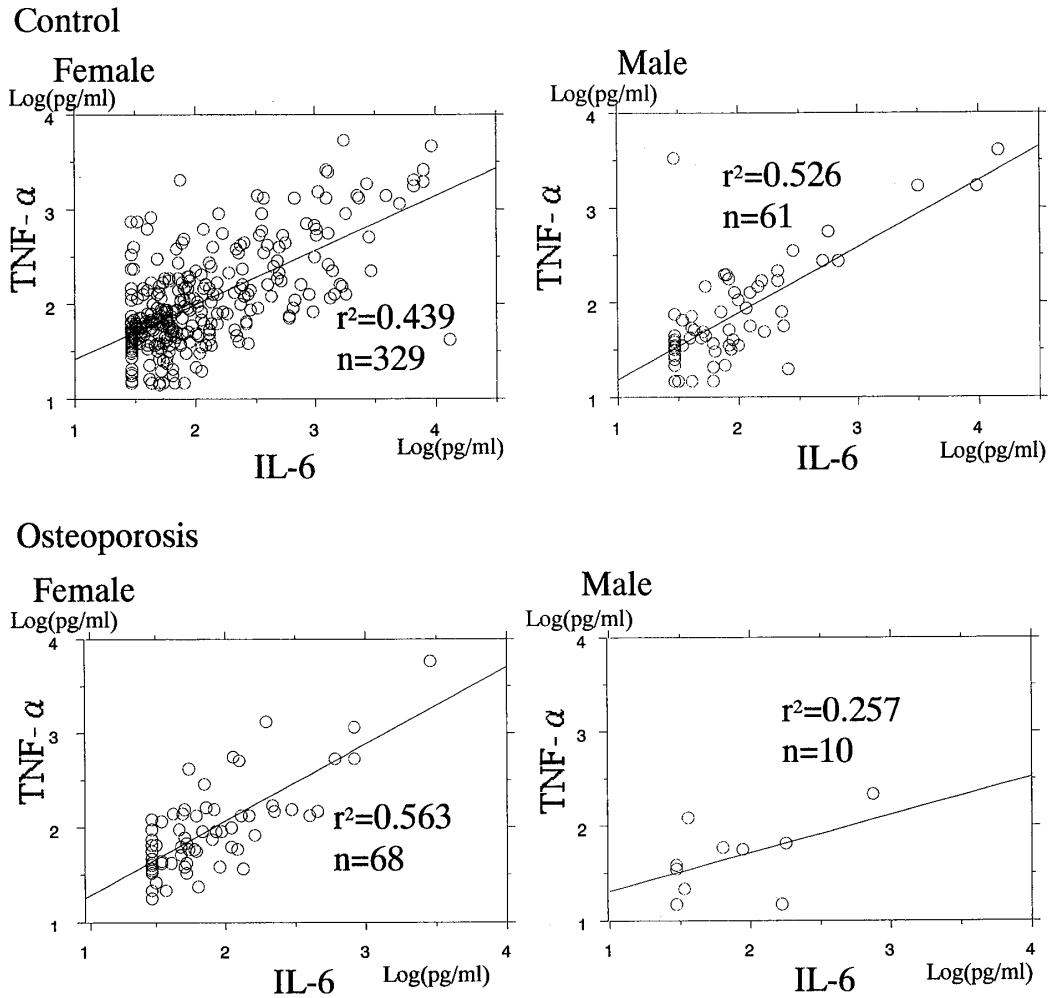


図3 健常者および骨粗鬆症におけるIL-6とTNF- α の関係

意な低値が認められた(図2)。また、骨粗鬆症患者における喫煙群と非喫煙群には明らかな有意差は得られなかった(IL-6:女性 $p=0.81$, $n=68$, 男性 $p=0.36$, $n=61$, TNF- α :女性 $p=0.56$, $n=68$, 男性 $p=0.53$, $n=61$)。

2) IL-6とTNF- α (図3)

健常者におけるIL-6とTNF- α には、女性 ($r^2=0.439$, $n=329$)、男性 ($r^2=0.526$, $n=61$)ともに正の相関関係が認められた。骨粗鬆症患者におけるIL-6とTNF- α にも、女性 ($r^2=0.563$, $n=68$)、男性 ($r^2=0.257$, $n=10$)ともに正の相関関係が認められた。

3) 健常群と骨粗鬆症群におけるIL-6, TNF- α (図4)

健常群と骨粗鬆症群には、女性男性ともにIL-6, TNF- α において有意差が得られなかった。

4) 非喫煙者におけるIL-6およびTNF- α

非喫煙者における骨粗鬆症群と健常群のIL-6(女性: $p=0.10$, $n=295$, 男性: $p=0.53$, $n=33$)およびTNF- α (女性: $p=0.88$, $n=295$, 男性: $p=0.37$, $n=33$)には有意差は得られなかった。

3. 一般血液検査結果

WBC, CRP, ALPとIL-6, TNF- α , VOS, BUAの間には明らかな相関関係は得られなかった($n=468$, WBC vs IL-6: $r^2=0.439$, WBC vs TNF- α : $r^2=1.16E-4$, WBC vs VOS: $r^2=4.13E-4$, WBC vs BUA: $r^2=0.003$, CRP vs IL-6: $r^2=9.94E-6$, CRP vs TNF- α : $r^2=0.001$, CRP vs VOS: $r^2=0.009$, CRP vs BUA: $r^2=0.001$, ALP vs IL-6: $r^2=0.007$, ALP vs TNF- α : $r^2=0.006$, ALP vs VOS: $r^2=0.023$, ALP vs BUA: $r^2=0.065$)。

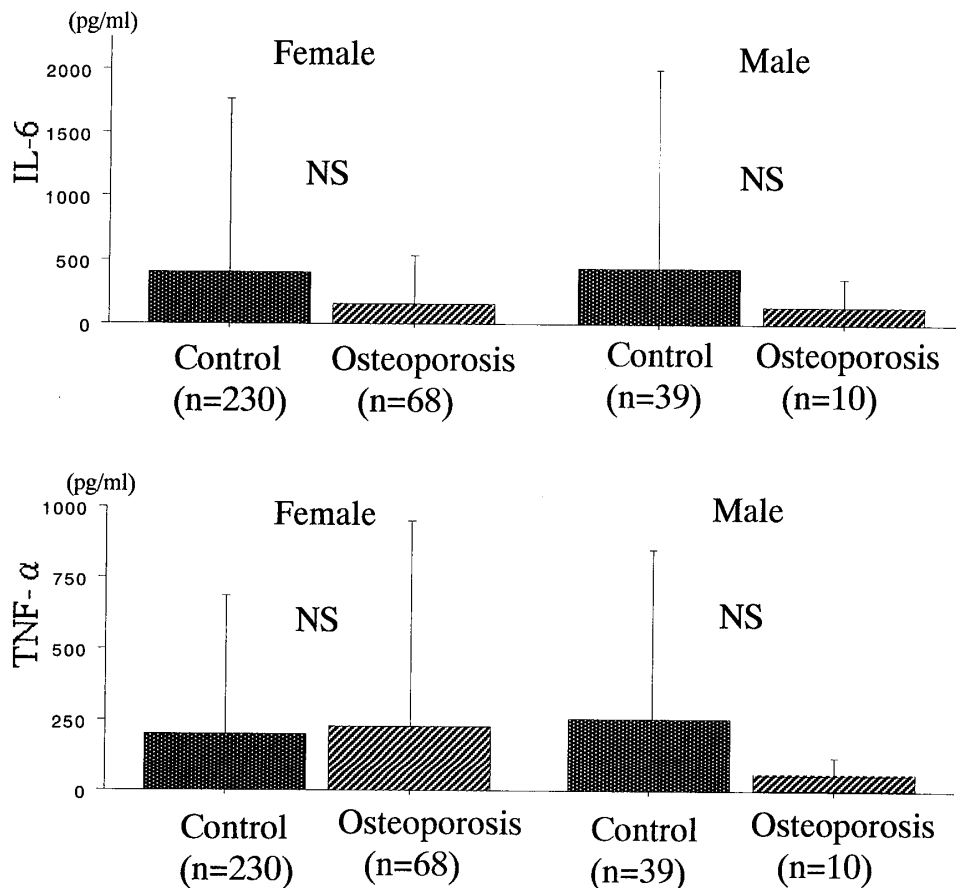


図4 健常群と骨粗鬆症群におけるIL-6およびTNF- α の関係

4. 超音波の結果

1) 年齢とVOS, BUA

健常者における年齢とVOS, BUAの関係では、女性では年齢とBUAには負の相関 ($r^2=0.122$, $n=329$) が得られたが、年齢とVOS ($r^2=0.014$, $n=329$) には相関関係が認められなかった。男性では、年齢とVOS ($r^2=0.245$, $n=61$)、年齢とBUA ($r^2=0.15$, $n=61$) とともに負の相関関係が得られた(図5)。骨粗鬆症患者における年齢とVOS (女性： $r^2=0.056$, $n=68$ 。男性： $r^2=0.02$, $n=10$)、BUA (女性： $r^2=5.23E-8$, $n=68$ 。男性： $r^2=0.007$, $n=10$) には相関関係は得られなかった。

2) VOSとBUA (図6)

健常者におけるVOSとBUAに正の相関関係が女性 ($r^2=0.163$, $n=329$)、男性 ($r^2=0.228$, $n=61$) とともに認められた。骨粗鬆症患者におけるVOSとBUAには、男性には負の相関関係 ($r^2=0.11$, $n=10$) が認められたが、女性 ($r^2=0.032$, $n=68$) に

は相関関係が認められなかった。

3) 健常群と骨粗鬆症群におけるVOS, BUA (図7)

VOSは健常群と骨粗鬆症群に、女性では有意差 ($p=0.0006$, $n=298$) が得られ、男性では得られなかった。BUAは健常群と骨粗鬆症群に、女性 ($p<0.0001$, $n=298$) 男性 ($p=0.0002$, $n=49$) とともに有意差が得られた。

考 察

骨組織においてサイトカインは、骨細胞の活性の調節、骨の吸収、形成の調節に重要な役割を果たしている¹⁾。

本研究では、骨粗鬆症患者、健常者の血清サイトカイン濃度 (IL-6, TNF- α) を高感度CL-ELISA法を用いて測定し比較検討した。さらに、骨粗鬆症患者の血中サイトカイン濃度を、臨床所見、生化学的パラメーターとの比較検討を行い、生体中のサイトカインレベルと疾病との関係を考察し

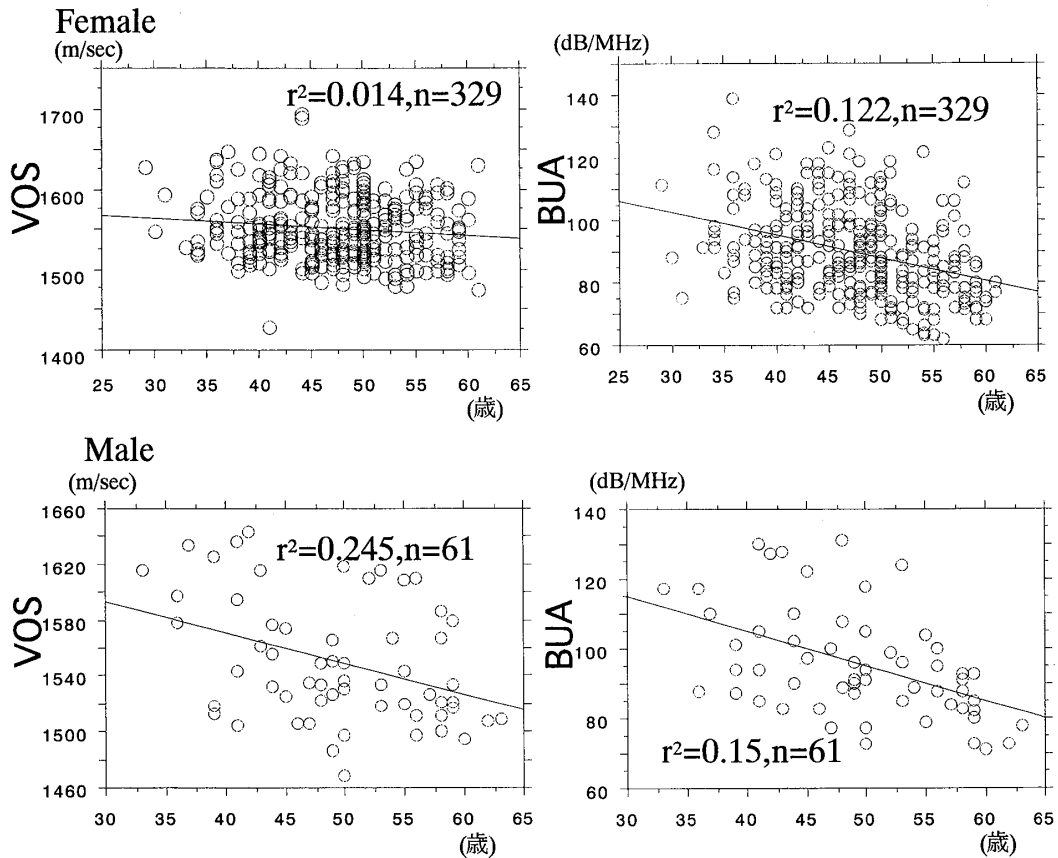


図5 健康者女性および男性における年齢と超音波伝播速度 (VOS), 超音波減衰係数 (BUA) との関係

た。

Pacifici ら²⁾は、閉経後骨粗鬆症の患者では、エストロゲン欠落による末梢血単球からの IL-1 などの骨吸収サイトカインの産生過剰が示唆されたと述べている。また Girasole ら¹⁰⁾は、骨の局所におけるエストロゲンが IL-6 産生抑制により骨吸収を負に調節しており、エストロゲンの欠乏は IL-6 の産生亢進と骨吸収亢進を促すことを報告している。さらに TNF- α は単球より分泌され、IL-1, IL-6 と相乗的に作用し破骨前駆細胞から破骨細胞の分化を促進することにより破骨細胞を誘導し、骨吸収を促進する¹¹⁾。

上記のような報告をもとに、本研究では血清中の IL-6, TNF- α レベルの上昇が高感度測定法を用いることによって検知できるのではないかと考えて行ったが、十分な測定感度は得られたものの、結果は Pacifici らの結果を追試確認することはできなかった。これは全身中のサイトカインは、喫

煙、アレルギー、他疾患、閉経、加齢などの影響^{5)12)~15)}を受けるため個人の血清サイトカイン値はばらつきが大きく、末梢血単球からの骨吸収サイトカインの産生過剰はあるが血清には反映しなかったためと考えられる。しかも Pacifici らは閉経後のデータであり、今回の骨粗鬆症群に 30 歳代の若年者がいることより内分泌性、遺伝性も含まれている可能性もある。また、骨粗鬆症におけるサイトカインが分泌される時期が、閉経前後で変化があるためかもしれない。

さらに、Girasole ら¹⁶⁾の述べているように骨の局所における IL-6, TNF- α の産生亢進と骨吸収亢進があるものの、今回の結果からは全身的には IL-6, TNF- α は反映されなかった可能性も考えられる。今回は骨粗鬆症群を慈大式骨萎縮度分類⁹⁾により分類したが今後厚生省基準や dual X-ray absorptiometry (DXA) による分類での検討も必要であろう。

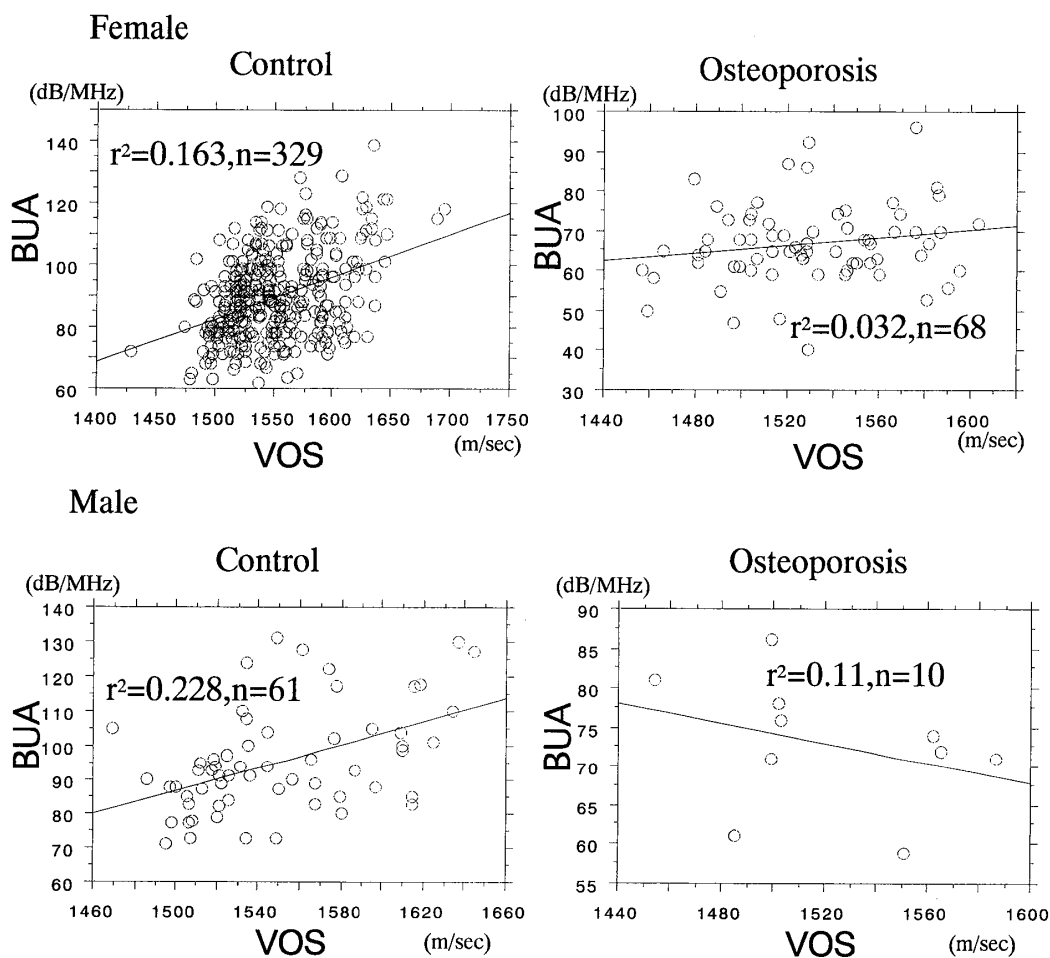


図6 健常者と骨粗鬆症患者の女性および男性における超音波伝播速度(VOS)と超音波減衰係数(BUA)との関係

個人の血清サイトカイン値のばらつきが大きかった原因として喫煙，アレルギー，他疾患，閉経，加齢などが考えられるため，今回は加齢，喫煙，閉経，腰痛の有無について検討した．その結果，加齢，閉経，腰痛の有無では特に有意差は認められなかったが，喫煙に関して女性のIL-6およびTNF- α ，男性のTNF- α で喫煙群と非喫煙群に有意差が認められた．これは，タバコ煙が肺胞マクロファージによるIL-1,IL-6の産生を抑制することが報告^{12)~14)}されており，循環血液中にも反映されたためと考えられる．したがって，本研究では非喫煙者のみを用いた骨粗鬆症群と健常群の解析を行ったが，結果は有意差は得られなかった．

近年，超音波測定法はDXA法と同等の診断感度を有しているとの報告がなされている¹⁶⁾．超音波計測値の加齢的推移について複数の研究者によ

り報告されており，超音波計測値は思春期から20歳代前半に最も高い値をとり，閉経後に急激な減少を生じると述べられている¹⁷⁾．今回の研究でも男性女性ともに年齢と超音波計測値の間には負の相関関係が認められた．この超音波測定値の減少は加齢的变化と考えられる．

踵骨超音波測定法は，DXA法と同等な測定精度を有すること，DXA法の各測定値と $r=0.7\sim 0.8$ 程度の有意な相関性をもつこと^{18)~21)}，また骨粗鬆症ではその測定値が対照例に比して有意に低値であることが報告されている¹⁹⁾²⁰⁾²²⁾．しかし，骨粗鬆症に対する超音波測定法は国際的なコンセンサスが得られていないことが理由で，今後も検討を有する方法とされている¹⁶⁾²³⁾．今回の結果では，健常者におけるVOSとBUAに相関関係が男性女性ともに認められ，VOS, BUAは健常群と骨粗

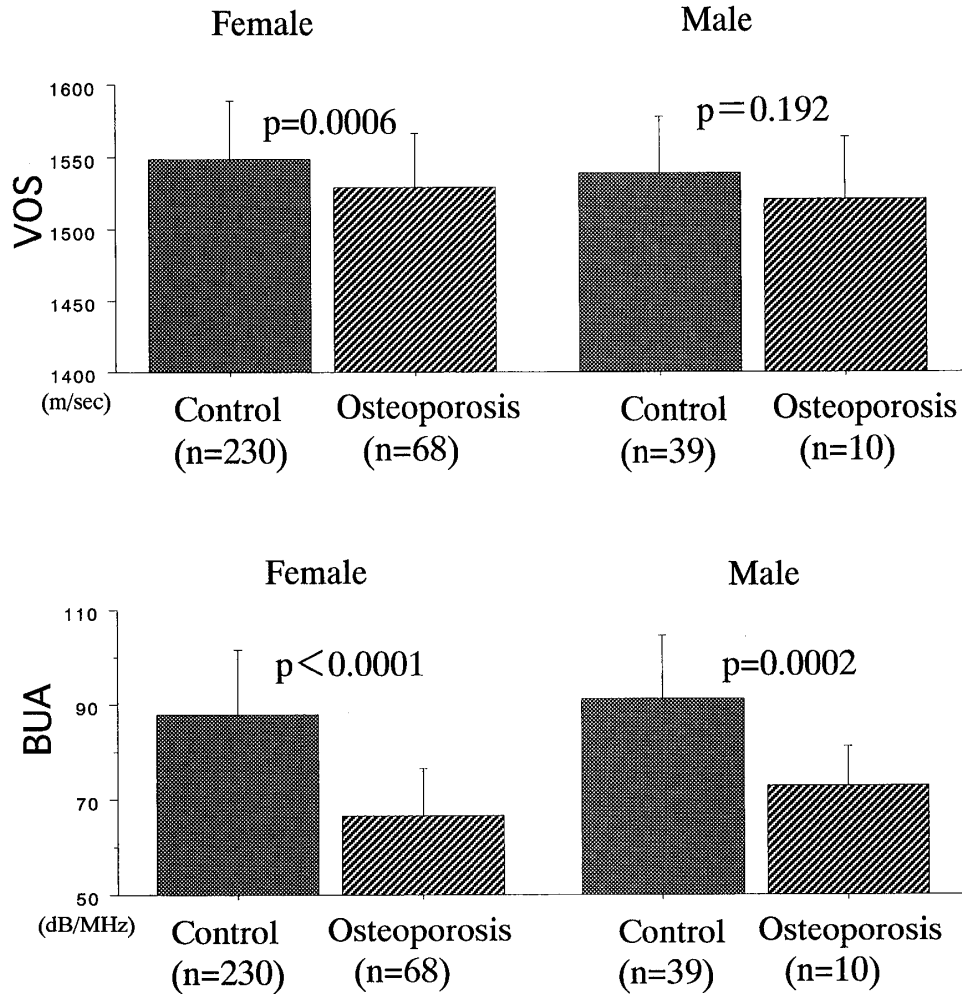


図7 健常群と骨粗鬆症群における超音波伝播速度 (VOS) および超音波減衰係数 (BUA) の関係

鬆症群に有意差が得られた。このことは、骨粗鬆症に対する超音波測定法の有用性を示唆するものと考えられる。

本研究では、これまでの臨床研究と同様、骨粗鬆症に対する超音波測定法 (VOS, BUA) の有用性が示唆されたものの、血清中 IL-6, TNF- α 濃度は骨粗鬆症患者において有意な上昇を検出することはできなかった。しかしながら、これらサイトカイン濃度における個人のバックグラウンド値のばらつきを考慮し、経時的な変動を調べることにより骨粗鬆症の病態把握を行う可能性も残されている。また今回は IL-6, TNF- α について検討したが、他のサイトカインの調査も必要であろう。今後さらに詳細なサイトカイン研究を行うことにより骨粗鬆症の臨床へのサイトカイン測定の有用性と限

界が明らかにされると思われる。

結 論

椎体 X 線所見をもとに骨粗鬆症群と健常群について骨超音波値、血清中サイトカインの測定を行った。血清中 IL-6, TNF- α 濃度は従来の ELISA 法と比べ 100~1,000 倍感度の高い CL-ELISA 法を用いて測定した。

Pacifici らは、閉経後骨粗鬆症の患者で末梢血単球からの IL-1 などの骨吸収サイトカインの産生過剰が示唆されたと述べているが、本研究では健常者と比較して骨粗鬆症患者における血清中 IL-6, TNF- α の亢進を確認することはできなかった。これは全身中のサイトカインは、喫煙、アレルギー、他疾患、閉経、加齢などの影響を受けるため個人の血清サイトカイン値はばらつきが大き

く、末梢血単球からの骨吸収サイトカインの産生過剰はあるが血清には反映しなかったものと考えられる。踵骨超音波測定結果より、超音波計測値は加齢とともに減少する傾向が認められた。また、健常者における VOS と BUA に相関関係が男性女性ともに認められ、VOS、BUA が健常群と骨粗鬆症群に有意差が得られた。このことは、骨粗鬆症に対する超音波測定法の有用性を示唆するものと考えられた。

稿を終わるにあたり、御指導、御助言をいただきました生化学工業株式会社 宮崎匡輔氏に深謝する。また、検体計測に御協力いただいた東京女子医科大学医学部衛生学公衆衛生学教室臨床検査技師 松村賢一氏に心から感謝する。

文 献

- 1) **Canalis E, McCarthy TL, Centrella M:** Growth factors and cytokines in bone cell metabolism. *Annu Rev Med* **42**: 17-24, 1991
- 2) **Pacifici R, Rifas L, Teitelbaum S et al:** Spontaneous release of interleukin 1 from human blood monocytes reflects bone formation in idiopathic osteoporosis. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**: 4616-4620, 1987
- 3) **Jilka L, Hangoc G, Girasole G et al:** Increased osteoclast development after estrogenesis. Modulation by interleukin-6. *Science* **257**: 88, 1992
- 4) **ten Hacken NH, Oosterhoff Y, Kauffman HF et al:** Elevated serum interferon-gamma in atopic asthma correlates with increased airways responsiveness and circadian peak expiratory flow variation. *Eur Respir J* **11** (2): 312-316, 1998
- 5) **David J, Tollerud LG, 佐藤敏彦ほか:** Chemiluminescence-ELISA 法を用いた血中サイトカインの測定—健康者における年齢、喫煙、人種差の影響について—。アレルギー **44** (7): 661-669, 1995
- 6) **串田一博:** X 線学的診断 (X 線学的定性、定量診断)。「第 8 巻 骨粗鬆症」(山本吉蔵編), pp70-83, メジカルビュー社, 東京 (1990)
- 7) **Wallach S, Feinblatt JD, Carstens JH Jr et al:** The bone quality problem. *Calcif Tissue Int* **51**: 169-172, 1992
- 8) **Miller CG, Herd RJ, Ramalingam T et al:** Ultrasound velocity measurements through the calcaneus: Which velocity should be measured?. *Osteoporosis Int* **3**: 31-35, 1993
- 9) **Langton CM, Palmer SB, Porter RW:** The measurement of broadband ultrasonic attenuation in cancellous bone. *N Engl J Med* **13**: 89-91, 1984
- 10) **Girasole G, Jilka RL, Passeri G et al:** 17 β -estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts in vitro. *J Clin Invest* **89**: 883-891, 1992
- 11) **Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A et al:** Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoblast-like cells in vitro. *J Bone Miner Res* **4**: 113-118, 1989
- 12) **Soliman DM, Twigg HL:** Cigarette smoking decreases bioactive interleukin-6 secretion by alveolar macrophages. *Am J Physiol* **263**: L471-L478, 1992
- 13) **Yamaguchi E, Okazaki N, Itoh A et al:** Interleukin 1 production by alveolar macrophages is decreased in smokers. *Am Rev Respir Dis* **140**: 397-402, 1989
- 14) **Brown GP, Iwamoto GK, Monick MM et al:** Cigarette smoking decreases interleukin 1 release by human alveolar macrophages. *Am J Physiol* **256**: C256-C264, 1989
- 15) **Erschler WB, Sun WH, Binkley N et al:** Interleukin-6 and aging; blood levels and mononuclear cell production increase with advancing age and in vitro production is modifiable by dietary restriction. *Lymphokine Cytokine Res* **12**: 225-230, 1993
- 16) **山崎 薫, 串田一博:** 踵骨超音波測定法の骨粗鬆症診断への応用の可能性. *Osteoporosis Jpn* **2**: 155-157, 1994
- 17) **Schott AM, Hans D, Sornay-Rendu E et al:** Ultrasound measurements on os calcis: precision and age-related changes in a normal female population. *Osteoporosis Int* **3**: 249-254, 1993
- 18) **Ashman RB, Corin JD, Turner CH:** Elastic properties of cancellous bone; Measurement by an ultrasound technique. *J Biomech* **10**: 979-986, 1987
- 19) **McCloskey EV, Murray SA, Miller C et al:** Broadband ultrasound attenuation in the os calcis; Relationship to bone mineral at other skeletal sites. *Clin Sci* **78**: 227-233, 1990
- 20) **Baran DT, Kelly AM, Karellas A et al:** Ultrasound attenuation of the os calcis in women with osteoporosis and hip fractures. *Calcif Tissue Int* **43**: 138-142, 1988
- 21) **Yamazaki K, Kushida K, Ohmura A et al:** Ultrasound bone densitometry of the os calcis in Japanese women. *Osteoporosis Int* **4** (4): 220-225, 1994
- 22) **Resch H, Pietschmann P, Bernecker P et al:** Broadband ultrasound attenuation; A new diagnostic method in osteoporosis. *Am J Radiol* **155**: 825-828, 1990
- 23) **坂田 悟:** Population based data による踵骨超音波測定法基準値の設定. *日骨代謝会誌* **15**: 171-176, 1998