

## 2 型糖尿病患者における腎機能と

### オステオカルシン，非カルボキシル化オステオカルシンとの関連

藤田保健衛生大学大学院  
医学研究科 内分泌・代謝内科学（指導教授：伊藤光泰）

平井博之

#### 1. 諸言

糖尿病はインスリンの絶対的あるいは相対不足による代謝性疾患であり，網膜症，腎症，神経障害の細小血管合併症ならびに心筋梗塞や脳梗塞などの大血管合併症の重要な基礎疾患であることが知られている。“IDF Diabetes Atlas”によると2013年で世界219の国と地域における20～79歳の糖尿病有病者数は3億8,200万人（有病率8.3%），耐糖能異常（impaired glucose tolerance：IGT）の有病者数は3億1,600万人（有病率6.9%）であるが2035年には糖尿病有病者数5億9,200万人（有病率10.1%），IGT有病者数は4億7,100万人（有病率8.0%）に達すると予想されている。日本では2013年で糖尿病有病者数720万人，2035年には1,670万人になると予想されている<sup>1</sup>。

日本における疫学調査としては1997年，2002年の糖尿病実態調査，および2007年と2012年の国民健康・栄養調査があり，1997年，2002年，2007年，2012年の調査を経時的に比較すると「糖尿病を強く疑われる人」はそれぞれ約690万人，約740万人，約890万人，約950万人であり，「糖尿病の可能性を否定出来ない人」はそれぞれ約680万人，約880万人，約1,320万人，約1,100万人，「糖尿病を強く疑われる人」と「糖尿病の可能性を否定出来ない人」を合わせるとそれぞれ約1,370万人，約1,620万人，約2,210万人，約2,050万人となっており，著しい増加を示している（図1）。なお，これは20歳以上のHbA1c（JDS） $\geq 6.1\%$ 以上 [HbA1c(NGSP)  $\geq 6.5\%$ 以上に相当]，または質問票で「現在糖尿病の治療を受けている」と答えた者を「糖尿病を強く疑われる人」とし，HbA1c（JDS）が5.6%以上6.1%未満 [HbA1c(NGSP)が6.0%以上6.5%未満に相当] で「糖尿病を強く疑われる人」を除いたものを「糖尿病の可能性を否定出来ない人」と定義している。そのため，厳密には日本糖尿病学会の糖尿病診断基準とは異なっている<sup>2</sup>。

糖尿病人口の増加により，今後は糖尿病合併症患者の数も増加していくと予想される。そのため糖尿病の

予防および，合併症の予防，合併症の進行抑制が必要であるが，糖尿病の細小血管障害や心血管イベントの合併症に関しては，DCCT/EDIC<sup>3</sup>，UKPDS<sup>4</sup>といった研究により，糖尿病のコントロールが合併症リスクを減少させることが分かっている。最近では糖尿病の合併症として，網膜症，腎症，神経障害，大血管合併症以外にも，アルツハイマー，がん，うつ，歯周病，骨折も関連を指摘されており，糖尿病患者数の増加とともに，これらの合併症も今後増加してくると考えられている。糖尿病合併症や高齢社会により，寝たきりや要介護に対する介護予防もまた今後の課題である。厚生労働省の平成25年国民生活基礎調査によると，要介護の原因疾患として，1位が脳血管疾患，2位が認知症，3位が高齢による衰弱，4位が関節疾患，5位が骨折である報告されている（図2<sup>7</sup>）。このうち脳血管疾患，認知症，骨折・転倒は糖尿病合併症に関連することから，糖尿病の合併症対策は将来の寝たきりや要介護予防のために重要な課題となっている。

骨の脆弱性は骨強度として評価される。2000年のNIHコンセンサス会議により，骨粗鬆症は「骨強度の低下を特徴とし，骨折リスクが増大しやすくなる骨格疾患」と定義され，骨強度は骨密度と骨質からなり，

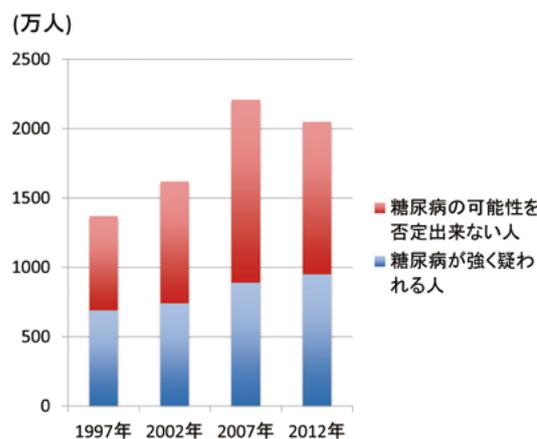


図1 日本における糖尿病を疑われる患者数の推移  
文献2より作成

前者が70%，後者が30%の骨強度を規定すると考えられている<sup>8</sup>。また骨質は構造特性と、材質特性からなり、前者は骨形態と骨微細構造が、後者は骨基質、骨代謝回転、微細骨折の集積の要素から構成されている(図3)。

糖尿病と骨量低下の関連については Albright らにより1940年代より報告がみられ、その後1型糖尿病、2型糖尿病と分類した上で、各々の疾患と骨折リスクとの関連についての報告がなされるようになってきている。

1型糖尿病は絶対的なインスリン欠乏状態であり、1型糖尿病における骨折リスクの増加は低骨密度と骨質劣化の両者が原因であると考えられている。Vide-man らは一卵性双生児に対してDXA(二重エネルギー-X線吸収装置)を用いた骨塩定量法によって、1型

糖尿病患者では骨密度が低下していることを報告し<sup>10</sup>、その後 Touminen らは大腿骨頸部骨密度について年齢、BMIで補正後も対照群と比較して骨密度が低値であること<sup>11</sup>、Kemink らは腰椎骨密度も性別、年齢、BMIを一致させた対照群と比較して低値であると報告している<sup>12</sup>。Vestergaard らの報告によると1型糖尿病患者では薬剤服用歴で補正した全骨折リスクは1.3倍、大腿骨近位部骨折は1.7倍、椎体骨折は2.5倍に増加することを報告しており<sup>13</sup>、1型糖尿病患者ではさまざまな部位で骨折リスクが増加すると考えられる。2007年に発表されたメタ解析では1型糖尿病患者では非糖尿病患者の6~7倍骨折リスクが高いことが報告されている<sup>14</sup>。

1型糖尿病では骨密度の低下を認めるが、2型糖尿病ではむしろ上昇していることが示されている<sup>15</sup>。1991年の骨粗鬆症コンセンサス会議では「骨粗鬆症は低骨量と骨組織の微細構造の異常を特徴とし、骨の脆弱性が増大し、骨折の危険性が増加する疾患」と定義されており、骨強度の大部分が骨量により規定される<sup>16</sup>と考えられていた。そのため一般的に過体重による骨量増加をきたしやすい2型糖尿病患者における骨折リスクについては、長らく関心が得られていなかった。しかしメタ解析を含む複数の観察研究では2型糖尿病においても骨折リスクの増加が示されている。83万人超の症例における約14万件の骨折を評価した Janghorbani らのメタ解析によると、大腿骨近位部の骨折リスクは1型糖尿病患者では6.3倍(95% CI, 2.6 - 15.1)、2型糖尿病では1.7倍(95% CI, 1.3 - 2.2)であった。また、Vestergaard はメタ解析により1型ならびに2型糖尿病患者の大腿骨近位部骨折リスクについて検討し、1型糖尿病および2型糖尿病患者では骨密度と骨折リスクには乖離があることを報告した<sup>18</sup>。すなわち1型糖尿病では大腿骨近位部骨密度のZスコア(同年齢平均値からの標準偏差)が-0.37と低下しており、Zスコアから理論的に計算される骨折リスクの上昇は約1.4倍であるが、実際のメタ解析の結果での骨折リスクは6.9倍であった。また2型糖尿病においても大腿骨頸部骨密度のZスコアは0.27と増加しており、骨折リスクは0.8倍に低下するはずであったが、実際には1.4倍に上昇していた(図4)。Yamamoto らは2型糖尿病患者の骨密度は非糖尿病対照群とくらべて椎体、大腿骨頸部、橈骨いずれの部位でも骨折と明確な関連が認められなかったと報告している<sup>19</sup>。最近では米国で実施された3つの前向き観察研究を合わせた約1万7,000名の男女の検討により、大腿骨頸部骨密度Tスコアの低下は、2型糖尿病の有無に関わらず、男女とも大腿骨近位部骨折や非椎体骨折のハザード比増加と有意に関連するが、10年累積大

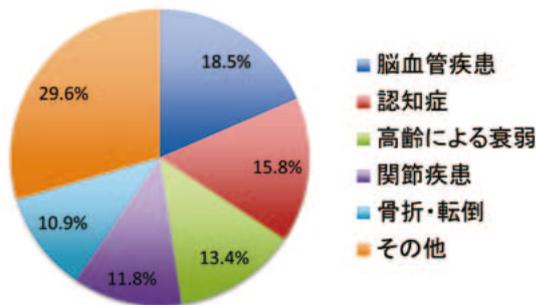


図2 要支援者、要介護者における原因疾患割合  
文献7より作成

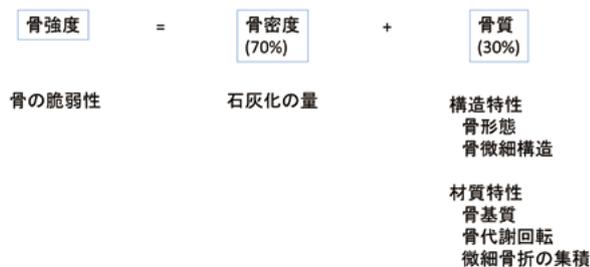


図3 骨強度と骨密度・骨質の関係  
文献8を改変

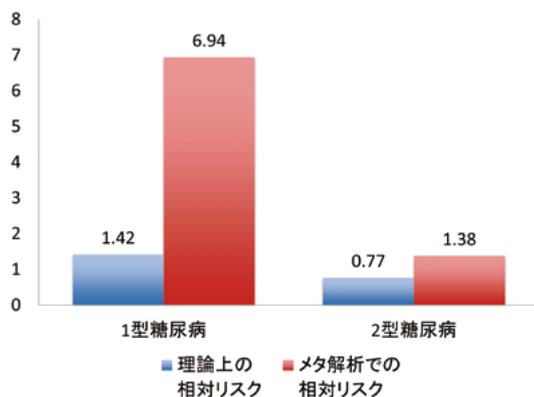


図4 骨密度から計算される骨折リスクとメタ解析の結果との乖離  
文献18より作成

腿骨近位部骨折発生率が同じでも2型糖尿病群では大腿骨頸部骨密度Tスコアが非糖尿病群とくらべて高値であることが報告された。<sup>20</sup>

現在世界中で広く使用されている骨折リスクの評価法としては、Kanis<sup>21</sup>らが考案したFRAX<sup>®</sup> (fracture risk assessment tool)のアルゴリズムがある。FRAX<sup>®</sup>は2型糖尿病を骨折リスクに盛り込んでいないため、2型糖尿病患者における骨折リスクをFRAX<sup>®</sup>によって評価すると過小評価する可能性がある。実際にSchwalz<sup>22</sup>らは糖尿病患者におけるFRAXの大腿骨近位部骨折リスクを評価したところ、インスリン使用の有無にかかわらず、FRAX<sup>®</sup>の予測値よりも骨折率が高いことを報告している。<sup>20</sup>

糖尿病患者では末梢神経障害、自律神経障害、網膜症、脳梗塞などの合併症により、視力障害や歩行障害、めまいなどによる転倒リスクを増大させ、骨折リスクが上昇する。<sup>22, 23</sup>また、経口血糖降下薬やインスリン、降圧薬などの使用も、とくに高齢者では転倒リスクを増大させ、骨折リスクを上昇させる。<sup>24</sup>しかしYamamoto<sup>25</sup>らの報告によると、椎体骨折と骨密度や糖尿病合併症の状態との間には関連が乏しいことを示されており、また、転倒頻度で補正しても骨折リスクは高いという報告もある。<sup>26</sup>

2型糖尿病における骨折リスク増加は、合併症や薬剤による転倒のほかにも、骨密度によらない骨脆弱性が関連していると考えられる。すなわち骨強度を規定するもうひとつの因子である骨質の劣化が2型糖尿病における骨脆弱性に関連していると考えられている。

骨質には構造特性と材質特性があるが、2型糖尿病における骨質劣化には構造特性と材質特性の両方の劣化があると考えられている(図5)。構造特性異常の報告としては以下のようなものがある。橈骨や大腿骨骨幹部のような筒状の構造をした骨では外径が大きく、厚みがあるほど強度が強い。Petit<sup>27</sup>らは2型糖尿病患者では橈骨遠位1/3端部分の骨形状は外径が小さく、厚みも薄いので、構造から推定される骨強度は有意に低下していると報告している。また、Burghardt<sup>28</sup>らは2型糖尿病の脛骨と橈骨において、年齢、性別、身長を一致させた対照群よりも皮質骨の多孔性が増しているため、2型糖尿病では脛骨の骨密度が高値であるにもかかわらず、推定される骨強度が非糖尿病群と変わらず、橈骨では骨密度に差はないものの、推定される骨強度が有意に低下していると報告している。<sup>28</sup>2型糖尿病では肥満患者も多く存在する。Cohen<sup>29</sup>らはそのなかでも内臓肥満を呈するものは、骨密度および骨の微細構造の劣化につながると報告している。

2型糖尿病患者の骨質異常のうち材質特性の異常に関しては、骨基質と骨代謝回転の障害が報告されてい

る。骨基質であるコラーゲン線維の分子間架橋は骨強度規定因子であり、生理的なコラーゲン架橋は骨芽細胞が分泌する酵素の作用を介して秩序だてて分子をつなぎとめ、適度な弾力を保ちながら石灰化を誘導する。しかし糖尿病などによる酸化ストレスや糖化の亢進は、骨芽細胞依存性に形成される生理的なコラーゲン架橋形成を低下させ、終末糖化産物(advanced glycation end-products: AGEs)を産生することで非生理的なコラーゲン架橋の過形成を引き起こす。<sup>19, 30</sup>このように増加したAGEsはコラーゲンの病的架橋を増加させるのみではなく、骨芽細胞機能の低下や破骨細胞活性を高めることを通じて、骨質を劣化させ、骨の脆弱性を引き起こしていると考えられている。また糖尿病では骨代謝が低回転になることも明らかとなっており、この低代謝回転のため蓄積したAGEが除去されずにAGEsの蓄積が亢進し骨質の悪化を助長させている。<sup>35</sup>

高血糖状態が持続する糖尿病モデルラットにおいて骨組織中へのAGEsの蓄積が確認されており、骨密度は保たれているもののペントシジン架橋の増加と骨脆弱性の増悪が示されている。ヒトにおいてもペントシジンはAGEsと正の相関を示すため、AGEsのサロゲートマーカーとして利用される。<sup>29</sup>ペントシジンは加齢とともに増加し、骨の材質特性を低下させるが、<sup>37</sup>糖尿病のような糖化や酸化が亢進するような病態では、時間依存的な形成機序をはるかに超えた過形成が生じる。<sup>29, 39, 40</sup>Yamamoto<sup>31</sup>らは2型糖尿病の血清ペントシジン濃度と椎体骨折との関連を検討し、骨密度との関連がなかったこと、多因子調節後も血清ペントシジンが椎体骨折と有意に相関することを示している。<sup>41</sup>またSchwartz<sup>32</sup>らは尿中ペントシジン濃度も同様に椎体骨折と関連することを報告している。<sup>42</sup>

AGEsの受容体(receptor of AGEs: RAGE)は糖尿病腎症や糖尿病網膜症などの合併症の発症・進展に関与することが知られている。<sup>43, 44</sup>骨への影響としては、

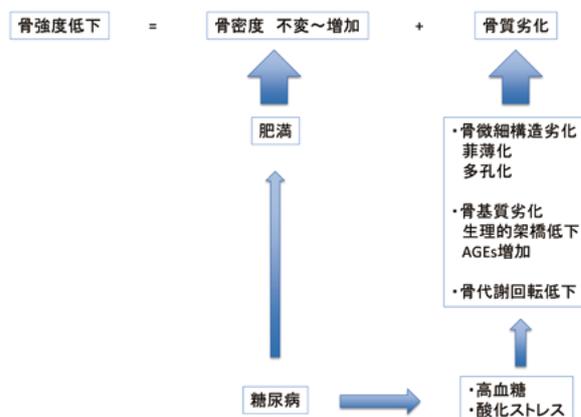


図5 糖尿病における骨代謝

マウス由来の骨芽細胞とその前駆細胞は高血糖や AGEs により RAGE 発現が増強し、骨芽細胞の分化や石灰化が抑制されること、RAGE 欠損マウスでは破骨細胞が抑制され、骨密度が上昇することが分かっている。RAGE には細胞膜へ結合せず、細胞外へ放出される内因性分泌型 RAGE (endogenous secretory RAGE : esRAGE) があり、これは細胞外で AGEs と結合することで、AGEs が細胞の RAGE に結合することを防ぐデコイ (囮) 受容体であると考えられている。Yamamoto らは椎体骨折に対する多変量解析により esRAGE/ペントシジン比の低下が椎体骨折リスクの増加と関係することを示した。骨密度と独立して椎体骨折のリスクを増加させていることから、esRAGE の測定は AGEs の骨形成抑制機序による骨質低下を反映していると考えられる。

ホモシステインは動脈硬化にかかわる因子であり、糖尿病の有無に関わらず、骨の脆弱化に関連しており。大規模臨床研究から血中のホモシステイン高値が骨密度と独立した骨折リスクであることが示されている。ホモシステインは食事から摂取されたメチオニンの中間代謝産物であり、血中ホモシステイン濃度の上昇はビタミン B 群の不足や腎機能低下、代謝にかかわる酵素の遺伝子多型によりもたらされるが、リジロキシダーゼの作用低下により生理的コラーゲンの産生低下を引き起こし、さらに酸化ストレスを増大させることで AGEs を増加させる。また骨芽細胞の活性低下や破骨細胞の活性化より骨質の劣化をもたらすと考えられている。

スクレロスチンは骨細胞から分泌され、骨芽細胞の LDL receptor-related protein5 and 6 (LRP5/6) に結合し、骨形成を促進する古典的 Wnt/ $\beta$  カテニンシグナル伝達経路を抑制することにより骨形成を抑制する因子である。2 型糖尿病患者ではスクレロスチン濃度は上昇しており、スクレロスチンの増加が骨密度および骨代謝回転とは独立して有意に椎体骨折のリスク増加と関連していることが分かっている。

生理的架橋の形成は骨芽細胞が分泌するリジロキシダーゼの活性に依存しているが、リジロキシダーゼの必須補酵素であるビタミン B<sub>6</sub> がヒト糖尿病患者では糖新生の亢進により肝臓でのビタミン B<sub>6</sub> 消費が過剰となり、それ以外の組織では潜在的なビタミン B<sub>6</sub> 不足に陥ることが知られている。また、糖尿病による高血糖の持続や、酸化ストレスの増大により骨芽細胞機能の低下をきたし、リジロキシダーゼの活性を低下させる。これらにより、生理的架橋が低形成になると考えられている。

さらに糖尿病患者ではビタミン D 不足になりやすく、血糖コントロール不良状態においては、骨芽細胞

および破骨細胞のビタミン D に対する応答が減弱している。また、骨芽細胞様細胞を高糖濃度で培養すると、細胞増殖の低下や PTH 反応性の低下が認められる。このことから糖尿病では低回転性の骨代謝異常となっていると考えられる。実際 2 型糖尿病では非糖尿病群よりも PTH 値や骨形成マーカーであるオステオカルシン (OC)、骨吸収マーカーである  $\beta$ -CTX が有意に低値であると報告され、PTH とオステオカルシンが共に低値である群は、他の群と比較して有意に椎体骨折のリスクが高いと報告されている。この低代謝回転が、蓄積した AGE が除去されずに、さらに骨質を悪化させていくと考えられる。

糖代謝と骨代謝の関連では、骨芽細胞から分泌されるオステオカルシンと破骨細胞による骨吸収によりオステオカルシンが脱  $\gamma$ -カルボキシル化されることにより分泌される非カルボキシル化オステオカルシンが、糖代謝に影響を与えることが示されている。実験動物を用いた研究でオステオカルシンがインスリン感受性やインスリン分泌能、エネルギー代謝に作用し、糖代謝改善効果が示されており、ヒトにおいても、血中オステオカルシンレベルと非カルボキシル化オステオカルシンは空腹時血糖値、HbA<sub>1c</sub>、動脈硬化の指標と有意な負の相関を認めている。また Okazaki らは 2 型糖尿病患者の血中オステオカルシンレベルは治療前では低値であるが、治療により血糖が低下するとオステオカルシンは上昇することを報告している。

糖尿病では合併症により腎機能が低下している場合があり。また、慢性腎不全そのものが骨折リスクを増大させる。その機序としては活性型ビタミン D の不足や続発性副甲状腺機能亢進症、酸化ストレスが関与していると考えられる。オステオカルシンは 5 kDa の低分子の蛋白質であるが、腎臓で排泄されるため腎機能低下により血中濃度が上昇する。腎機能と血中オステオカルシン値の関係については Delmas らが検討しており、eGFR が 30ml/min/1.73m<sup>2</sup> 以上であれば年齢と性別に関係なく血中オステオカルシン値は正常であり、eGFR が 30ml/min/1.73m<sup>2</sup> 以下になると血中オステオカルシン値の上昇がみられ、20ml/min/1.73m<sup>2</sup> 以下で著明に上昇すると報告している。

上記の通り、オステオカルシンは糖代謝の影響を受け、また腎機能にも影響を受ける。そのため腎機能低下をきたす糖尿病患者ではその評価に注意する必要がある。また、Cr による eGFR 評価は、個体の筋肉量に依存するため、実際の腎機能と乖離を生じることがある。シスタチン C による腎機能評価は筋肉量に左右されず、Cr による腎機能評価よりも正確であるとされている。

そこで今回2型糖尿病におけるオステオカルシンと非カルボキシル化オステオカルシンについてHbA1cならびにCrを用いたeGFRcr, シスタチンCを用いたeGFRcysとの関連についての検討を行った。

## 2. 研究方法

### A) 対象

藤田保健衛生大学病院内分泌・代謝内科に通院中の2型糖尿病患者317名(年齢69歳[59-73歳], 男性219名, 女性98名)を対象とした。対象患者の98.7%がインスリンあるいは経口血糖降下薬を使用していた。インスリン使用者は17.5%, スルホニル尿素薬は28.3%, ビグアノイド薬は15.4%,  $\alpha$  グルコシダーゼ阻害薬は21.0%, チアゾリジン薬は19.1%の使用率であった。

本研究は、藤田保健衛生大学疫学・臨床研究倫理審査委員会に承認された糖尿病合併症危険因子探索に関する臨床研究(承認番号:08175)の一環として行われている探索的研究であり、インフォームドコンセントに基づく同意が文書により得られている。

### B) 方法

対象患者の定期外来受診時に行った採血を利用し、各種測定を行った。測定項目はオステオカルシン、非カルボキシル化オステオカルシンはラジオイムノアッセイ(RIA)法を用いて測定した。シスタチンCは金コロイド凝集法により、SRL, Inc(東京)に依頼し測定した。CrによるeGFRcrに関しては下記計算式を用いて算出を行った。男性では $eGFRcr(mL/分/1.73m^2) = 194 \times 年齢^{-0.287} \times 血清Cr値(mg/dL)^{-1.094}$ , 女性では $eGFRcr(mL/分/1.73m^2) = 194 \times 年齢^{-0.287} \times 血清Cr値(mg/dL)^{-1.094} \times 0.739$ を使用した。シスタチンCによるeGFRcysの計算式を下記に示す。男性eGFRcys( $mL/分/1.73m^2$ ) =  $[104 \times 血清シスタチンC(mg/L)^{1.019} \times 0.996^{年齢(オ)}] - 8$ , 女性eGFRcys( $mL/分/1.73m^2$ ) =  $[104 \times 血清シスタチンC(mg/L)^{-1.019} \times 0.996^{年齢(オ)} \times 0.929] - 8$ で算出を行った。

### C) 統計学的解析

統計学的解析はStatFlex®のversion 6を用いて行った。オステオカルシンと非カルボキシル化オステオカルシンは正規分布を示さなかったため、各々log変換し、logOC, logucOCとして統計処理を行った。logOCとlogucOCそれぞれに対して年齢, 性別, BMI, HbA1c, eGFRcr, eGFRcys, 収縮期血圧, 総コレステロール, 中性脂肪, HDLコレステロール, LDLコレステロール, 尿酸と単回帰分析を行った。単回帰分析で有意差を示した, 年齢, 性別, HbA1c,

eGFRcr, eGFRcysと単回帰分析では有意な差を示さなかったものの, 骨量との関連があると考えられるBMIを用いて以下のように重回帰分析を行った。

logOCとlogucOCそれぞれに対して年齢, 性別, BMI, HbA1c, eGFRcrとの重回帰分析を行い。次にlogOCとlogucOCそれぞれに対して, 年齢, 性別, BMI, HbA1c, eGFRcysについても重回帰分析を行った。P値<0.05を統計学的有意差とした。

## 3. 結果

対象患者は317名で年齢の中央値は69歳(59-73歳)であった。HbA1cの中央値は6.8%(6.2-7.6%), eGFRcrの中央値は74mL/min/1.73m<sup>2</sup>(58-89mL/min/1.73m<sup>2</sup>), eGFRcysの中央値は71.5mL/min/1.73m<sup>2</sup>(67.9-75mL/min/1.73m<sup>2</sup>), オステオカルシンは3.2ng/mL(2.5-4.7ng/mL), 非カルボキシル化オステオカルシンは2.28ng/mL(1.18-3.78ng/mL)であった(表1)。

図6, 7にeGFRcrとeGFRcysの分布を示す。eGFRcrではeGFRcr90mL/min/1.73m<sup>2</sup>以上が23%, eGFRcr60mL/min/1.73m<sup>2</sup>以上90mL/min/1.73m<sup>2</sup>未満が48%, eGFRcr30mL/min/1.73m<sup>2</sup>以上60mL/min/1.73m<sup>2</sup>未満が24%, eGFRcr30mL/min/1.73m<sup>2</sup>未満が5%であった。eGFRcysではeGFRcys90mL/min/1.73m<sup>2</sup>以上が0%, eGFRcys60mL/min/1.73m<sup>2</sup>以上90mL/min/1.73m<sup>2</sup>未満が97%, eGFRcys30mL/min/1.73m<sup>2</sup>以上60mL/min/1.73m<sup>2</sup>未満が3%, eGFRcys30mL/min/1.73m<sup>2</sup>未満が0%であった。

表2, 3にlogOCとlogucOCそれぞれに対する年齢, 性別, BMI, HbA1c, eGFRcr, eGFRcys, 収縮期血圧, 総コレステロール, 中性脂肪, HDLコレステロール, LDLコレステロール, 尿酸の単回帰分析を行った結果を示す。logOCは年齢, 性別, HbA1c, eGFRcr, eGFRcysと相関を示した(それぞれp=0.22, p=0.13, p=0.01, p<0.001, p<0.001)。logucOCは性別, HbA1c, eGFRcr, eGFRcysと相関を示した(それぞれp=0.012, p=0.004, p<0.001, p<0.001)。

表4にlogOCと年齢, 性別, BMI, HbA1c, eGFRcrにおける重回帰分析の結果を示す。重回帰分析では年齢と性別, HbA1c, eGFRcrがlogOCとの関連を示した(それぞれp=0.027, p<0.001, p=0.042, p<0.001)。

表5にlogucOCと年齢, 性別, BMI, HbA1c, eGFRcrにおける重回帰分析の結果を示す。重回帰分析では年齢と性別, HbA1c, eGFRcrがlogucOCとの関連を示した(それぞれp=0.025, p<0.001, p=0.007, p<0.001)。

表1 対象患者のプロファイル

	n=317
年齢(歳)	66.0(59-73)
性別(名)	男性219名 女性98
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.7(21.4-27.1)
HbA1c[NGSP] (%)	6.8(6.2-7.6)
eGFRcr(mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	73.6(57.7-88.9)
eGFRcys(mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	71.5(67.9-75.1)
収縮期血圧(mmHg)	130(122-136)
総コレステロール(mg/dL)	193(169-215)
中性脂肪(mg/dL)	116(80-174)
HDLコレステロール(mg/dL)	59.0(49.0-70.0)
LDLコレステロール(mg/dL)	112.0(95.0-132.0)
尿酸(mg/dL)	5.2(4.2-6.4)
オステオカルシン(ng/mL)	3.3(2.5-4.7)
非カルボキシル化オステオカルシン(ng/mL)	2.3(1.3-3.8)

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate  
データは中央値(第1四分位-第2四分位)で表記

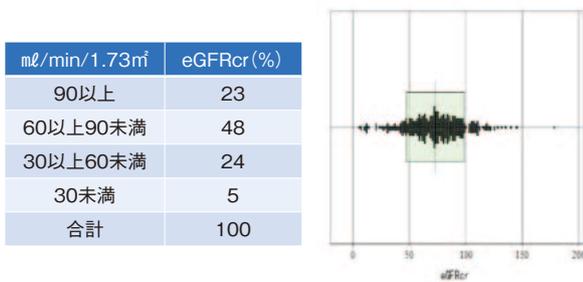


図6 eGFRcrの分布

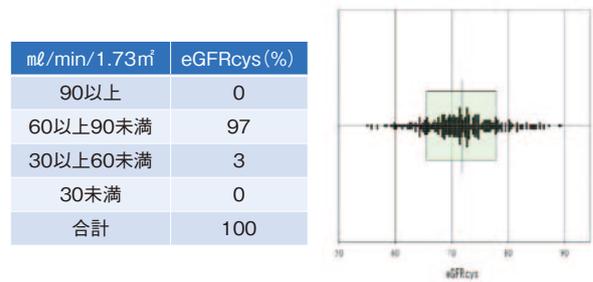


図7 eGFRcysの分布

表2 logOCにおける単回帰分析

	回帰係数	p値
年齢	0.1189	0.022
性別	-1.1435	0.013
BMI	-0.0481	0.355
HbA1c	-0.1359	0.010
eGFRcr	-0.3854	<0.001
eGFRcys	-0.3356	<0.001
収縮期血圧	0.0512	0.326
総コレステロール	-0.0227	0.666
中性脂肪	-0.0968	0.062
HDLコレステロール	-0.0392	0.454
LDLコレステロール	0.0231	0.658
尿酸	0.0795	0.128

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate

表3 logucOCにおける単回帰分析

	回帰係数	p値
年齢	0.0577	0.268
性別	-0.7554	0.012
BMI	-0.0347	0.506
HbA1c	-0.1505	0.004
eGFRcr	-0.2615	<0.001
eGFRcys	-0.2434	<0.001
収縮期血圧	0.0217	0.678
総コレステロール	0.0158	0.763
中性脂肪	-0.0669	0.199
HDLコレステロール	-0.0397	0.449
LDLコレステロール	0.0607	0.246
尿酸	0.0620	0.237

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate

表4 logOCにおける重回帰分析1

	回帰係数	p値
切片	1.25825	
年齢	-0.0025	0.027
性別	-0.0887	<0.001
BMI	-0.0030	0.224
HbA1c	-0.0201	0.042
eGFRcr	-0.0040	<0.001
重相関係数R	0.442	

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate

表5 logucOCにおける重回帰分析1

	回帰係数	p値
切片	1.42113	
年齢	-0.0042	0.025
性別	-0.1394	<0.001
BMI	-0.0039	0.340
HbA1c	-0.0429	0.007
eGFRcr	-0.0046	<0.001
重相関係数R	0.356	

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate

表6 logOC における重回帰分析 2

	回帰係数	p 値
切片	4.30474	
年齢	-0.0142	<0.001
性別	0.12797	<0.001
BMI	-0.0051	0.046
HbA1c	-0.0159	0.113
eGFRcys	-0.0375	<0.001
重相関係数R	0.474	

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate

表6にlogOCと年齢、性別、BMI、HbA1c、eGFRcysにおける重回帰分析の結果を示す。重回帰分析では年齢と性別、BMI、eGFRcysがlogOCとの関連を示した（それぞれ $p < 0.001$ 、 $p < 0.001$ 、 $p = 0.046$ 、 $p < 0.001$ ）。

表7にlogucOCと年齢、性別、BMI、HbA1c、eGFRcysにおける重回帰分析の結果を示す。重回帰分析では年齢と性別、HbA1c、eGFRcysがlogucOCとの関連を示した（ $p < 0.001$ 、 $p = 0.029$ 、 $p < 0.001$ ）。

以上より、eGFRcrとの解析ではlogOCは年齢、性別、HbA1c、eGFRcrと関連し、logucOCもまた年齢、性別、HbA1c、eGFRcrと関連を認めた。eGFRcysとの解析ではlogOCは年齢、性別、BMI、eGFRcysと関連しHbA1cとは関連を示さなかった。logucOCでは年齢、性別、HbA1c、eGFRcysが関連を示した。

#### 4. 考 察

オステオカルシンは骨芽細胞から分泌される骨の細胞外マトリックスである。オステオカルシン分子内の3つのグルタミン酸残基はビタミンK依存的に $\gamma$ カルボキシル化を受けるが、グルタミン酸残基の $\gamma$ カルボキシル化が低下したものを非カルボキシル化オステオカルシンと呼ぶ。 $\gamma$ カルボキシル化したオステオカルシンはハイドロキシアパタイトに含有されるカルシウムイオンと結合し、骨基質に取り込まれる。また、破骨細胞は骨吸収窩において酸性条件下でオステオカルシンを非酵素的に脱 $\gamma$ カルボキシル化し、非カルボキシル化オステオカルシンに変化させる。非カルボキシル化オステオカルシンはハイドロキシアパタイトとの結合が弱いため血中に流出し、腎臓に作用してインスリン分泌を促進させ、末梢組織のインスリン感受性を亢進させると考えられている<sup>78</sup>。また、インスリンは骨芽細胞の受容体に作用し、骨芽細胞を増殖分化させ、また骨基質であるオステオカルシンの産生を亢進させる<sup>79</sup>。さらに骨芽細胞におけるインスリンシグナルは破骨細胞分化抑制因子（osteoprotegrin；OPG）の発現を抑制することで、破骨細胞の分化を促進する<sup>80</sup>（図8）。

表7 logucOC における重回帰分析 2

	回帰係数	p 値
切片	4.93246	
年齢	-0.0178	<0.001
性別	0.11043	0.038
BMI	-0.0058	0.164
HbA1c	-0.0354	0.029
eGFRcys	-0.0434	<0.001
重相関係数R	0.384	

BMI : body mass index, eGFR : estimated glomerular filtration rate

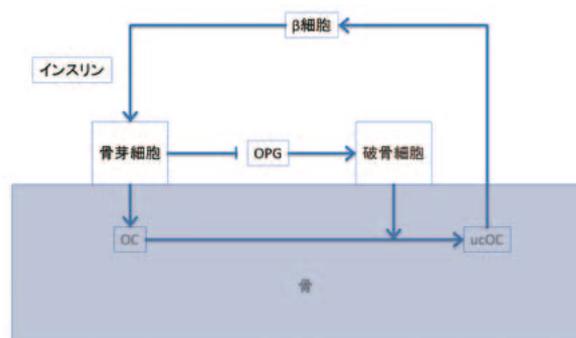


図8 骨代謝におけるインスリンとオステオカルシン  
文献78、79を参考に作成  
OC : osteocalcin, ucOC : undercarboxylated osteocalcin  
OPG : osteoprotegrin

2型糖尿病ではインスリンの作用不足があるため、骨芽細胞からのオステオカルシン産生が低下し、破骨細胞によるオステオカルシンの脱 $\gamma$ カルボキシル化を通じた血中非カルボキシル化オステオカルシン濃度は低下すると考えられる。オステオカルシンについては1型糖尿病、2型糖尿病とともに低下しており、糖尿病患者においてオステオカルシンは空腹時血糖値、HbA1cと負の相関を示した<sup>81-84</sup>。オステオカルシンと空腹時インスリン、インスリン分泌能、インスリン抵抗性についてはこれまでの研究では異なった成績が報告されている。Fernandezらはグルコスクランプ法を用いてインスリン感受性とオステオカルシンの関連を検討し、オステオカルシンとインスリン感受性は正の相関があることを報告した<sup>85, 68</sup>。スウェーデンでのKindlomらの報告では、非糖尿病患者では、オステオカルシンと空腹時インスリン、インスリン抵抗性の指標であるHOMA-IRは負の相関があることを示し一致している。Yeapらのオーストラリア人における研究でも、オステオカルシンと空腹時インスリンあるいはHOMA-IRは負の相関があることを示している<sup>87</sup>。一方Zhouらによる中国人の新規糖尿病患者での検討では空腹時インスリンとインスリン分泌能の指標であるHOMA- $\beta$ は正の相関を示したものの、HOMA-IRは関連しなかったと報告している<sup>88</sup>。Imらは糖尿病患者を9%含む韓国人閉経後女性において、オステ

オカルシンは空腹時インスリン、HOMA-IRとの関連は認めなかったと報告している<sup>83</sup>。上記の通り過去の報告では、オステオカルシンとHbA1cには負の相関を示す報告が多数である。

今回の研究では腎機能評価にeGFRcrを用いた場合にはオステオカルシンとHbA1cに関連を認めたが、腎機能評価にeGFRcysを用いた検討ではオステオカルシンとHbA1cに有意な差を認めなかった。このことはクレアチニンが筋肉量に依存することや、糖尿病の血糖値によりeGFRcrが変動することと関連しているかもしれない。あるいは、本研究におけるHbA1cの中央値が6.8%で第1四分位と第3四分位がそれぞれ6.2%、7.6%、IQR1.4と血糖コントロールが良好であったこと、またHbA1cの範囲が狭かったことが結果に影響している可能性がある。実際2011年のKanazawaらの研究ではHbA1cが男性 $9.1 \pm 2.4\%$ 、女性 $8.9 \pm 2.5$ と比較的高値群かつ範囲の広い群で検討されている<sup>68</sup>。一般にHbA1c値が7%を超えるとオステオカルシン値は血糖コントロールの影響を受けやすくなると考えられている。またZhouらの検討でもオステオカルシンは空腹時血糖、HbA1cと負の相関であったと報告しているが、こちらは男性、閉経前女性、閉経後女性でそれぞれ耐糖能正常群と2型糖尿病群を検討しており、オステオカルシンとHbA1cの関連に耐糖能正常群を含んでいることが影響している可能性も考えられる<sup>87</sup>。

非カルボキシル化オステオカルシンに関しては、eGFRcr、eGFRcysいずれを用いた評価でも非カルボキシル化オステオカルシンとHbA1cとは負の相関を示した。既報でも空腹時血糖、HbA1cと非カルボキシル化オステオカルシンの間には負の相関がみられている<sup>68, 89</sup>。

オステオカルシンは腎機能の廃絶した血液透析患者において、骨代謝回転と正の相関を示し<sup>90, 91</sup>、血液透析患者では血中オステオカルシン濃度は心血管イベントと関連することが報告されている。Yamashitaらは血液透析患者のオステオカルシン濃度を $71.5 \text{ ng/mL}$ を基準に低オステオカルシン群と高オステオカルシンの2群に分類し5年間の前向き縦断的研究を行ったところ、低オステオカルシン群は高オステオカルシン群の2.925倍心血管イベントの発生率が高かったと報告している<sup>92</sup>。またYeapらは高齢男性においてオステオカルシン濃度は糖尿病や他の心血管リスク因子と独立して、総死亡や心血管死亡と関連することを報告している<sup>93</sup>。

DelmasらはeGFRcrが $30 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 以上であれば年齢と性別に関係なく血中オステオカルシン値は正常であり、eGFRcrが $30 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 以下になる

と血中オステオカルシン値の上昇がみられ、 $20 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 以下で著明に上昇すると報告しているが<sup>76</sup>、今回我々が行った、2型糖尿病における検討では、eGFRcrが $30 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 未満の患者が5% (372名のうち19名)で、eGFRcysが30未満の患者は0% (372名のうち0名)であったにも関わらず、重回帰分析後も腎機能と相関を認めた。Delmasらの報告と異なった結果となった理由としては、Delmasらの報告が1983年と古くオステオカルシン測定方法が異なっていること、あるいは糖尿病患者では血糖コントロールそのものがオステオカルシン値に影響している可能性が考えられる<sup>94</sup>。

シスタチンCは分子量13,000のポリペプチドで、糸球体を自由に通過し、99%が近位尿細管で再吸収、分解される。そのためシスタチンCは糸球体濾過能を反映する内因性マーカーとして利用される<sup>95</sup>。血清クレアチニンによる糸球体濾過能の予測式では、血清クレアチニンが筋肉量など腎臓以外の因子が検査データに影響を与えること、また軽度腎機能障害では異常値を示さない、いわゆるblind areaの存在が知られているが<sup>96</sup>、シスタチンCは分子量がクレアチニンの100倍程度大きいため、軽度な腎機能障害でも鋭敏に反応するとされる<sup>97</sup>。血清クレアチニンやCockcroft-Gaultによる推定式と比較してもシスタチンCによる腎障害診断の感度は優位とされており、シスタチンCを用いたGFR推定式が提案されている<sup>96, 98</sup>。本症例におけるeGFRcrとeGFRcysの分布は図6、7のように大きく異なっており、オステオカルシンや非カルボキシル化オステオカルシンの評価にもeGFRcysを用いて検討する必要があると考えられる。

糖尿病における骨代謝はさらに糖尿病治療薬によっても影響を受けることも病態を複雑にしている。ピオグリタゾン代表とするチアゾリジン薬の標的分子であるperoxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ )は未分化間葉系幹細胞に作用し、未分化間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化を誘導し、骨芽細胞への分化を抑制する<sup>99</sup>。またPPAR  $\gamma$ はRunx2発現を抑制することでも骨芽細胞の分化を阻害する<sup>100</sup>。PPAR  $\gamma$ は破骨細胞にも存在し、PPAR  $\gamma$ 活性化により破骨細胞分化も誘導される<sup>101</sup>。これらよりチアゾリジン薬は骨脆弱性に関連していると考えられるが、実際チアゾリジン薬が骨折リスクと関連する報告がなされている。日本人2型糖尿病患者838名を用いた横断的研究ではピオグリタゾン投与群では非投与群と比較して既存椎体骨折のリスクが3.4倍となっている<sup>102</sup>。Bazelierらが行ったメタ解析でもチアゾリジン薬使用群と他の糖尿病治療薬使用群を比較すると女性では全骨折リスクが1.48倍に上昇しているという結果であった。た

だし男性でのチアゾリジン薬による骨折リスク上昇は確認されていない。

メトホルミンを代表としたビグアナイド薬は、未分化間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を誘導し、PPAR $\gamma$ の発現を抑制することで脂肪細胞分化を阻害すると報告されている。<sup>103</sup>またAGEsのひとつであるペントシジンの血中濃度を低下させる。<sup>104</sup>Vestergaardらは2型糖尿病では全骨折が1.2倍、大腿骨近位部骨折が1.4倍に増加するが、メトホルミンの中用量から高用量を内服している患者では骨折リスクが0.81倍に低下したと報告している。<sup>13</sup>Meltonらも24年間の後ろ向きコホート研究においても糖尿病患者では全骨折が1.3倍、大腿骨近位部骨折は1.5倍に増加しているが、メトホルミン使用患者では約0.7倍に骨折リスクが低下していたと報告している。<sup>22</sup>スルホニル尿素薬と骨代謝に関する研究は少ないが、疫学研究ではスルホニル尿素薬内服患者では骨折リスクが低下した報告がなされている。<sup>13,96</sup>インスリンは骨に対してはアナボリック作用を示すが、Monamiらはインスリン使用者では全骨折リスクが3.2倍に上昇していると報告している。<sup>105</sup>2009年より日本でもインクレチン関連薬であるglucagon-like peptide-1 (GLP-1)受容体作動薬とdipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)阻害薬が使用可能となった。インクレチンにはGLP-1とglucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)の2種類があり、いずれも動物実験で骨代謝との関連が指摘されている。GIP受容体は骨芽細胞と破骨細胞に発現しており、骨芽細胞のアポトーシスを抑制するとともに分化を促進する一方、破骨細胞分化を抑制すると報告されている。<sup>106</sup>GLP-1に関してはGLP-1受容体欠損マウスでは骨吸収増加を伴う骨量減少が認められたと報告されているが、<sup>108</sup>GLP-1受容体は骨芽細胞にも破骨細胞にも発現していないことから間接的な作用であると考えられている。ヒトにおけるDPP-4阻害薬の臨床試験で副作用報告としての骨折頻度をDPP-4阻害薬非投与群と比較したところ、骨折リスクは0.6倍であったと報告されているが、<sup>109</sup>骨折をエンドポイントとして設定した大規模試験は行われておらず、その評価は確定していない。

このように糖尿病患者における糖代謝と骨代謝の関係は複雑であり、単純に血糖値と骨代謝の関連で骨折リスク評価することは不適切である。実際に、2型糖尿病患者に対して血糖コントロールを行うと、オステオカルシンや尿中deoxypyridinoline、尿中type I collagen carboxy-terminal telopeptide、尿中Ca, bone-type alkaline phosphatase、血清alkaline phosphatase、1,25(OH) $_2$ Dといった骨代謝マーカーの改善につながる可能性が報告されているが、<sup>71</sup>現在のところ

臨床研究では血糖コントロールが骨折リスクを軽減するとは証明されていない。

糖尿病患者における骨の脆弱性は、インスリン作用不足、高血糖、骨代謝異常、病的架橋、腎不全、腎不全に伴う骨代謝異常といった様々な要素が重なりあっている。現在のところ糖尿病患者における骨折リスクを抑制するための治療薬の選択に特別な配慮をすべきか否かについての評価は定まっていない。ビスホスホネートは破骨細胞を抑制することで骨密度を増加させる薬剤であり、糖尿病患者の骨代謝の低回転を増悪させる可能性があるが、アレンドロネートの骨折抑制効果をみたFracture Intervention Trialのサブ解析では2型糖尿病患者においても骨密度増加が認められており、<sup>110</sup>デンマークにおける後ろ向き研究でもアレンドロネート、エチドロネートの骨折抑制効果は1型糖尿病、2型糖尿病ともに非糖尿病群と同等であったと報告されている。<sup>111</sup>また、選択的エストロゲン受容体促進薬であるSERM (selective estrogen receptor modulator)はエストロゲン受容体に選択的に作用し骨吸収を抑制させ、骨密度を増加させる薬剤であるが、SERMのひとつであるラロキシフェンはMultiple Outcomes of Raloxifene Evaluation試験のサブ解析において2型糖尿病群では非糖尿病群よりも椎体骨折を強く抑制したと報告されている。<sup>112</sup>2010年に販売されたテリパラチドは骨形成促進薬であるため、低代謝回転である糖尿病に対して有効である可能性があるが、販売後日が浅いこともあり、臨床的知見は乏しい。腎症を伴う糖尿病患者ではビタミンD不足の頻度が高いが、<sup>113</sup>糖尿病患者に対するビタミンDの投与が骨折リスクを非糖尿病群と比較して抑制するという報告はなされていない。

## 5. 結 語

骨質の劣化をきたしやすい糖尿病患者でのオステオカルシンと非カルボキシル化オステオカルシン値に及ぼす腎機能の影響を検討した。今回の検討により2型糖尿病患者ではeGFR30ml/min/1.73m $^2$ 以上であってもオステオカルシン、非カルボキシル化オステオカルシンは腎機能と関連することが明らかとなった。最近標準化されたシスタチンCを用いたeGFRcysはeGFRcrよりも正確に腎機能を反映すると考えられているが、eGFRcysを用いて解析した結果がeGFRcrを用いた時と一部異なっていた為、特に筋肉量の影響を受けやすい高齢者ではオステオカルシン値と非カルボキシル化オステオカルシン値を評価するには今後はeGFRcysを用いて解析することが望ましいと考えられた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました藤田保健衛生大学医学部内分泌・代謝内科伊藤光泰教授に心から感謝いたします。また、本研究に当たっての数々の御教示、御指導を頂いた内分泌・代謝内科鈴木敦詞准教授並びに内科学講座内分泌代謝科の教室員一同に謝意を捧げます。

## 文 献

- 1) International Diabetes Federation (2013) Diabetes Atlas, 6th ed. <http://www.idf.org/diabetes-atlas>
- 2) 厚生労働省 (2013) 平成 24 年国民健康・栄養調査報告. <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000032074.html>
- 3) Anonymous (1993) The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N. Engl. J. Med.* 329. 977–986.
- 4) Nathan, D. M., Cleary, P. A., Backlund, J. Y., Genuth, S. M., Lachin, J. M., Orchard, T. J., Raskin, P., and Zinman, B. (2005) Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group: Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 353. 2643–2653.
- 5) Anonymous (1998) Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 352. 837–853.
- 6) Holman, R. R., Paul, S. K., Bethel, M. A., Matthews, D. R., and Neil, H. A. (2008) 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 359. 1577–1589.
- 7) 厚生労働省: 平成 25 年国民生活基礎調査. <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/NewList.do?tid=000001031016>
- 8) Anonymous (2001) Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA.* 285. 785–795.
- 9) Albright, F. and Reifenstein, E. C. (1948) Bone development in diabetic children: a roentgen study. *Am. J. Med. Sci.* 174. 313–319.
- 10) Videman, T., Battié, M. C., Gibbons, L. E., Kaprio, J., Koskenvuo, M., Kannus, P., Raininko, R., and Manninen, H. (2000) Disc degeneration and bone density in monozygotic twins discordant for insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Orthop. Res.* 18. 768–772.
- 11) Tuominen, J. T., Impivaara, O., Puukka, P., and Rönnemaa, T. (1999) Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 22. 1196–1200.
- 12) Kemink, S. A., Hermus, A. R., Swinkels, L. M., Lutterman, J. A., and Smals, A. G. (2000) Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus: prevalence and aspects of pathophysiology. *J. Endocrinol. Invest.* 23. 295–303.
- 13) Vestergaard, P., Rejnmark, L., and Mosekilde, L. (2005) Relative fracture risk in patients with diabetes mellitus, and the impact of insulin and oral antidiabetic medication on relative fracture risk. *Diabetologia* 48. 1292–1299.
- 14) Janghorbani, M., Van Dam, R. M., Willett, W. C., and Hu, F. B. (2007) Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am. J. Epidemiol.* 166. 495–505.
- 15) Isidro, M. L. and Ruano, B. (2010) Bone disease in diabetes. *Curr. Diabetes Rev.* 6. 144–155.
- 16) Anonymous (1991) Consensus development conference: prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am. J. Med.* 90. 107–110.
- 17) Janghorbani, M., Van Dam, R. M., Willett, W. C., and Hu, F. B. (2007) Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *AM. J. Epidemiol.* 166. 495–505.
- 18) Vestergaard, P. (2007) Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis. *Osteoporos. Int.* 18. 427–444.
- 19) Yamamoto, M., Yamaguchi, T., Yamauchi, M., Kaji, H., and Sugimoto, T. (2007) Bone mineral density is not sensitive enough to assess the risk of vertebral fractures in type 2 diabetic women. *Calcif. Tissue Int.* 80. 353–358.
- 20) Schwartz, A. V., Vittinghoff, E., Bauer, D. C., Hillier, T. A., Strotmeyer, E. S., Ensrud, K. E., Donaldson, M. G., Cauley, J. A., Harris, T. B., Koster, A., Womack, C. R., Palermo, L., and Black, D. M. (2011) Study of Osteoporotic Fractures (SOF)

- Research Group ; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Research Group ; Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) Research Group : Association of BMD and FRAX score with risk of fracture in older adults with type 2 diabetes. *JAMA*. 305. 2184–2192.
- 21) Kanis, J. A., Johnell, O., Oden, A., Johansson, H., and McCloskey, E. (2008) FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos. Int.* 19. 385–397.
- 22) Schwartz, A. V., Sellmeyer, D. E., Ensrud, K. E., Cauley, J. A., Tabor, H. K., Schreiner, P. J., Jamal, S. A., Black, D. M., and Cummings, S. R. (2001) Study of Osteoporotic Features Research Group : Older women with diabetes have an increased risk of fracture : a prospective study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86. 32–38.
- 23) Melton, L. J. 3rd., Leibson, C. L., Achenbach, S. J., Therneau, T. M., and Khosla, S. (2008) Fracture risk in type 2 diabetes : update of a population-based study. *J. Bone Miner. Res.* 23. 1334–1342.
- 24) Lipscombe, L. L., Jamal, S. A., Booth, G. L., and Hawker, G. A. (2007) The risk of hip fractures in older individuals with diabetes : a population-based study. *Diabetes Care* 30. 835–841.
- 25) Yamamoto, M., Yamaguchi, T., Yamauchi, M., Kaji, H., and Sugimoto, T. (2009) Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of BMD or diabetic complications. *J. Bone Miner. Res.* 24. 702–709.
- 26) Bonds, D. E., Larson, J. C., Schwartz, A. V., Strotmeyer, E. S., Robbins, J., Rodriguez, B. L., Johnson, K. C., and Margolis, K. L. (2006) Risk of fracture in women with type 2 diabetes : the Women's Health Initiative Observational Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91. 3404–3410.
- 27) Petit, M. A., Paudel, M. L., Taylor, B. C., Hughes, J. M., Strotmeyer, E. S., Schwartz, A. V., Cauley, J. A., Zmuda, J. M., Hoffman, A. R., and Ensrud, K. E. (2010) Osteoporotic Fractures in Men (MrOs) Study Group : Bone mass and strength in older men with type 2 diabetes : the Osteoporotic Fractures in Men Study. *J. Bone Miner. Res.* 25. 285–291.
- 28) Burghardt, A. J., Issever, A. S., Schwartz, A. V., Davis, K. A., Masharani, U., Majumdar, S., and Link, T. M. (2010) High-resolution peripheral quantitative computed tomographic imaging of cortical and trabecular bone microarchitecture in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95. 5045–5055.
- 29) Cohen, A., Dempster, D. W., Recker, R. R., Lappe, J. M., Zhou, H., Zwahlen, A., Müller, R., Zhao, B., Guo, X., Lang, T., Saeed, I., Liu, X. S., Guo, X. E., Cremers, S., Rosen, C. J., Stein, E. M., Nickolas, T. L., McMahon, D. J., Young, P., and Shane, E. (2013) Abdominal fat is associated with lower bone formation and inferior bone quality in healthy premenopausal women : a transiliac bone biopsy study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98. 2562–2572.
- 30) Saito, M. and Marumo, K. (2010) Collagen cross-links as a determinant of bone quality : a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos. Int.* 21. 195–214.
- 31) Tanaka, K., Yamaguchi, T., Kaji, H., Kanazawa, I., and Sugimoto, T. (2013) Advanced glycation end products suppress osteoblastic differentiation of stromal cells by activating endoplasmic reticulum stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 438. 463–467.
- 32) Khosravi, R., Sodek, K. L., Faibish, M., and Trackman, P. C. (2014) Collagen advanced glycation inhibits its Discoidin Domain Receptor 2 (DDR2)-mediated induction of lysyl oxidase in osteoblasts. *Bone* 58. 33–41.
- 33) Cui, S., Xiong, F., Hong, Y., Jung, J. U., Li, X. S., Liu, J. Z., Yan, R., Mei, L., Feng, X., and Xiong, W. C. (2011) APPswe/A $\beta$  regulation of osteoclast activation and RAGE expression in an age-dependent manner. *J. Bone Miner. Res.* 26. 1084–1098.
- 34) Zhou, Z., Han, J. Y., Xi, C. X., Xie, J. X., Feng, X., Wang, C. Y., Mei, L., and Xiong, W. C. (2008) HMGB1 regulates RANKL-induced osteoclastogenesis in a manner dependent on RAGE. *J. Bone Miner. Res.* 23. 1084–1096.
- 35) Yamamoto, M., Yamaguchi, T., Nawata, K., Yamauchi, M., and Sugimoto, T. (2012) Decreased PTH levels accompanied by low bone formation are associated with vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97. 1277–1284.
- 36) Saito, M., Fujii, K., Mori, Y., and Marumo, K. (2006) Role of collagen enzymatic and glycation

- induced cross-links as a determinant of bone quality in spontaneously diabetic WBN/Kob rats. *Osteoporos. Int.* 17. 1514 – 1523.
- 37) Saito, M., Marumo, K., Fujii, K., and Ishioka, N. (1997) Single-column high-performance liquid chromatographic-fluorescence detection of immature, mature, and senescent cross-links of collagen. *Anal. Biochem.* 253. 26 – 32.
- 38) Vashishth, D. (2007) The role of the collagen matrix in skeletal fragility. *Curr. Osteoporos. Rep.* 5. 62 – 66.
- 39) Silva, M. J., Brodt, M. D., Lynch, M. A., McKenzie, J. A., Tanouye, K. M., Nyman, J. S., and Wang, X. (2009) Type 1 diabetes in young rats leads to progressive trabecular bone loss, cessation of cortical bone growth, and diminished whole bone strength and fatigue life. *J. Bone Miner. Res.* 24. 1618 – 1627.
- 40) Saito, M., Fujii, K., Soshi, S., and Tanaka, T. (2006) 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.* 17. 986 – 995.
- 41) Yamamoto, M., Yamaguchi, T., Yamauchi, M., Yano, S., and Sugimoto, T. (2008) Serum pentosidine levels are positively associated with the presence of vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 93. 1013 – 1029.
- 42) Schwartz, A. V., Garnero, P., Hillier, T. A., Sellmeyer, D. E., Strotmeyer, E. S., Feingold, K. R., Resnick, H. E., Tylavsky, F. A., Black, D. M., Cummings, S. R., Harris, T. B., and Bauer, D. C. (2009) Health, Aging, and Body Composition Study : Pentosidine and increased fracture risk in older adults with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94. 2380 – 2386.
- 43) Yamamoto, Y., Kato, I., Doi, T., Yonekura, H., Ohashi, S., Takeuchi, M., Watanabe, T., Yamagishi, S., Sakurai, S., Takasawa, S., Okamoto, H., and Yamamoto, H. (2001) Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. *J. Clin. Invest.* 108. 261 – 268.
- 44) Zong, H., Ward, M., Madden, A., Yong, P. H., Limb, G. A., Curtis, T. M., and Stitt, A. W. (2010) Hyperglycaemia-induced pro-inflammatory responses by retinal Müller glia are regulated by the receptor for advanced glycation end-products (RAGE). *Diabetologia* 53. 2656 – 2666.
- 45) Ogawa, N., Yamaguchi, T., Yano, S., Yamauchi, M., Yamamoto, M., and Sugimoto, T. (2007) 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.* 39. 871 – 875.
- 46) Okazaki, K., Yamaguchi, T., Tanaka, K., Notsu, M., Ogawa, N., Yano, S., and Sugimoto, T. (2012) Advanced glycation end products (AGEs), but not high glucose, inhibit the osteoblastic differentiation of mouse stromal ST2 cells through the suppression of osterix expression, and inhibit cell growth and increasing cell apoptosis. *Calcif. Tissue Int.* 9. 286 – 296.
- 47) Zhou, Z., Immel, D., Xi, C. X., Bierhaus, A., Feng, X., Mei, L., Nawroth, P., Stern, D. M., and Xiong, W. C. (2006) Regulation of osteoclast function and bone mass by RAGE. *J. Exp. Med.* 203. 1067 – 1080.
- 48) Yonekura, H., Yamamoto, Y., Sakurai, S., Petrova, R. G., Abedin, M. J., Li, H., Yasui, K., Takeuchi, M., Makita, Z., Takasawa, S., Okamoto, H., Watanabe, T., and Yamamoto, H. (2003) Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem. J.* 370. 1097 – 1109.
- 49) Yamamoto, M., Yamaguchi, T., Yamauchi, M., and Sugimoto, T. (2009) Low serum level of the endogenous secretory receptor for advanced glycation end products (esRAGE) is a risk factor for prevalent vertebral fractures independent of bone mineral density in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 32. 2263 – 2268.
- 50) Saito, M., Fujii, K., and Marumo, K. (2006) Degree of mineralization-related collagen crosslinking in the femoral neck cancellous bone in cases of hip fracture and controls. *Calcif. Tissue Int.* 79. 160 – 168.
- 51) McLean, R. R. and Hannan, M. T. (2007) B vitamins, homocysteine, and bone disease : epidemiology and pathophysiology. *Curr. Osteoporos. Rep.* 5. 112 – 119.

- 52) Vacek, T. P., Kalani, A., Voor, M. J., Tyagi, S. C., and Tyagi, N. (2013) The role of homocysteine in bone remodeling. *Clin. Chem. Lab. Med.* 51. 579–590.
- 53) Brunkow, M. E., Gardner, J. C., Van Ness, J., Paepers, B. W., Kovacevich, B. R., Proll, S., Skonier, J. E., Zhao, L., Sabo, P. J., Fu, Y., Alisch, R. S., Gillett, L., Colbert, T., Tacconi, P., Galas, D., Hamersma, H., Beighton, P., and Mulligan, J. (2001) Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein. *Am. J. Hum. Genet.* 68. 577–589.
- 54) Lewiecki, E. M. (2014) Role of sclerostin in bone and cartilage and its potential as a therapeutic target in bone diseases. *Ther. Adv. Musculoskel. Dis.* 6. 48–57.
- 55) Gennari, L., Merlotti, D., Valenti, R., Ceccarelli, E., Ruvio, M., Pietrini, M. G., Capodarca, C., Franci, M. B., Campagna, M. S., Calabrò, A., Cataldo, D., Stolakis, K., Dotta, F., and Nuti, R. (2012) Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97. 1737–1744.
- 56) Ardawi, M. S., Akhbar, D. H., Alshaikh, A., Ahmed, M. M., Qari, M. H., Rouzi, A. A., Ali, A. Y., Abdulrafee, A. A., and Saeda, M. Y. (2013) Increased serum sclerostin and decreased serum IGF-1 are associated with vertebral fractures among postmenopausal women with type-2 diabetes. *Bone* 56. 355–362.
- 57) Yamamoto, M., Yamauchi, M., and Sugimoto, T. (2013) Elevated sclerostin levels are associated with vertebral fractures in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98. 4030–4037.
- 58) Saito, M., Soshi, S., and Fujii, K. (2003) Effect of hyper- and microgravity on collagen post-translational controls of MC3T3-E1 osteoblasts. *J. Bone Miner. Res.* 18. 1695–1705.
- 59) Maruhashi, T., Kii, I., Saito, M., and Kudo, A. (2010) Interaction between periostin and BMP-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. *J. Biol. Chem.* 285. 13294–13303.
- 60) Bird, T. A. and Levene, C. I. (1982) Lysyl oxidase : evidence that pyridoxal phosphate is a cofactor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 108. 1172–1180.
- 61) Rogers, K. S. and Mohan, C. (1994) Vitamin B6 metabolism and diabetes. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 52. 10–17.
- 62) Nojiri, H., Saita, Y., Morikawa, D., Kobayashi, K., Tsuda, C., Miyazaki, T., Saito, M., Marumo, K., Yonezawa, I., Kaneko, K., Shirasawa, T., and Shimizu, T. (2011) Cytoplasmic superoxide causes bone fragility owing to low-turnover osteoporosis and impaired collagen cross-linking. *J. Bone Miner. Res.* 26. 2682–2694.
- 63) Yoho, R. M., Frerichs, J., Dodson, N. B., Greenhagen, R., and Geletta, S. (2009) A comparison of vitamin D levels in nondiabetic and diabetic patient populations. *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* 99. 35–41.
- 64) Inaba, M., Nishizawa, Y., Mita, K., Kumeda, Y., Emoto, M., Kawagishi, T., Ishimura, E., Nakatsuka, K., Shioi, A., and Morii, H. (1999) Poor glyce-mic control impairs the response of biochemical parameters of bone formation and resorption to exogenous 1,25-dihydroxyvitamin D3 in patients with type 2 diabetes. *Osteoporos. Int.* 9. 525–531.
- 65) Terada, M., Inaba, M., Yano, Y., Hasuma, T., Nishizawa, Y., Morii, H., and Otani, S. (1998) Growth-inhibitory effect of a high glucose concentration on osteoblast-like cells. *Bone* 22. 17–23.
- 66) Yoshida, O., Inaba, M., Terada, M., Shioi, A., Nishizawa, Y., Otani, S., and Morii, H. (1995) Impaired response of human osteosarcoma (MG-63) cells to human parathyroid hormone induced by sustained exposure to high glucose. *Miner. Electrolyte. Metab.* 21. 201–204.
- 67) Lee, N. K., Sowa, H., Hinoi, E., Ferron, M., Ahn, J. D., Confavreux, C., Dacquin, R., Mee, P. J., McKee, M. D., Jung, D. Y., Zhang, Z., Kim, J. K., Mauvais-Jarvis, F., Ducy, P., and Karsenty, G. (2007) Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 130. 456–469.
- 68) Ferron, M., McKee, M. D., Levine, R. L., Ducy, P., and Karsenty, G. (2012) Intermittent injections of osteocalcin improve glucose metabolism and prevent type 2 diabetes in mice. *Bone* 50. 568–575.
- 69) Kanazawa, I., Yamaguchi, T., Yamauchi, M., Yamamoto, M., Kurioka, S., Yano, S., and Sugimoto, T. (2011) Serum undercarboxylated osteocalcin

- was inversely associated with plasma glucose level and fat mass in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos. Int.* 22. 187 – 194.
- 70) Pittas, A. G., Harris, S. S., Eliades, M., Stark, P., and Dawson-Hughes, B. (2009) Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94. 827 – 832.
- 71) Iki, M., Tamaki, J., Fujita, Y., Kouda, K., Yura, A., Kadowaki, E., Sato, Y., Moon, J. S., Tomioka, K., Okamoto, N., and Kurumatani, N. (2012) Serum undercarboxylated osteocalcin levels are inversely associated with glycemic status and insulin resistance in an elderly Japanese male population : Fujiwara-kyo Osteoporosis Risk in Men (FORMEN) Study. *Osteoporos. Int.* 23. 761 – 770.
- 72) Okazaki, R., Totsuka, Y., Hamano, K., Ajima, M., Miura, M., Hirota, Y., Hata, K., Fukumoto, S., and Matsumoto, T. (1997) Metabolic improvement of poorly controlled noninsulin-dependent diabetes mellitus decreases bone turnover. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82. 2915 – 2920.
- 73) Nickolas, T. L., McMahon, D. J., and Shane, E. (2006) Relationship between moderate to severe kidney disease and hip fracture in the United States. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17. 3223 – 3232.
- 74) Ishimura, E., Nishizawa, Y., Inaba, M., Matsumoto, N., Emoto, M., Kawagishi, T., Shoji, S., Okuno, S., Kim, M., Miki, T., and Morii, H. (1999) Serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D, 24,25-dihydroxyvitamin D, and 25-hydroxyvitamin D in nondialyzed patients with chronic renal failure. *Kidney Int.* 55. 1019 – 1027.
- 75) Tomida, K., Hamano, T., Mikami, S., Fujii, N., Okada, N., Matsui, I., Nagasawa, Y., Moriyama, T., Ito, T., Imai, E., Isaka, Y., and Rakugi, H. (2009) Serum 25-hydroxyvitamin D as an independent determinant of 1-84 PTH and bone mineral density in non-diabetic predialysis CKD patients. *Bone* 44. 678 – 683.
- 76) Saito, M. and Marumo, K. (2010) Collagen cross-links as a determinant of bone quality : a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteopros. Int.* 21. 195 – 214.
- 77) Delmas, P. D., Wilson, D. M., Mann, K. G., and Riggs, B. L. (1983) Effect of renal function on plasma levels of bone Gla-protein. *Endocrinol. Metab.* 57. 1028 – 1030.
- 78) Motyl, K. J., McCabe, L. R., and Schwartz, A. V. (2010) Bone and glucose metabolism : a two-way street. *Arch. Biochem. Biophys.* 503. 2 – 10.
- 79) Fulzele, K., Riddle, R. C., DiGirolamo, D. J., Cao, X., Wan, C., Chen, D., Faugere, M. C., Aja, S., Hussain, M. A., Brüning, J. C., and Clemens, T. L. (2010) Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. *Cell* 142. 309 – 319.
- 80) Ferron, M., Wei, J., Yoshizawa, T., Del Fattore, A., DePinho, R. A., Teti, A., Ducy, P., and Karsenty, G. (2010) Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell* 142. 296 – 308.
- 81) McCabe, L. R. (2007) Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. *J. Cell Biochem.* 102. 1343 – 1357.
- 82) Inaba, M., Nishizawa, Y., Mita, K., Kumeda, Y., Emoto, M., Kawagishi, T., Ishimura, E., Nakatsuka, K., Shioi, A., and Morii, H. (1999) Poor glycemic control impairs the response of biochemical parameters of bone formation and resorption to exogenous 1,25-dihydroxyvitamin D3 in patients with type 2 diabetes. *Osteoporos. Int.* 9. 525 – 531.
- 83) Gerdhem, P., Isaksson, A., Akesson, K., and Obrant, K. J. (2005) Increased bone density and decreased bone turnover, but no evident alteration of fracture susceptibility in elderly women with diabetes mellitus. *Osteoporos. Int.* 16. 1506 – 1512.
- 84) Im, J. A., Yu, B. P., Jeon, J. Y., and Kim, S. H. (2008) Relationship between osteocalcin and glucose metabolism in postmenopausal women. *Clin. Chim. Acta* 396. 66 – 69.
- 85) Kanazawa, I., Yamaguchi, T., Yamamoto, M., Yamauchi, M., Kurioka, S., Yano, S., and Sugimoto, T. (2009) Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94. 45 – 49.
- 86) Fernández-Real, J. M., Izquierdo, M., Ortega, F., Gorostiaga, E., Gómez-Ambrosi, J., Moreno-Navarrete, J. M., Frühbeck, G., Martínez, C., Idoate, F., Salvador, J., Forga, L., Ricart, W., and Ibañez, J. (2009) The relationship of serum osteocalcin

- concentration to insulin secretion, sensitivity, and disposal with hypocaloric diet and resistance training. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94. 237–245.
- 87) Yeap, B. B., Chubb, S. A., Flicker, L., McCaul, K. A., Ebeling, P. R., Beilby, J. P., and Norman, P. E. (2010) Reduced serum total osteocalcin is associated with metabolic syndrome in older men via waist circumference, hyperglycemia, and triglyceride levels. *Eur. J. Endocrinol.* 163. 265–272.
- 88) Zhou, M., Ma, X., Li, H., Pan, X., Tang, J., Gao, Y., Hou, X., Lu, H., Bao, Y., and Jia, W. (2009) Serum osteocalcin concentrations in relation to glucose and lipid metabolism in Chinese individuals. *Eur. J. Endocrinol.* 161. 723–729.
- 89) Hwang, Y. C., Jeong, I. K., Ahn, K. J., and Chung, H. Y. (2009) The uncarboxylated form of osteocalcin is associated with improved glucose tolerance and enhanced beta-cell function in middle-aged male subjects. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 25. 768–777.
- 90) Ureña, P. and De Vernejoul, M. C. (1999) Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. *Kidney Int.* 55. 2141–2156.
- 91) Malluche, H. H., Faugere, M. C., Fanti, P., and Price, P. A. (1984) Plasma levels of bone Gla-protein reflect bone formation in patients on chronic maintenance dialysis. *Kidney Int.* 26. 869–874.
- 92) Yamashita, T., Okano, K., Tsuruta, Y., Akiba, T., and Nitta, K. (2013) Serum osteocalcin levels are useful as a predictor of cardiovascular events in maintenance hemodialysis patients. *Int. Urol. Nephrol.* 45. 207–214.
- 93) Yeap, B. B., Chubb, S. A., Flicker, L., McCaul, K. A., Ebeling, P. R., Hankey, G. J., Beilby, J. P., and Norman, P. E. (2012) Associations of total osteocalcin with all-cause and cardiovascular mortality in older men. The Health In Men Study. *Osteoporos. Int.* 23. 599–606.
- 94) Tsuda, A., Ishimura, E., Ohno, Y., Ichii, M., Nakatani, S., Machida, Y., Mori, K., Uchida, J., Fukumoto, S., Emoto, M., Nakatani, T., and Inaba, M. (2014) Poor glycemic control is a major factor in the overestimation of glomerular filtration rate in diabetic patients. *Diabetes Care.* 37. 596–603.
- 95) Pucci, L., Triscornia, S., Lucchesi, D., Fotino, C., Pellegrini, G., Pardini, E., Miccoli, R., Del Prato, S., and Penno, G. (2007) Cystatin C and estimates of renal function : searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. *Clin. Chem.* 53. 480–488.
- 96) Shemesh, O., Golbetz, H., Kriss, J. P., and Myers, B. D. (1985) Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int.* 28. 830–838.
- 97) Shimizu-Tokiwa, A., Kobata, M., Io, H., Kobayashi, N., Shou, I., Funabiki, K., Fukui, M., Horikoshi, S., Shirato, I., Saito, K., and Tomino, Y. (2002) Serum cystatin C is a more sensitive marker of glomerular function than serum creatinine. *Nephron.* 92. 224–226.
- 98) Mussap, M., Dalla Vestra, M., Fioretto, P., Saller, A., Varagnolo, M., Nosadini, R., and Plebani, M. (2002) Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int.* 61. 1453–1461.
- 99) Akune, T., Ohba, S., Kamekura, S., Yamaguchi, M., Chung, U. I., Kubota, N., Terauchi, Y., Harada, Y., Azuma, Y., Nakamura, K., Kadowaki, T., and Kawaguchi, H. (2004) PPARgamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J. Clin. Invest.* 113. 846–855.
- 100) Kang, S., Bennett, C. N., Gerin, I., Rapp, L. A., Hankenson, K. D., and Macdougald, O. A. (2007) Wnt signaling stimulates osteoblastogenesis of mesenchymal precursors by suppressing CCAAT/enhancer-binding protein alpha and peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J. Biol. Chem.* 282. 14515–14524.
- 101) Wan, Y., Chong, L. W., and Evans, R. M. (2007) PPAR-gamma regulates osteoclastogenesis in mice. *Nat. Med.* 13. 1496–1503.
- 102) Kanazawa, I., Yamaguchi, T., Yamamoto, M., and Sugimoto, T. (2010) Relationship between treatments with insulin and oral hypoglycemic agents versus the presence of vertebral fractures in type 2 diabetes mellitus. *J. Bone Miner. Metab.* 28. 554–560.
- 103) Gao, Y., Xue, J., Li, X., Jia, Y., and Hu, J. (2008) Metformin regulates osteoblast and adipocyte differentiation of rat mesenchymal stem cells. *J. Pharm. Pharmacol.* 60. 1695–1700.
- 104) Kanazawa, I., Yamamoto, M., Yamaguchi, T., and

- Sugimoto, T. (2011) Effects of metformin and pioglitazone on serum pentosidine levels in type 2 diabetes mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 119. 362 – 365.
- 105) Monami, M., Cresci, B., Colombini, A., Pala, L., Balzi, D., Gori, F., Chiasserini, V., Marchionni, N., Rotella, C. M., and Mannucci, E. (2008) Bone fractures and hypoglycemic treatment in type 2 diabetic patients : a case-control study. *Diabetes Care*. 31. 199 – 203.
- 106) Bollag, R. J., Zhong, Q., Phillips, P., Min, L., Zhong, L., Cameron, R., Mulloy, A. L., Rasmussen, H., Qin, F., Ding, K. H., and Isales, C. M. (2000) Osteoblast-derived cells express functional glucose-dependent insulinotropic peptide receptors. *Endocrinology* 141. 1228 – 1235.
- 107) Zhong, Q., Itokawa, T., Sridhar, S., Ding, K. H., Xie, D., Kang, B., Bollag, W. B., Bollag, R. J., Hamrick, M., Insogna, K., and Isales, C. M. (2007) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 292. E543 – E548.
- 108) Yamada, C., Yamada, Y., Tsukiyama, K., Yamada, K., Udagawa, N., Takahashi, N., Tanaka, K., Drucker, D. J., Seino, Y., and Inagaki, N. (2008) The murine glucagon-like peptide-1 receptor is essential for control of bone resorption. *Endocrinology* 149. 574 – 579.
- 109) Monami, M., Dicembrini, I., Antenore, A., and Mannucci, E. (2011) Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and bone fractures : a meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes Care*. 34. 2474 – 2476.
- 110) Keegan, T. H., Schwartz, A. V., Bauer, D. C., Sellmeyer, D. E., and Kelsey, J. L. (2004) fracture intervention trial : Effect of alendronate on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in type 2 diabetic women : the fracture intervention trial. *Diabetes Care*. 27. 1547 – 1553.
- 111) Vestergaard, P., Rejnmark, L., and Mosekilde, L. (2011) Are antiresorptive drugs effective against fractures in patients with diabetes? *Calcif. Tissue Int.* 88. 209 – 214.
- 112) Johnell, O., Kanis, J. A., Black, D. M., Balogh, A., Poor, G., Sarkar, S., Zhou, C., and Pavo, I. (2004) Associations between baseline risk factors and vertebral fracture risk in the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Study. *J. Bone Miner. Res.* 19. 764 – 772.
- 113) de Boer, I. H., Ioannou, G. N., Kestenbaum, B., Brunzell, J. D., and Weiss, N. S. (2007) 25-Hydroxyvitamin D levels and albuminuria in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am. J. Kidney Dis.* 50. 69 – 77.