

非透析 CKD 患者における冠動脈・腹部大動脈石灰化スコア, 血清オステオプロテゲリン(OPG), および血清酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRACP)-5b の関連

塩田 潤*¹ 泉 治紀*¹ 笠原 仁*¹ 多川 斉*¹
千葉哲男*² 二瓶 宏*²

Relationship between coronary and abdominal calcification score, serum osteoprotegerin(OPG), and serum tartrate-resistant acid phosphatase(TRACP)-5b in pre-dialysis CKD patients

Jun SHIOTA *¹, Naoki IZUMI *¹, Hitoshi KASAHARA *¹, Hitoshi TAGAWA *¹,
Tetsuo CHIBA *², and Hiroshi NIHEI *²

*¹Department of Internal Medicine, Kichijoji Asahi Hospital, Tokyo, *²Yokohama Dai-ichi Hospital, Kanagawa, Japan

要 旨

オステオプロテゲリン(OPG)は、破骨細胞の receptor-activator of nuclear factor- κ B(RANK)への RANK ligand(RANKL)の結合を阻害する。血管で OPG が破骨細胞様細胞活性を低下させ血管石灰化促進に働く可能性が *in vitro* で示唆されるが、一方、OPG ノックアウトマウスでは血管石灰化促進が示されており、血清 OPG が血管石灰化の代替指標である可能性もある。

われわれは、非透析 CKD 患者(eGFR 平均約 20 mL/分)30 例で、MDCT による冠動脈石灰化スコア(CACS)および腹部大動脈石灰化スコア(AAoCS)と血清 OPG、可溶性 RANKL(sRANKL)、および腎機能に影響されない破骨細胞マーカーである血清酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRACP)-5b との相関を検討した。CACS、AAoCS は中央値 54.4、1,088 Agatston unit(AU)と増加し、血清 OPG は増加、血清 sRANKL は減少していた。CACS \geq 100 AU を結果変数とした多変量ロジスティック回帰分析では CACS と血清補正 Ca \cdot iP 積および血清 OPG との正相関を認めたが、血清 TRACP-5b との相関を認めなかった。ROC 解析では CACS \geq 100 AU を予測する血清 OPG の cut-off 値は 5.2 pmol/L(624 pg/mL)であった。log(AAoCS+1)を従属変数、年齢、eGFR、血清アルブミン、OPG および骨型アルカリホスファターゼ(BAP)、および log(血清 TRACP-5b)を独立変数とした変数選択重回帰分析では血清 OPG のみが採択された。CACS 測定群、AAoCS 測定群ともに血清 OPG と血清 TRACP-5b との相関を認めなかった。

非透析 CKD 患者において、血管石灰化と血清 OPG との正相関が確認されたが、両者と血清 TRACP-5b との相関を認めなかった。

Osteoprotegerin(OPG) inhibits interaction of the receptor-activator of nuclear factor- κ B(RANK) ligand(RANKL) with its receptor RANK, which is expressed on osteoclasts. OPG appeared to accelerate vascular calcification *in vitro* by the inhibition of vascular osteoclast-like cells. On the contrary, early-onset arterial calcification was observed in OPG-deficient mice.

We measured the coronary artery calcification score(CACS) and abdominal aortic calcification score(AAoCS) by multi-detector computed tomography in 30 pre-dialysis CKD patients(eGFR 20 mL/min or

average). Biomarkers were measured, including serum OPG, soluble RANKL (sRANKL) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP)-5b (the biomarker of osteoclasts independent of renal function). The median values of CACS and AAoCS were 54.4 and 1,088 Agatston units (AU), respectively. Serum OPG was increased and serum sRANKL was decreased. In a multivariate logistic regression analysis using $CACS \geq 100$ AU as the outcome variable, CACS was found to be positively correlated with serum corrected $Ca \times iP$ product and serum OPG, though it was not correlated with serum TRACP-5b. ROC curve analysis showed that the serum OPG cut-off value predicting $CACS \geq 100$ AU was 5.2 pmol/L (624 pg/mL). In a stepwise regression analysis, $\log(AAoCS + 1)$ was positively correlated with serum OPG alone, but it was not correlated with age, eGFR, serum albumin and bone alkaline phosphatase (BAP). No correlation was found between serum OPG and serum TRACP-5b.

In conclusion, vascular calcification in pre-dialysis CKD patients was correlated with an increase in OPG, but was independent of serum TRACP-5b. The decrease in serum sRANKL may have been caused by the increase in OPG production.

Jpn J Nephrol 2010 ; 52 : 1022-1028.

Key words : OPG, RANKL, CKD, vascular calcification, TRACP-5b

緒 言

骨芽細胞に発現する receptor-activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) は、破骨細胞の受容体 receptor-activator of nuclear factor- κ B (RANK) に結合し、破骨細胞の分化・活性化に必須とされている。可溶性糖蛋白であるオステオプロテゲリン (OPG) は、RANKL に対するデコイ受容体としてこの結合を抑制することから、OPG/RANKL/RANK 系は骨リモデリングの重要な制御因子であることが知られている¹⁾。アテローム硬化プラークには OPG, RANKL および破骨細胞様細胞が確認されているので、OPG/RANKL/RANK 系が血管病変の制御にかかわっている可能性がある²⁾。

慢性腎臓病 (CKD) 患者において、血管石灰化はアテローム硬化および中膜病変のマーカーであり、心血管イベントの予測因子になる³⁾。非透析 CKD 患者では早期から冠動脈石灰化スコア (CACS) の進行が確認されており⁴⁾、血清 OPG と CACS は正相関すると報告されている^{5~7)}。仮に OPG/RANKL/RANK 系が骨、血管で同様に機能するならば、血管石灰化は、RANKL の刺激で分化・活性化する破骨細胞様細胞の石灰溶解作用が、平滑筋細胞が形質転換した骨芽細胞様細胞の石灰沈着作用に打ち勝てない状況で進行すると予想され^{8,9)}、OPG は RANKL 作用の障害を介し血管石灰化促進に働く可能性が示唆される。しかし、これらは *in vitro* の成績に基づいており、一方 *in vivo* の検討では、OPG ノックアウトマウスにおいて動脈石灰化を確認した報告¹⁰⁾や、OPG ノックアウトマウスに高リン食、calcitriol 静注を併用し惹起された大動脈石灰化病変においてアルカリホスファターゼ (ALP) 増加を確認した報告¹¹⁾、および大動脈石灰化の進行が OPG の transgene で抑制された報告¹²⁾

があり、これらから OPG の血管石灰化抑制作用が示唆される。しかし、これらの報告は CKD モデルではなく、またリンや calcitriol による修飾もあることから、非透析 CKD 患者とは異なっている。一方、TNF- α は血管石灰化を誘導すると同時に血管平滑筋細胞や血管内皮細胞の OPG 発現を誘導することから¹³⁾、OPG が血管石灰化の代替指標に過ぎない可能性もある。

今回われわれは、非透析 CKD 患者において、CACS および腹部大動脈石灰化スコア (AAoCS) と血清 OPG の関連について検討し、さらに腎機能の影響を受けにくい破骨細胞マーカーである血清酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRACP)-5b との相関を検討した。

対象と方法

対象は、外来通院中の非透析 CKD 患者 30 例であり、日本腎臓学会による推算糸球体濾過値 (eGFR) は 4.8~36.9 mL/分 (最小値~最大値) であった。いずれも 3 カ月以内の心血管イベントがなく、リン吸着薬、ビタミン D およびビスホスホネート製剤の投与を受けていなかった。なお、研究の目的・方法をあらかじめ患者に説明し文書による承諾を得た。

非造影 multi-detector computed tomography (MDCT ; Aquilion 32, 東芝メディカル, 東京) によって撮像し、CACS を 27 例で、AAoCS を 30 例で測定した。CACS は、MDCT の関心領域を右冠動脈、左冠動脈主幹部、左前下行枝および左回旋枝に設定した。スライス幅 3 mm, スキャン時間 250 ms で撮影した心電図同期下拡張期画像を集積し、石灰化スコアリングソフト (ZIOSTATION, ザイオソフト社, 東

Table 1. Characteristics, laboratory data and calcification score measured by MDCT

	CACS group (n=27)	AAoCS group (n=30)	normal range	
Age	70.4±11.6	70.3±11.6		
Male/Female	16/11	19/11		
DM/non-DM	13/14	15/15		
eGFR (mL/min)	20.8±9.0	21.9±8.3		
Serum CRP (mg/dL)	0.12 (0.02~3.50)	0.16 (0.02~3.50)		<0.05
Serum ALB (g/dL)	4.0 (2.6~4.6)	4.0 (2.6~4.6)		3.5~4.5
Serum corrected Ca × iP [(mg/dL) ²]	31.9±6.4	31.7±6.2		
Serum calcitriol (pg/mL)	26.2±14.5	26.0±13.7		20~60
Serum wPTH (pg/mL)	47.1 (21.2~346.0)	47.8 (21.2~346.0)		9.0~39.0
Serum BAP (U/L)	26.0±6.0	25.0±6.4	Male	13.0~33.9
			Female	9.6~35.4
Serum TRACP-5b (mU/dL)	419 (205~1,040)	382 (168~1,040)	Male	170~590
			Female	120~760
Serum OPG (pmol/L)	5.6±2.2	5.8±1.8	Median	1.8
Serum sRANKL (pmol/L)	0.06 (0.03~0.51)	0.06 (0.03~0.51)	Male median	0.46
			Female median	0.37
CACS (AU)	54.4 (0~689.0)			
AAoCS (AU)		1,088 (0~3,119)		

Mean±SD, median (min~max)

京)で Agatston スコアに換算した。AAoCS は、スライス厚 3 mm, スキャン時間 250 ms で、大動脈分岐部より中極側 4 cm の心電図非同期画像を集積し、CACS と同様に Agatston スコアに換算した¹⁴⁾。

MDCT 施行の前後 2 週間以内に採血を行い、eGFR, 血清 CRP, アルブミン (ALB), 補正 Ca, iP, 補正 Ca · iP 積および calcitriol (1,25 (OH)₂RIA キット「TFB」, Immunodiagnostic Systems, Boldon, UK), 血清 whole parathyroid hormone (wPTH) (Whole PTH「住友」, Scantibodies Laboratory, USA), 骨型アルカリホスファターゼ (BAP) (オステオリンクス「BAP」, Quidel Corporation, San Diego, USA), TRACP-5b (オステオリンクス「TRAP-5b」, ニットーボーメディカル, 東京), OPG (OPG ELISA, Biomedica, Vienna, Austria) および可溶性 RANKL (sRANKL) (Ampli sRANKL ELISA, Biomedica, Vienna, Austria) を測定した。腎機能の影響を受けにくい骨吸収, 骨形成のマーカーとしてそれぞれ血清 TRACP-5b¹⁵⁾, 血清 BAP¹⁶⁾ を用いた。

各変数は平均値±標準偏差 (SD) または中央値 (最小値~最大値) で示した。CACS と諸データ (一部は log 変換) の相関は Pearson の相関係数および重回帰分析で検討した。さらに CACS < 100 Agatston unit (AU), CACS ≥ 100 AU で分けた 2 群の諸データの比較を Student's *t*-test あるいは Mann-Whitney test で行い、CACS ≥ 100 AU で分けた冠動脈石灰化の存在と諸データの相関を多変量ロジスティック回

帰分析で検討した。AAoCS と性別および糖尿病の有無の相関は Spearman の順位相関係数, あるいは log (AAoCS+1) と諸データ (一部は log 変換) の単相関は Pearson の相関係数で検討し, さらに変数選択重回帰分析で独立した相関因子を抽出した。p < 0.05 を統計学的に有意とした。統計計算には StatView version 5.0 for Windows (SAS Institute Inc., Cary, USA) を用いた。CACS ≥ 100 AU, < 100 AU における血清 OPG の cut-off 値を得るために ROC 曲線を描き, area under the curve (AUC) および Youden index を算出した。AUC > 0.7 を有意とした。

結 果

Table 1 に CACS 測定群と AAoCS 測定群の背景, 腎機能, 血液データおよび血管石灰化スコアを示した。年齢は平均約 70 歳と高齢, ほぼ半数が糖尿病であり, eGFR は約 20 mL/分であった。血清 CRP は軽度上昇, 血清 ALB および血清補正 Ca · iP 積は正常, 血清 calcitriol は軽度低下, 血清 wPTH は軽度上昇, 血清 BAP は正常, 血清 TRACP-5b は上昇傾向を示した。血清 OPG は高値, 血清 sRANKL は対照的に著明な低値であった。CACS は中央値 54.4 AU, AAoCS は中央値 1,088 AU と高値であった。

log (CACS+1) と血液データ (CRP, ALB, wPTH, TRACP-5b および sRANKL は log 変換) の単相関分析では, 血清補

Table 2. Comparison of patients with CACS < 100 (n=15) and CACS ≥ 100 (n=12)

	CACS < 100 (n=15)	CACS ≥ 100 (n=12)	p
CACS (AU)	4.0 (0~82.7)	382 (116~689)	< 0.0001
Age	67.8 ± 13.7	73.6 ± 7.7	ns
Male/Female	10/5	6/6	ns
DM/non-DM	8/7	5/7	ns
eGFR (mL/min)	21.9 ± 8.0	19.5 ± 10.4	ns
Serum CRP (mg/dL)	0.24 (0.03~3.50)	0.09 (0.02~1.25)	ns
Serum ALB (g/dL)	4.0 (3.2~4.5)	4.1 (2.6~4.6)	ns
Serum corrected Ca × iP ² [(mg/dL) ²]	20.0 ± 5.1	35.6 ± 6.0	< 0.005
Serum calcitriol (pg/mL)	28.7 ± 14.4	22.9 ± 14.4	ns
Serum wPTH (pg/mL)	37.1 (26.6~254.0)	58.9 (21.2~346.0)	ns
Serum BAP (U/L)	24.0 ± 6.0	28.3 ± 5.4	ns
Serum TRACP-5b (mU/dL)	375 (205~1,040)	428 (259~350)	ns
Serum OPG (pmol/L)	4.8 ± 2.1	6.7 ± 1.8	< 0.05
Serum sRANKL (pmol/L)	0.07 (0.03~0.51)	0.06 (0.03~0.42)	ns

Mean ± SD, median (min~max)

Table 3. Multivariate logistic regression analysis using CACS ≥ 100 as the outcome variate (n=27)

	OR	95 %CI	p
Model 1			
Serum corrected Ca × iP ² [(mg/dL) ²]	1.408	1.025~1.934	< 0.05
Serum BAP	1.234	0.956~1.593	ns
Serum TRACP-5b	0.995	0.989~1.001	ns
Serum OPG	3.001	1.069~8.423	< 0.05
Model 2			
Age	0.982	0.881~1.095	ns
Male=1, Female=0	0.433	0.060~3.148	ns
DM=1, non-DM=0	0.626	0.082~4.803	ns
Serum OPG	1.908	0.982~3.704	< 0.05
Serum sRANKL	30.063	0.004~254,006.013	ns

正 Ca · iP 積, 血清 BAP および血清 OPG に有意であったが, 重回帰分析では有意な相関は確認されなかった。そこで, 冠動脈石灰化の程度と血液データの関連をロジスティック回帰分析で検討した。Table 2 は Rumberger ら¹⁷⁾ が分類した CACS 中等度増加群 (CACS ≥ 100 AU), 無石灰化~軽度増加群 (CACS < 100 AU) 間の患者背景, 腎機能およびデータの比較であるが, 血清補正 Ca · iP 積, 血清 OPG は前者で高値であり, 有意差を認めた (p < 0.005, p < 0.05)。

Table 3 は CACS ≥ 100 AU を結果変数とした 2 つのモデルの多変量ロジスティック回帰分析を示している。モデル 1 では, CACS ≥ 100 で分けた冠動脈石灰化の進行と血清補正 Ca · iP 積および血清 OPG には有意な相関を認めたが (p < 0.05, p < 0.05), 血清 BAP, 血清 TRACP-5b との相関は認めなかった。血清 OPG は年齢, 性別および糖尿病と相関が強い点を考慮しモデル 2 として解析したところ, 血

清 OPG と CACS の独立した相関が確認された (p < 0.05)。ROC 曲線の AUC は 0.759 であり, 血清 OPG で CACS ≥ 100, < 100 を予測する効果は有意であり, Youden index から導いた血清 OPG の cut-off 値は 5.2 pmol/L (624 pg/mL) であり, 感度 75 %, 特異度 60 % であった。

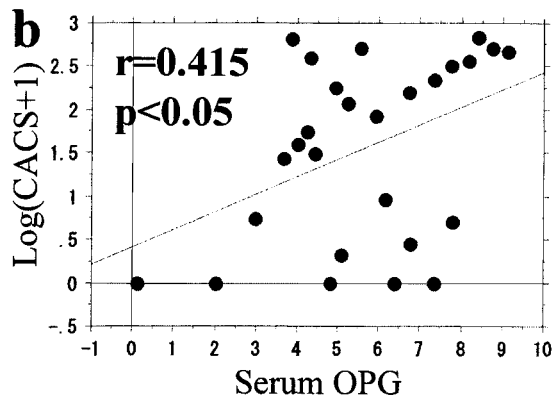
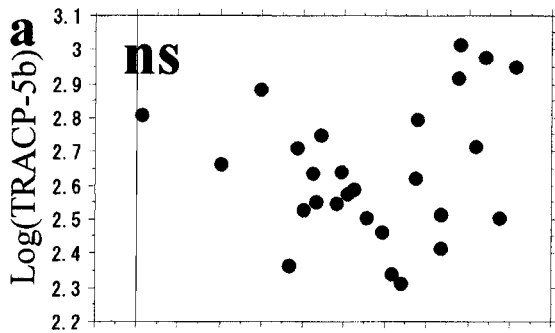
Table 4 は AAoCS と患者背景, 腎機能および血液データの単相関を示している。AAoCS と年齢および血清 OPG との正相関 (p < 0.05, p < 0.01), eGFR および血清 ALB との負相関 (p < 0.05, p < 0.05) を認めた。年齢, eGFR, log (血清 ALB), 血清 OPG に血清 BAP, log (血清 TRACP-5b) を加え独立変数とし, log (AAoCS + 1) を従属変数とした変数選択重回帰分析では変数増加法, 減少法とも血清 OPG のみが採択された (r² = 0.180, p = 0.0112; β = 0.457, t = 2.716, p = 0.0112)。

Fig. に示すように, 血清 OPG と log (CACS + 1) および

Table 4. Correlation between Log(AAoCS+1) or AAoCS, and characteristics and laboratory data (n=30)

	r	p(Pearson)	p(Spearman)
Age	0.420	<0.05	
Male=1, Female=0			ns
DM=1, non-DM=0			ns
eGFR	-0.394	<0.05	
Log(serum CRP)	0.036	ns	
Log(serum ALB)	-0.364	<0.05	
Serum corrected Ca×iP	0.172	ns	
Serum calcitriol	-0.145	ns	
Log(serum wPTH)	0.176	ns	
Serum BAP	-0.245	ns	
Log(serum TRACP-5b)	-0.011	ns	
Serum OPG	0.457	<0.01	
Log(serum sRANKL)	-0.333	ns	

a,b: Coronary artery calcification score (CACS)



c,d: Abdominal aortic calcification score (AAoCS)

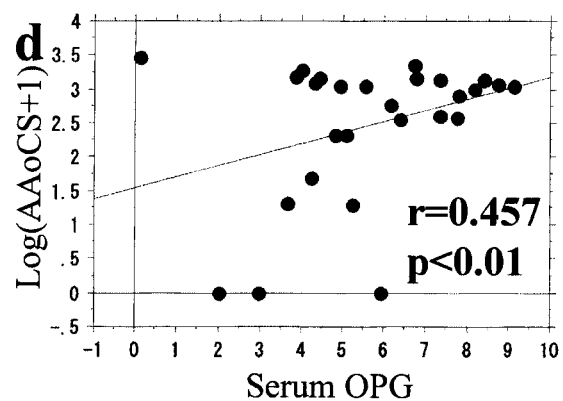
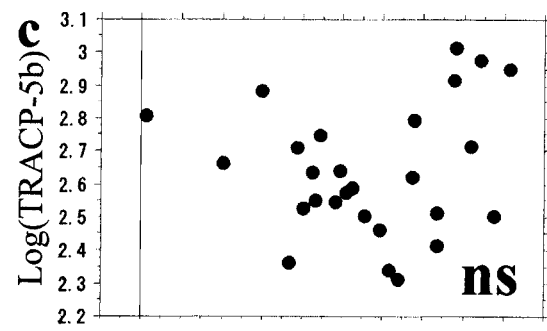


Fig. Correlation between serum OPG and vascular calcification score or serum TRACP-5b

log(AAoCS+1)はそれぞれ正相関したが($p<0.05$, $p<0.01$), CACS 測定群, AAoCS 測定群ともに, 血清 OPG と血清 TRACP-5b の相関を認めなかった。また, 両測定群ともに血清 OPG と血清 BAP, wPTH および calcitriol にも相関を認めなかった。

考 察

われわれは非透析 CKD 患者(eGFR 平均約 20 mL/分)において, CACS と血清 OPG および血清補正 Ca・iP 積の間に正相関を認めたが, 血清 BAP, 血清 TRACP-5b との相関を認めなかった。また AAoCS と血清 OPG の間に正相関を

認めしたが、血清 BAP、血清 TRACP-5b との相関を認めなかった。CACS 測定群、AAoCS 測定群ともに、血清 OPG と血清 TRACP-5b、BAP、wPTH および calcitriol には相関を認めなかった。われわれが認めた CACS と血清補正 Ca・iP 積との正相関は、腎のリン排泄不全によるものと考えられた。

透析患者においては、Barreto ら¹⁸⁾は CACS と血清 OPG の強い正相関を報告し、Nitta ら¹⁹⁾は腹部大動脈石灰化指数と血清 OPG の正相関を報告している。一方、非透析 CKD 患者においては、Mikami ら⁵⁾は CKD ステージ 1~5 の糖尿病患者で、CACS と血清 OPG に正相関を認めしたが、血清 BAP、intact-PTH および calcitriol との相関は認めなかった。Morena ら⁶⁾は eGFR 中央値 31.7 mL/分、糖尿病の患者 24.8%の集団で多変量ロジスティック回帰分析を行い、年齢、性別、糖尿病の有無、喫煙歴の有無、心血管病歴を調整後も CAC 進行度(CACS<, ≥100 AU で群分け)と血清 OPG との有意な相関を認めしたが、CAC 進行度と血清 ALP、intact-PTH、および calcitriol との相関は認めなかった。また、Mesquita ら⁷⁾は平均 eGFR 21 mL/分の CKD ステージ 4 患者において、CACS を従属変数、年齢、血清 Ca・iP 積、血清 intact-PTH、GFR、血清 OPG、血清 sRANKL を独立変数とした変数選択重回帰分析を行い、CACS と年齢および血清 OPG のみに有意な正相関を認めている。すなわち、非透析 CKD 患者を対象とした報告^{5~7)}では、CACS と血清 OPG には正相関を認めしたが、CACS と骨形成のパラメータとしての血清 BAP、血清 ALP および骨代謝回転の間接的パラメータとしての PTH との相関を認めなかった。

われわれが検索しえた限りでは、血管石灰化あるいは血清 OPG と骨吸収マーカーの相関を検討した報告はないため、われわれは CACS および AAoCS あるいは血清 OPG と、腎機能の影響を受けにくい骨吸収マーカーである血清 TRACP-5b の相関を検討した。その結果、血管石灰化と血清 OPG の正相関は確認されたが、CACS、AAoCS および血清 OPG と血清 TRACP-5b の相関は認めなかった。Tomiyama ら²⁰⁾も非透析 CKD 患者(平均クレアチニンクリアランス 39 mL/分)で骨生検および CACS 測定を行い、冠動脈石灰化の有無で単位吸収面(ES/BS)、破骨細胞面(Oc. S/BS)の有意差を認めなかった。したがって、OPG と破骨細胞あるいは破骨細胞様細胞との関連は明らかではなく、非透析 CKD 患者では血管石灰化に対する OPG/RANKL/RANK 系の関与は認められなかった。

われわれが得た非透析 CKD 患者における中等度以上(CACS≥100 AU)の冠動脈石灰化の存在を予測する血清

OPG の cut-off 値は 5.2 pmol/L(624 pg/mL)であり、Morena ら⁶⁾がわれわれが用いたキットと同じサンドイッチ ELISA 法である BioVendor Laboratory Medicine 製キットで測定した CACS≥100 AU を予測する cut-off 値(757.7 pg/mL)とほぼ同等であった。欧米で主に使用されている血清 OPG 測定キットは BioVendor Laboratory Medicine 製または Immuno-diagnostic Systems 製で、両キット間の良好な相関が示されている。われわれが用いたキットも前述の 2 キットと同様に、血清中の OPG 2 量体、free OPG および OPG-sRANKL 複合体を検出しており、本研究で得た cut-off 値は有用と考えられた。Mikami ら⁵⁾は CACS>200 AU を予測する ROC 曲線(AUC 0.716)を求め、血清 OPG の cut-off 値 1,207 pg/mL(感度 79.4%、特異度 66.7%)を得ている。

透析患者で CACS 200 AU で分けた 2 群の平均 43.8 カ月の観察で死亡率の有意差が報告されている²¹⁾。冠動脈石灰化は CKD ステージ早期から認められ⁴⁾、非透析 CKD 患者でも CACS 10 AU で分けた 2 群の 24 カ月の観察で、年齢、糖尿病で補正すると有意差は消失するものの、生存期間の有意差が報告されている²²⁾。CKD 患者において臨床的意義を分ける CACS 値がより明らかになれば、血清 OPG の cut-off 値の算出は有益と考えられた。

非透析 CKD 患者で CACS と血清 sRANKL の相関を検討した報告はわれわれが検索しえた限り見当たらないが、Schoppet ら²³⁾は、冠動脈造影を施行された白人で、血清 sRANKL は年齢、糖尿病、高血圧および高脂血症の有無、BMI とは関連がないが、血清 OPG と負相関すると報告している。われわれの用いた OPG 測定系は OPG-sRANKL 複合体も測り込むので、OPG の顕著な増加に伴い鏡像的に低下している可能性がある。最近報告された sRANKL、sRANKL-OPG 複合体ともに測り込める血清 total-RANKL の測定系で新たな情報が得られる可能性がある²⁴⁾。

結 論

非透析 CKD 患者において、血管石灰化と血清 OPG に正相関を認めしたが、これらと破骨細胞マーカーである TRACP-5b との相関は認めなかった。中等度以上の冠動脈石灰化の存在を予測する血清 OPG 値は 5.2 pmol/L(624 pg/mL)であった。

謝 辞

本研究の共同研究者としてご協力を賜りました浦安市川市民病院検査科 上田眞智代先生、同放射線科 大西祐吉先生に御礼申し上げます。

文献

1. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bunnett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin : a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997 ; 89 : 309-319.
2. D'Amelio P, Isaia G, Isaia GC. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system : A bone key to vascular disease. *J Endocrinol Invest* 2009 ; 32 : 6-9.
3. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcification, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertens* 2001 ; 38 : 938-942.
4. Russo D, Palmiero G, DeBlasio AP, Balletta MM, Andreucci VE. Coronary artery calcification in patients with CRF not undergoing dialysis. *Am J Kidney Dis* 2004 ; 44 : 1024-1030.
5. Mikami S, Hamano T, Fujii N, Nagasawa Y, Isaka Y, Moriyama T, Matsuhisa M, Ito T, Imai E, Hori M. Serum osteoprotegerin as a screening tool for coronary artery calcification score in diabetic pre-dialysis patients. *Hypertens Res* 2008 ; 31 : 1163-1170.
6. Morena M, Dupuy AM, Jaussent I, Vernhet H, Gahide G, Klouche K, Bargnoux AS, Delcourt C, Canaud B, Cristol JP. A cut-off value of plasma osteoprotegerin level may predict the presence of coronary artery calcifications in chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009 ; 24 : 3389-3397.
7. Mesquita M, Demulder A, Damry N, Melot C, Wittersheim E, Willems D, Dratwa M, Bergmann P. Plasma osteoprotegerin is an independent risk factor for mortality and an early biomarker of coronary vascular calcification in chronic kidney disease. *Clin Chem Lab Med* 2009 ; 47 : 339-346.
8. Massy ZA, Mentaverri R, Mozar A, Brazier M, Kamel S. The pathophysiology of vascular calcification : are osteoclast-like cells the missing link? *Diabetes Metab* 2008 ; 34 : S16-S20.
9. Doherty TM, Uzui H, Fitzpatrick LA, Tripathi PV, Dunstan CR, Asotra K, Rajavashisth TB. Rationale for the role of osteoclast-like cells in arterial calcification. *FASEB J* 2002 ; 16 : 577-582.
10. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 1260-1268.
11. Orita Y, Yamamoto H, Kohno N, Sugihara M, Honda H, Kawamata S, Mito S, Soe N, Yoshizumi M. Role of osteoprotegerin in arterial calcification. Development of new animal model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007 ; 27 : 2058-2064.
12. Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000 ; 192 : 463-474.
13. Olensen P, Ledet T, Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin : increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF-alpha. *Diabetologia* 2005 ; 48 : 561-568.
14. 日本循環器学会 2007-2008 年度合同研究班. 冠動脈病変の非侵襲的診断法に関するガイドライン. *Circulation J* 2009 ; 73(Suppl III) : 1091-1114.
15. Yamada S, Inaba M, Kurajoh M, Shidara K, Imanishi Y, Ishimura E, Nishizawa Y. Utility of serum tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP5b) as a bone resorption marker in patients with chronic kidney disease : independence from renal dysfunction. *Clin Endocrinol* 2008 ; 69 : 189-196.
16. Ueda M, Inaba M, Okuno S, Nagasue K, Kitatani K, Ishimura E, Shimizu M, Miki T, Kim M, Nishizawa Y. Clinical usefulness of the serum N-terminal propeptide of type I collagen as a marker of bone formation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002 ; 40 : 802-809.
17. Rumberger JA, Brundage BH, Rader DJ, Kodos G. Electron beam computed tomographic coronary calcium scanning : A review and guidelines for use in asymptomatic persons. *Mayo Clin Proc* 1999 ; 74 : 243-252.
18. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe SA, Moyses RMA, Neves KR, Jorgetti V, Blair A, Guiberteau R, Canziani MEF. Coronary calcification in hemodialysis patients : The contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 1576-1582.
19. Nitta K, Akiba T, Uchida K, Otsubo S, Takei T, Yumura W, Kabaya T, Nihei H. Serum osteoprotegerin levels and the extent of vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004 ; 19 : 1886-1889.
20. Tomiyama C, Carvalho AB, Higa A, Jorgetti V, Draibe SA, Canziani MEF. Coronary calcification is associated with lower bone formation rate in CKD patients not yet in dialysis treatment. *J Bone Miner Res* 2010 ; 25 : 499-504.
21. Matsuoka M, Iseki K, Tamashiro M, Fujimoto N, Higa N, Touma T, Takishita S. Impact of high coronary artery calcification score (CACS) on survival in patients on chronic hemodialysis. *Clin Exp Nephrol* 2004 ; 8 : 54-58.
22. Watanabe R, Lemos MM, Manfredi SR, Draibe SA, Canziani MEF. Impact of cardiovascular calcification in nondialyzed patients after 24 months of follow-up. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 ; 5 : 189-194.
23. Schoppet M, Schaefer JR, Hofbauer LC. Low serum levels of soluble RANK ligand are associated with the presence of coronary artery disease in men. *Circulation* 2003 ; 107 : e76.
24. Jakob C, Goerke A, Terpos E, Sterz J, Heith M, von Metzler I, Muller C, Sezer O. Serum levels of total-RANKL in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009 ; 9 : 430-435.