

骨粗鬆症の薬物治療における骨代謝マーカー測定の意義

三浦雅一,* 佐藤友紀

Significance of Bone Turnover Marker Measurement in the Treatment of Osteoporosis

Masakazu Miura* and Yuki Satoh

Department of Pharmaceutical Life Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University; Ho3 Kanagawa-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1181, Japan.

(Received July 10, 2018)

The bone turnover marker (BTM) measurement in osteoporosis treatment includes evaluation of bone metabolism status or evaluation of bone loss risk level, determination of fracture risk, and evaluation of drug treatment. Currently, by using the BTM, it has become possible to evaluate and select an effective treatment for osteoporosis. The BTM has become widely used as a clinical test item in actual clinical practice. Patients' low adherence to osteoporosis medication regimens increases the risk of vulnerable fractures and affects the cost effectiveness of therapeutics. A joint working group has been established, with International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) and International Osteoporosis Foundation (IOF) in a central role. The joint policy document of the joint working group is intended to increase the international application of BTM in clinical medicine, and to eliminate blood type I procollagen-N-propeptide (PINP) and type I collagen cross-linked C-telopeptide (CTX) in observational research and intervention studies, in order to eliminate the inherent uncertainty of these measurements in clinical use. Current osteoporotic drug treatment has been proven to prevent bone fractures, but poor adherence to dosage regimens is an ongoing problem in clinical practice; various attempts have been made to improve adherence. Low adherence to an osteoporosis medication regimen increases the risk of fracture, and affects cost effectiveness. The BTM is an effective indicator in monitoring reactivity to osteoporosis drug therapy, and can be used to individually evaluate guidelines for treatment continuity and medication. In addition, providing BTM information to patients has reportedly improved their adherence to therapeutics, thereby potentially improving both the outcome and cost-effectiveness of osteoporosis drug therapy.

Key words—osteoporosis; bone turnover marker; bone formation marker; bone resorption marker; bone matrix-related marker; adherence

1. はじめに

高齢化に伴い、わが国の骨粗鬆症の患者数は年々増加し、その患者数は、現時点で1280万人と推定されている。骨粗鬆症により、椎体、前腕骨及び大腿骨近位部などに骨折を生じると、手術や入院を必要とすることが多く、患者の生活の質(QOL)や日常生活動作(activities of daily living; ADL)に大きく影響することが考えられる。

骨粗鬆症の予防と効果的な治療がなされれば、骨粗鬆症患者のQOL維持や転倒等による骨折に対する医療費負担の軽減が可能となる。このためには骨

粗鬆症の早期診断と既に罹患してしまった骨粗鬆症に対する効果的な治療及びより精度のよい治療モニタリング、そして骨折への危険度の評価が必須な事項となる。現時点では、このような要件を備えたバイオマーカーとして、骨代謝マーカーのような動的なマーカーがある。^{1,2)} 骨の代謝は日々動的に変化し、同じ骨密度(bone mineral density; BMD)であっても代謝状態は異なり、病的な意義も異なる。このため、BMD測定を動的マーカーとするためには、半年ないし1年の観察期間をおいた再測定を待たなければならないが、骨代謝マーカーは現時点での骨代謝状態を鋭敏に反映する。

骨代謝マーカーが骨粗鬆症の実臨床で求められる役割としては、①骨代謝状態の評価ないしは骨量減少危険度の評価、②骨折危険度の評価、③薬物治療の評価が挙げられ、わが国においては骨代謝マ-

北陸大学薬学部生命薬学講座(〒920-1181 石川県金沢市金川町ホ3番地)

*e-mail: m-miura@hokuriku-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第138年会シンポジウムS50で発表した内容を中心に記述したものである。

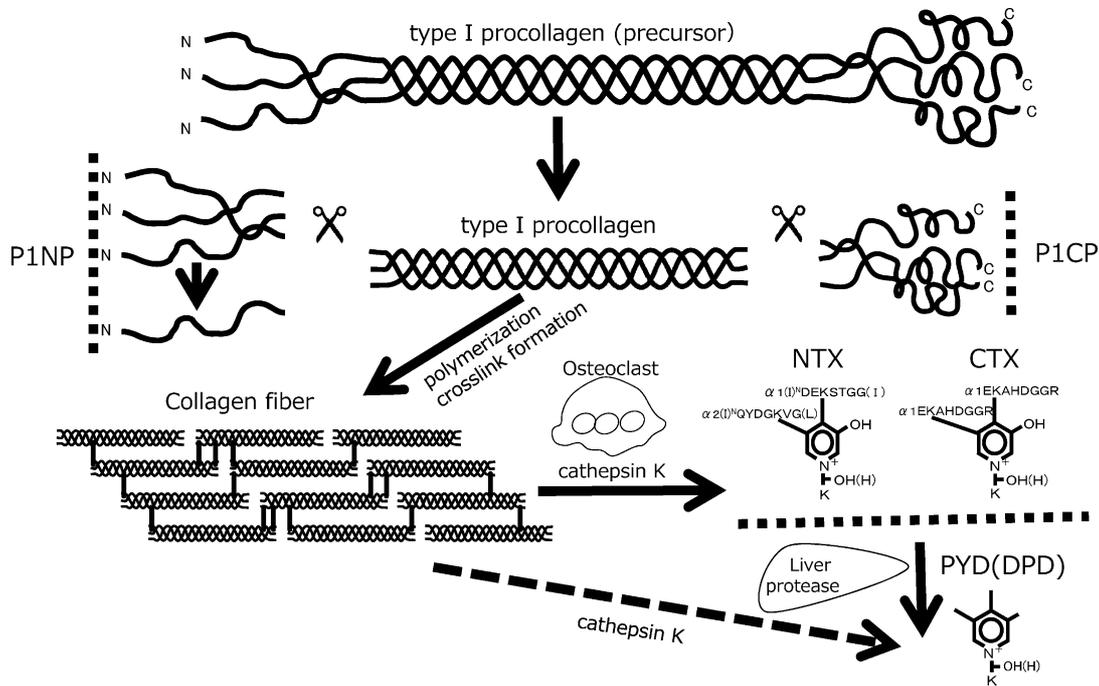


Fig. 1. Synthesis and Degradation of Type I Collagen

カーの実臨床での使用指標として、日本骨粗鬆症学会よりガイドライン（「骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン（ガイド）」；日本骨粗鬆症学会骨代謝マーカー検討委員会）が策定・公表され、骨代謝マーカーは骨粗鬆症診療における必須の検査項目としてその地位を確立した。³⁾特に、骨粗鬆症における薬物治療における治療効果のモニタリングとしては、必要不可欠な検査として実臨床で使用されている。

本稿では、骨粗鬆症の薬物療法（薬物治療）における骨代謝マーカーの測定意義と今後の展望などを概説する。

2. 骨代謝マーカーとは

骨代謝マーカーには、骨芽細胞に關与する骨形成マーカー（bone formation marker）及び破骨細胞に關与する骨吸収マーカー（bone resorption marker）、並びに骨質に關与する骨マトリックス（基質）関連マーカー（bone matrix-related marker）がある。¹⁾1992年以前は、骨代謝を評価できる指標としてヒドロキシプロリンのようなコラーゲン含有のアミノ酸測定が中心であったが、コラーゲン研究の飛躍的な進歩により骨代謝マーカーは、臨床でその使用の重要性が確立されて行った。I型コラーゲンは骨や皮膚などの構成タンパクで、特に骨において

は基質の90%以上を占める。I型コラーゲンはFig. 1に示すように翻訳後プロリン、リジン基が修飾されてヒドロキシプロリン、ガラクトシルヒドロキシプロリン基となり、トリプルヘリックスを形成後（I型プロコラーゲン）、タンパク分解酵素（プロテアーゼ）によりI型プロコラーゲン-N-プロペプチド（type I procollagen-N-propeptide; P1NP）、I型プロコラーゲン-C-プロペプチド（type I procollagen-C-propeptide; P1CP）が切断されて成熟コラーゲン分子が形成される。I型コラーゲンは、 α 鎖3分子がらせん状の3本鎖ドメインを形成し、そのN末端及びC末端のテロペプチドがピリジノリン（pyridinoline; PYD）又はデオキシピリジノリン（deoxypyridinoline; DPD）で架橋されてコラーゲン線維の構造を形成している。骨吸収（破骨細胞からのカテプシンK等のプロテアーゼの作用）に



三浦雅一

1958年山形県生まれ。埼玉医科大学、国立健康・栄養研究所等を経て2008年4月より北陸大学薬学部教授、2011年4月-2014年3月まで同大学エクステンションセンター長、2012年4月-2017年3月まで同大学薬学部長、2017年4月より学校法人北陸大学理事（教育・研究担当）、現在に至る。専門分野は骨粗鬆症学、病態検査学。

Table 1. Bone Turnover Markers Used in the Diagnosis and Treatment of Osteoporosis

Marker	Abbreviation	Sample	Assay method	Comments
Bone formation marker bone alkaline phosphatase type I procollagen- <i>N</i> -propeptide	BAP P1NP	Serum Serum	CLEIA RIA・ECLIA	RIA (Intact P1NP)/ECLIA (total P1NP)
Bone resorption marker deoxypyridinoline type I collagen cross-linked <i>N</i> -telopeptide	DPD NTX	Urine Serum/Urine	EIA・CLEIA EIA・CLEIA	CLEIA (urine): Regulatory application in progress
type I collagen cross-linked <i>C</i> -telopeptide tartrate resistant acid phosphatase-5b	CTX TRACP-5b	Serum/Urine Serum	EIA・ECLIA EIA・CLEIA・POCT	ECLIA (serum) POCT: in development
Bone matrix-related marker undercarboxylated osteocalcin	ucOC	Serum	ECLIA	

CLEIA: chemiluminescent enzyme immunoassay, RIA: radio immunoassay, ECLIA: electrochemiluminescent immunoassay, EIA: enzyme immunoassay, POCT: point of care testing.

よって I 型コラーゲンが分解されると、テロペプチド部分は架橋されたまま断片として血中に遊離し、N 末端部分は I 型コラーゲン架橋 *N*-テロペプチド (type I collagen cross-linked *N*-telopeptide; NTX)、ピリジノリン架橋とテロペプチドの 15 番目のグルタミン酸から 22 番目のアルギニンまでのペプチド (EKAHGGR) の C 末端部分は I 型コラーゲン架橋 *C*-テロペプチド (type I collagen cross-linked *C*-telopeptide; CTX) として知られている。さらに、テロペプチドは肝臓内のプロテアーゼ的作用により遊離架橋物質である PYD 又は DPD に分解される。⁴⁾

現在では、骨代謝マーカーは骨代謝回転を臨床的に評価できるツールとしてのポジションを得てきており、骨代謝マーカー以外に骨代謝回転の評価を臨床的に評価する手段がないとされている。現時点では、骨代謝マーカーは骨粗鬆症診療においては必要不可欠なバイオマーカーに成長しさらに発展を続けている。

3. 骨粗鬆症と骨代謝マーカーの測定法

Table 1 には、骨粗鬆症診療においてわが国で保険適用 (あるいは申請中) となり実臨床で使用されている骨代謝マーカーの種類、材料、測定法をそれぞれ示した。

3-1. 骨形成マーカー (bone formation marker)

(1) 骨型アルカリホスファターゼ (bone alkaline phosphatase; BAP)

骨形成マーカーは、骨芽細胞の分化の各段階にお

いて骨芽細胞から直接又は間接的に産生される物質であり、骨芽細胞機能及び骨形成の様々な局面を表し、ほとんどが血中の値として測定される。その 1 つであるアルカリホスファターゼ (ALP) は、類骨形成及び石灰化作用において重要な役割を果たす酵素である。

(2) I 型プロコラーゲン-*N*-プロペプチド (P1NP)

骨芽細胞で合成・分泌された I 型コラーゲンがペプチダーゼ的作用により切断・放出される代謝産物である P1NP も測定可能となった。Intact P1NP (三量体のみを測定) と total P1NP (三量体と単量体の両方測定) の測定が行われている。また、Intact P1NP と total P1NP の測定値には、臨床的違いがないことも報告されている。^{5,6)}

3-2. 骨吸収マーカー (bone resorption marker)

(1) デオキシピリジノリン (DPD)

I 型コラーゲンのヒドロキシピリジニウム架橋である DPD は、線維原性コラーゲンの細胞外成熟中に形成され、成熟コラーゲンの分解の際に放出される。

(2) I 型コラーゲン架橋 *N*-テロペプチド (NTX) 及び I 型コラーゲン架橋 *C*-テロペプチド (CTX)

NTX や CTX などの架橋部位を含むコラーゲンテロペプチドは、骨吸収評価のための有用な臨床指標であることが確認され、簡便な免疫測定法が開発されてきた。現在、骨粗鬆症においては、尿中 (u) 及び血中 (s) での NTX 及び CTX の測定が可能で

ある。

(3) 酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ-5b (tartrate resistant acid phosphatase-5b; TRACP-5b)

破骨細胞内酵素として知られている酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRACP) のアイソザイムである TRACP-5b の測定が可能である。

3-3. 骨マトリックス (基質) 関連マーカー (bone matrix-related marker)

(1) 低カルボキシル化オステオカルシン (undercarboxylated osteocalcin; ucOC)

骨芽細胞から分泌される骨特異的非コラーゲンタンパクとしてオステオカルシンがよく知られている。このオステオカルシンは、分子中にグルタミン酸残基があり、この部分がビタミン K 依存性カルボキシラーゼの作用により γ カルボキシル化される。骨中のビタミン K が不足すると、この γ カルボキシル化が十分に起こらず、その分子中のグルタミン酸は γ カルボキシグルタミン酸に変換されない。このような骨マトリックス (基質) 関連マーカーである ucOC 測定も可能である。

なお、このように各種骨代謝マーカーが骨粗鬆症診療で測定可能となったが、その測定についてはいくつかの保険診療上の制約がある。骨粗鬆症における骨代謝マーカー測定の主な目的は、臨床的に骨粗鬆症と診断された患者の骨代謝状態を評価し、治療薬の選択と治療効果を判定することであり、このことを反映して骨吸収マーカーについては治療開始時と開始後 6 ヶ月以内に 1 回限り、治療効果評価のための測定が認められている。骨吸収マーカーのうち DPD, NTX, CTX, TRACP-5b 測定を併用して行うことは認められていない。

4. 骨代謝マーカーの国際標準化及びハーモナイゼーション

全自動免疫測定装置の開発とともに骨代謝マーカーの国際標準化の取り組みとして、グローバルハーモナイゼーションが注目されるようになった。2010年に国際臨床化学連合 (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; IFCC) 及び国際骨粗鬆症財団 (International Osteoporosis Foundation; IOF) による骨代謝マーカーに関する合同ワーキンググループ (IFCC-IOF Standardization of Bone Markers Assays Working Group; IFCC-IOF WG-BMA) が設けられた。IFCC-

IOF WG-BMA の作業内容として、2000年から2010年にかけてPubMedデータベースに登録されたレビューなどを介して前向き試験のエビデンスを収集することにより、骨折リスク予測や骨粗鬆症治療の経過観察における骨代謝マーカーの潜在的な臨床的有用性を判断するとともに、その中からなんらかの課題を見出す試みが行われた。^{7,8)} その結果、骨代謝マーカーは閉経後女性において骨密度とは独立して骨折リスクを予想できる可能性があり、実際に日常診療で骨折リスク予測を目的として利用されるようになりつつあるが、実臨床に用いる根拠としてさらに強力なエビデンスを確立する必要があると判断された。

骨代謝マーカーは、それぞれ独立した特徴を有している。しかし、骨粗鬆症治療薬の性能評価を目的として実施されている臨床試験においても、日常診療と同様に様々な骨代謝マーカーが測定されているが、異なる臨床研究機関で互いに共通した骨代謝マーカーが正確にかつ高精度で測定されなければ、骨代謝マーカーを介して異なる骨粗鬆症治療薬の性能比較や、同じ治療薬について実施された複数の前向き臨床研究の成果を統合したメタ解析が困難となる。⁹⁾ このため IFCC-IOF WG-BMA は、比較や統合が可能な共通の「原器＝ものさし」を骨代謝マーカーで設定し、臨床研究機関等への橋渡しの役割を行う必要があるとの結論に至り、2011年に方針書を公表した。IFCC-IOF WG-BMA によるリファレンスマーカーの方針書は、あくまでもエビデンスの蓄積を目的としており、total P1NP 及び sCTX 以外の骨代謝マーカーを排除することが目的ではないことも理解しておく必要がある。^{7,10)} 他の骨代謝マーカーについても、比較や統合のために「原器＝ものさし」としてかならず共通の骨代謝マーカーを含めておくことが求められており、IFCC-IOF WG-BMA もこの点を強く推奨している。

5. 骨代謝マーカーを用いた骨粗鬆症治療効果のモニタリング

骨代謝マーカーは薬物選択の指針として用いることも考えられ、薬物選択に迷う場合には骨代謝マーカーを用いることで、より適切な選択が可能となる。¹⁻³⁾ 薬物治療による病態改善効果を判断するためにも、できる限り診断時に骨代謝状態を評価することが推奨される。骨代謝マーカー測定は、①治療

の必要性に対する患者の理解を高めたい、②薬物治療を予定している、③治療薬の適切な選択に役立てたい、④骨粗鬆症の病態などを評価する場合などに有用であり、患者の病識を高めアドヒアランス向上や骨粗鬆症治療での対費対効果にも優れていることが理解されつつある。¹¹⁾

5-1. 治療効果の評価が可能な骨粗鬆症治療薬と骨代謝マーカー 骨粗鬆症診療においては、3つの評価が必要である。第一に行うべきは、個々の患者が有する骨折リスクの評価であり、それに基づく薬物治療導入の可否の決定、第二には適切な薬剤選択の評価であり、そして第三には治療効果の評価である。

骨代謝マーカーの基準値のみでは薬物治療の効果の予測は困難であり、治療開始から一定期間後に再測定を行い、基準値からの変化を評価することにより薬物治療効果の評価を行う。薬物治療により、骨代謝マーカーの基準値からの有意な変化が認められたときのみ、骨代謝に変化があり、治療薬効果が発揮されていると判定できる。個々の患者におけるビスホスホネート薬、選択的エストロゲン受容体モジュレーター (selective estrogen receptor modulator; SERM)、抗 RANKL モノクローナル抗体薬 [anti-receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) monoclonal antibody preparation/denosumab, デノスマブ], エストロゲン薬の効果は、BAP, P1NP の骨形成マーカー, DPD, NTX, CTX, TRACP-5b の骨吸収マーカーのいずれでも判定可能である。活性型ビタミン D3 薬 (エルデカルシトール) の効果も BAP や NTX で判定可能である。副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone; PTH) 薬 (テリパラチド遺伝子組換え: 20 μ g/回, 1 回/日, 皮下投与) の効果判定も、P1NP で判定可能である。

特に、骨吸収抑制効果が認められる治療薬の場合は骨吸収マーカー、骨形成促進作用効果が認められる治療薬では骨形成マーカーを選択すべきである。

5-2. 治療効果の評価を行うための適切な骨代謝マーカー測定時期 骨吸収マーカーである DPD, NTX, CTX 及び TRACP-5b は、治療開始時と治療開始後から 3-6 ヶ月の間隔をあけて 2 回目の測定を実施し、変化率を算出する。骨形成マーカーである BAP, P1NP の変化はやや遅れるため、治療開始時

と治療開始後から 6 ヶ月の間隔をあけて 2 回目の測定を実施し、変化率を算出することが望まれる。骨形成促進薬である PTH 薬 (テリパラチド遺伝子組換え) 投与後、骨形成マーカーにおいて、BAP と比較した P1NP の変化は顕著である。これらは、治療開始時と治療開始後 1-3 ヶ月の 2 回測定を実施し、変化率を計算する必要がある。しかし、PTH 薬 (テリパラチド酢酸塩: 56.5 μ g/回, 1 回/週, 皮下投与) では、投与 24 週の推移では、Intact P1NP は 4 週目までは高値を示すものの、4 週目以降は低値傾向を示す。また、骨吸収マーカーの DPD と uNTX は処置開始後に低値を示すことが報告されているので考慮する必要がある。

5-3. BMD と骨代謝マーカー Zoledronate treatment in efficacy to osteoporosis (ZONE) Study の結果より、年 1 回のビスホスホネート薬 (ゾレドロン酸: ゼレドロン酸 5 mg, 1 回/年, 点滴静注) では BAP, P1NP の骨形成マーカーは 12 週で低下し、CTX, TRACP-5b の骨吸収マーカーは 2 週間で低下し、各骨代謝マーカーは 12 ヶ月 (1 年間) まで低値が続いた。さらに継続投与後、2 年間まで追跡調査を行ったところ、TRACP-5b の早期反応性を利用し BMD を予測できることがわかった。¹²⁾

今後は、近日中の承認が期待される抗スクレロシン抗体薬 (ロモゾマブ) についても、ロモゾマブの治療効果の評価として骨代謝マーカーの適正使用が必要となるであろう。

6. 骨代謝マーカーの今後の展望

骨代謝マーカー測定の新たな測定技術として臨床現場即時検査 (point of care testing; POCT) が注目されている。^{13,14)} POCT とは、被検者の傍らで医療従事者が行う検査であり、検査時間の短縮及び被検者が検査を身近に感ずるという利点を活かし、迅速かつ適切な診療・看護・疾患の予防、健康増進等、及び医療の質として被験者の QOL に役立つ検査と位置付けられている。

骨代謝マーカー測定に POCT 技術を導入することによって、診療前検査も可能となる。例えば、現在、糖尿病の診療前検査 (例えば HbA1c 検査) で行われているように診療所や病院に来院後、直ちに採血し骨代謝マーカー測定を行えば 15-20 分程度で検査結果を診療部門に報告することも可能となる。

国内では、ランセット (Lancet) 針による全血採血による骨代謝マーカーの POCT 装置の開発が取り進められており、近い将来、診療室、ベッドサイド、保険薬局の検体測定室あるいは在宅でも骨代謝マーカー (TRACP-5b) 測定が簡単、迅速で可能となる。このような POCT 技術の進歩による、骨代謝マーカーの検査結果の即時説明により、骨粗鬆症患者の薬物治療でのアドヒアランス向上やハーモナイゼーションも期待できるものと思われ、今後の開発に大いに期待する。

7. おわりに

骨代謝マーカーは骨粗鬆症診療では保険適用の範囲内でしか使用できない。現時点で保険適用となっている骨形成マーカー (BAP, P1NP)、骨吸収マーカー (DPD, NTX, CTX, TRACP-5b) に加え、骨マトリックス (基質) 関連マーカー (ucOC) については、保険適用の内容を逸脱しない範囲で、骨粗鬆症診療における薬物治療の提案がなされている。特に骨吸収抑制剤の治療経過のモニタリングでは繰り返し測定は困難である。また、関節リウマチ疾患などの基礎疾患やステロイド薬によって誘発される続発性骨粗鬆症への適用拡大について検討することなどが課題として挙げられる。

今後も骨粗鬆症診療にはこれまでとは異なる作用機序の治療薬が登場する予定であるが、適正な骨代謝マーカーの使用には、それぞれの治療薬の特徴をよく理解して、最適の骨代謝マーカーについて更なるエビデンスの集積が望まれる。

謝辞 本稿で記述した研究は、日本骨粗鬆症学会骨代謝マーカー検討委員会における「骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン」作成に関与するところが大きく、共同研究者でもある本委員会委員の先生方に深謝申し上げます。また、骨代謝マーカーに関して、日頃よりご指導・ご鞭撻を賜っている西澤良記先生 (前 大阪市立大学理事長・学長、現 医療法人蒼龍会井上病院名誉院長・副理事長/大阪市立大学名誉教授) に厚く御礼申し上げます。

利益相反 三浦雅一は旭化成ファーマ株式会社、ニッポーバイオメディカル株式会社の医学アドバイザーであり、アルプス電気株式会社、栄研化学株式

会社、DS ファーマバイオメディカル株式会社より奨学寄附金を、中外製薬株式会社及び帝人ファーマ株式会社からは講演謝金を受けている。

REFERENCES

- 1) Eastell R., Szulc P., *Lancet Diabetes Endocrinol.*, **5**, 908–923 (2017).
- 2) Eastell R., Pigott T., Gossiel F., Naylor K. E., Walsh J. S., Peel N. F. A., *Eur. J. Endocrinol.*, **178**, R19–R31 (2018).
- 3) Nishizawa Y., Ohta H., Miura M., Inaba M., Ichimura S., Shiraki M., Takada J., Chaki O., Hagino H., Fujiwara S., Fukunaga M., Miki T., Yoshimura N., *J. Bone Miner. Metab.*, **31**, 1–15 (2013).
- 4) Garnero P., *Bonekey Rep.*, **1**, 182 (2012).
- 5) Blumsohn A., Marin F., Nickelsen T., Brixen K., Sigurdsson G., González de la Vera J., Boonen S., Liu-Léage S., Barker C., Eastell R., EUROFOR Study Group, *Osteoporos. Int.*, **22**, 1935–1946 (2011).
- 6) Koivula M. K., Risteli L., Risteli J., *Clin. Biochem.*, **45**, 920–927 (2012).
- 7) Vasikaran S., Eastell R., Bruyere O., Foldes A. J., Garnero P., Griesmacher A., McClung M., Morris H. A., Silverman S., Trenti T., Wahl D. A., Cooper C., Kanis J. A., IOF-IFCC Bone Marker Standards Working Group, *Osteoporos. Int.*, **22**, 391–420 (2011).
- 8) Vasikaran S. D., Cooper C., Kanis J. A., *Ann. Clin. Biochem.*, **48**, 91–92 (2011).
- 9) Johansson H., Odén A., Kanis J. A., McCloskey E. V., Morris H. A., Cooper C., Vasikaran S., IFCC-IOF Joint Working Group on Standardisation of Biochemical Markers of Bone Turnover, *Calcif. Tissue Int.*, **94**, 560–567 (2014).
- 10) Morris H. A., Eastell R., Jorgensen N. R., Cavalier E., Vasikaran S., Chubb S. A. P., Kanis J. A., Cooper C., Makris K., IFCC-IOF Working Group for Standardisation of Bone Marker Assays (WG-BMA), *Clin. Chim. Acta*, **467**, 34–41 (2017).
- 11) Diez-Perez A., Naylor K. E., Abrahamsen B., Agnusdei D., Brandi M. L., Cooper C., Dennison E., Eriksen E. F., Gold D. T., Guañabens N., Hadji P., Hilgsmann M., Horne R., Josse R., Kanis J. A., Obermayer-

- Pietsch B., Prieto-Alhambra D., Reginster J. Y., Rizzoli R., Silverman S., Zillikens M. C., Eastell R., Adherence Working Group of the International Osteoporosis Foundation and the European Calcified Tissue Society, *Osteoporos. Int.*, **28**, 767–774 (2017).
- 12) Mori Y., Kasai H., Ose A., Serada M., Ishiguro M., Shiraki M., Tanigawara Y., *Osteoporos. Int.*, **29**, 1155–1163 (2018).
- 13) Zwart S. R., DeKerlegand D. E., Davis-Street J. E., Smith S. M., *Clin. Chim. Acta*, **372**, 65–69 (2006).
- 14) Lee K. M., Lee M. H., Chung C. Y., Seong W. K., Lee S. D., Park M. S., *Sensors*, **13**, 165–174 (2013).