

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-65696

(P2004-65696A)

(43) 公開日 平成16年3月4日(2004.3.4)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 B 8/08	A 6 1 B 8/08	2 G O 4 5
G O 1 N 27/447	G O 1 N 33/50 P	4 C 3 O 1
G O 1 N 33/50	G O 1 N 33/50 X	4 C 6 O 1
// G O 1 N 37/00	G O 1 N 27/26 3 1 5 K	
	G O 1 N 37/00 1 O 1	
審査請求 未請求 請求項の数 16 O L (全 22 頁)		

(21) 出願番号	特願2002-230605 (P2002-230605)	(71) 出願人	501341945
(22) 出願日	平成14年8月7日 (2002.8.7)		馬場 嘉信
			徳島県徳島市名東町1丁目114-15
		(71) 出願人	000166247
			古野電気株式会社
			兵庫県西宮市芦原町9番52号
		(74) 代理人	100077012
			弁理士 岩谷 龍
		(72) 発明者	馬場 嘉信
			徳島県徳島市名東町1丁目114-15
		(72) 発明者	牧野 逸夫
			兵庫県西宮市芦原町9番52号 古野電気株式会社内
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 骨診断装置

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】骨形成関連疾病に関して、長期に渡る診断・予防・治療方法に使用される装置を提供する。

【解決手段】超音波骨密度測定部と骨形成関連遺伝子検出部とを具有することを特徴とする骨診断装置。骨形成関連遺伝子検出部が、その構成要件として核酸分析部を具備し、表示器と、表示用記憶回路と、表示信号生成部及び制御部を具有することを特徴とする。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

超音波骨密度測定部と骨形成関連遺伝子測定部とを具有することを特徴とする骨診断装置。

【請求項 2】

骨形成関連遺伝子測定部が、その構成要件として核酸分析部を具備することを特徴とする請求項 1 に記載の骨診断装置。

【請求項 3】

さらに、表示器と、表示用記憶回路と、表示信号生成部及び制御部とを具有することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の骨診断装置。

10

【請求項 4】

骨密度測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項 5】

骨形成関連遺伝子測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項 6】

核酸分析部が、生物から採取した核酸を含有する検体から、核酸を抽出する抽出手段、抽出された核酸を増幅する増幅手段および増幅された核酸を分離する分離手段を具備することを特徴とする請求項 1 ないし 5 のいずれかに記載の骨診断装置。

20

【請求項 7】

抽出手段が、ジェネレーションキャプチャーディスク装置であり、増幅手段が、ライトサイクラー装置であり、分離手段がアジレント 2100 バイオアナライザーまたは日立 SV 1210 マイクロチップ電気泳動であることを特徴とする請求項 1 ないし 6 のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項 8】

骨形成関連遺伝子が、エストロゲン受容体遺伝子、ビタミン D 受容体遺伝子、ビタミン D 結合蛋白遺伝子またはアポリポプロテイン E (ApoE) 遺伝子であることを特徴とする請求項 1 ないし 7 のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項 9】

アポリポプロテイン E (ApoE) 遺伝子が、ApoE_{2/2}、ApoE_{2/3}、ApoE_{2/4}、ApoE_{3/3}、ApoE_{3/4} および ApoE_{4/4} から形成される群から得られる一種類または二種類以上の遺伝子であることを特徴とする請求項 1 ないし 8 のいずれかに記載の骨診断装置。

30

【請求項 10】

超音波骨密度測定部が、被検体に超音波を透過させ、この被検体の特性を診断する超音波診断装置であって、前記被検体が載る基台と、前記基台に設けられ、前記被検体の大きさに応じて相互の間隔を可変するため少なくとも一方が可動とされ、前記被検体に対して超音波透過可能且つ押し付け可能な一对の測定体と、前記一对の測定体のうち可動とされたものの中に溜められた超音波透過性流体と、前記一对の測定体のそれぞれに設けられ、可動とされた前記測定体にあっては前記超音波透過性流体内に収納されるとともに前記基台側に支持され、相互の間隔が固定された一对の超音波送受波器とを備えていることを特徴とする請求項 1 ないし 9 のいずれかに記載の骨診断装置。

40

【請求項 11】

ヒトまたは動物の一部及びヒトまたは動物から採取した検体を請求項 1 ないし 10 のいずれかの装置に付して得られる骨密度情報と骨形成関連遺伝子情報を用いることを特徴とする骨診断方法。

【請求項 12】

ヒトまたは動物の一部が踵であることを特徴とする請求項 11 に記載の骨診断方法。

【請求項 13】

50

ヒトまたは動物から採取した検体が、血液であることを特徴とする請求項 11 または 12 に記載の骨診断方法。

【請求項 14】

骨診断が、健常、骨粗しょう症前段階または骨粗しょう症であることを判別することを特徴とする請求項 11 ないし 13 のいずれかに記載の骨診断方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本技術は、骨粗しょう症等、骨疾患の診断に利用される骨診断装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

骨は高齢になっても毎日少しずつ形成され、また少しずつ壊されている。形成される骨量より、壊される骨量が多くなると骨の中の構造が壊れ、骨が非常に脆く折れやすい状態になる。この症状が、一般に骨粗しょう症と呼ばれている。骨粗しょう症は、高齢者、特に女性において多く見られ、実際には、様々な要因が重なり合って発生すると考えられている。

【0003】

女性ホルモン、男性ホルモンともに、骨の形成を促進し、骨の減少を抑制する作用を有しているが、女性では、50歳前後の閉経後から、男性では70歳前後から、性ホルモン分泌量が低下し、特に閉経後の女性の骨減少率は、3～5%/年と言われ、これらの加齢による性ホルモン分泌の低下が、骨粗しょう症の発生に関与していると考えられる。

【0004】

また、日本人は、欧米人に比べてカルシウムの摂取量が少なく、さらには、腸からのカルシウム吸収を促進し、カルシウムが対外に排出されるのを防止する働きを有するビタミンDの不足により、カルシウムの体内蓄積が不十分となり、骨粗しょう症発生を助長している。

【0005】

カルシウムの摂取とともに、運動により骨が刺激を受け、骨形成が促進される。しかし、年齢とともに運動量が減少すると、骨形成量が低下し、また、骨粗しょう症により骨折等の骨疾患を起こすと、さらに運動量が低下するという悪循環を招くおそれがある。

【0006】

近年、上記の要因に加えて、インスタント食品等の普及による食生活の偏り、無理なダイエット、さらには運動不足等が、高齢者のみならず、10代から20代の若者の骨粗しょう症の発生率の向上を助長し、問題となってきている。今後は、さらに骨粗しょう症のみならず、骨疾患罹患の人口が増加し、将来、老若男女にかかわらず、寝たきり症状の患者が増え、また、寝たきりによる二次的な疾患を併発するリスクが高まることが懸念される。

【0007】

このような事態を踏まえ、骨密度に対する関心が高まり、各種医療機関、スポーツセンター等においても、骨密度測定診断装置を積極的に取り入れるとともに、骨密度と骨粗しょう症との関連についての正しい知識の普及に努めている。また骨密度測定装置に関しては、出願人は、基台に固定される一対の超音波振動子を用いて、超音波信号を送受信し、超音波の伝播速度を求めて、被検体の骨塩量に変換して骨粗しょう症の診断を行う、超音波骨評価装置を提供する特許出願をしている（特願平8-223134）。

【0008】

上記の骨粗しょう症を招く要因に加え、近年の研究により、同じ人種や同じ家系内で、同様の骨疾患患者が発生しやすいこと等から、骨形成に関与する遺伝子の解析が進められ、骨粗しょう症と遺伝子の多型との間に関連があることが明らかとなってきた。これにより、上記の要因だけでは予測できない、疾患リスクの予測の可能性が示唆された。

【0009】

10

20

30

40

50

体内で骨形成に関与する物質として、ビタミンD、ビタミンK、オステオカルシン（ビタミンK作用のもと、合成されるカルシウム結合蛋白）及び女性ホルモンであるエストロゲン等が挙げられており、具体的にはビタミンD受容体、ビタミンD結合蛋白、エストロゲン受容体等に関与する遺伝子の多型と、骨密度及び骨疾患との関係について研究が進められ、その相関が明らかとなってきた。

【0010】

上記の遺伝子の解析には、サンプルの調整並びに分析が必要であるが、それには多量の検体を必要とし、しかも長時間を要するものであった。しかしながら、近年のヒトゲノム計画（Human Genomic Project（HGP））等、研究レベルの高度化に伴い、迅速な遺伝子解析技術の開発に対する要望が高まってきた。

10

【0011】

上記の骨密度測定装置を用いて、骨密度データを提供し、現状の骨粗しょう症対策としての食生活の改善や運動療法、ホルモン投与療法を提案するという医療対策が施されてきたが、これらの対策は、骨密度を測定した時のみの診断結果に基づくものに限られていた。よって、将来の長期に渡っての診断・治療・予防方法を提案するためには更なる改善が望まれる。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】

そこで本発明は、被検体の現在の骨評価のみならず、上記における遺伝子解析技術分野の研究が進み、将来の疾患リスクの予測、遺伝子治療分野への応用が示唆される中、将来の長期に渡っての診断・予防・治療方法ならびにそれらに使用される装置を提案することを目的とする。また現在進められている遺伝子と骨密度や骨疾患罹患との相関の研究に対応する、研究開発装置として貢献することをも目的とする。

20

【0013】

【課題を解決するための手段】

前述した目的を達成するため、発明者らは、例えば、超音波を使つての骨評価装置に、核酸の抽出・増幅および解析を迅速に且つ少量のサンプルで行うことができる核酸・ゲノムなどの遺伝子分析装置を具備することにより、被検体の骨密度データと、遺伝子解析に基づく被検体の遺伝子の多型データを、同時に採取し、かつ表示部に表示することにより、迅速に、将来の長期に渡っての、骨疾患の予測、予防または治療方法を、被検体に提案することができることを知見し、さらに種々検討を重ねて本発明に至った。

30

【0014】

すなわち、本発明は、

（１） 超音波骨密度測定部と骨形成関連遺伝子測定部とを具有することを特徴とする骨診断装置、

（２） 骨形成関連遺伝子測定部が、その構成要件として核酸分析部を具備することを特徴とする前記（１）に記載の骨診断装置、

（３） さらに、表示器と、表示用記憶回路と、表示信号生成部及び制御部とを具有することを特徴とする前記（１）または（２）に記載の骨診断装置、

（４） 骨密度測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする前記（１）ないし（３）のいずれかに記載の骨診断装置、

40

（５） 骨形成関連遺伝子測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする前記（１）ないし（４）のいずれかに記載の骨診断装置、

（６） 核酸分析部が、生物から採取した核酸を含有する検体から、核酸を抽出する抽出手段、抽出された核酸を増幅する増幅手段および増幅された核酸を分離する分離手段を具備することを特徴とする前記（１）ないし（５）のいずれかに記載の骨診断装置、

（７） 抽出手段が、ジェネレーションキャプチャーディスク装置であり、増幅手段が、ライトサイクラー装置であり、分離手段がアジレント2100バイオアナライザーまたは日立SV1210マイクロチップ電気泳動であることを特徴とする前記（１）ないし（６）のいずれかに記載の骨診断装置、

50

(8) 骨形成関連遺伝子が、エストロゲン受容体遺伝子、ビタミン D 受容体遺伝子、ビタミン D 結合蛋白遺伝子またはアポリポ蛋白 E (A p o E) 蛋白関連遺伝子であることを特徴とする前記 (1) ないし (7) のいずれかに記載の骨診断装置、

(9) アポリポ蛋白 E (A p o E) 遺伝子が、A p o E₂ / ₂、A p o E₂ / ₃、A p o E₂ / ₄、A p o E₃ / ₃、A p o E₃ / ₄ および A p o E₄ / ₄ から形成される群から得られる一種類または二種類以上の遺伝子であることを特徴とする前記 (1) ないし (8) のいずれかに記載の骨診断装置、

(1 0) 超音波骨密度測定部が、被検体に超音波を透過させ、この被検体の特性を診断する超音波診断装置であって、前記被検体載る基台と、前記基台に設けられ、前記被検体の大きさに応じて相互の間隔を可変するため少なくとも一方が可動とされ、前記被検体に対して超音波透過可能且つ押し付け可能な一対の測定体と、前記一対の測定体のうち可動とされたものの中に溜められた超音波透過性流体と、前記一対の測定体のそれぞれに設けられ、可動とされた前記測定体には前記超音波透過性流体内に収納されるとともに前記基台側に支持され、相互の間隔が固定された一対の超音波送受波器とを備えていることを特徴とする前記 (1) ないし (9) のいずれかに記載の骨診断装置、

(1 1) ヒトまたは動物の一部及びヒトまたは動物から採取した検体を前記 (1) ないし (1 0) のいずれかの装置に付して得られる骨密度情報と骨形成関連遺伝子情報を用いることを特徴とする骨診断方法、

(1 2) ヒトまたは動物の一部が踵であることを特徴とする前記 (1 1) に記載の骨診断方法、

(1 3) ヒトまたは動物から採取した検体が、血液であることを特徴とする前記 (1 1) または (1 2) に記載の骨診断方法、

(1 4) 骨診断が、健常、骨粗しょう症前段階または骨粗しょう症であることを判別することを特徴とする前記 (1 1) ないし (1 3) のいずれかに記載の骨診断方法、に関する。

【 0 0 1 5 】

【 発明の実施の形態 】

本発明で用いられる超音波骨密度測定部は、特に限定されないが、被検体に超音波を透過させ、この被検体の特性を診断する超音波診断装置であって、前記被検体載る基台と、前記基台に設けられ、前記被検体の大きさに応じて相互の間隔を可変するため少なくとも一方が可動とされ、前記被検体に対して超音波透過可能且つ押し付け可能な一対の測定体と、前記一対の測定体のうち可動とされたものの中に溜められた超音波透過性流体と、前記一対の測定体のそれぞれに設けられ、可動とされた前記測定体には前記超音波透過性流体内に収納されるとともに前記基台側に支持され、相互の間隔が固定された一対の超音波送受波器とを備えている装置を用いるのが好ましい。

【 0 0 1 6 】

以下に、超音波診断装置の一例の具体的な実施形態における超音波診断方法について、図 2 ないし図 8 を参照して説明する。

【 0 0 1 7 】

先ず、図 2 ないし図 4 に基づいて、本実施形態の超音波診断装置について説明する。尚、図 2 は本実施形態の超音波診断装置を示す一部断面正面図、図 3 は図 2 の A - A 矢視図、図 4 は図 2 の B - B 矢視図である。

【 0 0 1 8 】

図 2 ないし図 4 において、1 は超音波診断装置であって、一対の測定体 2 , 3 と、各測定体 2 , 3 内に配される一対の超音波送受波器 4 , 5 および後述する制御部 3 0 (図 5 に示す) とを主要部として構成されている。

【 0 0 1 9 】

測定体 2 は、相対される測定体 3 との間隔を可変するために可動自在にされた円筒状の可動タンク 7 を有している。可動タンク 7 は、相対する測定体 3 側に後述する被検体となる踵に押し付けられるスタンドオフ 8 を先端に圧入して密閉状態にされている。測定体 3 の

10

20

30

40

50

密閉された内部に各超音波送受波器 4, 5 から発生される超音波信号を透過するに優れた超音波透過物質となる超音波透過性流体（例えば、水）が注入されている。スタンドオフ 8 は測定体 3 に向かって段々に縮径突出する断面台形を呈しており、可動タンク 7 の軸方向に直交する 2 つの反射平面 8 A, 8 B を有している。また、スタンドオフ 8 は、超音波信号を透過させるに優れ、超音波透過性流体（水）と異なる音響インピーダンスを有するアクリル、エポキシ、ウレタンおよびシリコン等の各種樹脂で成形されるが、上記被検体（踵）への押し付けに際して各反射平面 8 A, 8 B の変形が少ない硬質材料たるアクリル樹脂で成形することが好ましい。

【0020】

そして、測定体 2 の可動タンク 7 は、被検体（以下、単に被検体を「踵」という）が載せられる診断台 9 に可動機構 10 を介して可動自在にされて、診断台 9 との間に配され V 溝を形成する一対のタンク支え 11 で支持されている。この可動機構 10 は、可動タンク 7 に固設されたラック 10 A に噛み合うピニオン 10 B を有し、ラック 10 A は可動タンク 7 の軸方向に延びている。ピニオン 10 B は可動ダイヤル 12 に配置されている。可動ダイヤル 12 は、診断台 9 に立設された支持部材 13 のオイルレスブッシュ内に回転自在に嵌合されたダイヤルシャフト 12 A を有し、ダイヤルシャフト 12 A にピニオン 10 B がラック 10 A に噛み合うように固設されている。また、可動機構 10 にはピニオン 10 B の回転を規制する固定ピン（図示しない）を備えている。これにより、可動ダイヤル 12 を正逆回転すると、ピニオン 10 B の回転がラック 10 A に伝達されて可動タンク 7（スタンドオフ 8 を含む）が相対する測定体 3 に近接、又は離間するように直線可動されて測定体 3 との間隔を可変できるとともに、上記固定ピンによるピニオン 10 B の回転規制で各測定体 2, 3 の上記間隔を保持できるようになっている。

【0021】

上記の可動タンク 7 には、図 3 および図 4 に示すように、その軸方向に並行して延びるタンクガイド（ガイド機構）15 を有している。タンクガイド 15 は、基台（診察台）9 に固設されたガイドシャフト 16 と、このガイドシャフト 16 に案内されたガイド蓋 18 と、ガイド蓋 18 の両端のシール 16, 19 を主要部分として構成される。ガイドシャフト 16 は両端側で基台（診断台）9 に立設された一対の固定台に軸支されている。また、ガイド蓋 18 は、可動タンク 7 の外周に固設されたガイド板 17 に対してシール材を介して気密に一体化され、全体としてガイド筒体を構成するものである。上記ガイド筒体は、上記ガイド板 17 とガイド蓋 18 とで区画するガイド孔 C 内に上記ガイドシャフト 16 を貫通させ、ガイド蓋 18 の両端の軸受部でガイドシャフト 16 に軸方向摺動自在に支持されている。このガイド孔 C は、ガイドシャフト 16 の軸方向に延びると共に各部材 18, 17 の側面を貫通している。またガイド孔 C の軸方向の両端部にシール 19, 密閉板 20 とをこの順にガイドシャフト 16 に摺動自在に外嵌することで、外気と密閉されている。また、ガイド孔 C は、ガイド板 17 に形成された連絡長孔 21 を通して可動タンク 7 内に連通しており、連絡長孔 21 はガイドシャフト 16 の軸方向に延びている。したがって、ガイド孔 C 内には超音波透過性液体が充満する構造になっている。これにより、上記のように可動機構 10（ラック 10 A とピニオン 10 B）により可動タンク 7 を可動すると、ガイドシャフト 16 をオイルシール 19, 密閉部材 20 が摺動して案内されながら安定して、測定体 3 に近接、又は離間されるようになっている。また、各オイルシール 19, 密閉板 20 とで、可動タンク 7 内から透過性流体（水）が漏れないようになっている。

【0022】

尚、可動タンク 7 を案内するタンクガイド 15 において、可動タンク 7 内に注入された超音波透過性流体（水）が、連絡孔 21 を介してガイド筒体のガイド孔 C に達しない程度の注入量であれば、このガイド孔 C の両端側をオイルシール 19, 密閉板 20 で密閉しなくても、透過性流体が装置 1 の外部に漏れることもない。また、タンクガイド 15 の構成は、図 2 ないし図 4 に示されるものに限定されない。なお、超音波透過性流体は可動タンク 7 内の全てに充満されておらず、可動タンク 7 の上側の液面を有する。

【0023】

また、測定体 3 は、可動タンク 7 のスタンドオフ 8 に相対して配され、各超音波送受波器 4, 5 から発生される超音波信号を透過するに優れた超音波透過性固体からなるスタンドオフ 25 である。スタンドオフ 25 は可動タンク 7 のスタンドオフ 8 側に向かって段々に縮径突出する断面台形を呈しており、スタンドオフ 8 端側の反射面 8A に並行する反射面 25A を有している。また、スタンドオフ 25 は、可動タンク 7 のスタンドオフ 8 と同様に、上記超音波を透過するに優れた、アクリル、エポキシ、ウレタンおよびシリコン等の各種樹脂で成形されるが、踵への押し付けに際して反射平面 25A の変形が少ない硬質材料たるアクリル樹脂で成形することが好ましい。そして、測定体 3 は、スタンドオフ 25 の軸心を可動タンク 7 のスタンドオフ 8 の軸心に一致させて、且つ各反射面 25A を並行にして、上記基台（診断台）9 に立設された固定台 28 に固設されている。これにより、上記のように可動機構 10 による可動タンク 7 の直線可動で、踵の大きさに応じて（幅寸法の違いに応じて）、各スタンドオフ 8, 25 を押し付けて踵を診断台 9 上に挟持して固定することができる。

【0024】

ところで、上記のように可動タンク 7 のスタンドオフ 8 および、固定タンクのスタンドオフ 25 の形状を先端側に向かって縮径する断面台形としたのは、各スタンドオフ 8, 25 で局部的に踵を挟持して固定するためである。従って、踵等の形状が一定とならない被検体であっても、各スタンドオフ 8, 25 を被検体に密着させて固定することが容易となる。

【0025】

一方、各超音波送受波器 4, 5 は、通常、超音波トランスデューサと呼ばれる（以下、「トランスデューサ 4, 5」という。）、超音波信号の発生および検出を 1 台で行うことができる装置が用いられ、相互間の距離 L0 を固定されて各測定体 2, 3 内に配置されている。

【0026】

トランスデューサ 4 はスタンドオフ 8 に向かって超音波信号を送信可能且つ受信可能に可動タンク 8 内の透過流体（水）中に固定されている。このトランスデューサ 4 の固定は、上記ガイドシャフト 16 に固定された連結部材 27 により行われる。連結部材 27 はガイドシャフト 16 の軸方向に直交して連絡長孔 21 を通して可動タンク 7 内に突出して、トランスデューサ 4 に固定されている。そして、トランスデューサ 4 をガイドシャフト 16 に固定した状態で、上記のように可動タンク 7（スタンドオフ 8 を含む）の直線可動が許容されるようになっている。また、トランスデューサ 5 は、スタンドオフ 25 の反射平面 25A 側に向かって、超音波信号を送信可能且つ受信可能にスタンドオフ 25 内に気密に配置されている。そして、トランスデューサ 5 の一端側は固定台に固定されている。上記のように各トランスデューサ 4, 5 を配置すると、各々に発せられ、超音波透過性流体（水）および各スタンドオフ 8, 25 を透過する超音波信号を各トランスデューサ 4, 5 の各々で検出できると共に、各スタンドオフ 8, 25 の反射面 8A, 8B および 25A で反射される超音波信号の受信も可能となる。

【0027】

つぎに、図 5 により、各トランスデューサ 4, 5 に対する制御部を説明する。制御部 30 は中央演算装置（CPU）31 を有しており、トランスデューサ 4, 5 の作動を制御するとともに、後述する測定モード、判定モード、較正モードを所定のプログラムに基づいて実行する機能を有する。トランスデューサ 4, 5 を送信又は受信に切り換えるために、送信回路 32 と受信回路 33 が設けられている。送信回路 33 は、分周器 34、所望の信号波形に整形するフィルタ 35 および増幅させるアンプ 36 を介して、各トランスデューサ 4, 5 の各々に出力するものである。これにより、CPU 31 で選択されたトランスデューサ 4, 5 は、超音波信号を発信する。

【0028】

また、各トランスデューサ 4, 5 は、受信回路 36 に切換え可能に接続されている。受信回路 33 は、各トランスデューサ 4, 5 から選択的に入力される超音波検出信号を増幅す

るアンプ 37、ノイズを除去するフィルタ 38 および増幅させるアンプ 39 を介してコンバータ 44 に接続されている。コンバータ 44 は、受信回路 33 から出力される超音波検出信号をデジタル化して、超音波検出データとして CPU 31 に取り込ませる A/D コンバータ 44a と、受信回路 33 のアンプ 39 の増幅率を補正する信号を出力する D/A コンバータ 44b とを備えている。

【0029】

CPU 31 はそれ自体がマイコンとして機能するように、コントロールバス 41 を介して、フラッシュメモリ 42、RAM 43、コンバータ 44、コンバータ 45、プリンタ 46 及びリアルタイムクロック 47 が接続されている。フラッシュメモリ 42 には、被検体を透過する超音波の伝播速度を求めるための手順に関するプログラムが格納されている。RAM 43 は必要なデータを一時的に記憶し、伝搬速度の演算時等に必要に応じて読み出し可能とするものである。コンバータ 44 は必要な超音波検出データを得るためのものであり、特に伝搬時間は時間設定器 48 を用いて計られる。コンバータ 45 は超音波送受波器 4, 5 の超音波透過物質の温度を測定する温度センサ 49, 50 からのセンサ出力を A/D 変換するものである。リアルタイムクロック 47 はプリンタ 46 に日付等を入れるためのものである。

10

【0030】

また、CPU 31 は、オペレータによる測定の開始を指令するスタートスイッチ 53、オペレータに測定可能を知らせる測定可能ランプ 54、オペレータに測定の実行中を知らせる測定ランプ 55、オペレータに測定終了、モード変更、異常などを知らせるブザー 56 と、前述した時間設定器 48、患者データの取り込み等の付加的機能を果たすときに使用されるパソコン 52 に接続されている。

20

【0031】

つぎに、フラッシュメモリ 42 に格納されたプログラムであって、CPU 31 のコントロールによって実行される具体的手順を図 6 のフローチャート図に基づいて説明する。まずフローの全体の考え方について説明する。

【0032】

図 6 のフローには 4 つのモードが組み込まれている。第 1 のモードは、アイドル状態を保つスリーピングモードであり、第 2 のモードは、間隔が判っている超音波透過体（ファントム）を挟んで経年変化し易いスタンドオフ 8, 25 の合計距離を計るための較正モードであり、第 3 のモードは、スタンドオフ 8, 25 が踵に対して正しい状態で押しつけられたかどうかを判定する判定モードであり、第 4 のモードは、SOS 算出の測定モードである。

30

【0033】

第 2 モードでの較正モードは必要に応じて実行されるが、その他のモードは普通の測定で繰り返されるモードである。そこで、第 1 モードのスリーピングモードと第 3 モードの判定モードと、第 4 モードの測定モードとの間には、自動遷移機能が組み込まれている。各モードの状態を検知することで、スリーピングモードから判定モードへ測定モードへと自動的に遷移する。

【0034】

つぎに、図 6 のフローに基づいて手順の詳細を説明する。まず、人の操作によってモードを決定する（S1）。第 2 モードの較正モードを選定する場合は人の入力によって較正モードの選択が決定される。通常は、▲1▼ハンドル 10 が測定体の間隔を狭める方向に操作されたことをセンサで検知するか、▲2▼可動タンク 7 のスタンドオフ 8 の移動を反射波到達時間でモニターし、スタンドオフ 8, 25 の間隔が所定になったことを検知するか、▲3▼基台（診察台）9 の上に足が載ったことを検知するかで、前述した自動遷移機能が働き判定モード選択される。

40

【0035】

較正モードが選定されるか、又は上述した▲1▼～▲3▼の状態を検知してモードの自動遷移が選定されると、スリーピングモードが自動的に解除される（S2, NO）。そして

50

、校正モードを実行するかどうかの判断が行われる（S3）。校正モードを実行する場合には（S3，YES）、スタンドオフ8，25の合計距離に相当するデータを取得するため、図8（a）の如くファントムを挟んでt1時間が計測される（S4）、TOPへ戻る。

【0036】

校正モードを実行しない場合には（S3，NO）、判定モードの実行に移る（S5，YES）。そして、波形判定モジュールで波形の良否が判定される（S6）。通常、踵にはゼリーが塗布され、スタンドオフ8，25を介しての超音波の透過が確保される。しかし、ゼリー塗布が不十分であったり、踵に対するスタンドオフ8，25の当たり具合が不十分であると、波形異常が発生する。この波形異常を、図7に示されるように、少なくとも超音波信号の信号強度、信号波形および信号の時間的安定度等の判定項目で検出する。超音波信号サンプルの振幅の極大値が一定のレベル以上にあるときは信号強度が良好、この振幅の極大値が一定のレベルより小さいときは信号強度が不足と判定する。▲2▼また、上記超音波サンプルの振幅の極大値の周期や間隔が一定の基準を満たすときは信号波形が良好、この振幅の極大値の周期や間隔が一定の基準を満たさないときは信号波形が不良と判定する。▲3▼更に、上記超音波サンプルの電圧3つに対して、それを与える時刻の列が一定の安定を示していれば信号が安定（良好）、変動する場合には信号が不良と判定する。

【0037】

波形の良否の結果は、プリンタ46に記録して表示するか、ブザー56で報知するか、測定可能ランプ54で報知するかの少なくとも一つ以上で報知を行い（S7）、続いてモード遷移モジュールへと進む（S8）。このモード遷移モジュールでは、図7の項目の全てをクリアすると、次の測定モードに移ることを許容し（S5，NO）、一定時間内に図7の項目の全てをクリアすることに失敗したら、異常を報知しスリーピングモードに復帰する（S2，YES）。そして、操作者は、異常の原因を追求し再びフローをやり直すことになる。

【0038】

信号波形が良好であると、自動的に測定モードに移る（S9，YES）。なお、モード遷移モジュール（S8）が組み込まれていない場合には、人の操作で測定モード（S9）が選定される。測定モードでは、踵を挟んだ状態での反射時間や透過時間等のデータのサンプリングが行われ（S11）、このデータに基づいて足幅計算が行われ（S12）、続いてSOS算出が行われる（S13）。このSOS算出が終了すると、その結果をプリンタ46に記録して表示するとともに、測定の終了をブザー56又は測定可能ランプ54で報知し（S15）、続いてモード遷移モジュールへと進む（S16）。このモード遷移モジュールにより自動的にスリーピングモードに戻る。

【0039】

つぎに、校正モード（S3）と測定モード（S9）における、SOS算出の具体例を図8により説明する。図8（a）は校正モードでの状態を示し、同図（b）は測定モードでの状態を示している。図8（a）のように、スタンドオフ8，25の間に間隔Fが既知のファントム（超音波透過体）61をゼリーを介して挟み込み、可動側の超音波送受波器4によってスタンドオフ8の内側の反射面8Bにおける反射波の反射時間t1を計測する。図8（b）のように、スタンドオフ8，25の間にゼリーを塗った踵62を挟み、可動側の超音波送受波器4によってスタンドオフ8の内外の反射面8B，8Aにおける反射波の反射時間t3，t5と、固定側の超音波送受波器5によってスタンドオフ25の外側の反射面25Aにおける反射波の反射時間t4と、超音波送受波器4，5による透過波の透過時間t2を計測する。

【0040】

$SOS(\text{speed of sound}) = \text{足幅} / \text{通過時間}$
 $= \text{校正時のスタンドオフの位置} - \text{測定時のスタンドオフ位置} + \text{校正ファントムの幅} / (\text{透過時間} - \text{両側の反射時間} / 2)$

10

20

30

40

50

$$= (F + V(C_r) \cdot t_1 - V(C) \cdot t_3) / (t_2 - (t_4 + t_5) / 2) \cdots (1) \text{式}$$

但し、F：ファントムの距離

V(C)：温度Cに対する液体中音速

C：測定時の温度

C_r：校正時の温度

によって算出できる。ファントムを使ってスタンドオフ8, 25の合計幅を知る校正モードを組み込むと、検査手順が面倒になるものの、スタンドオフ8, 25の経年変化によって幅が変化した場合であっても正確に検査を行うことができる。なお、ファントムを使わずスタンドオフ8, 25の先端同士をゼリーを介して密着させる場合でも、(1)式のFがゼロになるだけで校正可能である。ただし、可動タンク7の移動距離が長くなる。 10

【0041】

前述のSOSは、ヤング率と物質の密度によって規定されるから、一般に骨密度の増加に伴ってヤング率が増加し、音波は弾性の低い骨ではより速い伝播速度を示す。このことから、より骨量の多い骨ではより高いSOSを得ることになる。従って、SOSは骨の密度と弾性力の両方を加味した指標になる。なお、以上の実施の形態ではSOSから骨量を測定する場合について以下の説明をしたが、透過スペクトルのスロープの傾きから定める超音波減衰係数(BUA(Broad Ultrasound Attenuation))から骨量を求めても良いし、或いはSOSとBUAの組み合わせから求められる数学的指標であるLunar Stittness Indexから骨量を求めても良い。 20

【0042】

尚、本実施形態における超音波診断方法では、各トランスデューサ4, 5から照射され、スタンドオフ8の内側の反射面8Bで反射され超音波信号の送受信時間の伝播時間データを測定するようにしたが、これは踵に押し付けられる各スタンドオフ8の変形を考慮して、その影響を受けにくい部分で反射させるようにしたからである。従って、各トランスデューサ4, 5から照射される超音波信号をスタンドオフ8の外側の反射面8Aで反射させるようにしてもよい。また、本実施形態における超音波診断装置では、測定体3を固定したものとしたが、これに限定されるものでなく、測定体3も測定体2の如く、スタンドオフ8と可動タンク7とで構成して可動自在にしたものであってもよい。さらに、可動側の測定体に溜められる超音波透過性液体は、一種類に限らず、透過方向に複数槽に仕切られた多層構造にすることもできる。この場合、温度変化に係わらず、音速を一定にする液体の組み合わせを採用することができる。 30

【0043】

本発明で用いられる骨形成関連遺伝子測定部は、特に限定されないが、核酸の抽出・増幅・分離の手段をそれぞれ有する装置を具備する核酸分析部および骨形成関連遺伝子検出手段を有する装置を具備しているものが好ましい。また、核酸を分離する手段が、骨形成関連遺伝子の検出手段を兼ね備えていてもよい。本発明の核酸の抽出・増幅・分離方法及び検出方法においては、生物から採取した核酸を検体として用いる。生物としては、例えば哺乳動物、魚類、貝類、爬虫類を含む動物、昆虫、植物、糸状菌、酵母、細菌などが挙げられる。哺乳動物としては、例えばヒト、犬、猫、猿などが挙げられる。核酸は、例えば血液、臓器、髪、毛、皮膚、爪、細胞など生物組織から採取できる。核酸、ゲノムなどを採取する方法としては、例えば血液においては、例えば採血針を指等に押し当て、人又は動物の例えば指等から採取される上記微量の血液を容器に滴下する方法、例えば髪、毛、爪においては、髪、毛、爪を細切し、容器に添加する方法などにより検体の準備が行われる。なお、核酸としてはDNA, RNA、ゲノムなどが挙げられる。 40

【0044】

本発明における抽出・増幅・分離及び検出の対象とされる遺伝子は、例えばビタミンD受容体(VDR)遺伝子、ビタミンD結合蛋白(DBP)遺伝子、アポリポプロテインE(ApoE)遺伝子およびエストロゲン受容体(ER)遺伝子であり、ビタミンD受容体(50

VDR) 遺伝子、ビタミンD結合蛋白(DBP) 遺伝子、アポリポ蛋白E(ApoE) 遺伝子およびエストロゲン受容体(ER) 遺伝子の一種類乃至すべての種類が挙げられ、そのそれぞれの多型について、被検体の遺伝子を解析し分類する。これらについては、従来公知の技術に従ってよい。例えば、各遺伝子の多型の分類については、以下の分類に従う。

【0045】

アポリポ蛋白E(ApoE) 遺伝子の多型については、白木により、特開平9-299337において、ビタミンKをコントロールする因子の一つとして知られているApoEの表現型遺伝子と骨密度との相関が見出され、遺伝子の多型を3種類のアイソフォーム(E_2 、 E_3 、 E_4)を基に、 $ApoE_{2/2}$ 、 $ApoE_{2/3}$ 、 $ApoE_{2/4}$ 、 $ApoE_{3/3}$ 、 $ApoE_{3/4}$ および $ApoE_{4/4}$ の6種類に分類し、骨密度、血漿中オステオカルシンの観点から、 $ApoE_{2/4}$ 、 $ApoE_{3/4}$ または $ApoE_{4/4}$ を低骨密度型に基づく骨疾患高リスク型($ApoE_4$ 群)、 $E_{2/2}$ または $ApoE_{2/3}$ および $ApoE_{3/3}$ を非低密度型に基づく骨疾患罹患低リスク型($ApoE_2$ 群および $ApoE_3$ 群)と分類している。

【0046】

エストロゲン受容体(ER) 遺伝子の多型について、例えば、Ushiroyama Tらは、“Res Commun Mol Pathol Pharmacol, 2001, Jul, 109(1-2), 15-24”において、閉経後の女性のゲノムDNAを、制限酵素PvuIIで切断した制限断片長多型(Restriction Enzyme Fragment Length Polymorphism)を、PP、Pp、ppタイプ、制限酵素XbaIで切断した制限断片長多型を、XX、Xx、xxタイプに分類しており、そのタイプと骨密度との相関を述べている。

【0047】

ビタミンD受容体(VDR) 遺伝子の多型について、例えば、Heiberg IPらは、“Nephron, Jan, 90(1), 51-57, 2002”において、被検体のDNAを制限酵素BsmIで切断した制限断片長多型を、BB、Bb、bbタイプに分類しており、そのタイプと骨密度との相関を述べている。

【0048】

ビタミンD結合蛋白(DBP) 遺伝子について、例えば、Papiha SSらにより、“Calcif Tissue Int., Oct, 65(4), 262-266, 1999”において、DBP遺伝子の多型の一つである(TAAA)(n)-Alu連続配列と、男性における骨密度及び脊椎骨折との関係を述べている。

【0049】

本発明の核酸の抽出・増幅・分離方法は、核酸抽出装置、核酸増幅装置および電気泳動装置を用いて行う。また本発明で用いられる核酸抽出装置、核酸増幅装置および電気泳動装置は、特に限定されない。核酸抽出装置としては、好ましくは、ジェネレーションキャプチャーディスク(Generation Capture Disk、株式会社フナコシ製)などを用いる。核酸増幅装置としては、好ましくは、ライトサイクラー(Light Cycler、米国、ロシュ社製)などを用いる。なお、核酸増幅装置としては、ライトサイクラー(Light Cycler、米国、ロシュ社製)などのPCR装置の他に、RT-PCR装置、常温での核酸増幅装置などを用いることができる。電気泳動装置としては、好ましくは、アジレント2100バイオアナライザー(Agilent 2100 Bioanalyzer、米国、Agilent社製)または日立SV1210マイクロチップ電気泳動(日立製作所製)などを用いる。

なお、核酸を抽出・増幅・分離するための(イ)核酸抽出装置、(ロ)核酸増幅装置および(ハ)電気泳動装置は特に限定されることなく、それぞれが(イ)抽出手段、(ロ)増幅手段、(ハ)分離手段を具備するものならどのようなものであってもよい。また、核酸を分離する手段が、骨形成関連遺伝子の検出手段を兼ね備えていてもよい。

【0050】

本発明の骨形成関連遺伝子の検出方法は、特に限定されることなく、検出手段を有するものならどのようなものであっても良いが、好ましくは、キャピラリー電気泳動装置、マイクロチップ電気泳動装置又はDNAマイクロアレイなどを用いる。

【0051】

本発明の骨形成関連遺伝子測定部は、抽出・増幅・分離手段を具備する一体型の自動分析装置と検出手段を具備する装置との組み合わせであってもよく、またこれら全ての手段を具備する一体型の自動分析装置であってもよい。図9は、そのような全自動分析装置の一例を示すブロック図である。該図で図示されるように、生物から採取した核酸を含有する検体を試料とし、抽出手段によって試料から核酸を抽出し、抽出された核酸を増幅手段によって増幅し、増幅された核酸を分離手段によって分離し、分離された核酸を検出することにより、自動的に分析が行われ、少量のサンプルで分析結果が迅速に得られうる。

10

特に、核酸の抽出については、マイクロリットルオーダーの血液から核酸をディスク上に抽出することができ、細胞から出てきたDNAなどの核酸が、ディスクに抽出されるまでの距離が短くなり、従来のミリリッターあるいはサブミリリッターの量のサンプルを抽出していた場合より高速化が達成できる。

核酸の増幅については、核酸の増幅のために、約94 から約68 の温度設定を約30回ほど繰り返すことが好ましい。この温度の上昇と下降に要する時間が従来は長くかかっていたが、本発明の実施態様は、サンプル量をマイクロリットルオーダーにすることができ、最大約1秒間に約20 の速度で変化させることができるようになり、核酸増幅反応全体の時間を短縮できる。

20

核酸の分離については、核酸を電気泳動で分離する際に、マイクロメートルサイズのチップを使用することにより、従来より高い電場を印加することが可能になり、高速化を達成することができる。これは、従来の電気泳動では、高電場印加に付随して発生する熱が大きく、高電圧を印加できなかったが、マイクロ化により熱の発生が押さえられることに加えて、体積に対する比表面積がマイクロ化により大きくなり、熱の発散が効率的になったことによる。

核酸の検出については、キャピラリー電気泳動装置やDNAマイクロチップ電気泳動装置を使用することにより、核酸を電気泳動で分離する際に、従来のゲル電気泳動に比べて高い電圧をかけられるため、核酸の解析能力が増すとともに、分析時間をも短縮できる。また、DNAマイクロアレイにおいては、骨形成関連遺伝子と関連する多型遺伝子を貼り付けたチップを用いることにより、迅速な診断と、患者個人に特有な遺伝的情報を基に、患者に合わせたきめ細かいオーダーメイド治療を実現しうる。

30

【0052】

上記の生物から採取した血液、臓器、髪、毛、皮膚、爪、組織、細胞などから核酸を抽出する方法としては、例えばジェネレーションキャプチャーディスク (Generation Capture Disk、株式会社フナコシ製) を用いて行われる。

例えばDNAを抽出する手段として、ジェネレーションキャプチャーディスクを用いる場合のより好ましい具体的な手順としては、下記の(1)~(4)の手順の組み合わせが挙げられる。(1)例えば、健康な被験者から約2~5 μ L、好ましくは約3 μ Lの血液を採取し、約2 mLの遠心チューブに挿入されている約3 mmのキャプチャーディスク上に滴下し、数分間室温におく。(2)ジェネレーションキャプチャーディスクキットのDNA精製溶液約200 μ Lを、キャプチャーディスク上の血液に添加し、室温で好ましくは1分間インキュベートする。(3)約15000 rpmで好ましくは約10秒間遠心分離し、集積チューブに洗浄液を集める。さらに、(4)工程(2)および(3)を繰り返して全体で3回洗浄し、DNAが固定化されたディスクを調製する。

40

【0053】

上記で調製されたDNAが固定化されたディスクを幾つかの断片、好ましくは4つの断片に分離して増幅キャピラリーに挿入し、反応液に浸透させる。DNAの増幅はライトサイクラー (Light Cycler、米国、ロシュ社製) を用いて行われるのが好ましい。

50

【 0 0 5 4 】

P C R 反応液は 4 で調製するのが好ましく、P C R 反応液の成分は例えば以下の濃度で、反応液の総量が約 1 0 μ L となるよう調製するのが好ましい。尚プライマーとしては、増幅したい骨形成関連遺伝子領域を含む D N A 鎖の両端に相補的な 2 種類のオリゴヌクレオチドプライマーを選択する。

P C R 反応液：

成分	最終濃度	
水		
バッファー	1 μ L (3mM Mg ²⁺)	10
dNTP混合物	4 0 0mM	
プライマー	1. 0mM	
Takara Z-Taq	5 U/1 0 0mL	
BSA	1mg/1 0 0mL	
SYBR Green I	1 μ L	
ヒトゲノムDNA	3. 0 ng/mL	
合計	1 0 μ L	20

【 0 0 5 5 】

P C R 反応は、初期変性反応を約 9 4 ~ 9 8 程度で、約 0 ~ 3 0 秒間程度、変性反応を約 9 4 ~ 9 8 程度で、約 0 ~ 5 秒間程度、アニーリングおよび伸長反応を約 6 8 ~ 7 2 程度で、約 0 ~ 2 0 秒間程度、好ましくは 5 秒間行うのが好ましく、反応全体に要する時間は約 3 0 0 秒 (6 分) 以内であるのが望ましい。

【 0 0 5 6 】

P C R 反応後、反応キャピラリーを 3 0 0 0 r p m で約 5 秒間遠心分離し、次の分析に用いる溶液を得る。

【 0 0 5 7 】

上記 P C R 反応で得られた産物を分離する方法としては、例えばアジレント 2 1 0 0 バイオアナライザー (Agilent 2 1 0 0 Bioanalyzer、米国、Agilent 社製) または日立 S V 1 2 1 0 マイクロチップ電気泳動 (日立製作所製) を用いて行うのが好ましい。なお、核酸の分離は、通常分離と、D N A サイズ決定、D N A 量測定等の解析を含む。

アジレント 2 1 0 0 バイオアナライザー (Agilent 2 1 0 0 Bioanalyzer、米国、Agilent 社製) を用いる場合は、P C R 産物の混合物を約 1 0 5 秒内で分析するのが好ましい。

日立 S V 1 2 1 0 マイクロチップ電気泳動を分析に用いる場合は、例えば 5 0 m M トリス - ホウ酸を含む約 0 . 3 % メチルセルロース (M C) (w / w) を篩分けマトリックスとして用いるのが好ましく、複数の P C R 産物をそれぞれ同時に約 1 1 5 秒内で分析するのが好ましい。また場合によっては、アジレント 2 1 0 0 バイオアナライザー又は日立 S V 1 2 1 0 マイクロチップ電気泳動

が骨形成関連遺伝子検出手段を兼ね備えていてもよい。

【 0 0 5 8 】

本発明の抽出、増幅および分析を行うのに要する時間は、約 1 0 ~ 2 0 分間、好ましくは約 1 0 分以内であるのが望ましい。

【 0 0 5 9 】

骨形成関連遺伝子の多型を検出する方法としては、特に限定されないが、例えばキャピラリー電気泳動を用いて行うのが好ましい。キャピラリー電気泳動装置は特に限定されない

10

20

30

40

50

。キャピラリー電気泳動を用いる場合は、例えばキャピラリーは高純度シリカ素材とし、内径が約50～100 μ m、長さ約10～50cm程度のものが好ましく、キャピラリー内にゲルやポリマー溶液等を満たして、キャピラリーの両端及び電極はトリス・ホウ酸溶液等の緩衝液中に入れられて使用されるのが好ましい。電気泳動による分離は、キャピラリーの両端に高電圧（約100～500V/cm）をかけることにより、陰極側よりキャピラリー内に導入された核酸サンプルが陽極側に泳動していき、その間に分離が達成される。分離された核酸サンプルは、検出器により検出される。検出は紫外吸収検出器、蛍光検出器あるいはレーザー誘起蛍光検出器等を用いてオンラインで行われるのが好ましい。分離された骨形成関連遺伝子領域を含む核酸断片は上記分離手段を具有する装置より回収され、必要ならば制限酵素処理等による前処理を行った後、検出装置に付され遺伝子の多型の検出がされる。

10

【0060】

以下に、骨形成関連遺伝子がApoE遺伝子である場合の多型の検出方法としての好ましい具体的手段について述べる。

被験者より得られた血液検体から核酸抽出装置を用いてDNAを抽出し、遺伝子配列のエクソン4領域に存在する112番コドン（E₂及びE₃：TGC、E₄：CGC）及び158番コドン（E₂：TGC、E₃及びE₄：CGC）をカバーする塩基配列領域（250塩基対断片）をPCRにより増幅する。PCR産物から目的とする塩基配列領域（250塩基対断片）を含むDNA断片のみを、例えばアジレント2100バイオアナライザーまたは日立SV1210マイクロチップ電気泳動を用いて分離し、回収する。回収されたDNA断片をHhaI制限酵素を用いて切断処理し、キャピラリー電気泳動に付す。112番コドン及び158番コドンの塩基配列が異なることによるHhaI制限酵素処理断片の長さの差異から、キャピラリー電気泳動時の移動度に差が生じ、ApoE遺伝子の多型が検出される。

20

【0061】

本発明の骨診断方法は、超音波骨密度測定部によって得られる骨密度データと、骨形成関連遺伝子検出部によって得られる上記遺伝子情報に基づいて、又はこれらを使用して、骨粗しょう症の診断・予防及び治療が行われる。このような診断・予防・治療は、医師によって行われるが、長期間に及んでよい。

【0062】

図1は、本発明の一実施例を示すブロック図である。該図に示される超音波骨密度測定部（a）は、図2から図5に示される超音波診断装置から構成される。該図に示される骨形成関連遺伝子測定部（i）は、図9に示される核酸抽出・増幅・分離手段から構成される核酸分析部（b）と、図9に示される骨形成関連遺伝子検出手段から構成される骨形成関連遺伝子検出部（c）を構成要件として具備する。核酸分析部（b）で得られた解析結果、つまり単離されたDNAが骨形成関連遺伝子検出部（c）に送られ、骨形成に関連する遺伝子情報、より具体的には骨形成関連遺伝子の多型が検出される。表示信号生成部（d）は、超音波骨密度測定部（a）及び骨形成関連遺伝子検出部（c）の出力信号に基づいて表示器（g）に表示するための表示用信号を生成し表示用記憶回路（h）へ送出する。表示器（g）は、互いに直行するX軸及びY軸方向にそれぞれm個及びn個の画素を有するCRTや液晶表示器で構成され、供給される表示用信号を平面表示する。表示用記憶回路（h）は、少なくとも表示器（g）の画素数と同数の記憶素子数を有し、それぞれの記憶素子が表示器（g）の各画素に1対1に対応し、表示信号生成部（d）から供給され表示器（g）に表示される表示用信号を記憶する。

30

40

【0063】

記憶器（e）は、超音波骨密度測定部（a）で得られる被験者の例えばSOS値、氏名、性別、年齢、足サイズ、右又は左の測定足別、身長や体重等を記憶し、これらの記憶データの全部又は一部を超音波骨密度測定部（a）へ又は骨密度測定部（a）を介して表示信号生成部（d）へ送出する。なお、記憶器（e）から記憶信号を表示信号生成部（d）へ直接供給することも可能である。

50

記憶器（e'）は、骨形成関連遺伝子検出部（c）で得られる被験者の骨形成に関連する遺伝子情報及び必要に応じて氏名、性別、年齢、身長や体重を記憶し、これらの記憶データの全部又は一部を骨形成関連遺伝子検出部（c）へ又は骨形成関連遺伝子検出部（c）を介して表示信号生成部（d）へ送出される。なお、記憶器（e'）から記憶信号を表示信号生成部（d）へ直接供給することも可能である。

【0064】

図10及び図11において、本発明により得られる骨診断結果の一例を示す。図10で示される、被験者の例えばSOS値、氏名、性別、年齢、足サイズ、右又は左の測定足別、身長や体重等、骨形成関連遺伝子検出表及び図11で示されるSOS値と年齢の関係図から選ばれる一種類又は2種類以上のデータが、表示器（g）上に表示される。また、これらの表示されたデータは、記憶器（e）及び（e'）にて被験者の測定結果履歴として記憶・保存され、所望により表示の都度に、表示信号生成部（d）に信号として送出され、表示用記憶回路（h）を通して表示器（g）上に骨診断結果履歴の一例として表示される。

10

【0065】

図10における被験者の例えばSOS値、氏名、性別、年齢、足サイズ、右又は左の測定足別、身長や体重等は、検査の度毎に表示され、検査当日の被験者のデータを示すものとして表示されるのが好ましい。骨形成関連遺伝子の多型検出結果表は、骨形成関連遺伝子検出部（c）にて検出された被験者の遺伝子の多型が、骨形成関連遺伝子の多型のどのタイプに分類されるかを認識し、遺伝子表上に*印で打点したものであり、骨診断結果を表示器（g）で表示する毎に表示されるのが好ましい。測定結果履歴表は、被験者の例えばSOS値、氏名、性別、年齢、足サイズ、右又は左の測定足別、身長や体重等の履歴を、検査日と共に表示するものであり、2回目以降の骨診断結果の一例として表示されるのが好ましい。

20

【0066】

図11におけるSOS値と年齢の関係図は、被検者のSOS値〔m/s〕と被験者の年齢とが交わる点をSOS値と年齢の相関図上に*印で打点したものであり、検査の度毎に表示され、検査当日の被験者のデータを示すものとして表示されるのが好ましい。また、総合評価欄は、図10及び図11で示されるデータをもとに、被験者の現在のみならず将来の骨疾患に対するリスクを予測し、医師及び被験者に長期に渡っての診断・予防・治療方法の提言を行うものとして表示されるのが好ましい。

30

【0067】

制御部（f）は、超音波骨密度測定部（a）、核酸分析部（b）、骨形成関連遺伝子検出部（c）、表示信号生成部（d）、表示用記憶回路（h）、記憶器（e）、記憶器（e'）及び表示器（g）へ制御信号をそれぞれ送出し上記動作を行わしめる。

【0068】

【発明の効果】

測定体の間隔を被検体の大きさに応じて可変させて、被検体に押し付けることができ、しかも測定体の可動により各超音波送受波器の相互の間隔も変動されることがない結果、従来技術のように、被検体の特性を検出する毎に、各超音波送受波器の間の距離を測定する必要もなく、被検体に接触する部分を柔軟なものとする必要がないので、各測定体が破損して超音波透過性の流体がこぼれる危険性もなく、また、被検体と超音波透過性の流体の整合を必要としないので、被検体の特性の検出時間が短時間で済み、且つメンテナンスが容易で、小型化を図ることが可能となる超音波骨密度測定部と、抽出・増幅・解析方法および装置を用いることにより、サンプルの使用量を少なくすることが可能となり、また従来の技術に要した時間と比べて極めて短時間のうちに核酸の抽出・増幅・解析を行うことができる核酸分析部を有し、迅速に骨形成関連遺伝子の多型を分類可能な骨形成関連遺伝子検出部を具備する、本発明の骨診断装置を用いることにより、被検体の現在の骨評価のみならず、将来の長期に渡っての診断・予防・治療方法を実施又は提案することが可能となり、また現在進められている遺伝子と骨密度や骨疾患罹患との相関の研究に対応する

40

50

、研究開発装置としても貢献することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明が、図 2 から図 5 に示される超音波診断装置から成る超音波骨密度測定部、図 9 に示される核酸分析部及び骨形成関連遺伝子検出部を具有する骨形成関連遺伝子測定部、表示信号生成部、表示用記憶器、表示器、制御部、および記憶器から構成されていることを示すブロック図である。

【図 2】図 1 における超音波骨密度測定部を構成する超音波診断装置の全体構成を示す側面図である。

【図 3】図 2 の A - A 矢視図である。

【図 4】図 2 の B - B 矢視図である。

10

【図 5】図 1 における超音波骨密度測定部を構成する超音波診断装置の制御の構成を示すブロック図である。

【図 6】図 1 における超音波骨密度測定部を構成する超音波診断装置の測定手順を示すフローチャート図である。

【図 7】超音波骨密度測定部において、被検体への測定体の押しつけの良否を判定する項目を示す表図である。

【図 8】超音波骨密度測定部における較正モードと測定モードでの測定状態を示す模式図である。

【図 9】図 1 における、抽出手段、増幅手段、分離手段から構成される核酸分析部及び骨形成関連遺伝子検出手段から構成される骨形成関連遺伝子検出部から成る骨形成関連遺伝子測定部において、試料を抽出手段に付して分析結果が検出手段から得られることを示すブロック図である。

20

【図 10】被験者の S O S 値、氏名、性別、年齢、足サイズ、右又は左の測定足別、身長や体重等、骨形成関連遺伝子検出表及び骨診断結果履歴等からなる骨診断結果を、図 1 に示される表示器 (g) にて表示する一例である。

【図 11】図 2 乃至図 5 における骨密度測定装置により得られる S O S 値と被験者の年齢との関係を示すグラフ及びデータに基づく総合評価を骨診断結果として、図 1 に示される表示器 (g) にて表示する一例である。

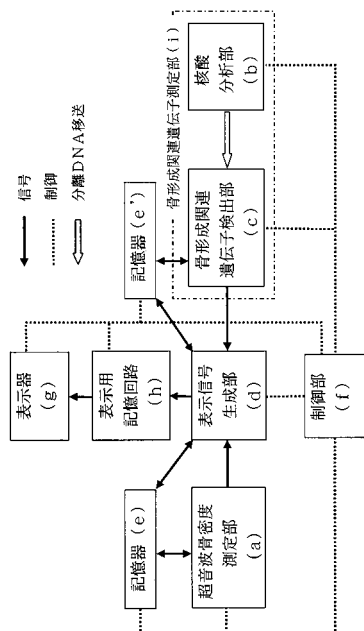
【符号の説明】

- 1 超音波診断装置
- 2 , 3 測定体
- 4 , 5 超音波送受波器
- 8 スタンドオフ (超音波透過体)
- 8 A , 8 B 反射面
- 10 可動機構
- 15 タンクガイド (ガイド機構)
- 19 シール
- 20 密閉板
- 25 スタンドオフ (超音波透過体)
- 25 A 反射面
- 27 連結部材

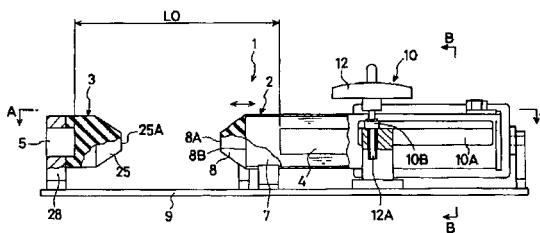
30

40

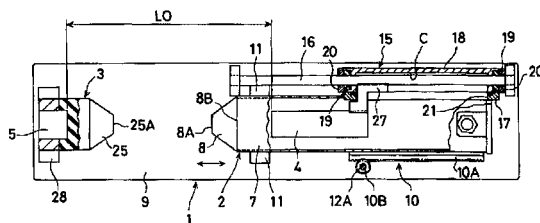
【 図 1 】



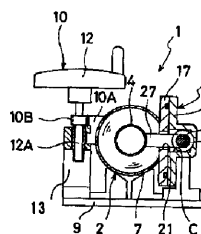
【 図 2 】



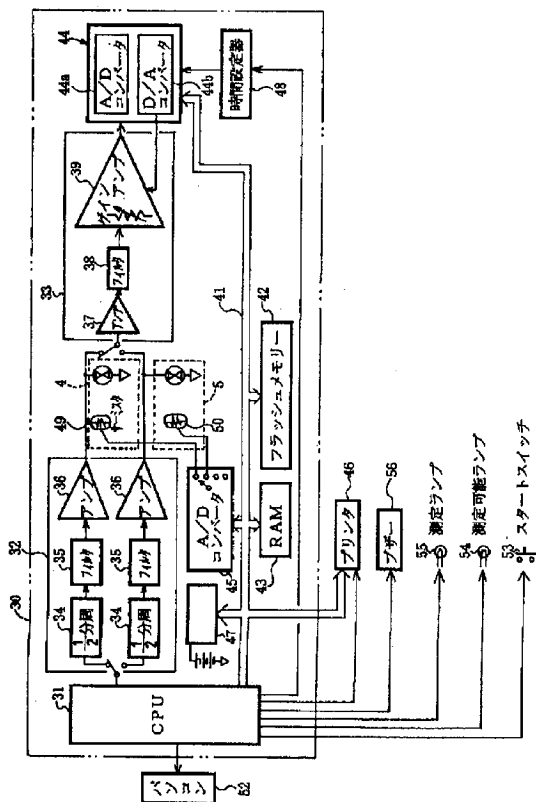
【 図 3 】



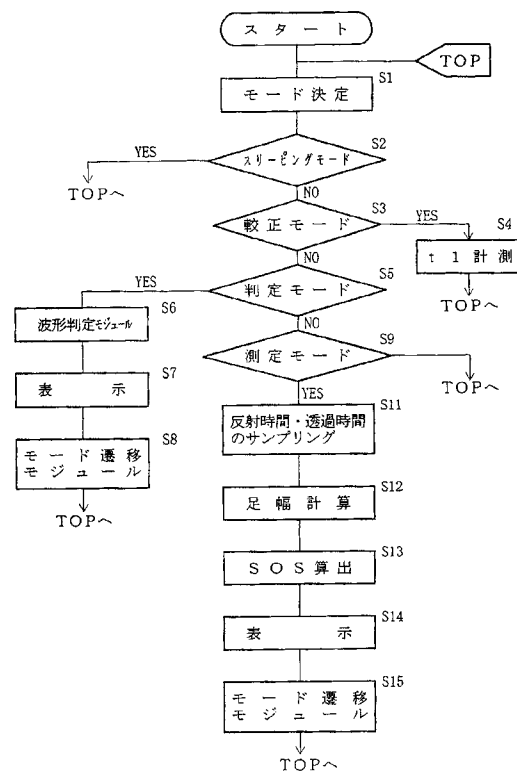
【 図 4 】



【圖 5】



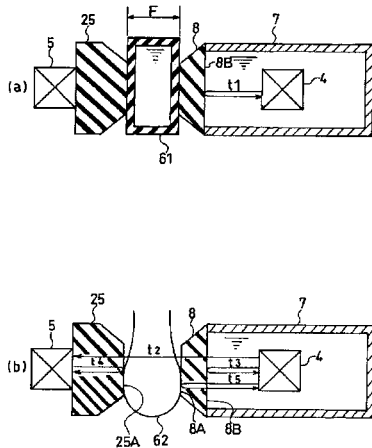
【 図 6 】



【図 7】

項目 \ 良否	良	好	否 (欠陥)
信号強度			
波形歪み			
時間安定度			

【図 8】



【図 10】

骨診断結果 (女性用シート) 日本 初子 様

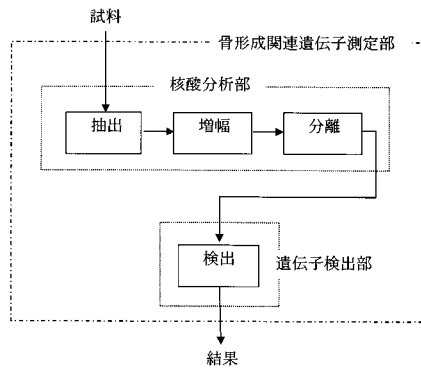
骨密度測定結果			
施設名	井上病院	検査日	H14年 7月 17日
氏名	日本 初子	年齢	65歳 (S12年2月25日生)
性別	女性	身長	147.0 cm
足サイズ	23.5 cm	体重	43.0 kg
測定足	右	SOS値	1491 m/s

遺伝子多型検出結果											
ApoE (εε' εε' アリイ)			ER (εε' εε' 受容体)			VDR (εε' εε' 受容体)			DBP (εε' εε' 結合蛋白)		
E2	E3	E4	PP	Pp	pp	FF	Ff	ff	10/8	10/10	
E2		*	XX			BB					
E3			Xx	*		Bb					*
E4			xx			bb	*				

この結果は、骨の形成に関与する遺伝子型について、あなたの遺伝子がどのタイプであるかを診断するものです。図中の*印が一つでもある場合は、骨疾患高リスク型の可能性ありと診断されますので、骨密度測定を定期的に受けることが必要です。医師による適切な指導のもと、自己管理を行ってください。

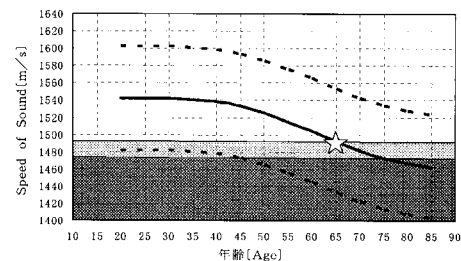
測定結果履歴							
氏名	検査日	測定足	SOS (m/s)	性別	足サイズ (cm)	年齢 (歳)	身長 (cm)
日本初子	H10/7/12	右	1500	女性	23.5	61	147.5
同上	H11/7/14	同上	1498	同上	23.5	62	147.5
同上	H12/7/10	同上	1496	同上	23.5	63	147.5
同上	H13/7/15	同上	1493	同上	23.5	64	147.0
同上	H14/7/17	同上	1491	同上	23.5	65	147.0

【図 9】



【図 11】

SOS 値と年齢の関係



上記グラフの実線は年齢に対するSOS標準値を、破線は±2SD値を示しております。
 は、若年者(20~40歳)の平均値に比べて80~70%相当の骨密度領域を示しております。
 は、70%以下相当の骨密度領域を示しております。

<結果の説明>

あなたの測定値が該当する領域を☆印で示しています。

☐ 正常 (破線 の領域、1493m/s以上)

あなたの骨密度は、若年者(20~40歳)の平均値に比べてほぼ同程度と言えます。しかし、40代からの骨量年々減少し、特に閉経後の数年間は急激に減少することがありますので、適度な運動やカルシウムの摂取に心がけ、骨量の維持に努めましょう。今後も定期的に検査を受けてください。

☒ * 注意 (破線 の領域、1473~1492m/s以上)

あなたの骨密度は、若年者(20~40歳)の平均値に比べて70~80%と少し少ないようです。将来、骨粗しょう症に進行してゆく可能性もありますので、医師の指導を受け、よい食生活や適度な運動により骨量の維持に努めてください。

☐ 低骨密度 (破線 の領域、1473~1492m/s以下)

あなたの骨密度は、若年者(20~40歳)の平均値に比べて70%以下とかなり少ないようです。医師による適切な指導を受けて下さい。

総合評価

あなたの骨密度は、若年者(20~40歳)の平均値に比べて70~80%と少し少ないようです。また、あなたの骨形成関連遺伝子多型は、ApoE及びVDRにおいて骨疾患高リスク型であるため、将来骨粗しょう症に進行してゆく可能性が高いと考えられます。今後も骨密度測定検査を定期的に行い、医師の指導のもと、よい食生活や適度な運動により骨量の維持に努めてください。

【手続補正書】

【提出日】平成14年8月12日(2002.8.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

超音波骨密度測定部と骨形成関連遺伝子測定部とを具有することを特徴とする骨診断装置。

【請求項2】

骨形成関連遺伝子測定部が、その構成要件として核酸分析部を具備することを特徴とする請求項1に記載の骨診断装置。

【請求項3】

さらに、表示器と、表示用記憶回路と、表示信号生成部及び制御部とを具有することを特徴とする請求項1または2に記載の骨診断装置。

【請求項4】

骨密度測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする請求項1ないし3のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項5】

骨形成関連遺伝子測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする請求項1ないし4のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項6】

核酸分析部が、生物から採取した核酸を含有する検体から、核酸を抽出する抽出手段、抽出された核酸を増幅する増幅手段および増幅された核酸を分離する分離手段を具備することを特徴とする請求項1ないし5のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項7】

抽出手段が、ジェネレーションキャプチャーディスク装置であり、増幅手段が、ライトサイクラー装置であり、分離手段がアジレント2100バイオアナライザーまたは日立SV1210マイクロチップ電気泳動であることを特徴とする請求項1ないし6のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項8】

骨形成関連遺伝子が、エストロゲン受容体遺伝子、ビタミンD受容体遺伝子、ビタミンD結合蛋白遺伝子またはアポリポ蛋白E(ApoE)遺伝子であることを特徴とする請求項1ないし7のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項9】

アポリポ蛋白E(ApoE)遺伝子が、 $ApoE_{2/2}$ 、 $ApoE_{2/3}$ 、 $ApoE_{2/4}$ 、 $ApoE_{3/3}$ 、 $ApoE_{3/4}$ および $ApoE_{4/4}$ から形成される群から得られる一種類または二種類以上の遺伝子であることを特徴とする請求項1ないし8のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項10】

超音波骨密度測定部が、被検体に超音波を透過させ、この被検体の特性を診断する超音波診断装置であって、前記被検体載る基台と、前記基台に設けられ、前記被検体の大きさに応じて相互の間隔を可変するため少なくとも一方が可動とされ、前記被検体に対して超音波透過可能且つ押し付け可能な一对の測定体と、前記一对の測定体のうち可動とされたものの中に溜められた超音波透過性流体と、前記一对の測定体のそれぞれに設けられ、可動とされた前記測定体には前記超音波透過性流体内に収納されるとともに前記基台側に支持され、相互の間隔が固定された一对の超音波送受波器とを備えていることを特徴とする請求項1ないし9のいずれかに記載の骨診断装置。

【請求項 1 1】

ヒトまたは動物の一部及びヒトまたは動物から採取した検体を請求項 1 ないし 1 0 のいずれかの装置に付して得られる骨密度情報と骨形成関連遺伝子情報を用いることを特徴とする骨診断方法。

【請求項 1 2】

ヒトまたは動物の一部が踵であることを特徴とする請求項 1 1 に記載の骨診断方法。

【請求項 1 3】

ヒトまたは動物から採取した検体が、血液であることを特徴とする請求項 1 1 または 1 2 に記載の骨診断方法。

【請求項 1 4】

骨診断が、健常、骨粗しょう症前段階または骨粗しょう症であることを判別することを特徴とする請求項 1 1 ないし 1 3 のいずれかに記載の骨診断方法。

【請求項 1 5】

骨形成関連遺伝子測定部における骨形成関連遺伝子の検出が、キャピラリー電気泳動装置でなされることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の骨診断装置。

【請求項 1 6】

骨形成関連遺伝子測定部における骨形成関連遺伝子の検出が、DNA マイクロアレイでなされることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の骨診断装置。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 4】

すなわち、本発明は、

(1) 超音波骨密度測定部と骨形成関連遺伝子測定部とを具有することを特徴とする骨診断装置、

(2) 骨形成関連遺伝子測定部が、その構成要件として核酸分析部を具備することを特徴とする前記 (1) に記載の骨診断装置、

(3) さらに、表示器と、表示用記憶回路と、表示信号生成部及び制御部とを具有することを特徴とする前記 (1) または (2) に記載の骨診断装置、

(4) 骨密度測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする前記 (1) ないし (3) のいずれかに記載の骨診断装置、

(5) 骨形成関連遺伝子測定部が、記憶器を備えていることを特徴とする前記 (1) ないし (4) のいずれかに記載の骨診断装置、

(6) 核酸分析部が、生物から採取した核酸を含有する検体から、核酸を抽出する抽出手段、抽出された核酸を増幅する増幅手段および増幅された核酸を分離する分離手段を具備することを特徴とする前記 (1) ないし (5) のいずれかに記載の骨診断装置、

(7) 抽出手段が、ジェネレーションキャプチャーディスク装置であり、増幅手段が、ライトサイクラー装置であり、分離手段がアジレント 2 1 0 0 バイオアナライザーまたは日立 S V 1 2 1 0 マイクロチップ電気泳動であることを特徴とする前記 (1) ないし (6) のいずれかに記載の骨診断装置、

(8) 骨形成関連遺伝子が、エストロゲン受容体遺伝子、ビタミン D 受容体遺伝子、ビタミン D 結合蛋白遺伝子またはアポリポプロテイン E (A p o E) 蛋白関連遺伝子であることを特徴とする前記 (1) ないし (7) のいずれかに記載の骨診断装置、

(9) アポリポプロテイン E (A p o E) 遺伝子が、A p o E _{2 / 2}、A p o E _{2 / 3}、A p o E _{2 / 4}、A p o E _{3 / 3}、A p o E _{3 / 4} および A p o E _{4 / 4} から形成される群から得られる一種類または二種類以上の遺伝子であることを特徴とする前記 (1) ないし (8) のいずれかに記載の骨診断装置、

(1 0) 超音波骨密度測定部が、被検体に超音波を透過させ、この被検体の特性を診断

する超音波診断装置であって、前記被検体が載る基台と、前記基台に設けられ、前記被検体の大きさに応じて相互の間隔を可変するため少なくとも一方が可動とされ、前記被検体に対して超音波透過可能且つ押し付け可能な一对の測定体と、前記一对の測定体のうち可動とされたものの中に溜められた超音波透過性流体と、前記一对の測定体のそれぞれに設けられ、可動とされた前記測定体にあつては前記超音波透過性流体内に収納されるとともに前記基台側に支持され、相互の間隔が固定された一对の超音波送受波器とを備えていることを特徴とする前記(1)ないし(9)のいずれかに記載の骨診断装置、

(11) ヒトまたは動物の一部及びヒトまたは動物から採取した検体を前記(1)ないし(10)のいずれかの装置に付して得られる骨密度情報と骨形成関連遺伝子情報を用いることを特徴とする骨診断方法、

(12) ヒトまたは動物の一部が踵であることを特徴とする前記(11)に記載の骨診断方法、

(13) ヒトまたは動物から採取した検体が、血液であることを特徴とする前記(11)または(12)に記載の骨診断方法、

(14) 骨診断が、健常、骨粗しょう症前段階または骨粗しょう症であることを判別することを特徴とする前記(11)ないし(13)のいずれかに記載の骨診断方法、

(15) 骨形成関連遺伝子測定部における骨形成関連遺伝子の検出が、キャピラリー電気泳動装置でなされることを特徴とする前記(1)または(2)に記載の骨診断装置、

(16) 骨形成関連遺伝子測定部における骨形成関連遺伝子の検出が、DNAマイクロアレイでなされることを特徴とする前記(1)または(2)に記載の骨診断装置、
に関する。

フロントページの続き

(72)発明者 須崎 寛則

兵庫県西宮市芦原町 9 番 5 2 号 古野電気株式会社内

(72)発明者 張 麗華

徳島県徳島市庄町 1 丁目 2 7 - 8 コーポいずみ 1 6 号室

F ターム(参考) 2G045 CB13 DA13 FB05

4C301 AA06 DD30 EE11 GA03 GC01 JB25 LL05

4C601 DD30 DE17 EE09 GA01 GA03 GC01 JB34 JB35 JB38 LL01

LL05

专利名称(译)	骨诊断设备		
公开(公告)号	JP2004065696A	公开(公告)日	2004-03-04
申请号	JP2002230605	申请日	2002-08-07
[标]申请(专利权)人(译)	马场 嘉信		
申请(专利权)人(译)	马场 嘉信 古野电器有限公司		
[标]发明人	馬場嘉信 牧野逸夫 須崎寛則 張麗華		
发明人	馬場 嘉信 牧野 逸夫 須崎 寛則 張 麗華		
IPC分类号	G01N33/50 A61B8/08 G01N27/447 G01N37/00		
FI分类号	A61B8/08 G01N33/50.P G01N33/50.X G01N27/26.315.K G01N37/00.101 G01N27/447.315.K		
F-TERM分类号	2G045/CB13 2G045/DA13 2G045/FB05 4C301/AA06 4C301/DD30 4C301/EE11 4C301/GA03 4C301/GC01 4C301/JB25 4C301/LL05 4C601/DD30 4C601/DE17 4C601/EE09 4C601/GA01 4C601/GA03 4C601/GC01 4C601/JB34 4C601/JB35 4C601/JB38 4C601/LL01 4C601/LL05 4C601/DD10 4C601/FF01		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种用于长期诊断，预防和治疗骨形成相关疾病的方法的装置。 解决方案：骨诊断设备的特征在于包括超声骨密度测量单元和与骨形成相关的基因检测单元。 其特征在于，骨形成相关基因检测单元包括核酸分析单元作为其组成元件，并且包括指示器，显示存储电路，显示信号生成单元和控制单元。 [选择图]无

【图 3】

