

Title	小児期のビタミンD代謝に関する研究
Author(s)	清野, 佳紀
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/31694
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	せい の よし き 清 野 佳 紀
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 3 7 2 9 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 10 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	小児期のビタミンD代謝に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 藪内 百治 (副査) 教授 熊原 雄一 教授 坂本 幸哉

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ビタミンD (以下Dと略す) は小児期において成長特に骨発育と関連が深く、カルシウム(以下Caと略す) 代謝異常や骨疾患の病態を解明するためには、生体内のD、ことに活性代謝産物のレベルを知ることが重要である。本論文では、(1)ヒト血漿中の25-hydroxyvitamin D₃ (以下25-OH-D₃と略す) の濃度を測定する Competitive protein binding assay法を改良し、精度を高めること。(2)日本人健常小児例における血漿25-OH-D₃ 濃度の正常値を知ること。(3)各種D代謝障害の推測される臨床例における血漿25-OH-D₃ の動態を知ることがを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

ヒト血漿からの25-OH-D₃ の抽出は Preeceらに従いクロロホルム：メタノール (1：1) で抽出した後 Sephadex LH-20のカラムを使用しクロロホルム：n-ヘキサン (1：1) で溶出し 25-OH-D₃ の部分を採取した。抽出率は86.1±12.2 (M.±S.D.)%(n=11)であった。Competitive protein binding assayに使用する結合蛋白質は、DおよびCa欠乏食で3ないし4週間飼育した Wister 系幼若ラットの血清および腎細胞質の105,000×g超遠沈上清をpH 7.5の磷酸緩衝液で希釈し、ヒト血清アルブミンを0.1%に添加したものが適当であった。実際の測定は標準物質の適当量、並びに分画抽出した試料からの検体をエタノール50μl溶液とし、これに26(27)⁻³H-25-OH-D₃(比放射活性2.9Ci/mM)を加え、4℃で30分以上インキュベートした後デキストラン炭末液〔Norit A (3.0g)とdextran 20 (0.3g)とを0.05M磷酸緩衝液(pH 7.5) 100ml加え攪拌後、2,000gにて10分遠心し、上清を液体シンチレーションカウンターにてカウントした。この方法により再現性良好な標準曲線が得ら

れ回収率も 91.6 ± 9.6 (M. \pm S. D.) % ($n = 6$) と良好であった。尚本法では D_2 および D_3 と約30%の交叉反応を認めた。

上述した測定法を用いて、健常小児および小児期の各種疾患における血漿25-OH- D_3 値を測定した。1ないし15才の健常小児17例の血漿25-OH- D_3 値は、 21.6 ± 10.1 (M. \pm S. D.) ng/mlであり、生後2日以内の成熟新生児27例では、 11.4 ± 8.6 (M. \pm S. D.) ng/mlであり、生後まもない新生児の血漿25-OH- D_3 値は有意の差で ($p < 0.001$) 低値であった。各種臨床例では、乳児肝炎9例では 4.2 ± 3.3 (M. \pm S. D.) ng/mlと有意の差 ($p < 0.001$) で低値であり、先天性胆道閉鎖症5例では4例が 2.0 ng/ml、1例が 3.0 ng/mlであり全例著明に低値であった。骨病変をともなう種々の腎疾患17例では平均値 12.3 (95%信頼区間 $6.0 \sim 18.6$) ng/mlと有意の差で ($0.001 < p < 0.002$) 低値であった。

乳児肝炎5例 (うちクル病を発症したもの2例)、先天性胆道閉鎖症4例 (うちクル病を発症したもの1例) については、Dを1,000ないし2,000U/日経口投与約1カ月後の血漿25-OH- D_3 値を比較した。乳児肝炎5例においてはD投与後に血漿25-OH- D_3 値の上昇が認められたもの3例、上昇が認められなかったもの2例であり、クル病を発症した2例のうち1例は血漿25-OH- D_3 が上昇するとともにクル病が治癒したが、他の1例は血漿25-OH- D_3 の上昇は認められずクル病も治癒しなかった。先天性胆道閉鎖症4例においては、D投与後も全例血漿25-OH- D_3 の上昇は認められなかった。骨病変をともなう腎疾患のうち6例については、Dを1,000ないし5,000U/日経口投与約1カ月後の血漿25-OH- D_3 値を比較したところ、全例D投与後に著明に上昇した。さらにビタミンD抵抗性クル病例のうちM. Y. 例ではD投与前の血漿25-OH- D_3 値は 3.3 ng/mlと低値であり、D10,000U/日経口投与約2カ月後 (総計 60×10^4 U投与後) の血漿25-OH- D_3 値は 6.1 ng/mlとわずかに上昇した。

〔総括〕

D欠乏ラットの血清と腎の細胞質の蛋白質を結合蛋白質として使用したCompetitive protein binding assay法により感度と精度の高い標準曲線が得られ、 $0.5 \sim 5.0$ ngの範囲で25-OH- D_3 が充分に測定できた。日本人健常小児例の正常値は 21.6 ± 10.1 ng/mlとほぼ諸外国の正常値と一致した。成熟新生児は1才以上の健常小児に比べ有意の差で低値であった。小児肝疾患例のうち乳児肝炎例の血漿25-OH- D_3 値は有意の差で低値であり、先天性胆道閉鎖症では全例著明に低値であった。これら肝疾患のD投与前後の血漿25-OH- D_3 値を比較すると投与後、乳児肝炎例では上昇するものとしないうものが存在したが、先天性胆道閉鎖症では全例上昇が認められなかった。骨病変をともなう腎疾患の血漿25-OH- D_3 値は、有意の差で低値であり、これらの疾患のD投与後の血漿25-OH- D_3 値は全例著明に上昇した。さらに低燐血症性ビタミンD抵抗性クル病の1例で25-水酸化障害の存在を示唆する成績を得た。

論文の審査結果の要旨

ビタミンD (以下Dと略す) は小児期において成長特に骨発育と関連が深く生体内のDことに活性

代謝産物のレベルを知ることは重要である。本研究ではヒト血漿中の25-OH-Dの測定法を検討し、感度と精度の高い測定法を考案して、下記の知見を得た。(1)日本人健常小児の正常値を明かにし、新生児ではきわめて低値であることを認めた。(2)乳児肝炎と先天性胆道閉鎖症では低値であり、これらの疾患ではD吸収障害とDの25-hydroxylationの障害が存在すると考えられた。(3)腎性骨異栄養症ではおおむね低値であり、この原因は栄養的なものに起因すると思われた。(4)低磷血症性D抵抗性クル病の1例で25-hydroxylationの障害が主因ではないかと考えられた。以上の知見から小児期における成長発育障害に関連するカルシウム代謝異常の病態生理を明かにした。このことは臨床的に重要な意義があると考えられる。