



Title	小児期の血清24, 25-（OH）2Dの動態と腎機能障害の影響に関する研究
Author(s)	日衛嶋, 禎介
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33077
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	日 衛 嶋 禎 介
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 4 7 1 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 12 月 1 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	小児期の血清24, 25- (OH) ₂ Dの動態と腎機能障害の影響 に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 藪内 百治 (副査) 教 授 坂本 幸哉 教 授 熊原 雄一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ビタミン D (D) は肝で25位水酸化酵素により、25-OHDとなりさらに腎で1 α 位または24位水酸化酵素によって1 α ・25- (OH)₂Dあるいは24, 25- (OH)₂Dに代謝される。1 α ・25- (OH)₂Dは現在最終的活性型代謝物質と考えられ、Dとしての生理作用は最も強力とされている。一方、24, 25- (OH)₂Dについては不活性型であるという考えもあるが、腸管Ca吸収や骨の mineralization に対する効果や、腎外産生を認めた報告などがある。しかしまだ依然としてその代謝ならびに生物学的活性の意義については不明な点が多く、小児期における24, 25- (OH)₂Dに関する臨床的報告は殆んどみない。本論文は正常小児および各種腎疾患患児で血清24, 25- (OH)₂Dを測定し、ネフロン機能との関連をみることから、その臨床的意義を明確にすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

1) 方法：25-OHDの測定は下辻らの方法 (Tohoku J. Exp. Med. 118:233, 1976) により、また24, 25- (OH)₂Dは同法を応用した Competitive Protein Binding Assay (CPBA) 法により測定した。³H]-24, 25- (OH)₂Dはにわとりのひなの腎を用いて ³H]-25-OHDより生合成し、結合蛋白は正常ラット腎の Cytosol 分画を用いた。血清 (1.0ml) はジクロロメタン：メタノール (2:1, v/v) にて、尿 (100ml) は Bligh & Dyer 法で抽出後、Sephadex LH20 カラムクロマトグラフィー (溶媒：クロロフォルム：n-ヘキサン=60:40, v/v)、および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (溶媒：メタノール：ジクロロメタン=2.5:97.5, v/v) にて 24, 25- (OH)₂D 相当部分を分画採取し duplicate にて測定に供した。

2) 対象：健常対象は臍帯血 (n=7), 生後7日目までの新生児 (n=5), 1—12カ月の乳児 (n=6) および1—15歳の小児 (n=29, 1—3歳: 8例, 4—7歳: 11例, 8—15歳: 10例) であった。腎疾患としては急性糸球体腎炎 (n=3), 無症候性血尿・蛋白尿 (n=13), 慢性糸球体腎炎 (n=29, ネフローゼ型: 14例, 非ネフローゼ型: 15例), リポイドネフローゼ (n=31, 急性期15例, ステロイド投与寛解期14例, 同非投与寛解期7例) および腎不全を伴う多発性のう胞腎 (n=7) の計130例につき検討を行った。

被検血清はいずれも冬期を中心に9—4月の期間に採取した。

3) 成績： $[^3\text{H}]\text{-24, 25-(OH)}_2\text{D}$ の生合成率は27%であり, ジクロロメタン:メタノール (2:1, v/v) による $[^3\text{H}]\text{-24, 25-(OH)}_2\text{D}$ の添加回収率は90% (n=26) であった。 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ はSephadex LH20カラムとHPLCにより25-OHDおよび $1, 25-(OH)}_2\text{D}$ とよく分離し, この過程での最終的回収率は $65 \pm 3.7\%$ (n=32) であった。正常ラット腎のCytosolと結合した $[^3\text{H}]\text{-25-OHD}_3$ とのdisplacement (置換) において25-OHD₃と $24\text{R, } 25-(OH)}_2\text{D}_3$ の間ではほぼ100%の交叉反応を認めた。このことから $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ の測定には $[^3\text{H}]\text{-25OHD}_3$ および標準 $24, 25-(OH)}_2\text{D}_3$ を用いて標準曲線の作成が可能であり, その測定可能減は $0.1\text{—}4.0\text{ng/tube}$ であった。この測定法におけるAssay内変動率は16% (n=5), Assay間変動率は18% (n=5) であった。また種々の濃度の $24\text{R, } 25-(OH)}_2\text{D}$ ($2\text{—}10\text{ng/ml}$) の添加回収率は 94.2 ± 8.0 (S.E.)% (n=6) であった。次に本法による $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 測定を行い以下の臨床成績を得た。

(1) 正常小児 (1—15歳) の血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 値は $1.86 \pm 0.80\text{ng/ml}$ (mean $\pm$ S.D., n=29) であった。(2) 臍帯血, 新生児および1歳未満の乳児では正常対照に比し血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 値は有意に低値を示し, それぞれ, $0.90 \pm 0.40\text{ng/ml}$ (n=7), $0.49 \pm 0.22\text{ng/ml}$ (n=5), $0.88 \pm 0.47\text{ng/ml}$ (n=6) であった。(3) 血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 値は新生児期に最も低くその後加齢と共に上昇する傾向が認められた。(4) 血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 値はクレアチニークリアランス値とは正の密接な相関を, 尿蛋白排泄量とは負の相関関係を示した。(5) 各種腎疾患の中でも血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 値は慢性糸球体腎炎, リポイドネフローゼ (急性期および寛解期), 腎不全を伴う多発性のう胞腎において有意に低値であった。(6) $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ は健常時にはほとんど尿中に認められないが, ネフローゼ症候群では尿中 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 排泄がみとめられ, $20\text{—}230\text{ng/day}$ の程度であった。

[総括]

簡便で精度が高い $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ の測定法を開発し, 正常小児および腎疾患患児における血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ の動態について検討した。血清 $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ 濃度は年齢や腎障害の影響をうけ, 後者では腎における25-OHD-24水酸化酵素の障害および $24, 25-(OH)}_2\text{D}$ の尿中喪失によって血清濃度が低下することが考えられた。

論文の審査結果の要旨

活性型ビタミンDである24, 25- (OH)₂Dの臨床的意義を明らかにするため、簡便で精度の高い24, 25- (OH)₂Dの測定法を開発し、正常小児および腎疾患児における血清および尿中24, 25- (OH)₂Dの動態につき研究を行った。

正常小児の年齢別血清24, 25- (OH)₂D値を確立し、加齢による影響を認めた。一方、腎疾患児においては血清24, 25- (OH)₂D値の低下を来す原因として腎機能障害による25-OHD-24水酸化酵素の障害のほかに、24, 25- (OH)₂Dの尿中喪失も一因となりうることを証明した。以上のことから本論文は博士論文として価値あるものとする。