



## Urinary bone Resorption Markers in patients with Metabolic Bone Disorders

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大石, 強 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1519">http://hdl.handle.net/10271/1519</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 242号	学位授与年月日	平成 8年 9月 6日
氏名	大石 強		
論文題目	Urinary Bone Resorption Markers in Patients with Metabolic Bone Disorders (代謝性骨疾患患者における尿中骨吸収マーカーの検討)		

博士(医学) 大石 強  
論文題目

Urinary Bone Resorption Markers in Patients with Metabolic Bone Disorders

(代謝性骨疾患患者における尿中骨吸収マーカーの検討)

### 論文の内容の要旨

ピリジノリン (Pyr)、デオキシピリジノリン (D-Pyr) はコラーゲン架橋物質であり、3つのアミノ基を介して、他のトロポコラーゲンと結合し、コラーゲン分子内および分子間の安定性に関与している。これら架橋物質の尿中濃度は骨代謝回転、特に骨吸収を反映するとして、1990年ごろより注目されてきた。われわれは、尿中 Pyr および D-Pyr の測定法を独自に開発し、健常者における基準値を定めたことを既に報告した。今回、その値をもとに、各種骨代謝性疾患における値を比較し、尿中 Pyr および D-Pyr の骨代謝マーカーとしての有用性について検討した。

対象は対照群として、健常女性337例、疾患群として女性の甲状腺機能亢進症患者17例、抗癌薬長期投与患者15例および未治療骨粗鬆症患者28例である。以上の対象より、午前9:00-11:00の随時尿を採取した。

尿を等量の12N 塩酸にて18時間加水分解後、SP-Sephadex C25にて前処理を行い、1.0N 塩酸にて尿中 Pyr および D-Pyr 分画を抽出した。減圧乾固後、1% heptafluorobutyric acid (HFBA) に溶解し、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法にて尿中 Pyr および D-Pyr 濃度を測定した。HPLC の条件は固定相として Radial-Pak C18カラムを、移動相として acetonitrile/30mM HFBA 溶液を用いた。流速は1.0 ml/min とし、297nm の励起波長を蛍光波長390nm にて測定した。外部標準物質として、ヒト骨より抽出した Pyr を用いた。なお、加水分解前の尿より creatinine 濃度を測定し、Pyr、D-Pyr および hydroxyproline (Hyp) 濃度を creatinine 濃度で補正した。

我々の HPLC による測定法では Pyr は13.5分に、D-Pyr は15.0分にそれぞれ単一のピークとして流出した。外部標準物質の回収率は、Pyr は75.4±3%、D-Pyr は73.1±2.9%であった。また、% CV はそれぞれ8.3%、9.5%であった。

甲状腺機能亢進症 (HT)、抗癌薬長期投与 (AC) および骨粗鬆症患者 (OP) における尿中骨代謝マーカー (尿中 Pyr、D-Pyr、Hyp) は同年代の健常群 (NC) に比して、有意な増加を認めた (HT: Pyr; 227.3±180.9、D-Pyr; 51.5±43.4、Hyp; 54.8±48.0、AC: Pyr; 61.7±22.5、D-Pyr; 13.1±5.4、Hyp; 10.9±5.0、OP: Pyr; 41.2±17.3、D-Pyr; 9.5±4.7、Hyp; 10.9±5.0、NC: Pyr; 20.0±5.2nmol/mmol creat.、D-Pyr; 4.9±1.2nmol/mmol creat.、Hyp; 9.8±3.4umol/mmol creat. いずれも NC 群に比して  $p < 0.05$ )。次に、対照群として閉経前健常女性群を用いて、各種疾患における receiver operating characteristic (ROC) 解析を行い、各種骨代謝マーカー間の疾患特異性について検討した。ROC 値は HT 群では Pyr、D-Pyr、Hyp とともに100%、AC 群では Pyr, 100、D-Pyr, 94.8±5.9、Hyp, 73.8±9.4%、OP 群では Pyr, 97.0±2.8、D-Pyr, 86.9±5.4、Hyp, 74.7±6.4%であり、ROC 値は Hyp に比して、Pyr、D-Pyr は優れていた。

各種骨代謝性疾患における尿中 Pyr、D-Pyr の増加はその病態に伴う骨吸収の増加の程度をよく反映しており、特に骨粗鬆症患者において年齢を一致させた非骨粗鬆症患者に比して有意な増加を認めたことは、今後、骨粗鬆症患者をスクリーニング、または治療効果をモニタリングするうえで有用となりうると考える。ROC 解析結果より、従来より骨吸収マーカーとして主に用いられてきた尿中 Hyp に比

して、より軽微な骨吸収の増加を捉えうるマーカーであると考え。問題点としては、我々の方法では、他の報告に比して回収率がやや劣ること、また希釈尿の場合、D-Pyr は Pyr の濃度の1/3-1/5のため測定誤差が生じやすいこと、また HPLC 法では測定時間がかかることなどが挙げられる。

### 論文審査の結果の要旨

本論文の内容は、骨吸収の指標として、尿中のピリジノリン (Pyr)、デオキシピリジノリン (D-Pyr) が従来の指標に比べ優れていることを示したものである。これらの化合物は、コラーゲン架橋物質でありコラーゲンの分子内、分子間の安定性に寄与している。

申請者は、すでに Pyr、および D-Pyr の組織分布を検索し、これらが骨組織に特異性が高く、かつ D-Pyr は特に骨組織に特異性が高いことを示している。また、新しい測定法を開発し、健常者での基準範囲を設定している。本論文ではこれらの成果に基づき、甲状腺機能亢進症、抗癌剤長期投与患者および未治療骨粗鬆症患者を対象として、これらの疾患で骨吸収の指標として、尿中 Pyr、D-Pyr を用いることの有効性を従来からの指標であるヒドロキシプロリン (Hyp) のそれと比較検討した。尿は随時尿を用いていることから、Pyr、および D-Pyr のクレアチニンに対しての量比を用いて評価している。簡単に測定法を述べれば、尿を等量の12N 塩酸を用いて18時間加水分解し、SP-Sephadex C25を用いて Pyr、および D-Pyr を吸着後、1.0N 塩酸にてこれらを溶出する。この分画を減圧乾固したのちに1%の heptafluorobutyric acid (HFBA) に溶解し、これを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の試料とした。溶出したピークを Pyr の持つ蛍光を利用し検出し、この面積を算出し定量している。この方法は回収率に多少の難点はあるものの、精密度に優れ尿中の Pyr および D-Pyr を評価するには十分な方法であった。

結果として、測定された骨吸収の指標 (尿中 Pyr、D-Pyr、Hyp) は、いずれも甲状腺機能亢進症、抗癌剤長期投与群、骨粗鬆症群では同年代の健常群に比して有意な上昇を認めた。この結果を閉経前健常女性群ならびに同年代健常群を対照群として、ROC (Receiver Operating Characteristic) 解析を行うと、甲状腺機能亢進症群、抗癌剤長期投与群、骨粗鬆症群でいずれも Pyr、D-Pyr が Hyp より指標として、優れていることが示された。また、尿中 Pyr、D-Pyr は、病態に伴う骨吸収の増加を反映しているものと考えられ、特に骨粗鬆症では患者のスクリーニング、治療効果の判定に有効な指標と考えられた。

本論文に対して、審査委員は以下に述べるような質疑を行った。

- 1) 年齢の推移で、19才以下で高値を示し、20-30代で平坦に推移するのは、骨のリモデリングとの関連で考えるのか
- 2) 随時尿で検査しているためクレアチニンとの比を取って評価しているが、高齢者では、筋肉量が減少するので問題はないのか
- 3) 遊離の Pyr は、総 Pyr 量に対しどの程度存在するのか
- 4) HPLC による測定法では、Pyr、D-Pyr の統一的な標準品がないことが問題とされていたが、現在この点はどうなっているのか
- 5) D-Pyr は Pyr よりも骨組織の特異性が高いのに、Pyrの方がむしろ D-Pyr より優れている結果が得られているのは何故か
- 6) イムノアッセイの方法は検討したか
- 7) 同一個人の日内変動はどの程度か

8) 甲状腺ホルモンの受容体は骨芽細胞に存在するのに、甲状腺機能亢進症で骨吸収の指標が増加するのは何故か

9) 骨塩量測定と骨吸収の指標はどのような関連にあるか

10) 抗癌剤でのマイクロゾーム誘導で骨吸収の指標が増加する理由は

これらの質問に対して申請者の解答は適切であり、研究内容も十分であり、本論文は博士（医学）の学位論文として十分であると審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 菅野 剛史

副査 教授 藤瀬 裕 副査 教授 藤田 公生

副査 助教授 菱田 明 副査 講師 中村 浩淑