

# 尿中 $\gamma$ - carboxy glutamic acid と ヘパラスチンテストの同時測定

長崎大小児科

吉 永 宗 義 辻 芳 郎

国立武蔵野療養所小児神経科

松 坂 哲 應

## はじめに

$\gamma$  - carboxyglutamic acid (以下 Gla と略す) は、ビタミン K (以下 VK と略す) 依存性凝固因子, Osteocalcin, さらに病的石灰化中の蛋白質である Atherocalcin などに含まれるアミノ酸である。このアミノ酸は前駆蛋白質中の glutamyl 残基が VK 依存性のカルボキシル化をうけて形成され、代謝分解されることなく、ほとんどが遊離アミノ酸として尿中に排泄されると考えられている。従って尿中 Gla 量を測定することによって VK 欠乏状態を把握できる可能性がある。

そこで私達は、VK 欠乏状態に陥りやすい新生児、乳児を対象に、尿中 Gla 量測定と HPT を行ない、年齢的变化・VK 投与と非投与による違い、母乳栄養法と人工栄養法による相違、尿中 Gla 量と、HPT 活性値との関係などについて検討した。

## 対象と方法

対象と方法を表に示した。対象は生後 0~8 日の VK 投与群 42 人と非投与群 29 人、20~40 日令の投与群 40 人と非投与群 84 人、2~12 ヶ月令の非投与群 80 人および成人 17 人の合計 298 人である。採尿は尿バックを用い、0~8 日令児は朝・夜 2 回、20 日令以降は昼 1 回実施した。尿の一部は尿中 Gla 測定に、残りは尿中クレアチニン測定に用いた。HPT 活性値とヘマトクリット値の測定は、heel puncture にて行ない、ヘマトクリット値で補正した correct HP T (以下 c-HPT と略す) 活性値を求めた。VK 投与群は生後 12 時間以内にケーツーシロップ 2 mg, および産科退院時に 4 mg を経口投与されている。

尿中 Gla 測定は Kuwada らの方法に従い、シ

リカを担体とした陰イオン交換カラム (Nucl-eosil 5 SB) を用いた高速液体クロマトグラフィーにて行なった。尿検体は membrane filter で濾過後、2~4 倍希釈し、その 10~20  $\mu$ l を注入した。

## 結 果

図 1 は、VK 欠乏乳児に VK を投与した後の経時的な Gla の出現状況を示している。左上段は Standard Gla クロマトグラフをあらわしている。Gla は他のアミノ酸から良好に分離され、約 18.5 分で溶出される。VK 投与後 7 時間で Gla は殆んど認められないが、8 時間後より漸増しているのがよくわかる。

図 2 は、尿 1 ml あたりの Gla 量の日令変化を示したものである。尿中 Gla 量は生後 2 日間は 100 nmol/mg と高値を示し、その後急激に減少し生後 4 日で約 30 nmol/ml, さらに漸減して生後 2 ヶ月で最低となったのち漸増している。VK 投与群が非投与群より高値を示しているが、測定値のバラツキが大きく有意差はなかった。

図 3 は、尿中クレアチニンの日令変化をみたものである。尿中 Gla 量と同様の变化を示しているが、両群間に差は認められなかった。

図 4 は、尿中 Gla 量と尿中クレアチニンの相関をみたものであるが、相関係数 0.9473, 危険率 0.001 以下で有意な相関があった。

尿中 Gla 量を尿中クレアチニンとの比で表現し、その日令変化を示したのが図 5 である。

VK 非投与群は生後 1 ヶ月まで漸増し、その後軽度減少し、11 ヶ月令で 158 nmol/mg となっている。投与群も 1 ヶ月まで漸増し、非投与群より有意に高値であった。この結果から、新生児期の VK 経口 2 回投与は少なくとも生後 1 ヶ月ま

では有効に作用していることが示唆された。

VK投与および調整乳栄養の尿中G1a排泄量に及ぼす影響を図6に示した。0~8日令20~40日令の全乳児および20~40日令の母乳栄養児において、VK投与群が非投与群より有意に高値であった。20~40日令の非投与群では、母乳栄養群より混合栄養群のほうが有意に高かった。この結果は、私達のHPTを用いた以前の研究成果とほぼ一致した。

図7はc-HPT活性値の日令変化をみたものである。非投与群は生後1日に一担下降しその後漸増しているが、投与群では、低下がみられず漸増し、非投与群より有意に高値だった。

尿中G1a (nmol/mgクレアチニン)とc-HPT活性値との相関関係を図8に示した。A印は0~8日令のVK非投与群の分布をあらわし相関関係数 $r=0.4314$ ,  $P<0.01$ で有意な相関がみられた。0~8日令の投与群と20~40日令の投与群の回帰直線はそれぞれY軸の正の方向へ偏位している。すなわち、同じくc-HPT活性値を有していても、VK投与群の尿中G1a量は高値である。

図9は、VK欠乏による頭蓋内出血をおこした乳児にVK静注後の尿中G1a量とc-HPT活性値の推移をみたものである。c-HPTは反応が早く、約5時間で90%に達し恒常状態となっているが、尿中G1a量は約7時間遅れて急増し、15時間で150 nmol/mgとなり、その後も漸増している。

## 考 察

今回私達は、尿中G1a量の測定を行ない、年令的变化、VK予防投与の効果、栄養法による相違、HPTとの関係などについて検討した。VKの経口2回投与は、図5に示したように、尿中G1a量 (nmol/mgクレアチニン) でみると非投与群に比べ投与群は有意に高値を示し、少なくとも1ヵ月はその効果があることが示唆された。また、VK投与および調整乳栄養の尿中G1a量に及ぼす影響をみると、投与群及び混合栄養群が有意に高値であり、HPTを用いた以前の結果とほぼ一致していた。尿中G1aクレアチニンとc-HPT活性値との関係をみると、VK投与群の尿中G1a量は

同じc-HPT活性値を示しても、非投与群に比べ高値であった。HPTはVK依存性凝固蛋白の生物学的活性をみる検査法であり、G1a含有量を間接的に反映するが、尿中G1a量はVK依存性凝固蛋白をはじめ、全てのG1a含有蛋白の $\gamma$ -carboxylationを直接反映している。これらの検査特性の差が両検査値の差になってあらわれたものと考えられる。

## ま と め

今回、新生児、乳児の尿中G1a排泄量を測定し以下の結果を得た。

- ① 1回尿1mlあたりのG1a量はバラツキが大きく、VK投与群、非投与群で有意差はなかったが、G1a/クレアチニンでみると投与群が有意に高かった。
- ② 1ヵ月児では母乳栄養群よりも混合栄養群の方が、G1a/クレアチニンは有意に高かった。
- ③ c-HPT活性値も投与群が非投与群より有意に高かった。
- ④ G1a/クレアチニンとc-HPT活性値とは0~8日令の新生児において有意な相関を示した。
- ⑤ 同じc-HPT活性値を示しても、VK投与群の方が非投与群に比べ、G1a/クレアチニンは高かった。

以上の結果より、尿中G1aの測定は、VK依存性蛋白の代謝状態、さらにVK予防投薬の奏効期間の査定などに広く応用できるものと思われた。

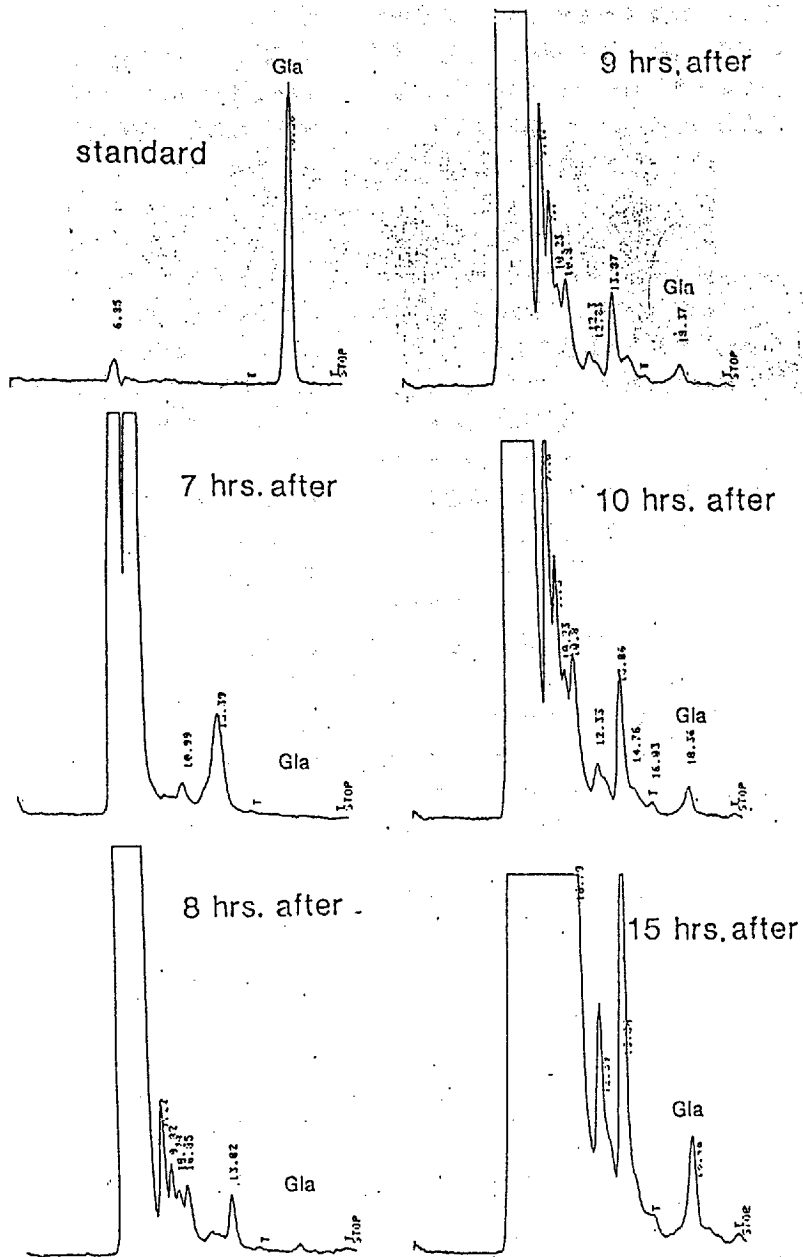
## 表

Subjects	Age	n	vit.K prophylaxis	
			+	-
	0-7day	71	42	29
	1 month	124	40	84
	2-12 month	86	0	86
	Adults	17		

total 298 caces

## Methods

- (1) Urine collection by urine bag  
0-7day: 10 AM - 1PM and 8PM - 11PM every day  
1-12 month, Adults: 1PM - 3PM
- (2) Measurement of Hepaplastin test and Hct by heel puncture
- (3) Vit. K<sub>2</sub> syrup administration  
at birth: 2mg and 7 days: 4mg



⊠ 1 Urinary excretion of Gla after vitamin K administration in a vitamin K deficient infant

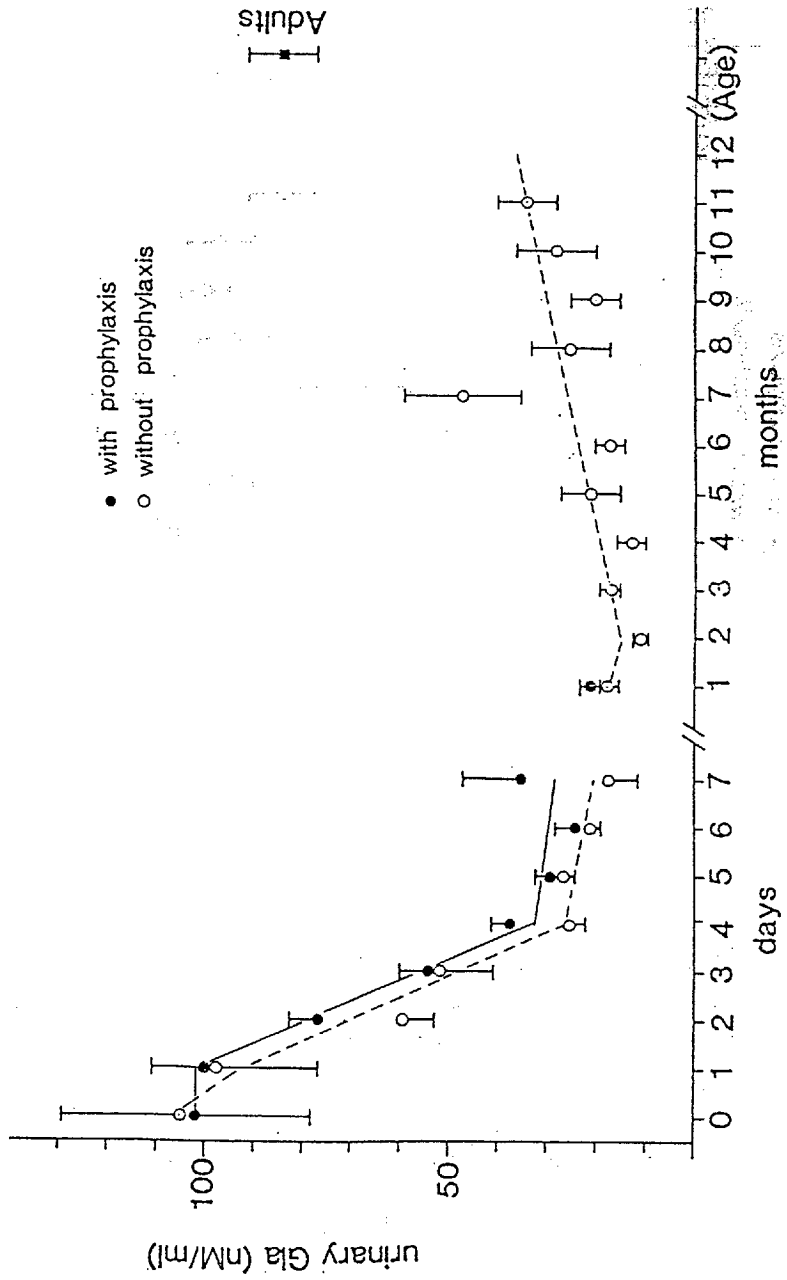


Fig 2 Urinary Glc excretion ( mean and SEM ) in infants 0 day - 12 months after birth with and without vit. K prophylaxis

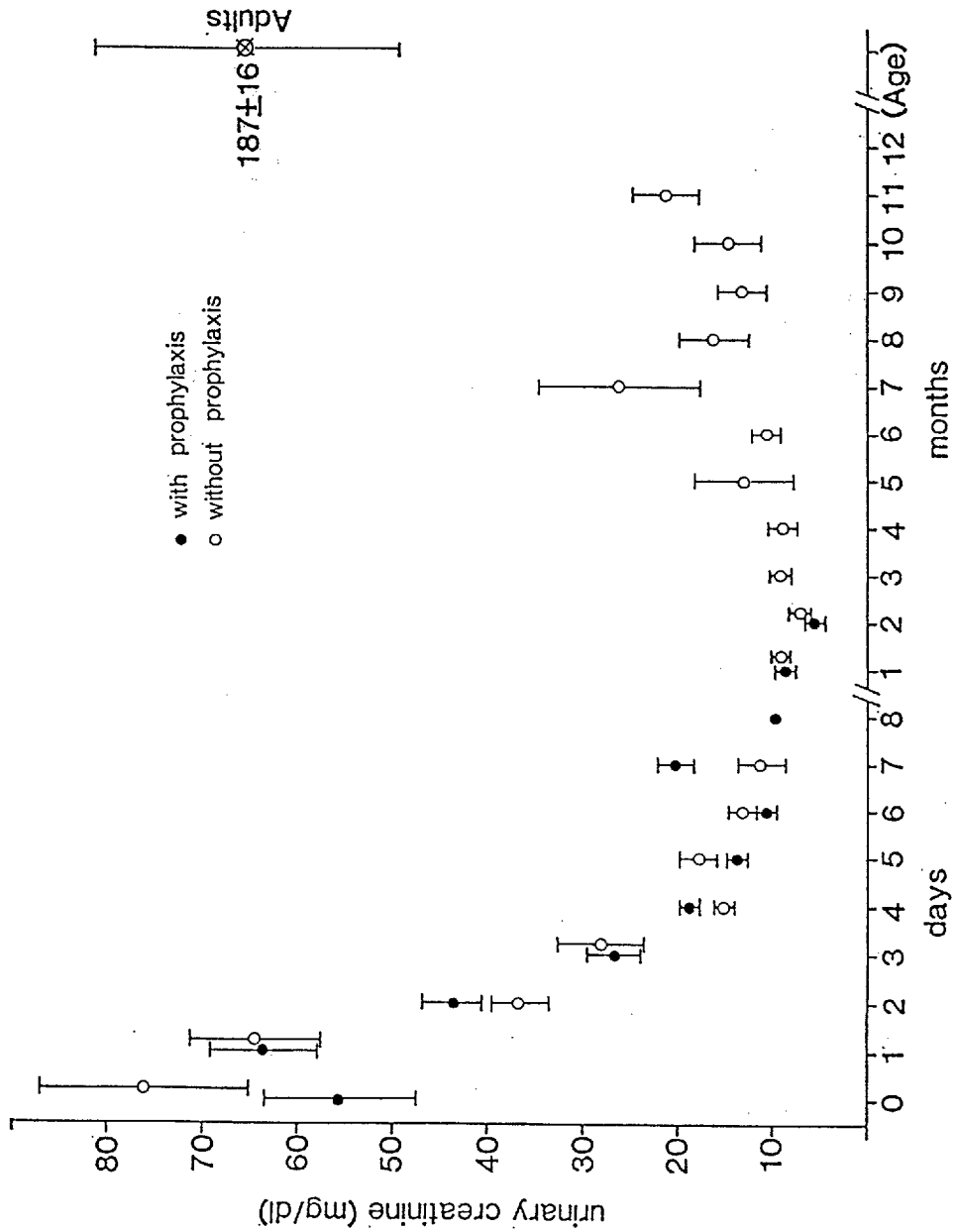
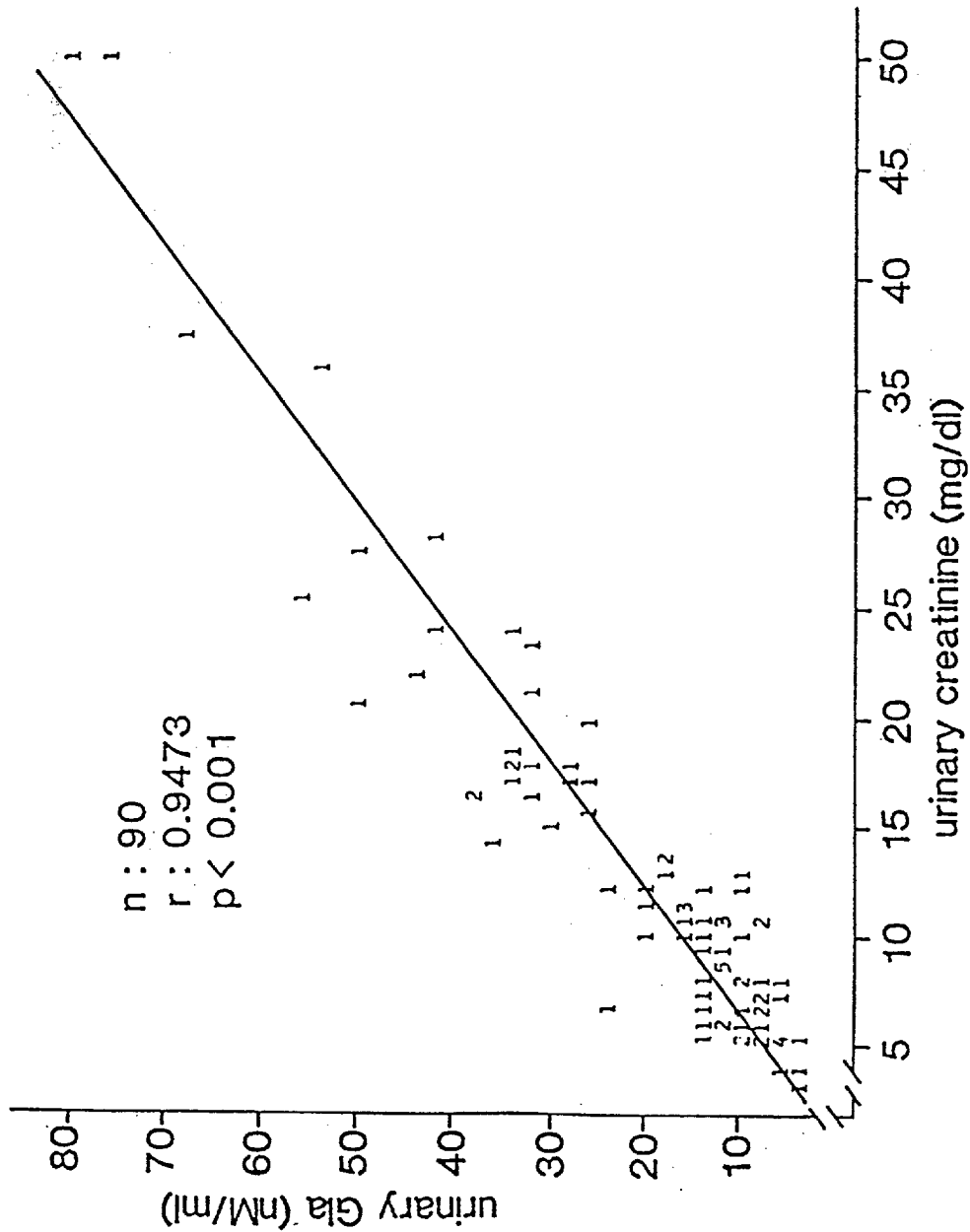
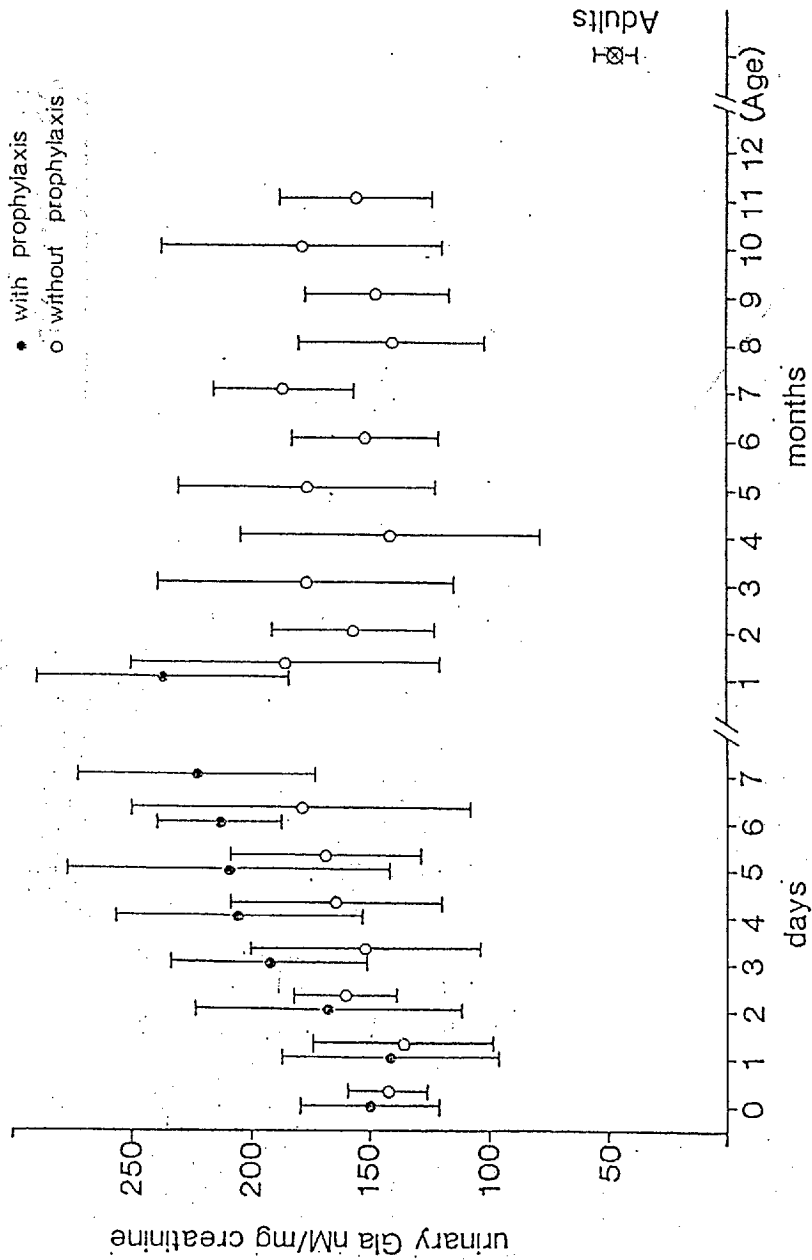


Figure 3 Urinary creatinine ( mean ± SEM ) in infants 0 day - 12 months after birth



⊠ 4 Correlation between urinary Gla and urinary creatinine



Adults

5 Urinary Glu nM/mg creatinine ( mean  $\pm$  SD ) in infants 0 day - 12 months after birth with and without vit. K prophylaxis

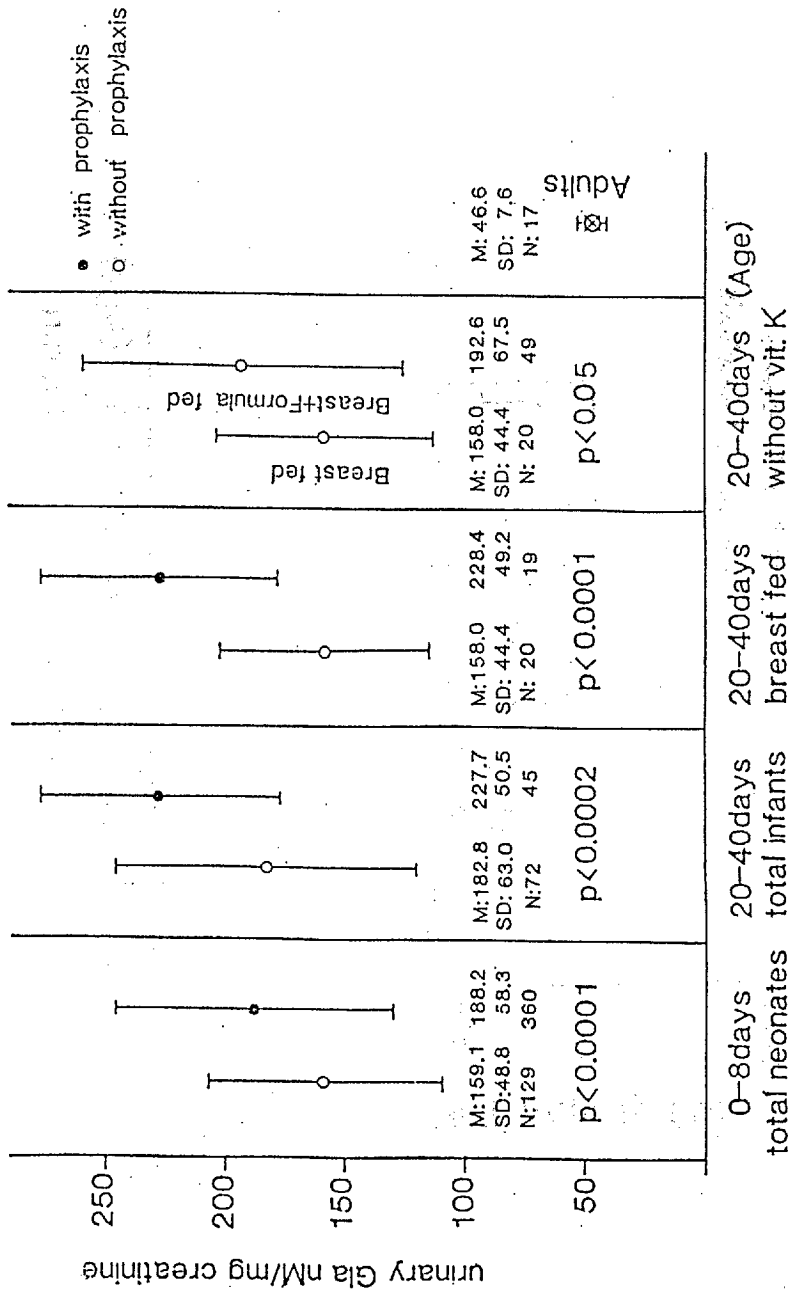


Fig 6 The effect of vit. K prophylaxis and formula feeding on urinary Glu nM/mg creatinine (mean  $\pm$  SD)



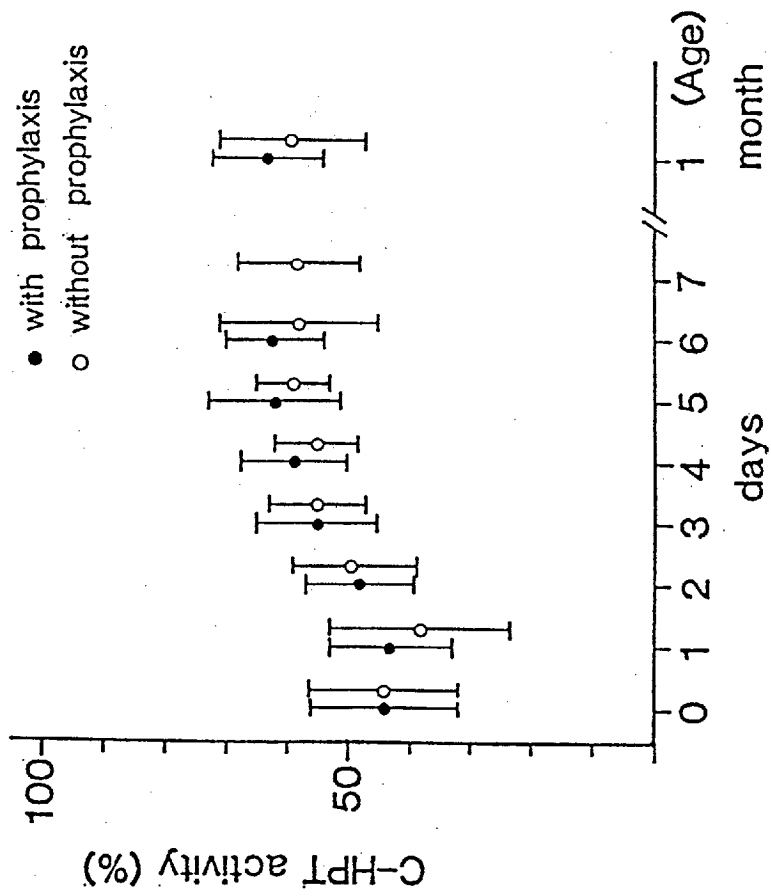
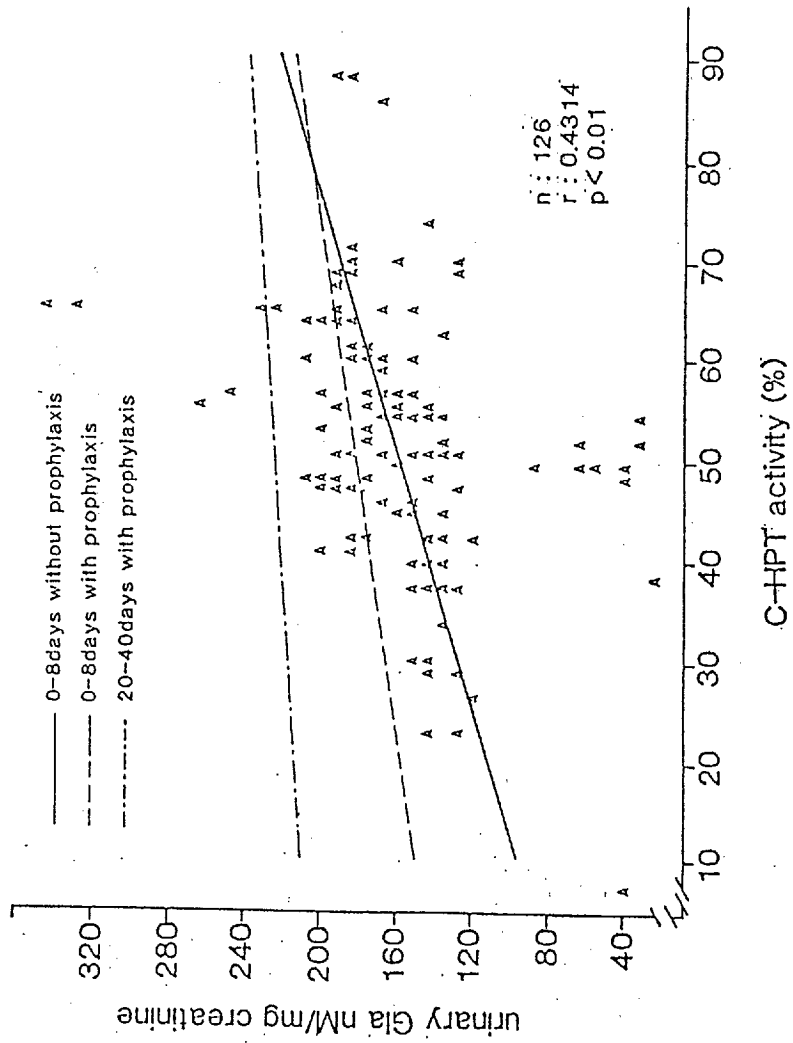


Fig 7 c-HPT activity (mean  $\pm$  SD) in infants Oday - 1 month after birth



8 Correlation between urinary Glu nM/mg creatinine and c-HPT activity (%)

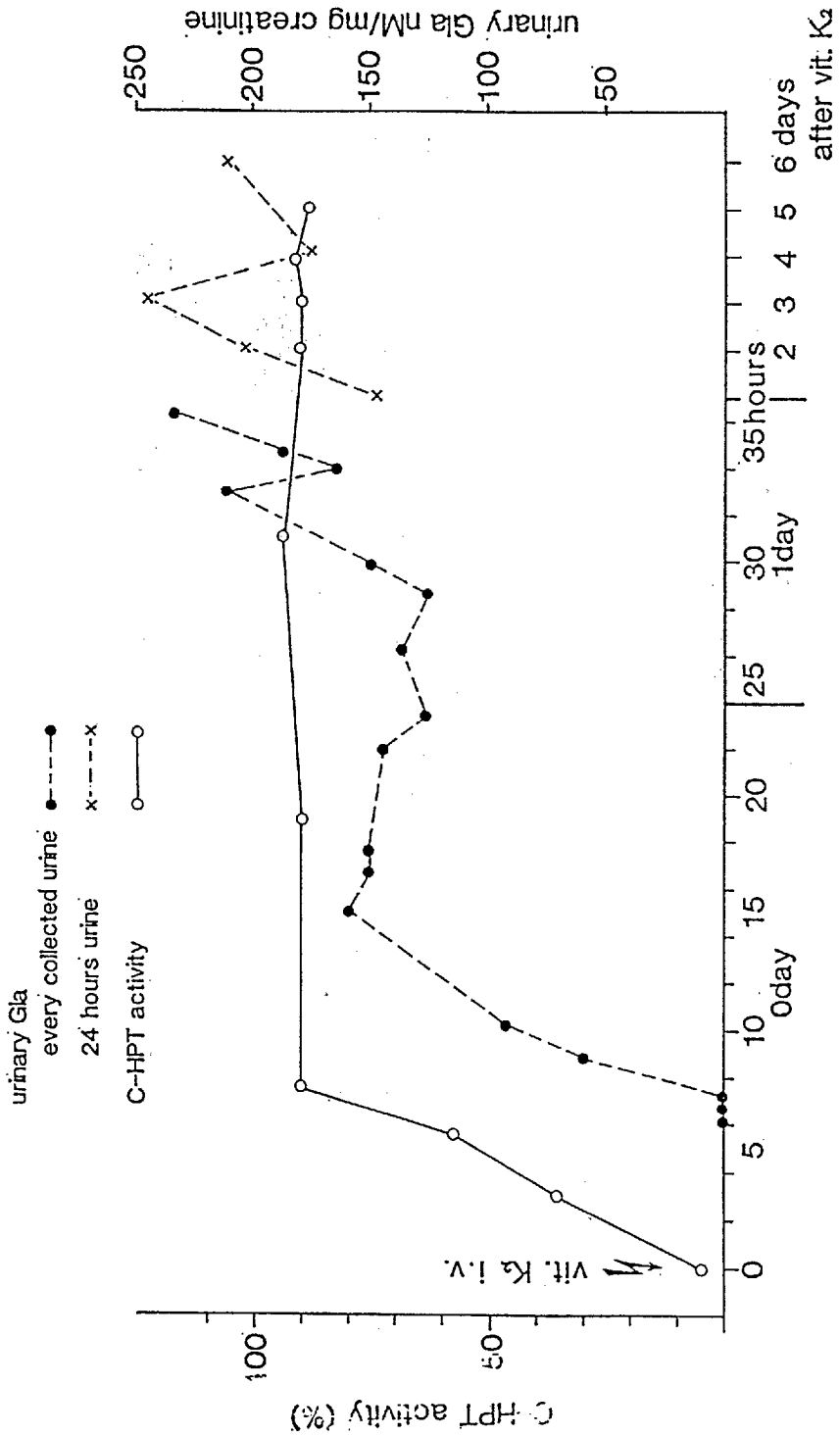


Fig 9 The effect of vit. K on c-HPT activity and urinary Gla in a vit. K deficient infant with and vit. K prophylaxis



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



はじめに

r-carboxyglutamic acid(以下 Gla と略す)は,ビタミン K(以下 VK と略す)依存性凝固因子, Osteocalcin, さらに病的石灰化中の蛋白質である Atherocalcin などに含まれるアミノ酸である。このアミノ酸は前駆蛋白質中の glutamyl 残基が VK 依存性のカルボキシル化をうけて形成され,代謝分解されることなく,ほとんどが遊離アミノ酸として尿中に排泄されると考えられている。従って尿中 Gla 量を測定することによって VK 欠乏状態を把握できる可能性がある。

そこで私達は, VK 欠乏状態に陥りやすい新生児,乳児を対象に,尿中 Gla 量測定と HPT を行ない,年令的变化・VK 投与と非投与による違い,母乳栄養法と人工栄養法による相違,尿中 Gla 量と, HPT 活性値との関係などについて検討した。