

小児腎疾患におけるステロイド治療の腎 1α -hydroxylase および $24R$ -hydroxylase 活性におよぼす影響

清野佳紀, 里村憲一, 石田 允

大阪大学医学部小児科

序 言

ステロイド投与によりカルシウム代謝異常や骨減少症が発症するといわれる。一方、ビタミン D は最終的に腎で 1α 位, 24 位などが水酸化されカルシウム (Ca)・リン (P) 代謝を調節している。現在、臨床的には血中 $1, 25(\text{OH})_2\text{D}$ および $24, 25(\text{OH})_2\text{D}$ 値を測定することにより、活性型ビタミン D の動態を調べているわけであるが、腎の 25 -hydroxyvitamin D_3 - 1α -hydroxylase (1α -hydroxylase) あるいは 25 -hydroxyvitamin D_3 - 24 -hydroxylase ($24R$ -hydroxylase) を直接測定できれば、Ca・P 代謝異常を合併する疾患の病態を解明する上で有益と思われる。著者等は、この方法を開発し、¹⁾ステロイド投与中の腎疾患で両酵素活性を測定したので報告する。

対象・方法

対象：腎生検を行った患児中、標本を組織学的検査に用いて残った部分が利用可能で、両酵素活性を同時に測定しえた無症候性血尿または蛋白尿 12 例、プレドニソロン投与中の SLE および特発性ネフローゼ症候群の各 2 例である。

両酵素活性の測定：腎生検は実時間超音波ガイド下に経皮的に腎の下極を目標に穿刺を行った。得られた標本は、組織学的検索に用いて残った部分を 4°C に冷却した 0.19M サッカロース、 2mM EGTA および 2mM DTT を含む $\text{pH } 7.4$ の 15mM Tris-acetate buffer に入れて重量を測定後、同じ buffer 中でホモジナイズし、 25% ホモジネートを作製した。測定に用いた標本は、あらかじめ実体顕微鏡で、腎皮質を均一に含むことを確かめた。ホモジネートを試験管に

入れ、上述した Tris-acetate buffer に溶解した 75mM コハク酸ナトリウムをホモジネートの半量加え、さらに 95% エタノールに溶解した 25OHD_3 ($1\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) を $1\mu\text{g}/\text{mg}$ tissue 加えた後 37°C で 20 分間 インキュベートした。対照として非標識 25OHD_3 のかわりにエタノールを加えたものを用いた。インキュベート後、ジクロロメタン 1.5ml を加えて反応を止め、 95% エタノールに溶解した標識 $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および $24, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を回収率測定のため各々 $5000\text{d.p.m.}/20\mu\text{l}$ 加えた。ジクロロメタン層を採取し、高速液体クロマトグラフィーを用いて $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および $24, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を分画採取した。溶媒は 2-プロパノール：ヘキサン = $1:9$ (v/v) を用いた。 $24, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の測定に際しては、さらに 2-プロパノール：ヘキサン = $1:19$ (v/v) の溶媒を用いて再度分画採取した。 $1, 25(\text{OH})_2\text{D}$ および $24, 25(\text{OH})_2\text{D}$ は既に著者等が報告した Competitive Protein Binding assay 法により測定した。酵素活性は基質である 25OHD_3 を加えた試験管で生成した $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および $24, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 量から対照の試験管中の量をひき、単位重量当たりで表わした。

成 績

無症候性血尿および蛋白尿例は全例血尿または蛋白尿を認め、腎組織学的検査で糸球体に中等度までの変化が認められたが、腎機能は正常であり、 1α -および $24R$ -hydroxylase の存在する尿細管は正常であった。身長、体重および血中 Ca, P, ビタミン D 代謝物の濃度はすべて正常範囲内であった。 1α -hydroxylase 活性は 83.2 ± 37.7 ($\text{M} \pm \text{SD}$) $\text{pg } 1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{mg}$

tissue/20min, 24R-hydroxylase 活性は 0.51 ± 0.22 ng 24, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min であった。

プレドニゾン投与例は血清クレアチニンおよび尿素窒素値は正常範囲にあり、組織学的検査で尿細管は正常であった。1 α -hydroxylase 活性は 81.1 ± 27.1 pg 1, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min, 24R-hydroxylase 活性は 0.43 ± 0.19 ng 24, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min であった。

考 察

無症候性血尿および蛋白尿例はいずれも体格は正常範囲で、Ca, P 代謝および腎機能に異常なく、さらに組織学的検査で1 α -および24R-hydroxylase の存在する尿細管は正常であった。従って、腎疾患患児であっても、これらの症例から得られた1 α -hydroxylase 活性 83.2 ± 37.7 pg 1, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min および24R-hydroxylase 活性 0.51 ± 0.22 ng 24, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min は、小児の正常範囲を示すと考えられる。

ネフローゼなどに投与される副腎皮質ホルモンは、腸管Ca吸収を低下させることなど、Ca 代謝に影響を与えると考えられる。しかし、副腎皮質ホルモンのビタミンD代謝にあたえる影響に対する見解は一定していない。今回の結果では1 α -hydroxylase 活性および24R-hydroxylase 活性ともに正常であった。従って、1日15 mg 程度のプレドニゾン投与では、少なくとも1 α -hydroxylase あるいは24R-hydroxylase とともに低下しないと思われる。

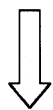
結 論

1)腎生検標本2mgで1 α および24R-hydroxylase 活性の測定が可能であった。2)無症候性血尿および蛋白尿例から得られた1 α -hydroxylase 活性は 83.2 ± 37.7 pg 1, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min, 24R-hydroxylase 活性は 0.51 ± 0.22 ng 24, 25(OH)₂D₃/mg tissue/20min であった。これらの値は小児の正常範囲を示すと考えられた。3)プレドニゾン投与例では、1 α -hydroxylase および24R-hydroxylase とともに

正常範囲であった。

参考文献

- 1) Tanaka, Y., DeLuca, H.F., Seino, Y., Satomura, K. and Yamaoka, K.: A micro assay for mammalian 25-hydroxyvitamin D₃-hydroxylase applicable to man. J. Lab. Clin. Med. 102; 1010-1016, 1983



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



結論

1)腎生検標本 2 mgで 1α および 24R-hydroxylase 活性の測定が可能であった。2)無症候性血尿および蛋白尿例から得られた 1α -hydroxylase 活性は $83.2 \pm 37.7 \text{ pg } 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{mg tissue}/20\text{min}$, 24R-hydroxylase 活性は $0.51 \pm 0.22 \text{ ng } 24,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{mg' tissue}/20\text{min}$ であった。これらの値は小児の正常範囲を示すと考えられた。3)プレドニソロン投与例では, 1α -hydroxylase および 24R-hydroxylase とともに正常範囲であった。