原 著

維持透析患者におけるカルシトニンモノマー

新井 邦彦 本宮 善恢 佐々木 憲二* 妻谷 憲一*
 永吉 純一* 木村 昇紀* 岡島 英五郎*
 翠悠会本宮医院 奈良県立医科大学泌尿器科*

key words: カルシトニンモノマー, ROD

〈要旨〉

維持透析患者での腎性骨異常栄養症 (ROD) 発症ならびに病態へのカルシトニン (CT) の関与を解明するアプローチの一つとして、維持透析患者 29 症例を対象に Hunter Heath らの方法に準じて monomeric calcitonin (カルシトニンモノマー, CT-M) を測定し、骨生化学的パラメータとの比較を行い以下の結果が確認された。

1. CT-M 値は維持透析患者群では、 $3.2 \sim 113.2 \text{ pg/ml}$ 、平均 $33.6 \pm 27.3 \text{ pg/ml}$ と健常者群 $0.5 \sim 3.1 \text{ pg/ml}$ 、平均 $1.6 \pm 0.9 \text{ pg/ml}$ に比し有意に高値であった ($p < 0.001$)。2. immunoreactive CT (i-CT) 値とは明らかな正の相関関係を認めた ($r = 0.592$, $p < 0.001$)。3. 血清 Ca 値とは有意な負の相関を認めた ($r = -0.368$, $p < 0.05$)。4. 酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRACP) 活性とも有意な負の相関がみられた ($r = -0.490$, $p < 0.02$)。

以上の結果から ROD における CT の臨床的意義を明らかにする上で、従来の i-CT の測定では確認できなかった新たな情報が、CT-M の測定によって得られたものと考ええる。

Calcitonin monomer in maintenance hemodialysis patients

Kunihiko Arai, Yoshihiro Motomiya, Kenji Sasaki*, Kenichi Tsumatani*, Junichi Nagayoshi*, Shoki Kimura*, Eigoro Okajima*

Suiyukai Motomiya Clinic ; Department of Urology, Nara Medical University*

In order to evaluate the clinical significance of calcitonin in renal osteodystrophy (ROD), we measured plasma levels of monomeric calcitonin (CT-M), which is an indicator of the biologically active form of calcitonin, by Hunter Heath's method in 29 hemodialysis (HD) patients. Parameters related to ROD, such as serum calcium, PTH, alkaline phosphatase and tartrate resistant acid phosphatase (TRACP), were also measured and compared with the plasma level of CT-M and immunoreactive calcitonin (i-CT). The plasma level of CT-M was significantly elevated ($p < 0.001$) in HD patients ($33.6 \pm 27.3 \text{ pg/ml}$) as compared to normal controls ($1.6 \pm 0.9 \text{ pg/ml}$). A significant negative correlation was found between plasma CT-M and serum calcium or plasma TRACP. On the basis of these results, it is suggested that calcitonin may play a role in the pathogenesis of ROD in maintenance HD patients.

緒言

骨吸収抑制作用の明確な実験的根拠から、カルシトニン (CT) が維持透析患者における腎性骨異常栄養症 (ROD) の発症要因の一つとして、Heynen ら¹⁾ならびに Kanis ら²⁾により提唱されたが、Malluche ら³⁾の否定的見解もあり、未だに ROD における CT の関与は明らかとなっていない。その最大の理由は、維持透析患者血漿中で、多様な存在様式を示す CT の中で、現行の immunor-

active CT (i-CT) による測定では生物活性を有する特定の分画の選択的測定ができていないことにある。

ヒト血中での CT の存在様式の多様性は 1990 年甲状腺様癌患者において MacIntyre ら⁴⁾により報告され、その後、Hunter Heath ら⁵⁾により、polymeric form をとる大分子型 CT 分画には生物活性はなく、monomeric form をとる CT 分画に生物活性があることが指摘された。

表 1 Clinical back ground

		Age (years)	Duration of dialysis (months)	Primary disease (CGN, DM, others)		
Total	29	53.7±11.5 (30~69)	48.5±36.0 (8~128)	24	3	2
Male	17	52.9±10.4 (34~69)	49.6±40.8 (9~128)	13	3	1
Female	12	54.7±13.3 (30~69)	47.0±29.2 (8~86)	11	0	1

CGN : chronic glomerulonephritis

DM : diabetes mellitus

表 2 Assay procedure of monomeric calcitonin

Wet cartridge with 5 ml distilled water
↓
Pass 20 ml heparinized plasma through the cartridge
↓
Wash the cartridge with 2 ml distilled water containing 5% Trasylol
↓
Elute calcitonin with 3 ml methanol-water discarding first 0.8 ml
↓
Lyophilize extract on Speed Vac concentrator
↓
Reconstitute lyophilizate with 0.25% BSA
↓
RIA

そこで、今回我々は維持透析患者での ROD 発症ならびに病態への CT の関与を解明するアプローチの一つとして、Heath らの方法に準じて monomeric calcitonin (カルシトニンモノマー, CT-M) を測定した。

対象および方法

対象症例：安定維持透析患者 29 症例で、男性 17 例、女性 12 例、年齢は 30 歳より 69 歳、平均 53.7±11.5 歳 (男性 52.9±10.4 歳、女性 54.7±13.3 歳)、透析歴は 8 か月より 128 か月、平均 48.5±36.0 か月 (男性 49.6±40.8 か月、女性 47.0±29.2 か月)、原疾患は慢性糸球体腎炎 24 例、糖尿病 3 例、その他 2 例である (表 1)。なお、カルシトニン製剤の投与症例は含まれていない。

透析方法：全例ホローファイバー型ダイアライザーを使用し、逆浸透処理水を用いた重炭酸透析にて、1 回 3～5 時間で週 2～3 回施行した。

検体：透析開始時、穿刺部および動脈側回路より採血し血清およびヘパリン血漿を分離し検体とした。

CT-M：Body and Heath の方法に準じ、CT-M 分画を抽出カラム (シリカ Sep-Pak) (Waters) を用いて 70% methanol 液にて溶出させ、測定キット (カルシト

図 1 Plasma levels of calcitonin and monomeric calcitonin.

ニンキット栄研) (東京) を用いて RIA 法にて測定した (表 2)。健常者 12 例での測定結果は 0.5～3.1 pg/ml で平均 1.6±0.9 pg/ml であった。

その他：CT 値はカルシトニンキット栄研を用いて RIA 法にて、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性は Kind-King 法にて、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRACP) はフェニルリン酸法にてそれぞれ測定した。各パラメータの基準値は以下のごとくである。

CT (100 pg/ml 以下), ALP (13KAU 以下), TRACP (1.51±0.32KAU)。

なお、統計学的検討における有意差検定は、Student-t, t 検定を用いた。

結果

1. 血漿 CT 値および血漿 CT-M 値：血漿 CT 値は

表 3 Values of plasma calcitonin and monomeric calcitonin in each decade.

Age (years)	n	CT (pg/ml)	CT-M (pg/ml)
30~39	4	124.8±39.6	26.5±8.3
40~49	6	105.8±40.5	18.6±12.5
50~59	9	154.9±40.6	55.1±32.8
60~69	10	127.9±54.7	26.0±23.5

図 2 Plasma levels of calcitonin vs. monomeric calcitonin.

41~260 pg/ml と著しい個体差がみられ、平均 131.3±47.1 pg/ml (男性 150.0±41.1, 女性 104.7±43.4 pg/ml) と、健常者に比べ透析患者で有意に高い結果であった ($P < 0.001$) (正常値: 100 pg/ml 以下)。

血漿 CT-M 値は透析患者 3.2~113.2 pg/ml とバラツキが大きく平均 33.6±27.3 pg/ml (男性 38.0±20.7, 女性 27.3±34.7 pg/ml) と、健常者に比し透析患者で有意に高い結果であった ($P < 0.001$) (正常値: 1.6±0.9 pg/ml) (図 1)。

2. 血漿 CT 値および血漿 CT-M 値の年代別測定結果: 血漿 CT 値および血漿 CT-M 値とも 50 歳代で各々 154.9±40.6 pg/ml, 55.1±32.8 pg/ml と有意に高値であった ($P < 0.02$) (表 3)。

3. 透析期間: 血漿 CT 値, 血漿 CT-M 値とも 6 か月未満の透析導入例においても高値を示すものがあり、透析期間との相関では一定の傾向は認められなかった。

4. 血漿 CT 値と血漿 CT-M 値の相関関係: 血漿 CT 値と血漿 CT-M 値との間には $r = 0.592$ ($P < 0.001$) の明らかな正の相関がみられ、血漿 CT 値 100 pg/ml 以上の上昇例 18 例での血漿 CT-M 値 45.7±27.9 pg/ml に対し、血漿 CT 値 100 pg/ml 以下の症例では血漿 CT-M 値 13.8±8.4 pg/ml と明らかに低値であった ($P < 0.01$) (図 2)。

5. 血清 Ca 値: 血漿 CT 値と血清 Ca には有意な相

図 3 Plasma levels of calcitonin and monomeric calcitonin vs. serum levels of calcium.

図 4 Plasma levels of monomeric calcitonin vs. plasma levels of TRACP activity.

関関係はみられなかったが、血漿 CT-M 値と血清 Ca 値には $r = -0.368$ ($P < 0.05$) の有意な負の相関を認めた (図 3)。

6. 血清 ALP 値: 血漿 CT 値, 血漿 CT-M 値いずれにおいても有意な相関関係は認めなかった。

7. 血清 C-PTH 値: 血漿 CT 値, 血漿 CT-M 値いずれにおいても有意な相関関係は認めなかった。

8. 血漿 TRACP 値: 今回の対象例 29 例中 25 例で

TRACP 値を測定したが、 2.59 ± 0.59 ($1.8 \sim 3.9$) KAU と有意な上昇を認めた。また、血漿 CT 値とは有意な相関は認めなかったが、血漿 CT-M 値とは $r = -0.490$ ($P < 0.02$) の有意な負の相関を認めた (図 4)。

考察

CT は、Chamber ら^{6,7)}により、破骨細胞活性への抑制作用が実験的に確認されており、破骨細胞活性主導の骨代謝異常を基本的病態とする ROD では CT 分泌低下は、Silva ら⁸⁾が指摘するごとく、ROD 発症要因の一因子になりうる。しかしながら、これまでの維持透析患者での血中 i-CT の測定ではむしろ上昇が認められており、ROD での CT の臨床的意義については一定の見解が得られていない。今回の測定でも生物学的活性を有すると考えられている CT-M 値は、健常者に比べ明らかな上昇を示し、また、Heath らの基準値および溝畑らが第 7 回骨代謝学会で報告した基準値と比較しても明らかに高値であった。維持透析患者での i-CT および CT-M の上昇に関しては、CT の主な代謝臓器および排泄臓器が腎であるため、蓄積効果による上昇を考慮せねばならないが、透析施行中の血清イオン化 Ca 濃度変動による反復刺激効果による影響も少なくないと思われる。

維持透析患者における体液 Ca 濃度は主に VitD、および PTH により規制されていると考えられるが、今回の検討で CT-M 値が血清 Ca 濃度と有意な負の相関を示し、CT の本来の生理的作用である血清 Ca 濃度低下作用の一面が臨床的にも機能していることを示したものと解釈される。すでに腎機能が廃絶した維持透析患者における CT の Ca 低下作用は、骨組織からの Ca-flux の抑制に基づくと判断され、Mariano ら⁹⁾も腎不全ラットにおいて PTH 投与による血中 Ca 濃度上昇が CT 存在下では明らかに抑制されることから、CT の腎不全における PTH による高 Ca 血症発生の抑制因子としての重要性を強調している。今回の検討で図 4 に示された破骨細胞活性性の指標である TRACP との有意な負の相関はこの解釈を支持したものと見える。一方、骨芽細胞マーカーである ALP とは相関が得られなかったが、今回の対象例個々での PTH 値のパラツキが $0.6 \sim 26.7$ ng/ml と大きいと、骨代謝の major な規制因子である PTH の receptor を有する骨芽細胞では、CT の影響以上に PTH の影響が強くてたためと考えられる。

ROD 発症への CT のもう一つの関与機序として effector cell である破骨細胞の CT に対する反応性低下が考えられる。Tashjian ら¹⁰⁾もマウス骨器官培養系で CT-receptor 発現の down regulation を指摘しており、維持透析患者での持続的血中 CT 濃度の上昇が down regulation を介して、CT の破骨細胞抑制作用を弱める可能

性は考えられるが、臨床的意義については文献的にも現段階では不明である。

ROD の病態は多様であり最近、Sherrard ら¹¹⁾により 142 例の腹膜透析例を含む 259 例の維持透析患者での骨生検像で、mild 45 例 (17.3%)、osteitis fibrosa 57 例 (22.0%)、mixed 18 例 (7.0%)、osteomalacia 11 例 (4.2%)、aplastic 128 例 (49.4%) と多様な病態が報告されている。今回の CT-M の測定で、従来の i-CT の測定では確認できなかった血清 Ca 濃度および TRACP との負の相関が確認されたが、今後 ROD における CT の臨床的意義を明らかにする上で、CT-M の測定によって従来の i-CT の測定で確認できなかった新たな情報が得られることが期待できるものと考えられる。

まとめ

- 1) 維持透析患者 29 名において、血漿 CT-M 値を測定した。
- 2) 血漿 CT-M 値は健常者に比較して透析患者で有意に高値であった。
- 3) 血漿 CT-M 値は血清 Ca、TRACP 値と有意な負の相関を示した。
- 4) i-CT の測定では確認できない新たな情報が CT-M 値の測定により得られると考えられる。

文献

- 1) Heynen G, Kanis JA, Earnshaw M, Russell RG : Plasma immunoreactive calcitonin and bone disease in patients on haemodialysis. Proc Eur Dial Transplant Assoc 13 : 403-408, 1976
- 2) Kanis JA, Earn SM, Heynen G, Ledingham JG, Oliver DO, Russell RG, Woods CG, Franchimont P, Gaspar S : Changes in histologic and biochemical indexes of bone turnover after bilateral nephrectomy in patients on hemodialysis. Evidence for a possible role of endogenous calcitonin. N Engl J Med 296 : 1073-1079, 1977
- 3) Malluche H, Faugere MC, Ritz E, Caillens G, Wildberger D : Endogenous calcitonin does not protect against hyperparathyroid bone disease in renal failure. Mineral Electrolyte Metab 12 : 113-118, 1986
- 4) MacIntyre I, Zaidi M : Calcitonin, some recent developments in osteoporosis. In "Physiological Basis, Assessment, and Treatment" ed DeLuca HF, Mazes R, p 233-240, 1990
- 5) Body JJ, Heath H III : Estimates of circulating monomeric calcitonin, physiologic studies in nor-

- mal and thyroidectomized man. *J Clin Endocrinol Metab* 57 : 897-903, 1983
- 6) Chambers TJ, Magnus CJ : Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. *J Pathol* 136 : 27-39, 1982
- 7) Chambers TJ, McSheehy PMJ, Thomson BM, Fuller K : The effect of calciumregulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts disaggregated from neonatal rabbit bones. *Endocrinology* 116 : 234-239, 1985
- 8) Silva O, Becker K, Shalhoub R, Snider RH, Bivins LE, Moore CF : Calcitonin levels in chronic renal disease. *Nephron* 19 : 12-18, 1977
- 9) Mariano R, Arnold JF, Armando T, Lee P, Francisco L : Calcitonin, an important factor in the calcemic response to parathyroid hormone in the rat. *Kidney Int* 40 : 219-225, 1991
- 10) Tashjian AH Jr, Wright DR, Ivey JL, Pont A : Calcitonin binding sites in bone : relationships to biological response and "escape" *Recent Prog Horm Res* 34 : 285-334, 1978
- 11) Donald J. Sherrard, Gavril Hercs, York Pei : The spectrum of bone disease in end-stage renal failure-An evolving disorder. *Kidney Int* 43 : 436-442, 1993