

3) 成長ホルモン療法における骨代謝の検討

新潟大学医学部小児科学教室 (主任: 内山 聖教授)

菊池 透・橋本 尚士
川崎 琢也・内山 聖Effects of Growth Hormone on Bone Metabolism
in Children with Growth Hormone DeficiencyToru KIKUCHI, Naoshi HASHIMOTO,
Takuya KAWASAKI and Makoto UCHIYAMA*Department of Pediatrics,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Makoto UCHIYAMA)*

The effects of growth hormone (GH) on bone metabolism were studied in 8 GH-deficient children. Biochemical markers for bone metabolism, such as osteocalcin, alkaline phosphatase (ALP), insulin like growth factor-I (IGF-I), calcium, phosphate, renal tubular reabsorption of phosphate (%TRP), vitamin D₃, parathyroid hormone (PTH) and calcitonin, and bone mineral density (BMD) were measured before and 1, 2, 3, 6, 9, 12 months after treatment with GH. BMD was determined by dual energy X-ray absorptiometry at 2nd~4th lumbar spine by using a model QDR 1,000 (Hologic Corp., Waltham, Massachusetts). All children had significant increment of body height (BH) SD score, height velocity and height velocity SD score.

We compared these makers and BMD of pretreatment with those of posttreatment. The following results were obtained.

- 1) Significant increment of osteocalcin, ALP and IGF-I serum level were found.
- 2) Serum levels of Calcium and phosphate, and %TRP showed a tendency to increase.
- 3) Serum level of 1, 25-(OH)₂ vitamin D₃ showed a tendency to increase. However serum levels of 25-(OH) vitamin D₃ and 24, 25-(OH)₂ vitamin D₃ showed a tendency to decrease.
- 4) No significant changes in PTH C-terminal and calcitonin levels were found.
- 5) A significant increment of BMD was found. However no significant variation of BMD/BH was found.

Bone metabolism is regulated by numerous hormones and local growth factors. Our findings suggest that the treatment with GH may affect this network of bone metabolism

Reprint request to: Toru KIKUCHI,
Department of Pediatrics, Niigata
University School of Medicine,
Asahimachi-dori 1, Niigata City,
951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部小児科学教室

菊池 透

and stimulat bone turnover, especially bone formation.

Key words: growth hormone, bone metabolism, bone formation, bone mineral density
成長ホルモン, 骨代謝, 骨形成, 骨塩量

はじめに

小児は絶えず成長しており、この点が成人とは決定的に異なる。成長には骨格の増大が不可欠であることから、小児期の骨代謝はきわめて重要であると考えられるが、いまだ十分に検討されていない。

一般に、骨代謝は全身性のホルモン（性ホルモン、ビタミンD、副甲状腺ホルモンなど）、種々の成長因子、サイトカインの複雑なネットワークによって、コントロールされている¹⁾。また、小児の正常な成長には成長ホルモン（GH）が必須であることから、GHが骨代謝に影響を与えていると考えられる²⁾⁻⁵⁾。

今回、われわれはGH欠損症患児を対象として、GH療法が骨代謝に与える影響を検討したので報告する。

対象と方法

対象は成長ホルモン欠損症8例（男7例、女1例）とした（Table 1）。なお、骨年齢の評価にはTWII法を用いた。

GH療法は0.5 U/kg/週、6回/週、就寝前皮下注射で施行した。治療開始前および開始後1, 2, 3, 6, 9, 12か月時に、血中オステオカルシン、アルカリフォスファターゼ（ALP）、副甲状腺ホルモンC末端（PTH-C）、カルシトニン、25-(OH)ビタミンD₃（25-(OH)D₃）、1, 25-(OH)₂ビタミンD₃（1, 25-(OH)₂D₃）、24, 25-(OH)₂ビタミンD₃（24, 25-(OH)₂D₃）、インスリン様成長因子I（IGF-I）、Ca、IP、尿中Ca/Cre、尿中IP/Cre、尿細管リン酸再吸収率（%TRP）を測定し比較検討した。CaはPayneによる補正カルシウム値（CorCa）を用いた⁶⁾。採血および採尿はすべて午前9時から11時の間に施行した。

オステオカルシンはIRMA法で、PTH-C、カルシトニン、IGF-IはRIA2抗体法で、25-(OH)D₃、1, 25-(OH)₂D₃、24, 25-(OH)₂D₃はHPLC法で測定した。

また、治療開始前および開始後3, 6, 9, 12か月時に骨塩量（BMD）をdual energy X-ray absorptiometry（DEXA）法により評価した。測定器械はHologic QDR-1000（Hologic社）、測定部位は第2, 3, 4腰椎

Table 1 Auxologic findings of the subjects (n = 8)

	Pretreatment	12 months
CA (yr)	11.8±3.2	12.6±3.2*
BA (yr)	11.0±3.5	12.3±3.7***
BA/CA ratio	0.93±0.10	0.97±0.10
BH SDS	-2.55±0.52	-2.11±0.57
Height velocity (cm/yr)	4.8±1.3	8.3±1.0**
Height velocity SDS	-1.86±3.47	-2.41±3.44*
Obesity index (%)	4.4±13.4	-1.7±11.1

Values are expressed as mean±SD, CA; Chronological age, BA; Bone age, BH; Body height, SDS; SDscore.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 versus pretreatment values.

正面像を用いた。本文中の数値は平均±標準偏差で示し、各群間の統計学的有意差の検定にはpaired t-testを用いた。

結 果

(1) GH療法による身長、骨年齢の変化 (Table 1)

GH療法開始後1年間の成長率、成長率SDスコア、身長SDスコア、骨年齢は開始前に比して有意に増加したが（それぞれp<0.01, p<0.05, p<0.01, p<0.001）。骨年齢/暦年齢比には有意の増加は認められなかった。

(2) GH療法による骨代謝マーカーの変化 (Table 2)

オステオカルシンはGH療法開始後徐々に増加し、6か月以後は有意差を認めた（p<0.01）。また、ALPは開始1か月後すでに有意に増加していた（p<0.05）。血清CorCaは2か月まで増加傾向があり、9か月以後減少した。血清IPは6か月まで増加傾向を示した。尿中Ca/CreおよびIP/Creは1か月後に減少傾向があり、%TRPは1か月後に増加していたが、いずれも有意ではなかった。

IGF-Iは1か月後より有意に増加した（p<0.01）。1、

Table 2 Variations of makers in bone metabolism and bone mineral density during treatment of growth hormone

	Pretreatment	1 month	2 months	3 months	6 months	9 months	12 months
Osteocalcin (ng/ml)	33.8±13.5	44.5±34.7	45.4±27.7	40.9±18.8	55.0±23.9**	53.9±25.3***	52.9±21.1***
ALP (IU/L)	562.4±177.5	620±174.8*	630±141.6	671.9±168.3*	659.0±164.9	669.0±135.0**	640.0±151.5
S-CorCa (mg/dl)	8.66±0.35	8.69±0.35	8.76±0.41	8.69±0.43	8.53±0.21	8.49±0.32*	8.59±0.32*
S-IP (mg/dl)	4.66±0.55	4.94±0.13	5.16±0.39	4.92±0.36	5.26±0.33*	4.94±0.45	4.84±0.51
U-Ca/Cre ratio	0.141±0.082	0.199±0.045	0.122±0.056	0.147±0.137	0.098±0.059	0.113±0.123	0.094±0.054
U-IP/Cre ratio	0.683±0.255	0.509±0.260	0.594±0.243	0.695±0.241	0.689±0.190	0.538±0.267	0.449±0.312*
%TRP (%)	94.1±1.9	95.7±2.5	95.3±2.1	94.7±2.0	94.6±2.0	95.5±1.8	96.0±3.0*
IGF-I (ng/ml)	208.9±121.2	313.8±137.1**	418.8±171.3**	305±132.3*	343.8±176.5**	318.8±118.1*	335.0±166.1**
25-(OH)D ₃ (ng/ml)	26.6±11.2	23.6±10.3	21.8±6.7	17.8±5.8**	23.5±11.6	33.9±12.0	20.9±8.8
1.25-(OH) ₂ D ₃ (pg/ml)	37.6±12.5	45.1±11.3	44.1±9.88	43.1±14.1	47.0±19.5	42.4±21.8	34.3±15.8
24.25-(OH) ₂ D ₃ (ng/ml)	2.13±1.25	1.81±1.29*	1.80±1.32	1.80±0.71	1.89±1.02	3.58±1.62*	2.61±1.30
PTH-C (ng/ml)	0.30±0.11	0.31±0.06	0.34±0.05	0.31±0.06	0.33±0.07	0.36±0.09	0.34±0.07
Calcitonin (pg/ml)	20.1±7.2	23.3±18.5	22.8±8.2	18.9±7.2	22.9±12.7	23.8±9.8	17.1±7.5
BMD (g/cm ²)	0.618±0.101	—	—	0.631±0.090	0.644±0.104**	0.656±0.114***	0.674±0.121***
BMD/BH×100 (g/cm ³)	0.471±0.038	—	—	0.473±0.028	0.476±0.042	0.475±0.043	0.482±0.045

Values are expressed as mean±SD, S-CorCa; Serum corrected calcium, IGF-I; Insulin like growth factor, 25(OH)D₃, 25-hydroxyvitamine D₃, 1.25(OH)₂D₃; 1.25-dihydroxyvitamine D₃, 24.25(OH)₂D₃; 24.25-dihydroxyvitamine D₃, PTH-C; Parathyroid hormone C-terminal, BMD; Bone mineral density, BH; Body height.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 versus pretreatment values.

25-(OH)₂D₃ は有意の変化はなかった。25-(OH)₂D₃, 24, 25-(OH)₂D₃ は3カ月まで減少傾向を示した。

PTH-C, カルシトニンに有意の変化はなかった。

BMD は6カ月以後有意に増加した (p<0.01)。しかし、身長で除した値 (BMD/BH) で検討すると有意な変化はなかった。

考 案

GH には成長促進および蛋白・糖・脂質代謝に対する2つの作用がある。また、組織に対する直接作用と IGF-I を介する間接作用の2つの作用機序がある⁸⁾。

GH の成長促進作用は骨や骨以外の組織における細胞増殖や蛋白合成によってもたらされる。この作用はインスリン様で、コルチゾールと拮抗する。作用機序には軟骨細胞への直接作用と、GH によって軟骨細胞から産生された local IGF-I を介した間接作用があると考えられている⁹⁾。

しかし、GH が成長促進作用を具現する際、骨代謝に対してどのような影響を与えているかについては十分に検討されていない。そこで、今回我々は GH 欠損症患児に対して外因性に GH を投与した際の骨代謝の各種マーカーの変化を検討した。

オステオカルシンと ALP は骨形成の重要なマーカーである。とくにオステオカルシンは主要な骨の非コラーゲン性蛋白の1つで、1, 25-(OH)₂D₃ により調節され骨芽細胞により特異的に産生されていることから、骨形成の状態を鋭敏に反映する¹⁰⁾。今回の検討では GH 投与によりオステオカルシン、ALP は明らかに増加しており、従来の指摘通り GH の身長促進作用には骨形成が深く関与していると考えられた²⁾⁻⁵⁾。また、GH 投与により IGF-I が増加しており、GH の骨に対する作用には IGF-I を介する間接作用であることが推測された。しかし、今回測定した IGF-I は血中のいわゆる endocrine IGF-I であり、軟骨細胞における local IGF-I の産生

状況を必ずしも反映しているとは言い難い。

活性型ビタミンDである $1, 25-(OH)_2D_3$ は骨形成に必須である。GH は IGF-I を介して腎尿細管での $25-(OH)$ ビタミン $D_3-1\alpha$ -ヒドロキシラーゼの活性を高め、 $1, 25-(OH)_2D_3$ を増加させると考えられていることから¹¹⁾、GH 投与により増加する可能性が推測される⁵⁾¹²⁾。今回の検討では増加傾向はみられたものの、統計学的には有意ではなかった。一方、 $25-(OH) D_3$, $24, 25-(OH)_2D_3$ は GH 投与により変化はないという報告があるが⁵⁾、今回の検討ではむしろ減少傾向を示した。

GH は IGF-I や $1, 25-(OH)_2D_3$ を介して小腸での Ca, P の吸収を亢進させ、さらに腎尿細管での P の再吸収を亢進させる。したがって、GH 投与により血中 Ca, IP, %TRP は増加し、尿中 IP/Cre は減少すると推測される⁸⁾¹¹⁾¹²⁾。今回の検討でも、投与開始直後には Ca, IP, %TRP は増加傾向を示し、IP/Cre は減少傾向を示し、従来の考えを裏付ける成績を得た。

GH は PTH を増加させると言う報告もあるが⁵⁾¹³⁾、逆に減少させると言う報告もあり¹⁴⁾、一定の見解は得られていない。GH は骨形成を亢進させるが、同時に骨吸収も亢進させると考えられているので¹⁴⁾、PTH は増加すると推測される。しかし、今回の検討では有意な変化はみられなかった。ただし、我々は PTH-C を検討したが、近年 intact PTH が測定可能になったことから、今後は intact PTH の検討が必要になろう。

成人では GH を少量投与すると骨密度が増加したという報告がある¹⁵⁾。今回の検討では、GH 投与6カ月後には腰椎 BMD が有意に増加していた。しかし、健康小児でも成長とともに BMD が増加することから、これのみでは GH が骨密度を増加させたとはいえない。腰椎 BMD は身長ともっとも良好な相関を示すことから、身長あたりの骨塩量 (BMD/BH) を検討したところ、GH 投与前後で有意な増加はなかった。今回の腰椎 BMD は正面像のみを用いて評価したが、腰椎は前後方向にも大きくなることから、今後は正面・側面の両方向から撮影し、単位容積の BMD を算出する必要があると考えられた。

今回の成績より、GH が骨代謝回転を亢進させることは間違いないが、その作用機序はどのように解したらよいのであろうか？まず、GH 投与により IGF-I が増加することから、GH が IGF-I を介して間接的に骨に影響したと考えられる。

しかし、*in vitro* では骨芽細胞や軟骨細胞に GH レセプターが存在することが証明されており⁷⁾、GH がこ

れらの骨芽細胞や軟骨細胞を分化増殖させると指摘されていることから^{2)~4)}、GH の骨代謝に対する直接作用の存在も推測される。

骨代謝は種々の全身性ホルモン、成長因子、サイトカインなどで形成される複雑なネットワークによりコントロールされており、成長因子は骨形成に、サイトカインは骨吸収に、それぞれ paracrine, autocrin に働く¹⁾²⁾¹²⁾。今回の検討で明らかのように、GH もこの骨代謝のネットワークに少なからず影響を与えていると考えられた。今後はこの骨代謝のネットワークの詳細な解明が必要になろう。

結 語

GH 欠損症患児に対する GH 療法開始後1年間の骨代謝および骨塩量について検討した。GH 療法開始後、特に骨形成を中心に骨代謝回転は亢進していたが、骨塩量の増加は明らかではなかった。

本研究は平成4年度新潟大学学術奨励会研究補助金の助成を受けた。

参 考 文 献

- 1) 清野佳紀: 骨代謝における全身性ホルモンの作用, *Molecular Medicine*, **30**: 1248~1253, 1993.
- 2) Ohlsson, C., Isgaard, J. et al.: Endocrine regulation of longitudinal bone growth, *Acta. Pediatr.*, **suppl 391**: 33~40, 1993.
- 3) Loveridge, N. and Farquharson, C.: Studies on growth plate chondrocytes *in situ*: cell proliferation and differentiation, *Acta. Pediatr.*, **suppl 391**: 42~48, 1993.
- 4) Eriksen, E.F., Brixen, K. et al.: Growth Hormone and Bone, *J. Pediatr. Endocrinol.*, **5**: 91~93, 1992.
- 5) Saggese, G., Baroncilli, G.I. et al.: Effects of long-term treatment with growth hormone on bone and mineral metabolism in children with growth hormone deficiency, *J. Pediatr.*, **122**: 37~45, 1993.
- 6) 藤田拓男: カルシウム, *日本臨床*, **1989** 増刊: 646~648, 1989.
- 7) Werther, G.A., Haynes, K. et al.: Identification of growth hormone receptors on human growth plate chondrocytes, *Acta. pediatr.*, **suppl. 391**: 50~53, 1993.

- 8) 鎮目和夫編：成長ホルモンとその関連ペプチド，第1版，朝倉書店，東京，17～24，1992.
- 9) Isaksson, O.G.P., Jansson, J-O. et al.: Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly, *Science*, **216**: 1237～1239, 1982.
- 10) 濱本洋子, 香川靖雄: 骨の γ -カルボキシングルタミン酸含有蛋白質, 蛋白質核酸酵素, **33**: 1975～1984, 1988.
- 11) Caverzoaio, J., Montessuit, C. et al.: Stimulatory effect of insulin-like growth factor-I on renal Pitransport and plasma 1, 25-dehydroxyvitamin D3, *Enderinology*, **127**: 453～459, 1990.
- 12) Bouillon, R.: Growth hormone and bone, *Horm Res*, **36** (suppl 1): 49～55, 1991.
- 13) Stuart, R., Lancer, E.: The effect of growth hormone on parathyroid function in rats, *Enderinology*, **98**: 1289～1293, 1976.
- 14) Van der Veen, EA., Netelenbos, JC.: Growth hormone (replacement) therapy in adults, *Horm Res*, **33** (suppl 4): 65～68, 1990.
- 15) Rudman, D., Feller, A.G., et al.: Effects of human growth hormone in men over 60 year old, *New. Eng. J. Med.*, **323**: 1～6, 1990.

司会 先生ありがとうございます。成長ホルモンを使われてのご研究ですが、多分、代謝回転を上げているとおっしゃいました。どなたかご質問ございませんでしょうか。

谷澤 オステオカルシンの値が投与後、半年くらいで上がってきたということですが、ただ先生方の症例の平均年齢を見ますと、11歳前後でしょうか。確か2年くらい前にフランスの Delmas のグループが年齢別の10代のオステオカルシンと DXA の値を出したと思うんで

すけども、これを見ますとグローススパートがくる年代になりますとオステオカルシンが生理的に上がってくるという報告があったと思います。先生方の症例の年代がそれに近いのでしょうか。

菊池 今回の検討期間中に二次成長を迎えた患者さんを数人含んでいました。したがって思春期の影響も考えなければならないと思います。今後思春期前の症例を増やしまして同様の検討をしたいと思います。

司会 そのほか、ありますか。この8例の患者さんですが、女兒は何人ですか。

菊池 1例です。

司会 それは何歳ですか。

菊池 思春期前の子供で、9歳くらいです。

司会 今回昨日の日本骨粗鬆症研究会で、これは大阪の辻学園の広田先生の発表だったのですが、骨密度が初潮があったその直後の1年で20%くらい増え、2年目には8%増えている。要するに初潮が始まって2～3年で骨密度が増えるという報告がありました。これは先生のやっておられる数年後のことですから多分、その初潮のある年齢に到達するとまた増えるのではないかと思うのですが、それから、このリコンビナントグロースホルモンをどのくらいの期間やられたのですか。現在も続けていらっしゃるのですか。

菊池 今日発表した症例は最初1年間の検討ですけども、その後骨端線が閉じるまでは続ける予定です。

司会 そうしますと、この止められてから、その後の骨密度の増加が非常に興味があるのですが、依然として同じなのか、あるいはその直後ぐっと増えるのか下がるのか石灰化度の最大値の関係が興味深いのですが。そのほか、ありますか。先生ありがとうございます。それでは第4席、第二内科の黒田先生お願い致します。膠原病患者における長期ステロイドの服用と骨粗鬆症に関する検討です。