

- 2) **Langman, M.J.S., Leuthold, E., Robson, E.B., Harris, J., Luffman, J.E. and Harris, H.:** Influence of diet on the 'intestinal' component of serum alkaline phosphatase in people of different ABO blood groups and secretor status, *Nature*, **212**: 41~43, 1966.
- 3) **Rosalki, S.B. and Ying Foo, A.:** Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma, *Clin. Chem.*, **30**: 1182~1186, 1984.
- 4) **Kuwana, T., Sugita, O. and Yakata, M.:** Reference limits of bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in the serum of healthy subjects according to age and sex as determined by wheat germ lectin affinity electrophoresis, *Clin. Chim. Acta.*, **173**: 273~280, 1988.
- 5) **Shiele, F., Henny, J., Hitz, J., Petittler, C., Gueguen, R. and Siest, G.:** Total, bone and liver alkaline phosphatases in plasma: biological variations and reference limits, *Clin. Chem.*, **29**: 634~641, 1983.
- 6) **Riggs, B.L. and Melton III, L.J.:** Involutional osteoporosis, *N. Engl. J. Med.*, **314**: 1676~1686, 1986.
- 7) **Kreisher, J.H., Close, V.A. and Fishman, W.H.:** Identification by means of L-phenylalanine inhibition of intestinal alkaline phosphatase components separated by starch gel electrophoresis of serum, *Clin. Chim. Acta.*, **11**: 122~127, 1965.
- 8) **Stein, P., Rosalki, S.B., Ying Foo, A. and Hjelm, M.:** Transient hyperphosphatasemia of infancy and early childhood: Clinical and biochemical features of 21 cases and literature review, *Clin. Chem.*, **33**: 313~318, 1987.

8) 小児期各種疾患における血中ビタミン D 代謝物濃度と 25-hydroxy vitamin D の持続的低下のみられたクル病の 2 症例

新潟大学医学部小児科学教室 浅見 直・橋本 尚士  
堺 薫

Serum Concentrations of Vitamin D Metabolites in Children with Various Diseases and Two Cases of Rickets with Persistently Low Serum 25-OH-D Levels

Tadashi ASAMI, Naoshi HASHIMOTO and Kaoru SAKAI

*Department of Pediatrics, School of Medicine, Niigata University*

We measured serum concentrations of 25-OH-D, 1,25-(OH)<sub>2</sub> D, and 24,25-(OH)<sub>2</sub> D in children with various diseases. The serum 25-OH-D levels were decreased in congenital biliary atresia, hypophosphatemic rickets, and epilepsy. The serum concentrations of both 1,25-(OH)<sub>2</sub> D and 24,25-(OH)<sub>2</sub> D were decreased in congenital nephrotic syndrome and congenital biliary atresia. No significant relations were demonstrated among these vitamin D metabolites. However, a significant correlation was

Reprint requests to: Tadashi ASAMI,  
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

浅見 直

found between the serum concentrations of 25-OH-D and alkaline phosphatase.

In these consecutive studies, two children showing characteristic signs of rickets were found to have persistently low serum 25-OH-D levels with normal 1,25-(OH)<sub>2</sub>D levels. They responded to a large dose of vitamin D<sub>2</sub> followed by an increase of serum 25-OH-D level, and which suggested a new type of vitamin D refractory rickets due to impaired 25-hydroxylation in the liver.

Key words: 25-hydroxyvitamin D, rickets, children.

ビタミンD欠乏性クル病は最近ほとんどみられないが、ビタミンD抵抗性あるいはその他の原因による骨軟化症の存在は重要である<sup>1)</sup>。特に最近、血中ビタミンD代謝物の定量法が一般化するにつれ、種々な疾患におけるビタミンD代謝が明らかになりつつある。私達は小児の各種疾患におけるビタミンD代謝物濃度と骨病変の関連を検討したので報告する。また肝臓における一次的 25-hydroxylase 欠損が疑われ、新たなクル病の可能性のある2症例を経験したので報告する。

### I. 対象及び方法 (表 1)

新潟大学小児科で管理中の9疾患、29人の小児を対象とし、スペシャルレファランラボラトリーによるラジオレセプターアッセイにより表 1 に示す血中 Vitamin

表 1 対象および方法

Subjects	
Primary 25-OH-Vit.D deficiency ?	2
Renal Tubular Acidosis	1
Lowe's Syndrome	1
Hypophosphatemic Rickets	2
Congenital Biliary Atresia	1
Renal diseases	6
Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)	6
Epilepsy	5
Others	5
Methods	
25-OH-Vit.D	
1, 25-(OH) <sub>2</sub> -Vit.D	
24,25-(OH) <sub>2</sub> -Vit.D	
Calcium	
Phosphate	
Alkaline Phosphatase	

D 代謝濃度を測定し、血中カルシウム、リン、アルカリホスファターゼとの関連を検討した。

## II. 成 績

### 1. 各種疾患における血中ビタミン D 代謝物濃度 (図 1)

25-OH-D は低リン血症性クル病、先天性胆道閉鎖症および抗痙攣剤内服中の患者において低値であった。1, 25-(OH)<sub>2</sub>D は、正常範囲とされている 20pg/ml 以下の低値を示したのは先天性ネフローゼ患者、renal tubular acidosis、先天性胆道閉鎖症であった。また 24,25-

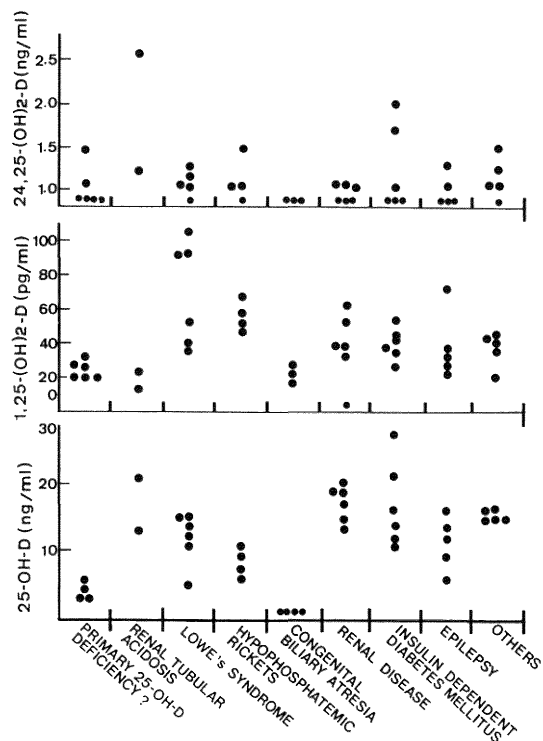


図 1 各種疾患における血中ビタミン D 代謝物濃度

(OH)2D は同様に腎疾患群と先天性胆道閉鎖症で低値であった。しかし renal tubular acidosis ではむしろ高値であり、24水酸化酵素により 25-OH-D からの産生が高まったためと考えられる。また抗痙攣剤投与患者では 25-OH-D の低下傾向がみられた。しかしインシュリン依存性糖尿病では血中ビタミンD代謝物の有意の変化はみられなかった。

## 2. ビタミン D 代謝物と血清カルシウムの関係 (図 2)

25-OH-D が 4ng/ml 以下では血清カルシウムは 8.5 mg/dl 以下と低値であったが、1,25-(OH)2D との関係は認められなかった。24,25-(OH)2D は血清カルシウム濃度の高い例では高値を示し、腎における 25-OH-D からの転換の亢進が示唆された。1,25-(OH)2D とは有

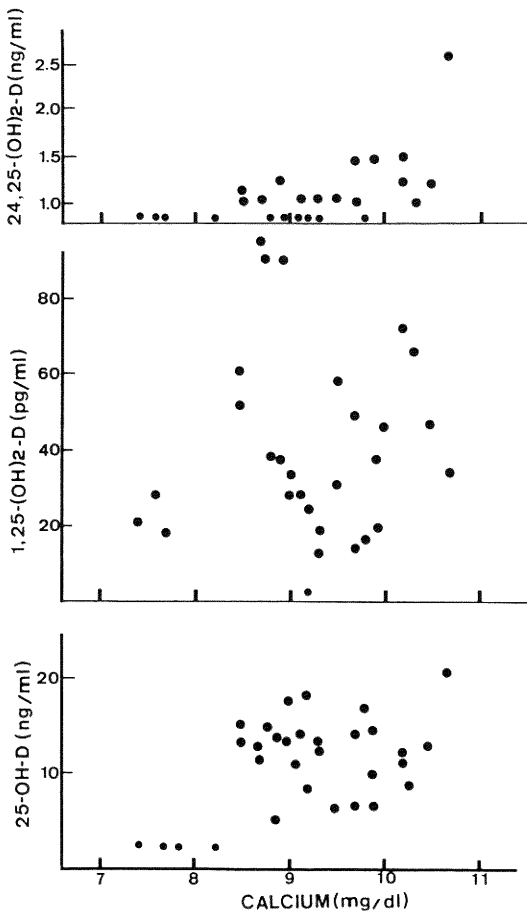


図 2 血中ビタミン D 代謝物濃度と血清カルシウム濃度の関係

意の関係は認められなかった。

## 3. ビタミン D 代謝物と血清リン濃度の関係 (図 3)

カルシウムとは異なり、血中リンの値とビタミンDレベルには特別の関連は認められなかった。また血中カルシウム (mg/dl) × リン (mg/dl) 積との有意の関係は認められなかった。

## 4. 血清アルカリホスファターゼとビタミン D の関係 (図 4)

ビタミンD代謝物のなかでは 25-OH-D のみが有意の負の相関を示した。

## 5. 各ビタミン D 代謝物の相互関係 (図 5)

25-OH-D と 1,25-(OH)2D の間には有意の関係は認めなかった。24,25-(OH)2D は 25-OH-D が高い例では高値になり、血清カルシウム高値における場合と同様に 25-OH-D からの変換亢進が示唆された。

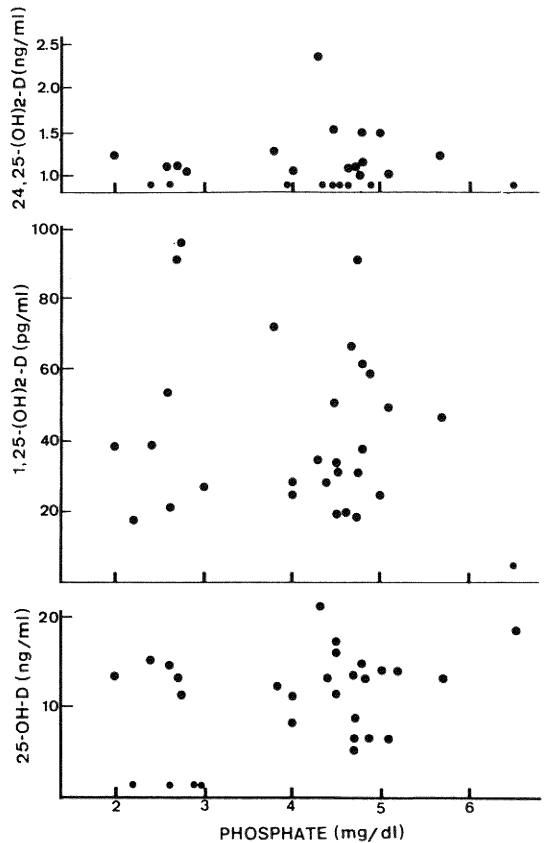


図 3 血中ビタミン D 代謝物濃度と血清リン濃度の関係

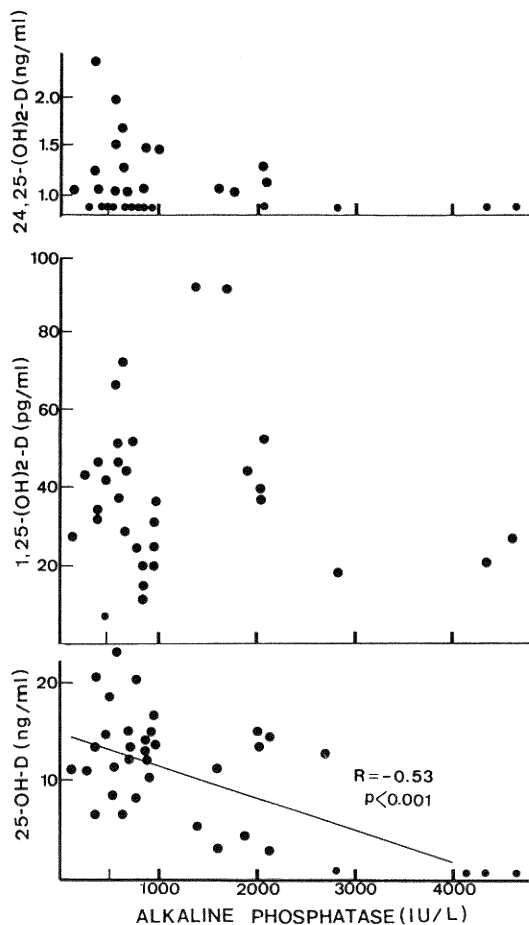


図4 血中ビタミンD代謝物濃度と血清アルカリホスファターゼ活性の関係

### III. 症 例 提 示

血中 25-OH-D 値の著明な低下とクル病所見を示した2症例を提示し、肝臓におけるビタミンDの25水酸化反応の一次的障害の可能性について述べる。

症例1：S.K. 男児，2歳

主訴：O脚，歩行異常

家族歴：4人兄弟の3番目であり，他の兄や両親にクル病はない。6カ月検診でハリソン溝を指摘され，歩行開始時にO脚に気付かれて整形外科を受診し，2歳時に当科へ紹介された。

入院時現症：著明なO脚と肋軟骨接合部にローゼンクランツが認められる以外には異常を認めなかった。身長は85.0cm，体重は13.3kgであり，2歳児相当の正常

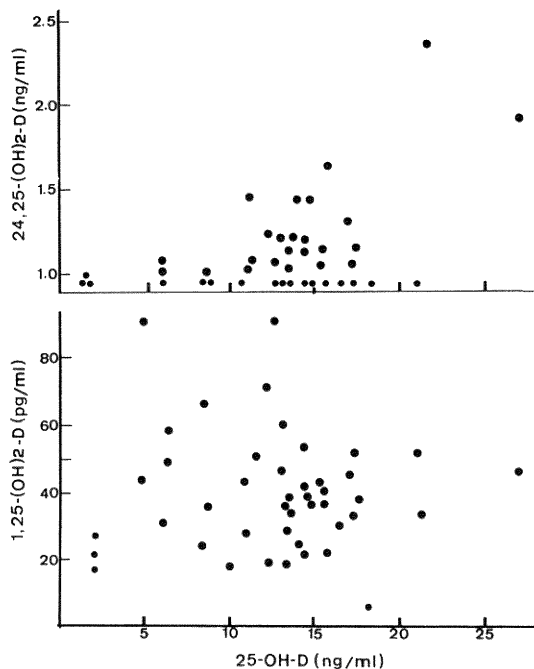


図5 各血中ビタミンD代謝物の相互関係

な身体発育であったが，手関節レ線像で杯状変化とケバダチ像など著明なクル病性変化がみられた。

症例2：W.M. 男児，1歳3カ月

主訴：O脚，歩行異常

父親の姉の子（現12歳，女兒）と母親の弟（現23歳）がクル病とのことで1歳頃に投薬を受けたが現在は正常である。歩行開始時にO脚と歩行異常に気付かれ，1歳3カ月時に当科へ紹介された。

入院時現症：症例1と同様に著明なO脚とローゼンクランツ以外には異常が認められなかった。身長83.1cm，体重12.8kgと1歳と3カ月にしてはむしろ身体発育は良好であった。また手関節レ線で骨端部の杯状変化とケバダチ像などのクル病性変化が認められた。

#### 検査所見（表2）

症例1，2の肝機能，腎機能，血中電解質など一般検査所見は全て正常であった。しかし血清アルカリホスファターゼは2症例とも2,000IU/l近い高値を示していた。血清カルシウム，リンには異常を認めず，25-OH-Dは2症例ともに3.0および6.7ng/mlと低値であった。しかし1,25-(OH)2Dは正常範囲内であった。また尿検査所見は正常であり，血液ガス所見でアンドーシスは認めなかった。

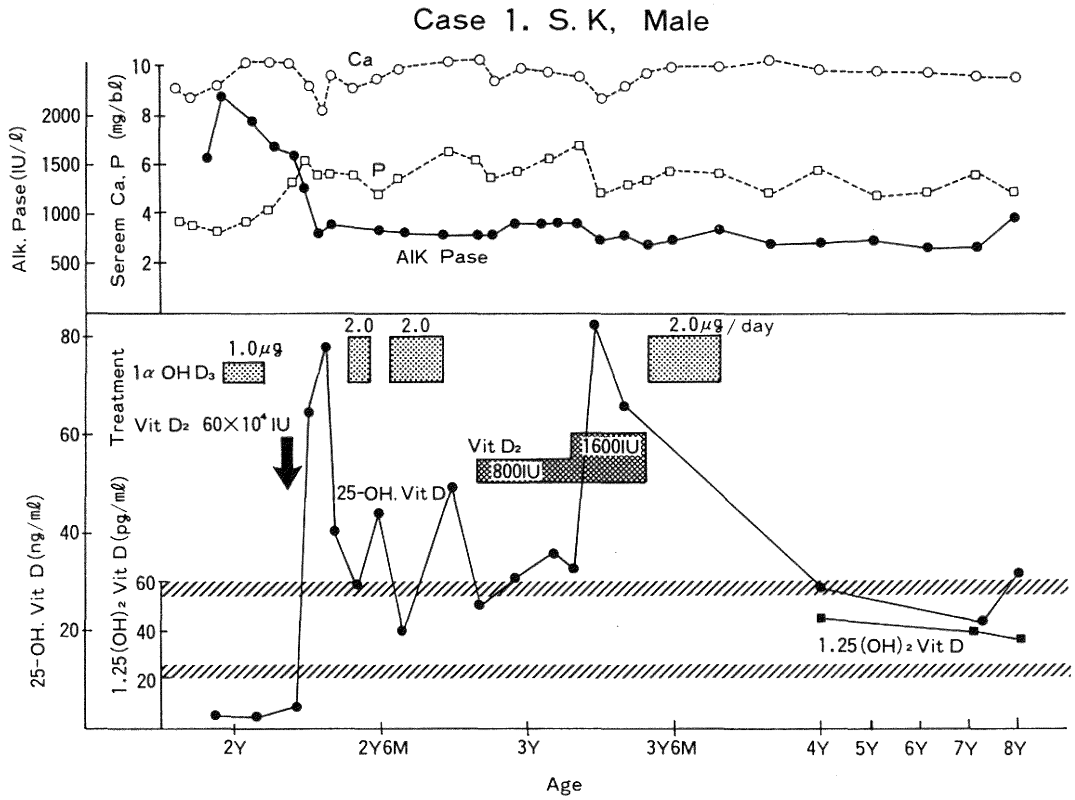


図 6 症例 1 の経過図

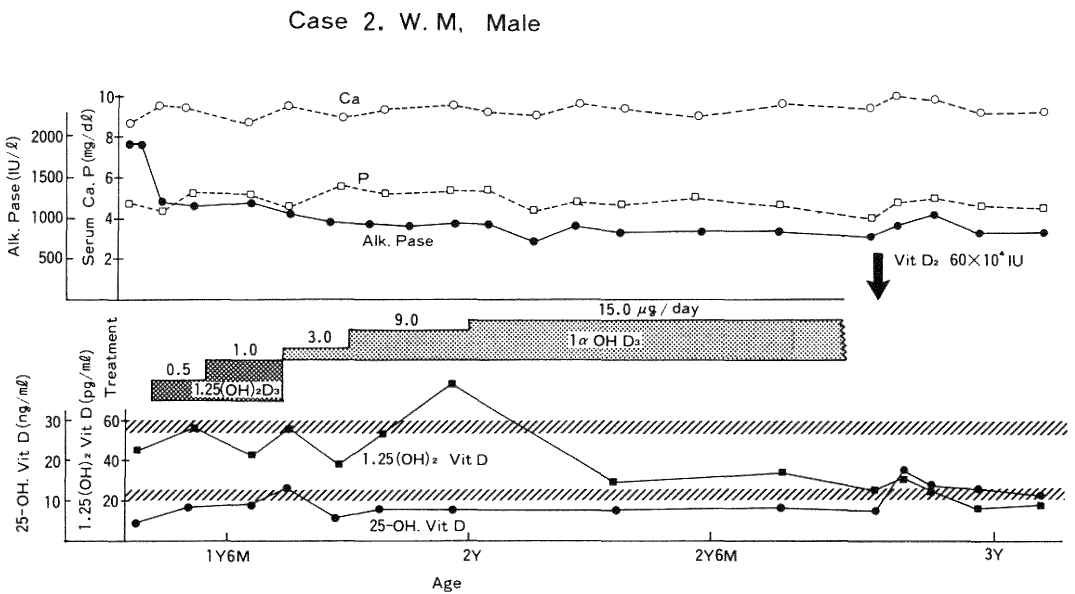


図 7 症例 2 の経過図

表2 検査所見

	case 1	case 2
Alk-Pase IU/l	2081	1903
Ca mg/dl	11.0	8.6
P mg/dl	3.5	4.6
% TRP %	94.4	95.0
25-OH-Vit D ng/ml	3.0	6.7
1, 25(OH)2 Vit D pg/ml	43.6	44.8

以上の検査所見より基礎疾患の認められない血中 25-OH-D 低下によるビタミンD抵抗性クル病として治療を開始した。

#### 症例1の経過 (図6)

1 $\alpha$ D3, 1 $\mu$ g の投与を約2カ月間行なったがクル病所見の改善が見られないため診断の意味もあり、ビタミンD2, 60万単位を1回筋注した。血中 25-OH-D 値は約80ng/ml 近くまで著明に上昇し、クル病所見の改善が認められた。その後、治療を中止してもクル病の再発やアルカリホスファターゼの再上昇はみられていない。

#### 症例2の経過 (図7)

同様に血中 25-OH-D は経過中、常に 10ng/ml 以下の低値、1,25(OH)2D は症例1と同様に常に正常範囲の値でした。症例1と同様にビタミンD2, 60万単位の筋注により 25-OH-D の上昇がみられ、手関節クル病所見の消失とO脚の改善がみられた。

### IV. 考 案

今回、検討した3種類のビタミンD代謝物のうちクル病所見と最も関連の強かったのは 25-OH-D であった。1,25-(OH)2D および 24,25-(OH)2D は alkaline phosphatase 高値例では低値を示したが、統計学的には有意でなかった。

1,25-(OH)2D と 25-OH-D 濃度との相関はみられなかった。通常、腎における 25-OH-D から 1 $\alpha$ , 25-(OH)2D への変換は少なく、大部分の 25-OH-D は 24 水酸化酵素によって非活性型の 24,25-(OH)2D に代謝されてゆく<sup>2)</sup>。従って今回の成績は腎における 1 $\alpha$  水酸化反応が基質のみに依存しているのではなく、24水酸化反応も加わって血中 1,25-(OH)2D を一定レベルに維持していることが考えられる。

今回、経験された持続的 25-OH-D 低値のクル病症例は現在まで報告はなく、新たな病型の可能性もあり興味をもたれる。血中 25-OH-D が低下する疾患は食事性ビタミンD欠乏、日光、紫外線の不足、吸収不全症候

表3 肝臓における cholecalciferol と 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> の 25水酸化反応様式 (Fukushima and Suda 文献4による)

Substrate	Cholecalciferol		1 $\alpha$ (OH)D <sub>3</sub> Whole range
	<2.5nmol	>2.5nmol	
Affinity	High	Low	Low
Capacity	Limited	Large	Large
Velocity	Fast	Slow	Fast

群、クローン病、胃亜全摘術、小腸切除短絡術、胆汁分泌不全、膵液分泌不全、肝硬変、先天性胆道閉鎖症、乳児肝炎<sup>3)</sup>、抗痙攣剤長期服用、ネフローゼ症候群<sup>4)</sup>などの疾患がある。提示した2症例はともに高度のクル病を呈したものの、原因となる疾患は認められなかった。また症例1, 2ともに大量の VitD2 に反応して血中 25-OH-D 濃度が上昇したことより肝臓における VitD25-水酸化反応の低下が考えられる。

1978年 Fukushima & Suda et al<sup>5)</sup> は肝臓における25位への水酸化反応はその基質量によって2つの異なる反応が存在することをラットの肝臓還流系を用いて証明した。表3はその概要をまとめたものであるが、反応系に添加した VitD3 濃度が 2.5nmol 以下と以上の場合とで基質に対する affinity と capacity が異なり、反応速度が異なることを示している。

即ち生理的な dose 量の場合には Km が小さく、基質に対する Sk 酵素の親和性は非常に大きく、また反応速度も大きい。しかし酵素量が限られているため水酸化反応はすぐに飽和されてしまうため 25-OH-D<sub>3</sub> の生成量は余り変化せず、いわゆる“high affinity-low capacity”の反応である。一方、基質量が大量の場合には別のタイプの25-水酸化反応が始まり、みかけ上の Km は約200倍大きいことから酵素と基質の親和性は第1の場合にくらべるとはるかに小さく、反応速度は小さいものの直線的に進行し、いわゆる“low affinity-high capacity”の反応である。これら2つの反応を触媒する D3 の25-水酸化酵素が異なるものか、あるいは単一の酵素蛋白によるものなのかは現在のところ不明である。

また動物実験から推定し、体重 1kg あたり 100IU、すなわち毎日 200~400IU の生理量の VitD を摂取している正常のヒトの場合には血清中の 25-OH-D<sub>3</sub> の量がある一定範囲内に保たれていること、また数万単位の大量の VitD を摂取すると血中 25-OH-D レベルが 100 ng/ml 以上に高くなることも説明できるとしている<sup>4)</sup>。

症例1, 2ともに生理的 VitD 量では血中 25-OH-D

は上昇せず、大量の VitD 投与に反応して 80ng/ml 近くまで上昇したことより“low affinity-high capacity”の反応はほぼ正常と考えられる。しかし毎日の生理的 VitD 摂取では血中 25-OH-D は正常レベルまで上昇しなかったため、“high affinity-low capacity”の反応が障害されていると考えられる。

肝臓における一次的な Vit D 25-hydroxylase の欠損は Zerweke ら<sup>5)</sup>により28歳の女性に報告されているが、本症例とは異なり、肝臓における VitD 25-hydroxylase の欠損のみならず、標的臓器の反応低下も骨軟化症の原因になっていた点が異なっている。腎臓においてはビタミンD依存症タイプIのように 1 $\alpha$ -水酸化酵素の障害が存在することを考えれば、肝臓における25-水酸化酵素の一次的欠損ないしは活性低下は存在し得るはずであり、新たなクル病として分類し得るものと考ええる。

#### 参 考 文 献

- 1) 浅見 直: 小児クル病の変遷. 新潟医学会雑誌, **95**: 488~492, 1981.
- 2) Boyle, I.T., Gray, R.W. and DeLuca, H.F.: Regulation by calcium of in vivo synthesis of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 24,25-dihydroxycholecalciferol. Proc. Natl. Acad. Sci., **68**: 2131~2134, 1971.
- 3) 渡辺繁子, 浅見 直: 先天性胆道閉鎖症と乳児肝炎における肝性クル病について. 小児科診療, **44**: 1172~1182, 1981.
- 4) 渡辺繁子, 浅見 直: 小児ネフローゼ症候群における骨代謝—血中 25-hydroxy-vitamin D の動態. 日児誌, **87**: 656~661, 1983.
- 5) Fukushima, M., Nishi, Y., Suzuki, M. and Suda, T.: Comparative studies on the 25-hydroxylations of cholecalciferol and 1 $\alpha$ -hydroxycholecalciferol in perfused rat liver. Biochem. J., **170**: 495~502, 1978.
- 6) Zerwekh, J.E., Glass, K., Jowsey, J. and Charles, Y.C.: An unique form of osteomalacia associated with end organ refractoriness to 1, 25-dihydroxyvitamin D and apparent defective synthesis of 25-hydroxyvitamin D. J. Clin. Endocrinol. Metab., **49**: 171~175, 1978.