

尿石症における尿中 hydroxy-proline の意義について

京都大学医学部泌尿器科教室（主任：稲田 務教授）

助 手 高 橋 陽 一

助 手 松 尾 光 雄

京都大学医学部内科第Ⅱ講座（主任：深瀬政市教授）

大学院学生 井 上 博

URINARY HYDROXY-PROLINE IN PATIENTS
WITH UROLITHIASIS

Youichi TAKAHASHI and Mitsuo MATSUO

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine Kyoto University**(Director: Prof. T. Inada, M. D.)*

Hiroshi INOUE

*From the Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyoto University**(Director: Prof. M. Fukase, M. D.)*

Determination of urinary hydroxy-proline was carried out by means of Prockop and Udenfriend's method in patients with urolithiasis. In 5 out of 75 cases of urolithiasis, daily excretion of urinary hydroxy-proline was found to be elevated. Out of these 5 cases, 2 had hyperparathyroidism and another 2 had confined to prolonged bed rest due to bone fracture, so that these 4 cases showed more or less decalcification of the bones. The remaining 1 case showed no picture of decalcification and the cause of excessive excretion of hydroxy-proline was obscure. These results indicated that determination of urinary hydroxy-proline is useful in screening the case of metabolic abnormalities of the bones among urolithiasis.

緒 言

hydroxy-proline は人体では collagen および elastin 中に見出されるアミノ酸であるが、後者の含有量は少く、実質的には専ら前者にのみ存在すると考えられる。collagen は特に骨基質に多量に分布し骨形成の母体をなしている。従って骨系統の破壊新生などに伴って collagen の代謝亢進が起ると、尿中の hydroxy-proline 排泄が増加することが期待され、また逆に尿中 hydroxy-proline の増加は collagen の代謝亢進を、ひいては骨系統の代謝亢進を推定させるわけである。

一方尿石症中には骨系統の代謝異常を原因として生起するものが含まれるが、これ等を screening することは臨床上重要な問題である。われわれは尿石症における尿中 hydroxy-proline（以下 HO-pr と略す）測定がこの目的に沿うものであるかどうかを検討したので報告する。

測定対象および測定法

正常人14例, parathyroid-extract (PTE と略す) 投与者4例, 尿石患者27例, 骨折患者8例, 悪性腫瘍骨転移患者7例について、第1表に示すような低 collagen, 低 gelatin 食を3～5日投与し、24時間尿に

第1表 著者の使用した尿中 hydroxy-proline 測定用食餌表

熱 量		2,100cal/day				
Ca		500~600mg/day				
蛋 白 質		60g/day				
比較的低磷, 低ゲラチン食						
内 容 例						
	材 料	分 量 (g)	蛋白質 (g)	脂 肪 (g)	カロリ ー	Ca (mg)
朝	パ ン	130	12		351	14
	バ タ ー	20		16.2	144	2
	チ ー ズ	20	5	5.4	72	126
	リ ン ゴ	100	0.4	0.5	45	3
	キャベツ	50	0.8	0.1	12	23
昼	パ ン	130	12		351	14
	バ タ ー	30		24.3	216	3
	チ ー ズ	20	5.0	5.4	72	126
	ミ カ ン	100	0.8	0.3	40	14
	野 菜	50	0.7		7	16
夕	上と同様かまたは { ライ ス } ミソ汁 (豆腐) にて代用 果 物					

ついて測定を行なった。年令範囲は18~61才にわたった。尿は toluene による防腐を行ない冷暗所に保存し、測定は原則として蓄尿終了後直ちに行なった。なお13例については尿中 HO-pr と同時に血中 alkaline phosphatase (以下 Al-p と略す) の測定を行ない両者の相関を見た。

total HO-pr の測定は Prockop & Udenfriend¹⁾ 法に従った。すなわち主な操作を列記すると、

- イ、真空蒸溜による尿濃縮
- ロ、濃塩酸による peptide 分解
- ハ、chloramine-T による酸化
- ニ、toluene による抽出
- ホ、para-Dimethylamino-benzaldehyde による発色
- ヘ、比色

であり標準曲線より濃度を出し、1日排泄量を mg 単位で示した。free HO-pr はロの操作を行わずに測定した値である。血中 Al-p は King-King 法変法により測定し King-Armstrong 単位で示した。

PTE の投与はいずれも正常人に対し、Paroidin (Park-Davis 社製) 200 単位を筋肉内に投与したもので、前日の尿をコントロールとした。骨折患者はいずれも外傷性のもので病的骨折例は含まない。上肢骨

折2例、下肢骨折4例、骨盤骨折2例で、骨折後2週間から3ヵ月経過中のもので、上肢骨折を除き臥床中であつた。悪性腫瘍骨転移例は線的に確かめられたもので、前立腺癌2例、腎癌2例、乳癌2例、osteogenic sarcoma 1例である。

結 果

正常人では total HO-pr の1日排泄量は2.5~30.0 mg の範囲にあり平均 12.0 mg, 標準偏差 7.0, 標準誤差 1.9であつた。この値は Mitoma et al²⁾, Prockop & Udenfriend の値に較べ、やや低値を示している(第2表)。free HO-pr は非常に微量で測定限界に

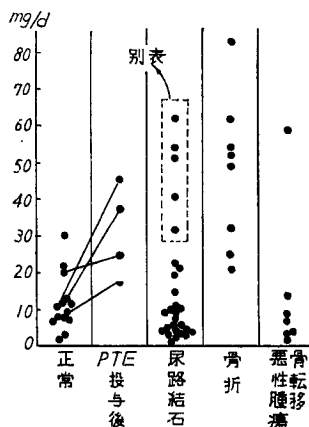
第2表 尿中 hydroxy-proline の正常人における排泄量

	free (mg/day)	total (mg/day)
Mitoma et al	0.19~2.06	14 ~38.7
Prockop & Udenfriend	0.5 ~1.2	15 ~62
著 者	0.3 ~1.2	2.5~30.0

近い濃度であるため、その正確度については疑問と思われるが Ziff et al³⁾ や Prockop & Sjoerdsma⁴⁾ のように total HO-pr の値に対し3%以下の値を示した。

PTE 投与者4例では前日におけるコントロール値に対しいずれも増量を示したが、例数が少ないので確定的なことをいうためにはさらに検討を要すると思われた。

尿石症例27例中5例に total HO-pr 排泄の高値を認めた(第1図)。この5例について検索した結果2例は副甲状腺の単発性腺腫による原発性副甲状腺機能亢進症であり、2例は骨盤骨折に伴う長期臥床のた



第1図 total HO-pr 排泄

第3表 HO-pr 排泄高値を示した結石患者

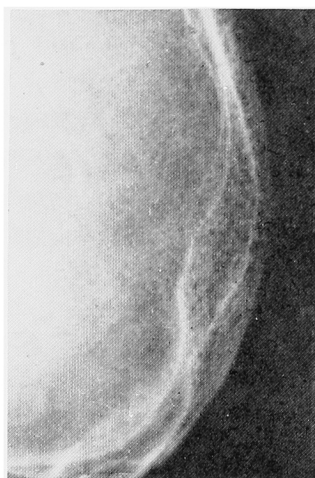
	HO-pr (mg/d)	原 因
1	62.0	primary hyperparathyroidism (adenoma)
2	32.0	" (")
3	51.5	骨盤骨折+長期臥床
4	40.8	" + "
5	54.2	原因不明

めの acute osteoporosis of disuse と考えられる例であった (第3表). 他の1例は詳細な検討を行わずに退院したため, 原因については不明のままであるが, レ線上骨系統に脱灰像などは認められなかった. 原発性副甲状腺機能亢進症の2例はともに腺腫の摘除に成功し, 術後 Ca, P 代謝異常は正常化した (第2図 a, b, c).

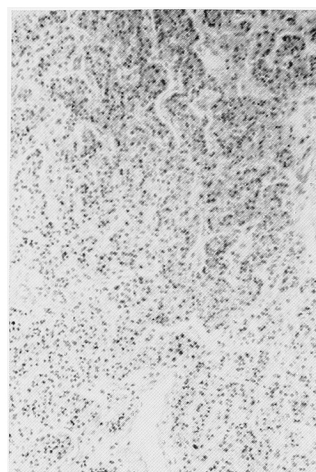
骨折症例では8例中6例が尿中 HO-pr 排泄高値を示したが, 6例はいずれも現在安静臥床中のものでは



a. 摘出標本, 右下副甲状腺々腫, 重量 200mg.



b. 頭蓋骨レ線・外後頭隆起部を中心に著明な顆粒状脱灰像を認める.



c. 組織像 (×400).

第2図 副甲状腺々腫症例 (第3表 第1例)

り, 従って骨折そのものによるよりも臥床状態の影響により collagen 代謝亢進が惹起されているものと推察された.

悪性腫瘍骨転移7例中では osteolytic な変化を示した腎癌の1例に排泄増多を認めた (第1図).

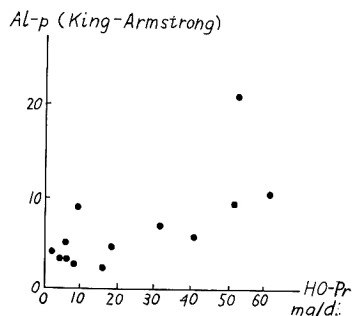
骨系統の代謝亢進の際の Al-p の血中増加はよく知られている事実であるが, 血中 Al-p と尿中 HO-pr との関係は第3図に示すように順相関を示す傾向が認

められている.

考 按

厳密には HO-pr は brain lipoprotein などのような組織にも含まれる⁵⁾ が相当量を含むのは先述のように collagen と elastin である. elastin 中の含量は 1.5%, collagen 中の含量は 13%⁶⁾ で前者は比較的少量であり, 尿中 HO-pr の前駆物質としての意義は殆んど collagen のみにあると考えられる. そして組織中 collagen 測定の際の指標としての HO-pr の意義は Neuman & Logan⁷⁾ などが認めており, 尿中 HO-pr の collagen 代謝の指標としての意義はすでに Ziff et al.⁸⁾, Sjoerdsma et al.⁹⁾ などにより推定されている.

尿中 HO-pr の由来についてはイ) 食餌性, ロ) collagen の合成に参画する前駆物質から,



第3図 血中 Al-p と尿中 HO-Pr

ハ) collagen の破壊、の3つが考えられている。Prockop & Sjoerdsma⁴⁾、Ziff et al.³⁾ は尿中 HO-pr に対する食餌の影響について検討しているが、それによると HO-pr それ自体の形で投与すると尿中の free HO-pr の増量をきたし、gelatin として投与すると bound HO-pr が増量する。従って通常の状態では少なくとも尿中 HO-pr の一部は食餌の影響をうけているわけで、疾患に対する診断的材料として考える場合には HO-pr あるいはその前駆物質を除去した食餌～一定食餌投与下で測定することが必要である。第1表に示した食餌は比較的厳密な制限食であるが、肉類の多い食餌でもあまり HO-pr の増量が見られないという成績³⁾もあるので、gelatin 除去という点に注意すればもう少し長期投与の出来る形に変えることも可能である。

尿中 HO-pr の食餌性以外の部分の由来については、collagen の合成過程に関係したものか、collagen の破壊を反映するものか未だ明らかにされていない。しかし Stetton⁹⁾ や Prockop¹⁰⁾ の isotopic studies によれば、尿中 HO-pr は一次的に collagen の破壊に由来することが示唆されており、HO-pr peptide の合成に関係するという証拠は得られていないとしている。そして尿中排泄量に影響する因子として collagen の破壊率の他に、腎におけるクリアランスと HO-pr peptide の CO₂ と urea への分解率が挙げられている。

PTE 投与による尿中 HO-pr の増加はすでに keiser et al.¹¹⁾ により認められており、bone matrix collagen の破壊を伴うことが述べられている。また Dull et al.¹²⁾ は副甲状腺機能低下症患者に対する PTE 投与時の観察により、骨の organic matrix の分解により二次的に Ca, P などの無機成分の移動が起ることを示唆している。一方 Flanagan & Nichols¹³⁾ によれば PTE は in vivo および in vitro で骨系統における collagen 生合成を阻害することを報告しており、従って collagen pool は両作用により減ずることが推定される。

PTE の外、外因性ホルモンによる尿中 HO-

pr の増加は growth hormone, thyroid hormone により惹起されることが知られている¹⁴⁾。臨床上、これ等に相当して原発性副甲状腺機能亢進症、甲状腺機能亢進症、末端肥大症などの疾患で尿中 HO-pr は増量する。その他、幼小児などのように生理的に骨代謝のさかんな場合、Klinefelter's syndrome¹⁵⁾、familial hyperprolinemia¹⁶⁾、Paget's disease, acute osteoporosis, Marfan's syndrome など mucopolysaccharide 代謝異常の疾患群、collagen diseases に属する疾患群、火傷などで増量することが報告されている。悪性腫瘍の骨転移例でも尿中 HO-pr の増加することが報告されているが、その程度は骨転移巣の活性程度に関係し、その病巣が osteolytic でも osteoblastic でも HO-pr 排泄増加に差は見られない (Platt et al.¹⁷⁾)。われわれの症例では7例中1例、前立腺癌の症例において上昇をみたが同時に血中 Al-p 活性の増加も証した。

上述のような種々の疾患で尿中 HO-pr は増量するがこれ等のうち原発性副甲状腺機能亢進症、acute osteoporosis, Paget's disease, 悪性腫瘍骨転移、Marfan's syndrome などでは骨系統を介して Ca 代謝に影響し、尿石を作り易い状態を形成すると考えられる。われわれの測定に見るように尿石症27例中5例に上昇を見、そのうち4例に明らかな骨代謝異常を見出し得たことは、尿中 HO-pr の測定が骨代謝異常に対する有力な補助診断法として役立ち得ることを示している。中でも原発性副甲状腺機能亢進症に対する意義については特に興味を持たれるのであるが、Klein et al.¹⁸⁾ の成績では骨病巣の見られない場合には尿中 HO-pr 排泄増加は見られないとしている。われわれの2症例は、いづれも骨の脱灰を認めている例であるが、上記の点については向後の検討をまつ必要がある。

血中 Al-p については第3図に見るごとく骨病巣が相当進行した状態で上昇を示すようであり、この点尿中 HO-pr 排泄上昇の方が鋭敏に骨病巣を反映するように思われた。

結 語

1. 正常者14例, PTE 投与者 4 例, 尿石患者 27例, 骨折患者 8 例, 悪性腫瘍骨転移者 7 例に一定食餌投与下で, Prockop & Udenfriend 法に従って, 尿中 HO-pr 一日排泄量を測定した.
2. 正常者における total HO-pr 排泄は $12.0 \pm 1.9\text{mg/day}$ であった.
3. PTE 投与者では前日のコントロール値に対し, いずれも高値を示した.
4. 尿石患者27例中 5 例に total HO-pr 排泄高値を認めたが, そのうち 2 例は原発性副甲状腺機能亢進症, 2 例は acute osteoporosis の症例であった.
5. 骨折患者のうち安静臥床中のものはすべて HO-pr 排泄高値を示した.
6. 悪性腫瘍骨転移患者 7 例中 1 例に排泄増多を認めた.
7. 血中 Al-p と尿中 HO-pr 排泄値とが順相関をする傾向を見たが, 尿中 HO-pr の方が骨変化に対し鋭敏に反応するように思われた.
8. 尿中 HO-pr 排泄測定は尿石症中骨代謝異常に伴うものを検出するのに有用であることを述べ, HO-pr の代謝を中心に文献的考察を行なった.

(本論文の要旨は松本市で行なわれた第30回東部連合地方会において発表した. 恩師稲田教授の御指導御校閲を深謝する. 研究室諸嬢の御協力を感謝する.)

文 献

- 1) Prockop, D. J. & Udenfriend, S. : *Analyt. Biochem.*, **1** : 228, 1960.
- 2) Mitoma, C., Smith, T. E., Davidson, J. D., Udenfriend, S., Da Costa, F. M., and Sjoerdsma, A. : *J. Lab. Clin. Med.*, **53** : 970, 1959.
- 3) Ziff, M., Kibrick, A., Dresner, E., and Gribetz, H. J. : *J. Clin. Invest.*, **35**: 579, 1956.
- 4) Prockop, D. J., and Sjoerdsma, A. : *J. Clin. Invest.*, **40** : 843, 1961.
- 5) Eperjessy, A., Kiss, A., Csegedi, J., Nemes, L., and Vereph, J. : *Orv. Szemle*, **6** : 451, 1960.
- 6) Smiley, J. D., and Ziff, M. : *Physiol. Rev.*, **44** : 30, 1964.
- 7) Neuman, R. E., and Longan, M. A. : *J. Biol. Chem.*, **186** : 549, 1950.
- 8) Sjoerdsma, A., Davidson, J. D., Udenfriend, S., and Mitoma, C. : *Lancet*, **2** : 994, 1958.
- 9) Stetton, M. R. : *J. Biol. Chem.*, **181**: 31, 1949.
- 10) Prockop, D. J. : *J. Clin. Invest.*, **43** : 453, 1964.
- 11) Keiser, H. R., Gill, J. R., Sjoerdsma, A., and Bartter, F. C. : *Clin. Res.*, **11** : 41, 1963.
- 12) Dull, T. A., Causing, L., and Henneman, P. H. : *J. Clin. Invest.*, **41** : 1355, 1962.
- 13) Flanagan, B., and Nichols, G. : *J. Biol. Chem.*, **327** : 3686, 1962.
- 14) Jasin, H. E., Fink, C. W., Wise, W., and Ziff, M. : *J. Clin. Invest.*, **41** : 1928, 1962.
- 15) Benoit, F. L., Theil, G. B., and Watten, R. H. : *Metabolism*, **12** : 1072, 1963.
- 16) Scriver, C. R., Efron, M. L., and Schaffer, I. A. : *J. Clin. Invest.*, **43** : 374, 1964.
- 17) Platt, W. D., Doolittle, L. H., and Harshorn, W. S. : *New Eng. J. Med.*, **271** : 287, 1964.
- 18) Klein, L., Albertsen, K., and Curtiss, P. H. : *Metabolism*, **11** : 1023, 1962.

(1966年5月9日受付)