

自然および人工閉経後における骨代謝動態に関する研究： 閉経後骨粗鬆症発症における IGF-IGFBP 系の関与

東京女子医科大学産婦人科学教室

板津寿美江 工藤 美樹 井口登美子 武田 佳彦

Studies on the Bone Metabolisms in either after Natural Menopause or Surgical Menopause: Implications of IGF-IGFBP System for Postmenopausal Osteoporosis

Sumie ITATSU, Yoshiki KUDO, Tomiko IGUCHI and Yoshihiko TAKEDA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Women's Medical College, Tokyo

概要 人工閉経後は自然閉経後と比べ急激に骨塩量が減少するため、それぞれにおいて異なる機序が関与している可能性がある。そこで、それぞれの閉経後における骨代謝マーカーおよび骨芽細胞の局所の調節因子の一つであるインスリン様成長因子-I (Insulin-like growth factor-I; IGF-I) とその結合蛋白で骨芽細胞での IGF-I の作用を抑制するとされている Insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4) の動態を解析した。自然閉経後48例、人工閉経後34例について骨密度 (第2～第4腰椎) を二重エネルギーX線吸収測定法で、骨代謝マーカーとして血中カルシトニン、血中副甲状腺ホルモン (PTH)、血中オステオカルシンをRIAで、I型プロコラーゲンC末端ペプチド (PIP) をEIAで、尿中ピリジノリン (Pyr)、尿中デオキシピリジノリン (D-Pyr) をHPLCで測定した。血中IGF-IはRIAでIGFBP-4の結合活性はWestern ligand blotにより解析した。閉経後、骨密度は経時的に減少しその程度は自然閉経後より人工閉経後のほうが急速であった。骨代謝マーカーのうち骨形成の指標となるPIPおよび骨吸収の指標となるPyr, D-Pyrの値は人工閉経後のほうが上昇しており、骨代謝の回転がより亢進していることを示した。IGF-Iは自然閉経後のほうが減少しており、骨密度の低下と有意に相関 ($r=0.62$, $p<0.001$) を示したが、人工閉経後では明らかな相関は認められなかった。一方、IGFBP-4の結合活性は人工閉経後で上昇しており、骨密度との相関係数は人工閉経後 -0.90 ($p<0.001$)、自然閉経後で -0.29 ($p<0.05$) と、人工閉経後において強い相関が認められた。すなわち自然閉経後ではIGF-Iの低下、人工閉経後はIGFBP-4の結合活性の上昇に依存して骨密度が低下すると考えられ、この違いによりそれぞれの閉経後で骨密度の低下に差が生じる可能性が示唆された。

Synopsis It is well established that accelerated bone loss occurs in association with estrogen deprivation as seen following the natural menopause and in premenopausal women undergoing surgical oophorectomy (i.e., surgical menopause). We have measured serum levels of bone biochemical markers after both natural menopause and surgical menopause. Circulating levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I), which is considered to be the local regulator of osteoblast activity and one of its binding protein, insulin-like growth factor binding protein-4 (IGFBP-4) which binds to IGF-I and suppress its biological activity, were also measured. Bone mineral density measured by dual energy X-ray absorptiometry was decreased more rapidly after surgical menopause. A concomitantly higher rate of bone turnover as assessed by bone biochemical markers was observed after surgical menopause, and thus the levels of procollagen type I C-peptide, pyridinoline and deoxypyridinoline were increased. The serum levels of IGF-I were significantly reduced after natural menopause compared with that after surgical menopause. The levels of IGF-I were correlated with bone mineral density after natural menopause ($r=0.62$, $p<0.001$), but no significant correlation was observed between these two variables after surgical menopause. The binding activity of IGFBP-4 was significantly greater after surgical menopause than after natural menopause. A stronger inverse

correlation existed between the binding activity of IGFBP-4 and bone mineral density after surgical menopause ($r = -0.90$, $p < 0.001$) compared to that after natural menopause ($r = -0.29$, $p < 0.05$). The simplest explanation is that whereas the loss of bone depends upon the decreased level of IGF-I after natural menopause, after surgical menopause it depends upon the increased level of IGFBP-4.

Key words: Osteoporosis • Natural menopause • Surgical menopause • Insulin-like growth factor-I • Insulin-like growth factor binding protein-4

緒言

骨粗鬆症とは、骨の成分は正常に保たれているが骨塩量が減少し骨の脆弱性が亢進した状態であり、加齢に伴う生理的老化現象に種々の危険因子が加わり発生するが、特に女性では卵巣機能が低下する閉経期を境に急速に骨塩量が減少する¹⁾。一方、閉経期前に両側卵巣摘出術を受けた場合(人工閉経)には、自然閉経後と比較してより急激なエストロジェンの低下とともに骨塩量の減少が認められ、エストロジェンが骨塩量の維持に重要な役割を果たしていると考えられている²⁾。骨塩量は骨形成と骨吸収のバランスにより決定される。閉経後における骨粗鬆症は、高回転型骨粗鬆症とも呼ばれエストロジェンの急激な喪失によって骨代謝回転が骨吸収、骨形成ともに亢進し、その不均衡すなわち骨吸収が骨形成を上回ることにより骨塩量減少が急速に進行するとされている³⁾。

ヒトの骨芽細胞には、エストロジェン受容体の存在が確かめられており⁴⁾、エストロジェンはこの受容体に結合することにより骨芽細胞でのインスリン様成長因子-I (Insulin-like growth factor-I; IGF-I) の生合成を促進することが証明されている⁵⁾。すなわち、エストロジェンが直接的に骨芽細胞の機能を調節しているのではなく、エストロジェンによって合成が促進された IGF-I がオートクリンの骨芽細胞の機能を亢進させ骨形成を促進すると考えられている⁶⁾。IGF-I には特異的な

結合蛋白である Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) が存在し、IGFBP-1 から IGFBP-6 の 6 種類が同定されているが⁷⁾、そのうちの一つである IGFBP-4 はヒト骨芽細胞の培養液から精製された蛋白で、骨芽細胞における IGF-I の作用を抑制する⁸⁾。

本研究では、自然閉経後と人工閉経後において従来から測定されている骨代謝マーカーに加えて、IGF-I および IGFBP-4 の動態に差が認められるかどうかを検討し、それぞれにおける骨粗鬆症の発症機序の違いの解明を試みた。

研究対象および方法

1. 対象症例

対象は自然閉経後婦人48例、人工閉経後婦人34例であり、骨代謝に異常を呈するような疾患を有さず、かつ骨代謝に影響を及ぼすような薬剤を服用していない。表1に示すように、自然および人工閉経後症例をそれぞれ骨密度を最大骨量の平均値の20%減少を境に低い群と高い群に分類した。それぞれの群において自然閉経後症例と人工閉経後症例との間に骨密度には差はなかった。年齢は各群とも人工閉経後症例のほうが低く、閉経後の期間も人工閉経後症例のほうが短い傾向を認めた。血液、尿は空腹時に採取し、血液は血清分離後、尿は浮遊物除去後に -20°C で保存した。

2. 各パラメーターの測定方法

1) 骨密度

表1 対象症例

	Natural Menopause		Surgical Menopause	
	Low (n=26)	High (n=22)	Low (n=17)	High (n=17)
BMD (g/cm ²)	0.75±0.07	1.04±0.10	0.77±0.05	1.04±0.10
Age (years)	56.5±4.5	53.9±5.5	49.9±3.4 ^a	49.4±3.9 ^b
Time since menopause (years)	6.9±3.3	3.6±4.1 ^c	3.4±3.0 ^c	1.8±3.4

^a; $p < 0.001$ vs Natural Menopause Low ^b; $p < 0.01$ vs Natural Menopause High

^c; $p < 0.005$ vs Natural Menopause Low

骨塩量は第2～第4腰椎椎体海綿骨部の骨密度を二重エネルギーX線吸収測定法(DXA; QDR-2000; Hologic, 米国)により測定しその平均値を求めた。

2) 骨代謝の生化学的マーカー

骨代謝の生化学的マーカーとしては血中カルシトニン(RIA, カルシトニンキット第一, 第一ラジオアイソトープ研究所), 血中副甲状腺ホルモン(PTH) (RIA, PTH キットヤマサ, ヤマサ醤油株式会社), 血中オステオカルシン(RIA, オステオカルシンキット, シーアイエスダイアグノステック株式会社)に加えて, 骨形成の指標としてI型プロコラーゲンC末端ペプチド⁹⁾(PIP) (EIA, TAKARA EIA キット, タカラ酒造株式会社), 骨吸収の指標として尿中ピリジノリン(Pyr)¹⁰⁾, デオキシピリジノリン(D-Pyr)¹¹⁾(高速液体クロマトグラフィー, ODS カラム, 波長; Ex; 296nm, Em; 395nm; 同時に測定した尿中クレアチニン値で補正)を測定した。

3) IGF-I, IGFBP-4

血中IGF-Iは血清より酸-エタノール法により抽出しRIAで測定した。IGFBP-4はWestern ligand blotにより解析した。図1にWestern ligand blotの1例を示すが, 四つのバンドが存在しそれぞれIGFBP-3, IGFBP-2, IGFBP-1, IGFBP-4と同定されている。それをデンストメーター(島津製作所)でスキャンし, IGFに対する全体のIGFBP結合活性を100%とした時の

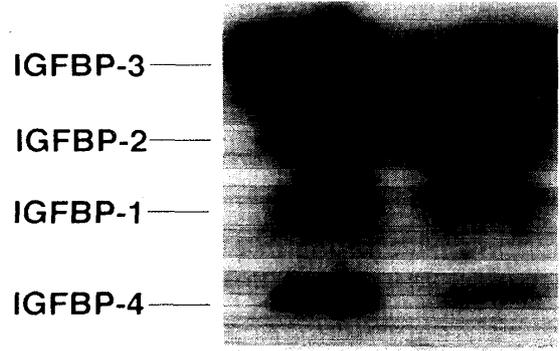


図1 Western ligand blotの1例

IGFBP-4の占める結合活性を%表示した。

3. 統計

測定結果は平均値±標準偏差で表わした。有意差の検定はStudent's t-testによって行い, 相関係数はSpearman analysisにより求め, $p < 0.05$ を有意とした。

研究成績

1. 閉経後期間と骨密度の関係

自然閉経後, 人工閉経後ともに閉経後の年次推移と骨密度との間には負の相関が認められた(図2)。相関係数は自然閉経後で -0.46 ($p < 0.005$), 人工閉経後で -0.54 ($p < 0.005$)とそれぞれ計算された。

2. 骨代謝マーカーの動態

自然閉経後および人工閉経後症例を表1で分類したように骨密度の低い群(骨密度低値群), 高い群(骨密度高値群)に分けそれぞれにおける骨代

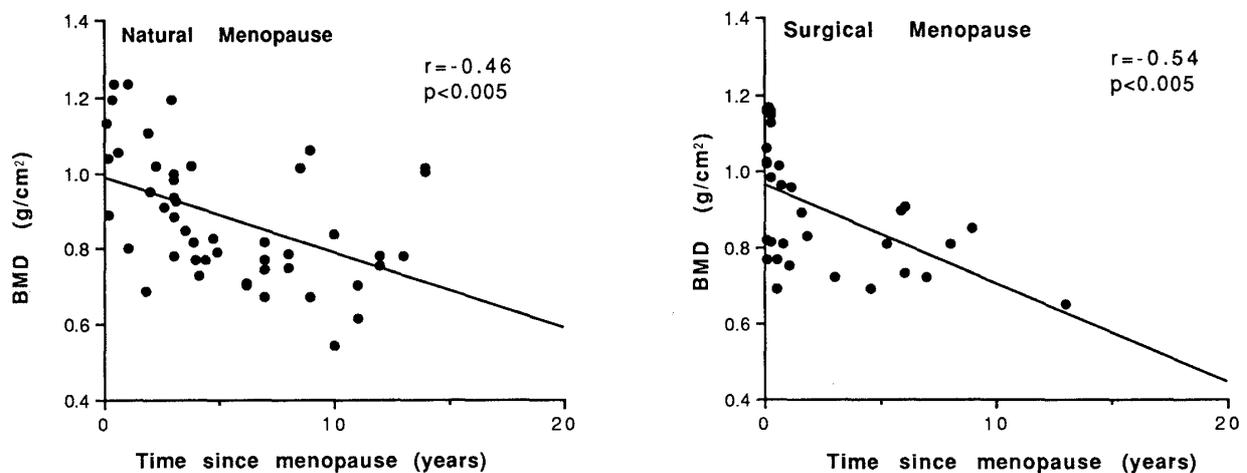


図2 自然閉経後および人工閉経後期間と骨密度の関係

表2 自然閉経後および人工閉経後における骨代謝マーカーの値

	Natural Menopause		Surgical Menopause	
	Low	High	Low	High
Calcitonin (pg/ml)	60.7±12.1	62.1±14.7	56.1±13.5	63.9±14.3
PTH (pg/ml)	470±153	386±118 ^a	427±115	406±119
Osteocalcin (ng/ml)	7.10±2.77	5.49±1.89 ^a	7.19±3.41	5.81±2.33
Procollagen type I C-peptide (ng/ml)	582±167	648±213	549±78.2	714±159 ^b
Pyridinoline (pmol/μmol Cr)	22.4±8.70	21.5±6.60	22.8±7.30	32.6±10.2 ^{c,d}
Deoxy-pyridinoline (pmol/μmol Cr)	4.16±1.30	3.65±1.24	4.37±1.86	6.35±2.34 ^e

^a; p<0.05 vs Natural Menopause Low ^b; p<0.01 vs Surgical Menopause Low

^c; p<0.05 vs Natural Menopause High ^d; p<0.05 vs Surgical Menopause Low

^e; p<0.005 vs Natural Menopause High

謝マーカーの測定結果を表2に示す。

1) 血中カルシトニン

それぞれの閉経後におけるカルシトニンの濃度は60pg/ml前後で、骨密度低値群と高値群との間に差は認められなかった。

2) 血中PTH

PTHの濃度は、自然閉経後の骨密度低値群で470±153pg/mlと骨密度高値群の386±118pg/mlに比し有意に高値を示した(p<0.05)。人工閉経後でも低値群のほうが高い傾向を認めたが有意の差はなかった(低値群; 427±115pg/ml, 高値群; 406±119pg/ml)。

3) 血中オステオカルシン

オステオカルシンの濃度は、自然閉経後では骨密度低値群で有意に高値であった(低値群; 7.10±2.77ng/ml, 高値群; 5.49±1.89ng/ml, p<0.05)。人工閉経後でも骨密度低値群(7.19±3.41ng/ml)のほうが高値群(5.81±2.33ng/ml)と比較して高い傾向を認めたが、有意の差はなかった。

4) 血中PIP

PIPの濃度は人工閉経後の骨密度高値群で有意に高値であった(低値群; 549±78.2ng/ml, 高値群; 714±159ng/ml, p<0.01)。一方、自然閉経後でも骨密度高値群(648±213ng/ml)のほうが低値群(582±167ng/ml)と比べPIPの値は有意ではないが高い傾向を認めた。

5) 尿中Pyr

自然閉経後においてはPyrの濃度に差はな

かった(低値群; 22.4±8.70pmol/μmol Cr, 高値群; 21.5±6.60pmol/μmol Cr)。人工閉経後では骨密度高値群では32.6±10.2pmol/μmol Crと低値群の22.8±7.30pmol/μmol Crと比較して有意に高値であり(p<0.05)、また自然閉経後の高値群と比較しても有意に上昇していた(p<0.05)。

6) 尿中D-Pyr

自然閉経後においてはD-Pyrの濃度(骨密度低値群; 4.16±1.30pmol/μmol Cr, 高値群; 3.65±1.24pmol/μmol Cr)に差はなかったが、人工閉経後では骨密度高値群(6.35±2.34pmol/μmol Cr)で骨密度低値群(4.37±1.86pmol/μmol Cr)と比べ高値であった。また自然閉経後の高値群と比較しても有意に上昇していた(p<0.005)。

3. IGF-IGFBP系と骨代謝動態

自然閉経後および人工閉経後における骨密度とIGF-I濃度、IGFBP-4結合活性の関係を調べた(表3)。IGF-Iの濃度は、自然閉経後の骨密度低値群と高値群でそれぞれ16.2±6.00ng/ml, 19.9±5.90ng/mlと低値群で有意に低下していた。人工閉経後では両者に有意の差は認められなかったが、自然閉経後の骨密度のそれぞれの群と比較すると、自然閉経後でのほうが人工閉経後と比較して有意に低値を示した。一方、IGFBP-4の結合活性は人工閉経後のほうが自然閉経後と比較して骨密度の高い低いにかかわらず上昇していた。さらに人工閉経後の骨密度低値群のほうが9.23±0.51%と高値群の6.46±0.98%と比べ有意に高値を示した(p<0.001)。自然閉経後では両者に差は

表3 自然閉経後および人工閉経後における血中 IGF-I 濃度および IGFBP-4結合活性

	Natural Menopause		Surgical Menopause	
	Low	High	Low	High
IGF-I (ng/ml)	16.2±6.00	19.9±5.90 ^a	26.7±5.90 ^b	26.6±5.00 ^c
IGFBP-4 (% binding)	2.54±0.31	2.36±0.20	9.23±0.51 ^b	6.46±0.98 ^{d,e}

^a; p<0.05 vs Natural Menopause Low ^b; p<0.001 vs Natural Menopause Low

^c; p<0.005 vs Natural Menopause High ^d; p<0.001 vs Natural Menopause High

^e; p<0.001 vs Surgical Menopause Low

表4 自然閉経後および人工閉経後における血中 IGF-I, IGFBP-4と骨密度, 骨代謝マーカーの相関係数

	Natural Menopause				Surgical Menopause			
	IGF-I	p	IGFBP-4	p	IGF-I	p	IGFBP-4	p
BMD	0.62	0 ^a	-0.29	0.045 ^c	0.19	0.105	-0.90	0 ^a
Calcitonin	-0.22	0.111	-0.08	0.577	-0.18	0.076	-0.34	0.058
PTH	-0.29	0.051	0.73	0 ^a	-0.05	0.801	0.02	0.927
Osteocalcin	-0.46	0.001 ^b	0.22	0.109	-0.15	0.413	0.20	0.119
Procollagen type I C-peptide	0.36	0.016 ^c	-0.22	0.108	-0.05	0.783	-0.60	0 ^a
Pyridinoline	0.10	0.643	-0.12	0.602	-0.23	0.367	-0.53	0.020 ^c
Deoxy-pyridinoline	0.05	0.805	-0.10	0.640	-0.10	0.692	-0.51	0.027 ^c

^a; significant p<0.001 ^b; significant p<0.005 ^c; significant p<0.05

認められなかった。

次にそれぞれの閉経後において IGF-I 濃度, IGFBP-4結合活性と骨密度および骨代謝マーカーとの関係を調べた。表4に自然閉経後および人工閉経後の IGF-I (分布範囲 (ng/ml): 自然閉経後; 6.70~38.7, 人工閉経後; 18.6~37.4), IGFBP-4 (分布範囲 (% binding): 自然閉経後; 1.98~3.38, 人工閉経後; 5.40~10.02)と各マーカーとの相関係数を示す。骨密度 (分布範囲 (g/cm²): 自然閉経後; 0.542~1.236, 人工閉経後; 0.691~1.168)と IGF-I 濃度および IGFBP-4結合活性の関係は, 自然閉経後では IGF-I 濃度と骨密度との間に相関係数0.62で有意な正の相関 (p<0.001)が認められた。一方, IGFBP-4の結合活性と骨密度との関係は, 人工閉経後では-0.90と有意な負の相関(p<0.001)が認められた。PTHは, 自然閉経後 (分布範囲 (pg/ml): 210~899)において IGFBP-4の結合活性との間に相関係数0.73と有意な正の相関 (p<0.001)が認められた。オステオカルシンは自然閉経後 (分布範囲 (ng/ml): 2.20~13.70)の IGF-Iの濃度との間に相関係数-0.46と負の相関 (p<0.005)が認められた。

骨形成の指標とされている PIP (分布範囲 (ng/ml): 自然閉経後; 174~870, 人工閉経後; 224~1,028)と IGF-I 濃度および IGFBP-4結合活性の相関関係は, 自然閉経後では IGF-I 濃度との間に相関係数0.36で正の相関 (p<0.05)が認められ, 人工閉経後では IGFBP-4の結合活性との間に-0.60と有意な負の相関 (p<0.001)が認められた。さらに人工閉経後では, Pyr (分布範囲 (pmol/μmol Cr): 15.8~50.2), D-Pyr (分布範囲 (pmol/μmol Cr): 2.61~10.10)と IGFBP-4結合活性との間にそれぞれ相関係数-0.53 (p<0.05), -0.51 (p<0.05)と負の相関が認められた。

考 案

閉経後における骨塩量の減少は, エストロジェンの低下が主因であることは明らかである^{3,4)}。自然閉経婦人と比較して急激にエストロジェンが消退する人工閉経婦人では骨塩量の減少速度は約4倍にも達するという報告^{12,13)}がある一方, 両閉経後において差異がないとの報告¹⁴⁾もある。骨塩量は骨形成と骨吸収とのバランスにより決定されるが, 骨形成は骨芽細胞系細胞により, 骨吸収は破

骨細胞系細胞により制御されている。近年、これらの細胞系の機能を直接的に調節する因子として種々のサイトカインが注目されている。骨形成系では IGF-I, IGF-II¹⁵⁾, bone morphogenic protein¹⁶⁾ や transforming growth factor- β (TGF- β)¹⁷⁾ が、骨吸収系では macrophage-colony stimulating factor¹⁸⁾, interleukin-1¹⁹⁾ や interleukin-6²⁰⁾ などがそれぞれに関与する因子として研究されている。エストロジェンは、骨芽細胞からの IGF-I や TGF- β の産生や作用の発現にも大きな影響を及ぼし、これらを介する骨形成の相対的な低下が骨形成と骨吸収との共役関係の破綻をもたらす骨塩量の減少をきたすと考えられる。すなわち、エストロジェンの消退に差が認められる自然閉経婦人と人工閉経婦人において¹²⁾、これらの骨芽細胞の局所の調節因子が異なる動態を示す可能性がある。今回の検討からも、図2に示すように閉経後の骨密度の低下は自然閉経後と比べ人工閉経後のほうがより急速であった。骨代謝マーカーのうち骨形成の指標となる PIP はいずれの閉経後においても骨密度高値群で上昇し、とくに人工閉経後では上昇の程度は有意であった。一方骨吸収の指標である Pyr, D-Pyr は、自然閉経後では骨密度高値群と低値群との間に濃度の差はなかったが、人工閉経後では骨密度高値群で有意に高値であり、自然閉経後の高値群と比較しても有意に上昇していた。これらの骨代謝マーカーの動態より、いずれの閉経後においても骨密度高値群、すなわち閉経からの期間の短いものほど骨形成、骨吸収ともに亢進した高回転型の骨代謝動態を示すことがわかる。さらにこの傾向は自然閉経後より人工閉経後においてより顕著であり、人工閉経後のほうが自然閉経後と比較しより急速に骨密度が低下するという図2の結果を支持する。

骨芽細胞機能の局所の調節因子のひとつとされている IGF-I は自然閉経後と人工閉経後で異なる動態を示した。すなわち、自然閉経後では IGF-I の濃度は人工閉経後と比較して有意に低く、さらに自然閉経後では骨密度は IGF-I の濃度の低下に依存して減少していた。一方 IGF-I と結合する

ことによりその生物活性を抑制するとされている IGFBP-4 の結合活性は、人工閉経後では自然閉経後と比べ有意に上昇しており、骨密度の低下との間にも自然閉経後と比較して明らかに強い負の相関関係が認められた。したがって、自然閉経後は IGF-I の濃度の低下に、人工閉経後は IGFBP-4 の結合活性が上昇し生物活性をもった free の IGF-I の濃度が低下することにより結果的に骨芽細胞の機能が低下し、骨密度が減少すると考えられる。実際に、骨芽細胞機能の指標の一つである血中 PIP 濃度で推測したコラーゲンの合成活性は、自然閉経後は IGF-I の濃度と相関し、人工閉経後は IGFBP-4 の結合活性と逆相関していた。したがって、この IGF-I 濃度と IGFBP-4 結合活性の変化の速度に違いがあるとすれば、自然閉経後と人工閉経後で認められる骨密度の低下速度の差を説明することができる。すなわち、自然閉経後における IGF-I 濃度の低下は緩徐で、人工閉経後における IGFBP-4 結合活性の上昇は急峻であるとする、それぞれの閉経後で骨芽細胞機能低下に差が生じ、結果的に自然閉経後と比較して人工閉経後のほうがより急速に骨密度が低下する可能性が考えられる。今回の検討では自然閉経後と人工閉経後で骨密度を一致させたため、両閉経後において年齢および閉経後期間に差が認められた。IGF-I は年齢とともに低下²¹⁾、IGFBP-4 は年齢とともに上昇する²²⁾とされているが、IGFBP-4 の動態に関しては、年齢の低い人工閉経後のほうが年齢の高い自然閉経後より上昇しており、また両閉経後の IGF-I の変化に関しても年齢に差がない自然閉経後の骨密度高値群と人工閉経後の骨密度低値群と比較しても、IGF-I の濃度は自然閉経後において有意に低下している。すなわち、人工閉経は IGF-I, IGFBP-4 の動態に生理的加齢変化である自然閉経とは異なる影響を与える可能性が考えられる。しかし、この検討で得られた結果から IGF-I, IGFBP-4 の動態に差が生じる機序を説明するのは不可能である。IGFBP-4 結合活性は、自然閉経後において PTH の濃度との間に正の相関関係が認められたが、これは自然閉経後のほうが人工閉経後よりも平均年齢が高く、PTH は年齢とともに

に上昇し老人性骨粗鬆症ではIGFBP-4の分泌はPTHにより促進されるという報告²²⁾に一致する。また、著者らがヒト骨芽細胞様性状を維持しているヒト骨肉腫由来である樹立培養細胞のSaOS-2を用いて行った検討²³⁾では、PTHはこの細胞におけるIGFBP-4の産生を促進させることにより、DNA合成、PIP合成活性から推定した骨芽細胞機能を抑制した。一方、エストロジェンはIGF-Iの産生を亢進させるとともに、PTHによるIGFBP-4の産生を抑制し骨芽細胞機能を促進していることがわかった。すなわち、閉経後はエストロジェンの消失により骨芽細胞におけるIGF-Iの産生が低下するとともに、それまではエストロジェンによって抑制されていたPTHによるIGFBP-4産生促進作用が出現することにより、骨芽細胞機能がさらに抑制されることが閉経後骨粗鬆症発症における病態の一つであると考えられた。したがって、人工閉経では自然閉経と比べ閉経の前後においてより急激にエストロジェン濃度が低下すること、IGFBP-4の主な産生部位は骨芽細胞であることを考えると、人工閉経後で認められたIGFBP-4結合活性の急激な増加が説明できる。さらに、IGFBP-4にはその結合活性を消失させる蛋白分解酵素の存在が証明されているが²⁴⁾、卵巣からもその酵素が分泌されているとすると、人工閉経ではその酵素活性が自然閉経と比べより低下することにより、それぞれの閉経後でIGFBP-4の結合活性に差が生じる可能性が考えられる。この推測に関しては、今後証明することは可能である。

以上の結果、考察より骨形成系調節因子の一つとしてIGF-I、IGFBP-4の関与は明らかである。しかし、骨吸収の指標とされているPyr、D-Pyrは、人工閉経後においてIGFBP-4の結合活性と軽度の負の相関関係が認められたのみで、骨吸収系へのIGF-IGFBP系の関与は考えにくい。前述したごとく、骨密度を決定しているのは骨形成系機能と骨吸収系機能とのバランスであり、自然および人工閉経後に骨代謝に差が生じる機序をより詳細に解明するためには、骨吸収系に関与するとされているmacrophage-colony stimulating

factor, interleukin-1やinterleukin-6などの因子の動態をさらに解析することが必要と考えられる。

本論文の要旨の一部はInternational Conference on Bone and Mineral Research, 1994, 第3回日本骨粗鬆症研究会, 第31回日本臨床生理学会総会および第47回日本産科婦人科学会学術講演会において発表した。

文 献

1. Riis BJ, Rodbro P, Christensen C. The role of serum concentrations of sex steroids and bone turnover in the development and occurrence of postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1986; 38: 318—322
2. Richelson LS, Wahner HW, Melton LJ III, Riggs BL. Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. *N Engl J Med* 1984; 311: 1273—1275
3. Riggs BL, Melton LJ III. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med* 1986; 314: 1676—1686
4. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science* 1988; 241: 84—86
5. Gray TK, Mohan S, Linkhard TA, Baylink DJ. Estradiol stimulates in vitro the secretion of insulin-like growth factors by the clonal osteoblastic cell line UMR 106. *Biochem Biophys Res Comm* 1989; 158: 407—412
6. Ernst M, Heath JK, Rodan GA. Estradiol effects on proliferation, messenger ribonucleic acid for collagen and insulin-like growth factor-I, and parathyroid hormone-stimulated adenylate cyclase activity in osteoblastic cells from calvariae and long bones. *Endocrinology* 1989; 125: 825—833
7. Shimasaki R, Shimonaka M, Zhang HP, Ling N. Isolation and molecular characterization of three novel insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP-4,5 and 6). Spencer EM, ed. *Modan concepts of insulin-like growth factors*. Amsterdam: Elsevier Science Publishing, 1991; 343—358
8. Mohan S, Bautista CM, Wergedal J, Baylink DJ. Isolation of an inhibitory insulin-like growth factor (IGF) binding protein from bone cell-conditioned medium: A potential local regulator of IGF action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8338—8342
9. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane

- SM*. Procollagen type I carboxyterminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone: Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res* 1987; 2: 427—436
10. *Uebelhart D, Gineyts E, Chapuy MC, Delmas PD*. Urinary excretion of pyridinium cross-links: A new marker of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone and Mineral* 1990; 8: 87—96.
 11. *Eyre D*. New biomarkers of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 470A—470C
 12. *Genant HK, Cann CE, Ettinger B, Gordan GS*. Quantitative computed tomography of vertebral spongiosa a sensitive method for detecting early bone loss after oophorectomy. *Ann Intern Med* 1982; 97: 699—705
 13. *Cann CE, Genant NH, Ettinger B, Gordan GS*. Spinal mineral loss in oophorectomized women. Determination by quantitative computed tomography. *JAMA* 1980; 244: 2056—2059
 14. *Ohta H, Masuzawa T, Ikeda T, Suda Y, Makita K, Nozawa S*. Which is more osteoporosis-inducing, menopause or oophorectomy? *Bone Miner* 1992; 19: 273—285
 15. *McCarthy T, Centrella M, Canalis E*. Regulatory effects of insulin-like growth factors I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology* 1989; 124: 301—309
 16. *Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Baudduy M, Cordes P, Harada T, Israel DI, Hewick RM, Kerns KM, LaPan P, Luxenberg DP, McQuaid D, Moutsatsos IK, Nove J, Wozney JM*. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 2220—2224
 17. *Noda M, Camilliere JJ*. In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor- β . *Endocrinology* 1989; 124: 2991—2994
 18. *Tanaka S, Takahashi N, Udagawa N, Tamura T, Akatsu T, Stanley ER, Kurokawa T, Suda T*. Macrophage colony stimulating factor is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J Clin Invest* 1993; 91: 257—263
 19. *Garrett IR, Mundy GR*. Relationship between interleukin-I and prostaglandins in resorbing neonatal calvaria. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 789—794
 20. *Jilka RL, Hangoc G, Grasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC*. Increased osteoclast development after estrogen loss: Mediation by interleukin 6. *Science* 1992; 257: 88—91
 21. *Bennett AE, Wahner HW, Riggs BL, Hintz RL*. Insulin-like growth factors I and II: Aging and bone density in women. *J Clin Endocrinol Metabol* 1984; 59: 701—704
 22. *Rosen C, Donahue LR, Hunter S, Holick M, Kavookjian H, Kirschenbaum A, Mohan S, Baylink DJ*. The 24/25-kDa serum insulin-like growth factor-binding protein is increased in elderly women with hip and spine fracture. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992; 74: 24—27
 23. *Kudo Y, Itatsu S, Iguchi T, Takeda Y*. Effect of estrogen on osteoblastic activity via regulating insulin-like growth factor binding protein-4 production in SaOS-2 cells. *Bone* 1995; 16: 397
 24. *Kanzaki S, Hilliker S, Baylink DJ, Mohan S*. Evidence that human bone cells in culture produce insulin-like growth factor-binding protein-4 and -5 proteases. *Endocrinology* 1994; 134: 383—392

(No. 7672 平7・8・11受付)