

新たなカットオフ値による二次検診受検者の検診成績

1  $\gamma$ -GTP >50.9 を要精密検査とした場合の二次検診受検者の検診成績

実施地域	要精密検査 ( $\gamma$ -GTP > 50.9)	大腿骨・腰椎精密検査受検者				有病率(%)	治療開始
		受検者数	異常なし	骨量減少症	骨粗鬆症		
大府	371	42	27	8	7	35.7	8
東浦	290	43	21	13	9	51.2	8

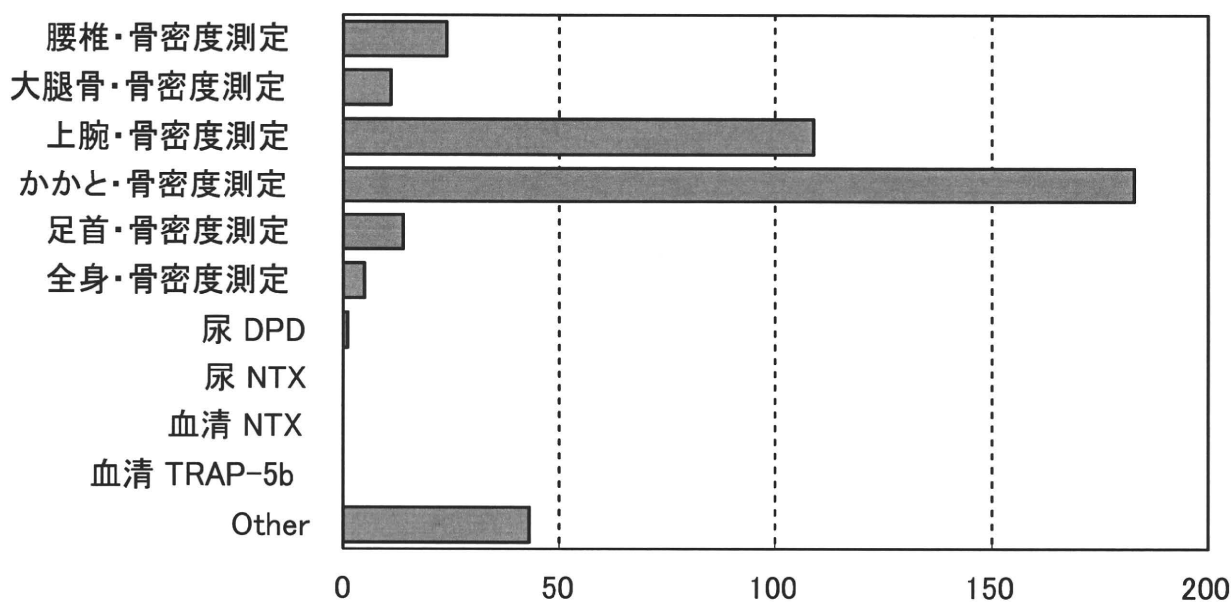
2  $\gamma$ -GTP 45.2 ~ 50.9 を要観察とした場合の二次検診受検者の検診成績

実施地域	要観察 ( $\gamma$ -GTP : 45.2-50.9)	大腿骨・腰椎精密検査受検者				有病率(%)	治療開始
		受検者数	異常なし	骨量減少症	骨粗鬆症		
大府	200	25	19	3	3	24.0	3
東浦	144	32	19	11	3	43.8	7

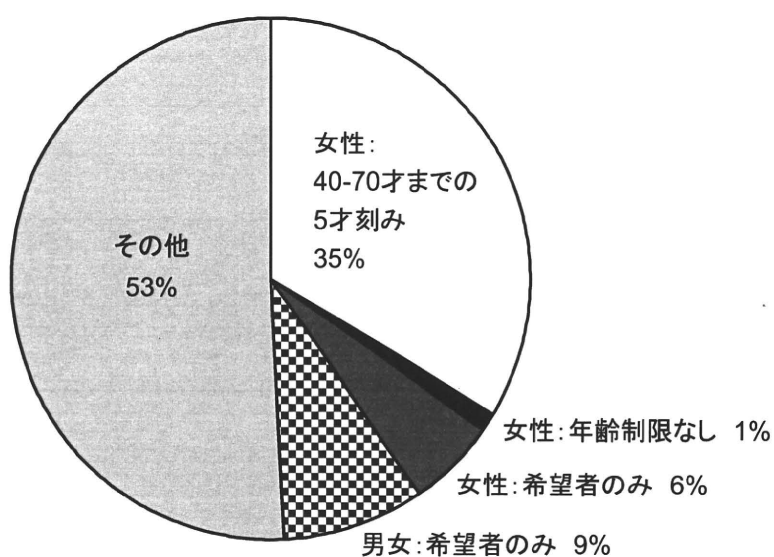
図表7

自治体 アンケート調査

1 問: 骨検診実施自治体 - 骨検診方法



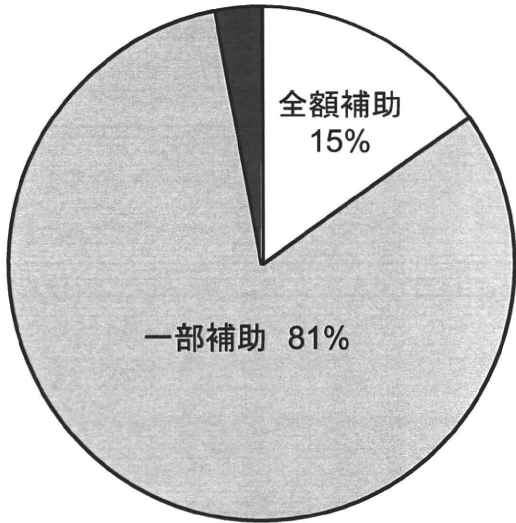
2 問: 骨検診実施自治体 - 検診対象者



自治体 アンケート調査

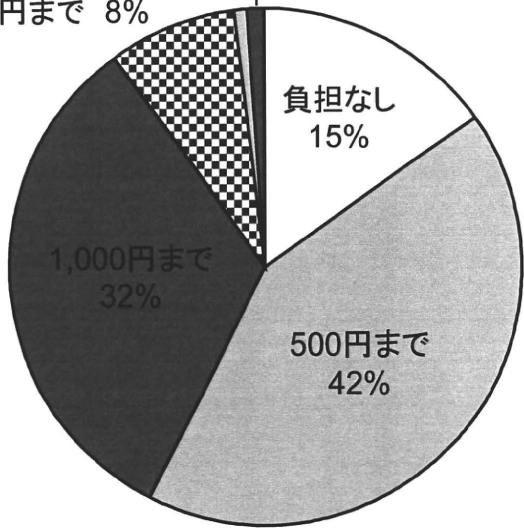
1 問: 骨検診実施自治体 - 骨検診の補助

全額住民負担 3%



2 問: 骨検診実施自治体 - 住民の負担額

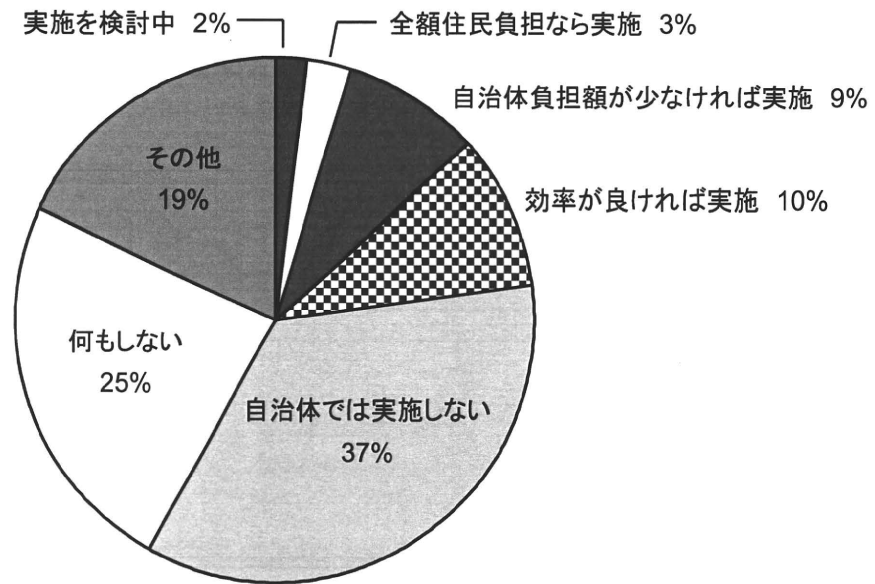
2,000円まで 1%  
2,000円以上 1%  
1,500円まで 8%



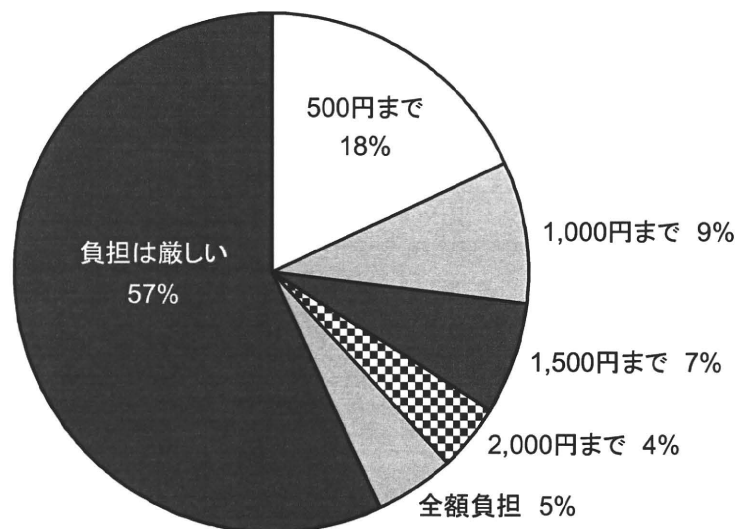
図表9

自治体 アンケート調査

1 問: 骨検診未実施自治体 - 今後検診を実施する可能性



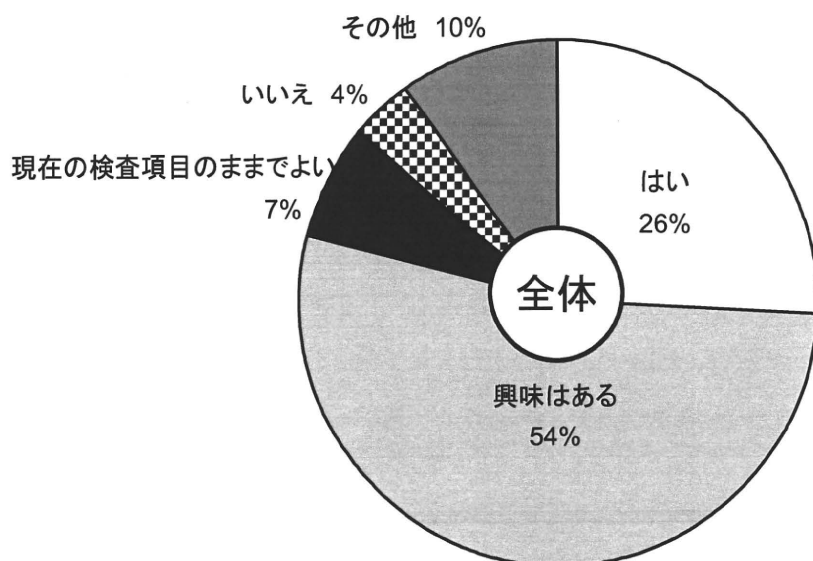
2 問: 骨検診未実施自治体 - 検診を実施した場合、いくらまでなら負担できるか



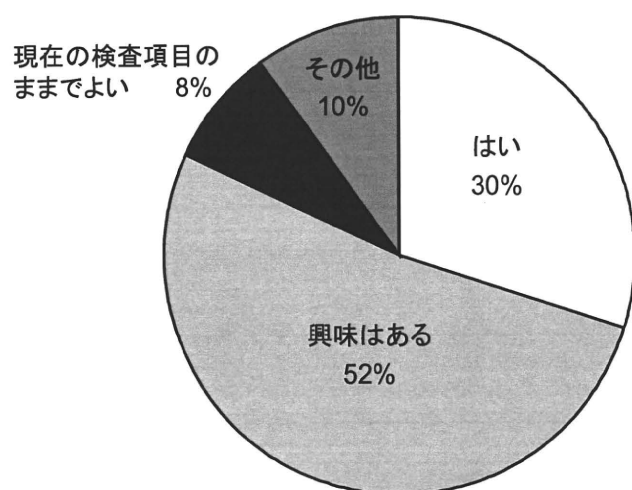
図表10

自治体 アンケート調査

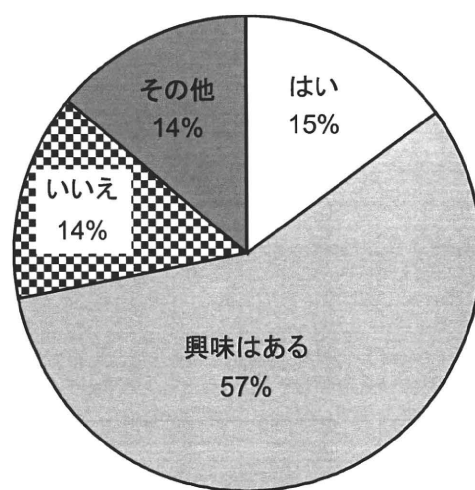
1 問: 低料金の検査法があれば取り入れたいか



2 実施自治体



3 未実施自治体



## 2. 骨粗鬆症スクリーニングにおける尿中 $\gamma$ -GTPの 有用性についての検討

田中伸哉（埼玉医科大学医学部・講師）

尿中 $\gamma$ -GTP濃度が骨吸収の指標になる可能性がこれまでの研究で示唆されている。また、閉経後骨粗鬆症では骨吸収が亢進していることから、骨吸収マーカーが骨粗鬆症スクリーニングに使用できる可能性がある。そこで、安価かつ十分に定着している $\gamma$ -GTP検査を用いて、骨粗鬆症スクリーニングとして有用であるか否かが明らかにすることを研究目的とした。尿中 $\gamma$ -GTP濃度と骨吸収マーカーとの相関係数を求め、また、尿中 $\gamma$ -GTP濃度が45IU/gCrより高い値を有所見ありとした場合の、骨粗鬆症診断に対する感度、特異度、正診率を調べた。尿中 $\gamma$ -GTP濃度は尿中DPD濃度と弱い相関があり、骨粗鬆症診断において高い感度を示した。尿中 $\gamma$ -GTP測定は骨粗鬆症スクリーニング検査法として有用である可能性が示唆された。

キーワード：骨検診、骨吸収マーカー、閉経後骨粗鬆症

### A. 背景と目的

日本の骨粗鬆症による骨折発生率は、先進諸国から発生率低下が報告されるなか、未だに増加傾向にある。原因として骨粗鬆症の概念が十分に普及しておらず、無診断・無治療の骨粗鬆症患者が潜在していることが考えられる。しかし、住民健診での骨粗鬆症スクリーニングの普及にはかなりの費用を要するため、現在の骨密度測定よりも容易で安価なスクリーニング検査法の普及が必要である。

Asabaらは2006年に尿中gamma-Glutamyl transpeptidase（以下 $\gamma$ -GTP）濃度が骨吸収に関連することを報告し、骨粗鬆症スクリーニング検査法としての有用性を示唆した。そこで本研究では、1. 尿中 $\gamma$ -GTP濃度と骨代謝マーカーである尿中deoxypyridinoline（以下DPD）および尿中crosslinked N-telopeptide of type I collagen（以下NTX）濃度を測定し相関があるか否か、2. 尿中 $\gamma$ -GTP濃度ないし尿中NTX濃度を骨粗鬆症のスクリーニング検査

法として用いた場合いずれが有用であるかについて検討を行った。

### B. 研究方法

【対象】昨年度（2009年度）に実施した愛知県知多郡東浦町および大府市の健康診断における第1回目の骨検診を受検した女性のうち、骨吸収マーカーとの相関については尿中 $\gamma$ -GTP、NTX、DPD濃度を測定した401名（28歳～80歳）を対象とし、診断精度については尿中 $\gamma$ -GTP、NTX濃度および腰椎骨密度を測定した128名（40歳～77歳）を対象とした。

【方法】骨検診では採尿をおこない、尿中creatinine（以下Cr）、 $\gamma$ -GTP、NTX、DPD濃度を測定した。また、東浦町では踵骨骨密度、大府市では橈骨遠位部骨密度を測定した。骨検診の結果より、尿中 $\gamma$ -GTP濃度を尿中Cr濃度で補正し、45IU/gCrより高いもの、尿中NTX濃度を尿中Cr濃度で補正し、

68.8nmolBCE/mmolCr より高いもの、踵骨骨密度ないし橈骨骨密度が 70%YAM (YAM: young adult mean) 未満のものに対して二次検診を促し腰椎骨密度測定をおこなった。

【評価】1. Cr で補正した尿中  $\gamma$ -GTP と NTX、DPD 濃度の相関。2. 尿中  $\gamma$ -GTP 濃度の Cr 補正值が 45IU/gCr より高いもの、尿中 NTX 濃度の Cr 補正值が 54nmolBCE/mmolCr より高いものを有所見ありとし、骨粗鬆症診断（腰椎骨密度が 70%YAM 未満）および骨量減少症診断（腰椎骨密度が 80%YAM 未満）について「感度」、「特異度」、「正診率」を求めた。評価は東浦町、大府市の単独と、東浦町と大府市の合計にわけておこなった。

統計は StatFlex ver. 6.0 (Artech Co., Ltd, Osaka, Japan) を用いた。

### C. 研究結果

1. 東浦町、大府市、「東浦町+大府市」において、尿中  $\gamma$ -GTP 濃度と尿中 NTX 濃度の相関係数は-0.0512、0.1181、0.0221、 $p=0.4658$ 、0.2281、0.6980 であった。尿中  $\gamma$ -GTP 濃度と尿中 DPD 濃度の相関係数はそれぞれ0.2833、0.0211、0.1336、 $p=0.0000$ 、0.8297、0.0184 であった。東浦町において、尿中  $\gamma$ -GTP 濃度と尿中 DPD 濃度に弱い相関がみられた。

2. 東浦町においては、尿中  $\gamma$ -GTP 濃度での骨粗鬆症診断の感度は 100%、特異度は 34.04%、正診率は 36.73% であった。骨量減少症診断についてはそれぞれ 64.71%、31.25%、42.86% であった。一方、尿中 NTX 濃度では、骨粗鬆症診断について、それぞれ 100%、23.40%、26.53% であり、骨量減少症診断についてはそれぞれ 88.24%、28.12%、48.98% であった。

大府市においては、尿中  $\gamma$ -GTP 濃度での骨粗鬆症診断の感度は 80.0%、特異度は 39.06%、正診率は 46.84% であった。骨量減少症診断についてはそれぞれ 71.79%、42.50%、

56.96% であった。一方、尿中 NTX 濃度では、骨粗鬆症診断について、それぞれ 66.67%、39.05%、44.30% であり、骨量減少症診断についてはそれぞれ 69.23%、45.0%、56.95% であった。

「東浦町+大府市」においては、尿中  $\gamma$ -GTP 濃度での骨粗鬆症診断の感度は 82.35%、特異度は 36.93%、正診率は 42.96% であった。骨量減少症診断についてはそれぞれ 69.54%、37.50%、51.56% であった。一方、尿中 NTX 濃度では、骨粗鬆症診断について、それぞれ 70.59%、32.40%、37.50% であり、骨量減少症診断についてはそれぞれ 75.0%、37.5%、53.91% であった。

尿中  $\gamma$ -GTP 濃度は骨粗鬆症診断においていずれの地域区分においても 80%以上の高い感度を示した。また、正診率は NTX と同等もしくはそれ以上であった。

### D. 考察

尿中  $\gamma$ -GTP 濃度は尿中 DPD 濃度と弱い相関があることより、骨吸収状態と関連する可能性が改めて示された。また、骨粗鬆症診断においていずれの地域区分においても高い感度を示したことより、骨粗鬆症のスクリーニング検査として有用であることが示唆された。

健康診断は公民館などの設備の整わない公的な場で行われることが多い。したがって、冷房の利かない場所で長時間検体が放置されることがあった。酵素は環境変化に影響されやすい。尿中  $\gamma$ -GTP 濃度と DPD 濃度の相関に東浦町と大府市で違いがみられたひとつの原因として、採取時期の気温が影響している可能性がある。東浦町では秋から冬にかけての健診であるのに対し、大府市は真夏におこなわれている。外気温により測定値が変化する可能性があり、検体の保管状態を検討することで診断能力の向上が期待される。

本研究では骨粗鬆症診断精度は、感度は 80%以上と高値であったものの、特異度は 40%

未満、正診率は 50%未満となっている。感度が高いことや、検査にかかる費用が安いことから、スクリーニング検査法として有用であるが、特異度、正診率を高くすることでさらに費用対効果を向上させることができる。検診の効果が尿中 NTX 濃度とほぼ同等であったことは、骨吸収マーカーによる骨粗鬆症スクリーニングの限界である可能性もあるが、検体の採取方法、保存方法の他、対象年齢、カットオフ値や経時的な変化をとらえることで診断能力を向上させることができないか検討する余地はある。

#### E. 結論

尿中  $\gamma$ -GTP 濃度は尿中 DPD 濃度と弱い相関があり、骨粗鬆症診断において高い感度を示したことから骨粗鬆症のスクリーニング検査法として有用であることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tanaka S, Narusawa K, Onishi H, Miura M, Hijioka A, Kanazawa Y, Nishida S, Ikeda S, Nakamura T: Lower osteocalcin and osteopontin contents of the femoral head in hip fracture patients than osteoarthritis patients. *Osteoporos Int.* 22: 587-597, 2011.

Nakano K, Yamaoka K, Hanami K, Saito K, Sasaguri Y, Yanagihara N, Tanaka S, Katsuki I, Matsushita S, Tanaka Y: Dopamine Induces IL-6-Dependent IL-17 Production via D1-Like Receptor on CD4 Naive T Cells and D1-Like Receptor Antagonist SCH-23390 Inhibits Cartilage Destruction in a Human Rheumatoid

Arthritis/SCID Mouse. *J Immunol* 186: 3745-3752, 2011.

Tanaka K, Tanaka S, Sakai A, Ninomiya T, Arai Y, Nakamura T: Deficiency of vitamin A delays bone healing process in association with reduced BMP2 expression after drill-hole injury in mice. *Bone* 47: 1006-1012, 2010.

##### 2. 学会発表

Shinya Tanaka, Naoto Endo, Keiji Fujino: Effects of calcitonin treatment in patients with osteoporosis who developed acute low back pain due to a new vertebral fracture. 10th European Congress on Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis. 2011年3月 (Valencia, Spain)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

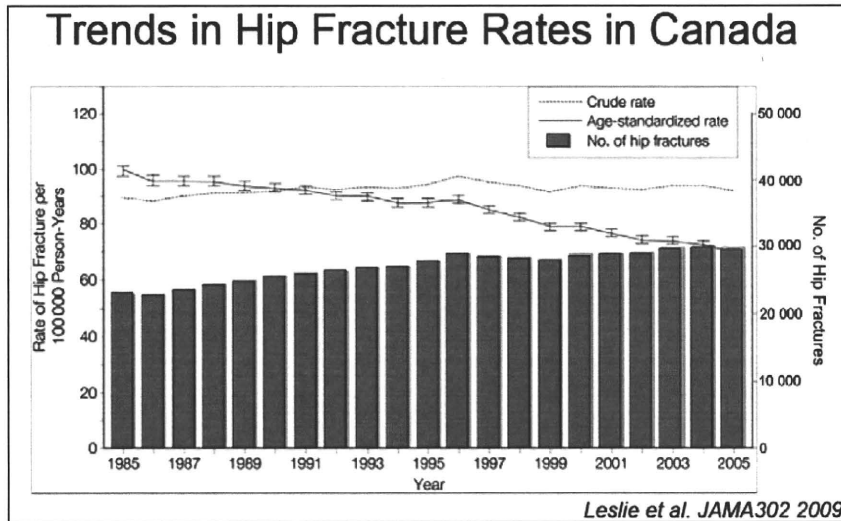
なし

##### 3. その他

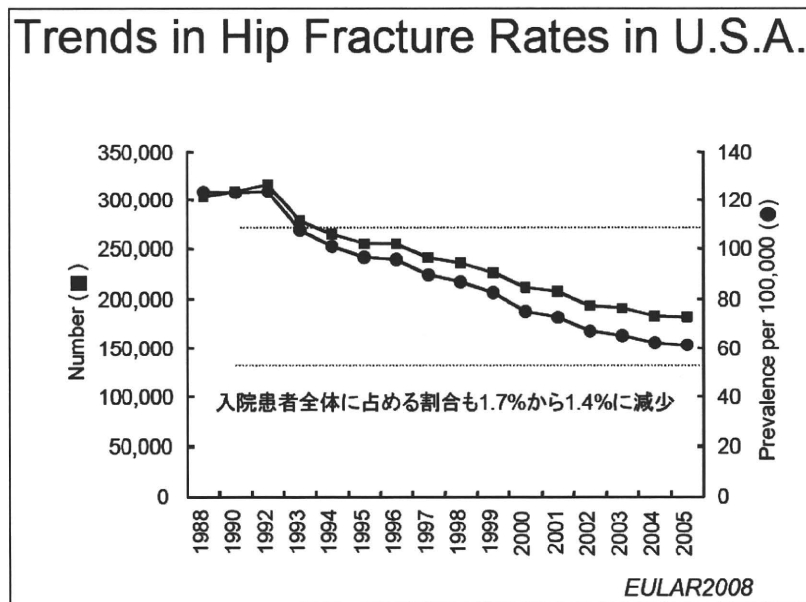
なし



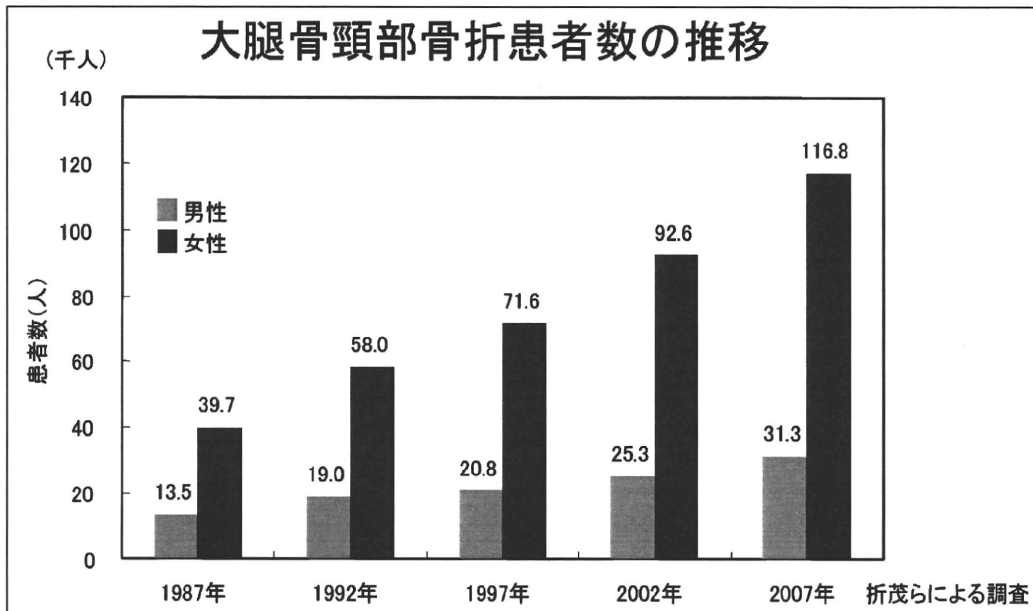
本研究の一部については埼玉骨粗鬆症研究会で発表した。以下に使用したスライドを添付する。



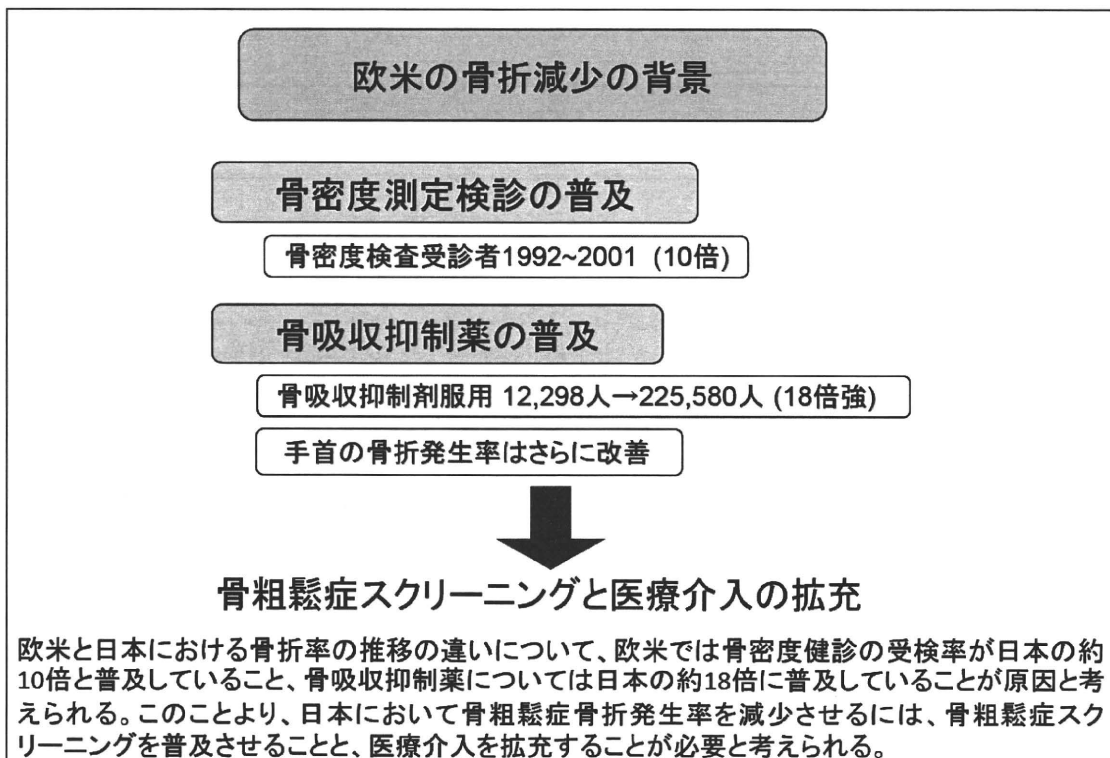
カナダでは 1997 年以降、大腿骨近位部骨折の発生率が低下してきている。



米国では大腿骨近位部骨折の発生率、有病率とも 1992 年以降低下していることが報告された。



日本では1987年以降調査の度に大腿骨近位部骨折者数は増加の一途を辿っている。

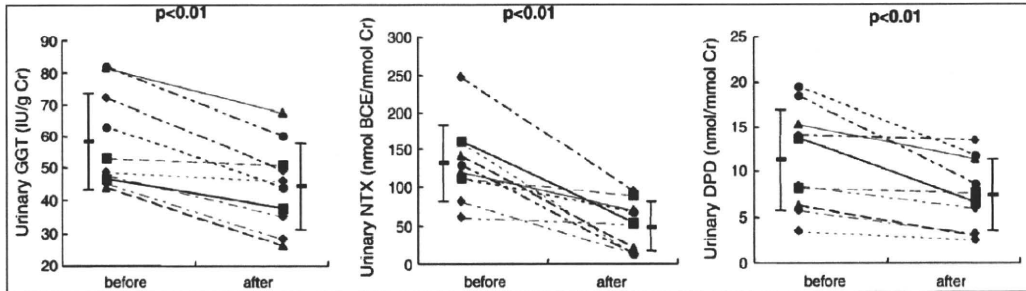


$\gamma$ -Glutamyltransferase (GGT) Stimulates Receptor Activation of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand Expression

Niida S et al. JBC 279 2004

Urinary GGT as a potential marker of bone resorption

Asaba Y et al. Bone 39 2006



Alendronate服用前後の尿中 $\gamma$ -GTP値と既存マーカー値の変化

新飯田らは2004年に $\gamma$ -GTP(gamma glutamyltransferase)が骨吸収促進に関連することを示唆した。

また、Asabaらは2006年に尿中 $\gamma$ -GTPが骨吸収マーカーとなりうる可能性を示唆した。この報告によると骨吸収抑制薬であるbisphosphonate投与前後での尿中 $\gamma$ -GTP濃度は、NTX(N-terminal teropeptide of type1-collagen)やDPD(deoxypyridinoline)と同様に低下している。

閉経後骨粗鬆症

骨吸収亢進

骨密度低下

尿中 $\gamma$ -GTPの上昇

- 安価
- 測定値のばらつきが小さい

骨粗鬆症スクリーニング検査としての尿中 $\gamma$ -GTPの可能性

閉経後骨粗鬆症では骨吸収が亢進した状態にあることが骨密度低下の原因とされている。そこで、閉経後骨粗鬆症患者において $\gamma$ -GTPが上昇していることが予測される。 $\gamma$ -GTPの利点として安価でかつ測定値のばらつきが少ないことが挙げられることより、骨粗鬆症のスクリーニング検査として尿中 $\gamma$ -GTP濃度の測定が使用できる可能性があると考えられる。

### 尿中 $\gamma$ -GTPの骨代謝マーカーとしての利便性

	CTX/NTX/DPD/TRAP5b (現行マーカー)	$\gamma$ -GTP
測定法	ELISA	chemical/autoanalyzer
ばらつき	~30%	<1%
時間	数日	十数分
保険点数	160~190点	11点
Creatinine補正	必要	必要

尿中 $\gamma$ -GTPの骨代謝マーカーとしての利便性として、CTX(c-terminal teropeptide of type-1 collagen)、NTX、DPD、TRACP5b(Tartrate resistant acid phosphatase 5b)などの現行の骨吸収マーカーと違い、定量が容易であること、ばらつきが少ないこと、10数分で結果がでること、保険点数がわずかであることが挙げられる。

### 目的

尿中 $\gamma$ -GTP濃度測定が骨粗鬆症スクリーニング検査法として有用であるか否か明らかにすること

### 対象症例

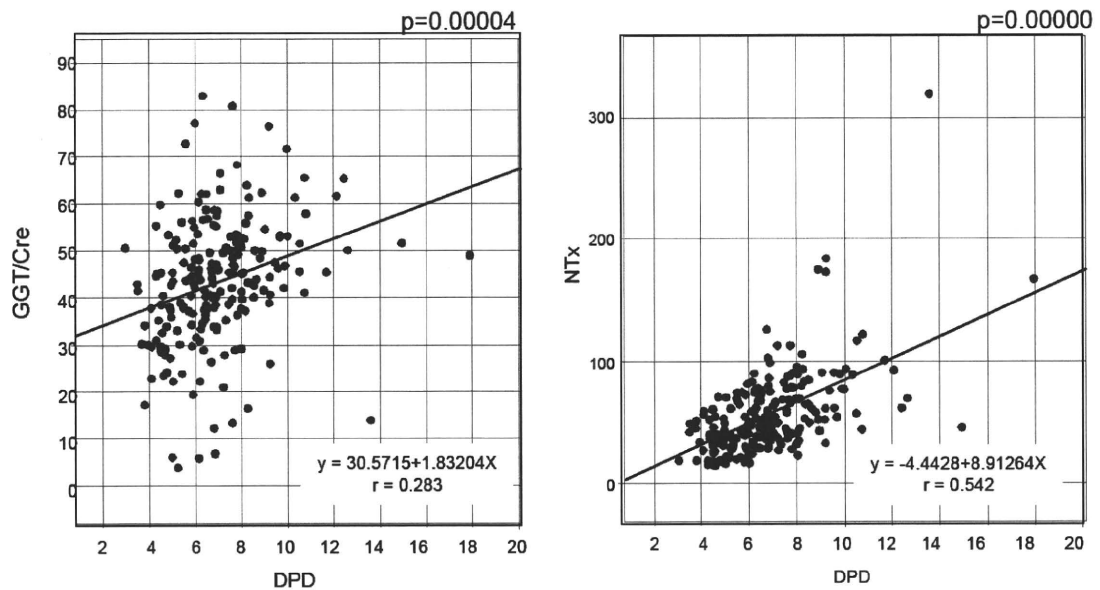
2009年愛知県知多郡東浦町で骨検診を受けた女性のうち骨検診対象年齢(40~70歳)の360名

検査項目	Cut-off値
尿中Creatinine (Cr)	
尿中deoxyprydionline (DPD)	; 7.6 mM/nM・Cr
尿中 $\gamma$ -GT	; 45 I.U./g・Cr
尿中NTX	; 54 mM/nM・Cr
踵骨BMD	; 70%Young Adult Mean (YAM)

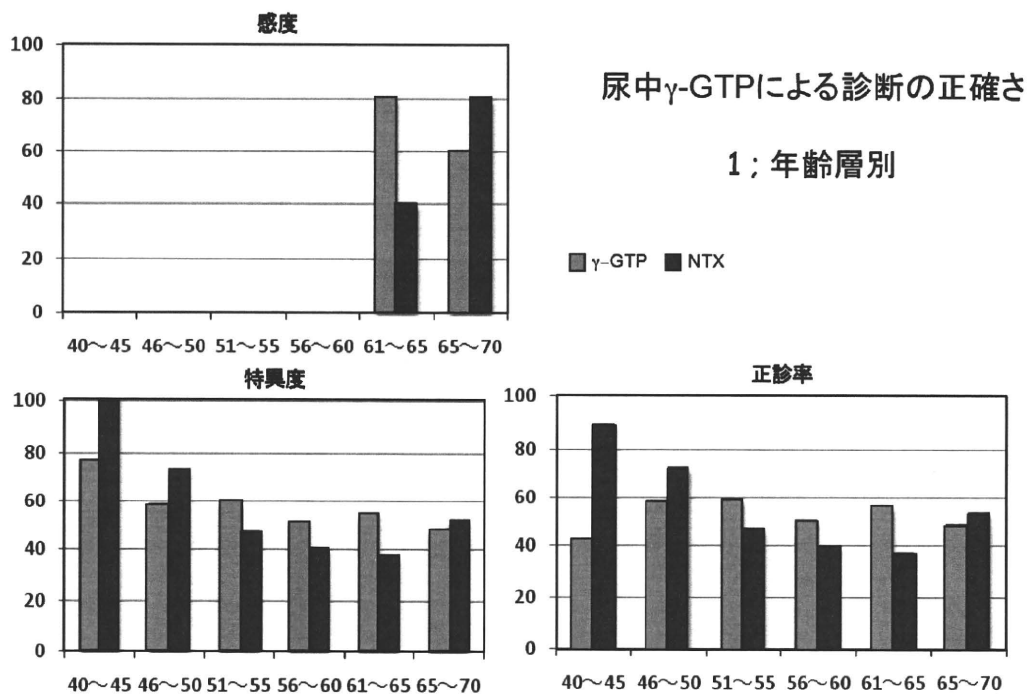
### 検討項目

1.  $\gamma$ -GTPとDPDとの相関をNTXと比較すること (208名)
2.  $\gamma$ -GTP > 45I.U./g・Cr、NTX > 54mM/nM・Crを「骨粗鬆症の疑いあり」とした場合、踵骨BMDによる骨粗鬆症診断に合致するか否か感度・特異度・正診率を比較すること

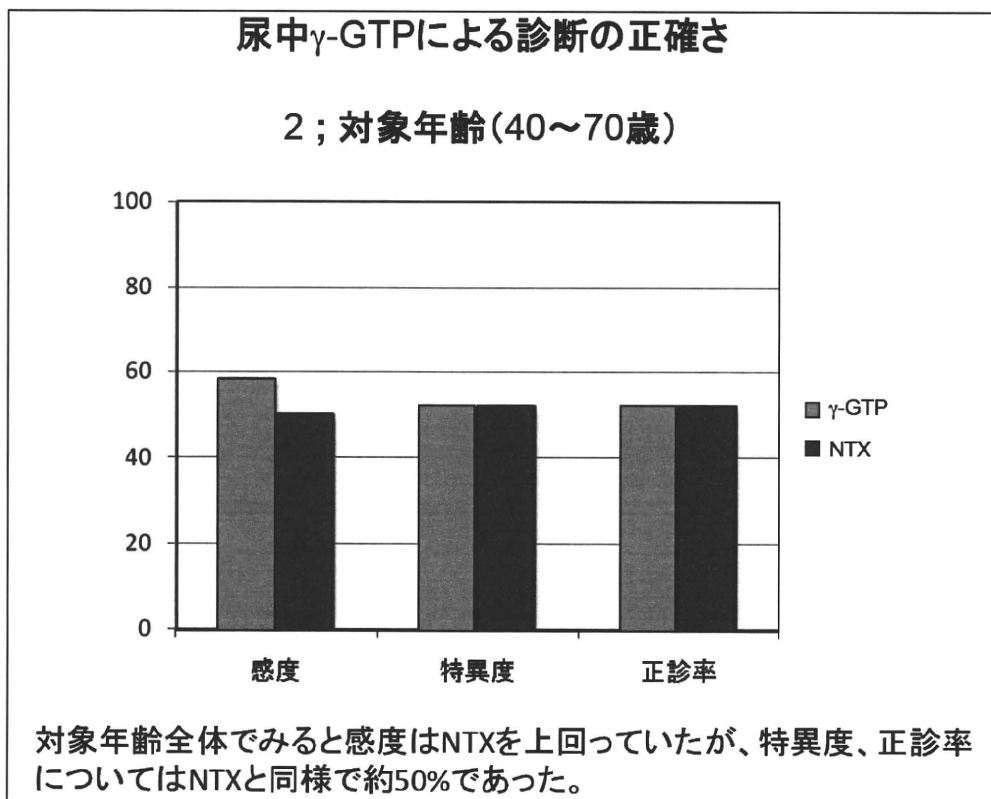
### 骨吸収マーカー同士の相関



尿中 $\gamma$ -GTPと尿中NTXの相関係数  $r=0.283$ 、尿中DPDと尿中NTXの相関係数  $r=0.542$ であった。GGTとDPDに弱い相関がみられた。P値は0.00004と有意であった。



5 歳ごとの年齢別にみた感度と特異度.  $\gamma$ -GTP では 65 歳までは感度 80%であった. 特異度は 40-45 歳で 80%に近かったが、それ以上では 50-60%であった. 正診率は 40-45 歳で 40%程度であったが、46-65 歳では 50-60%になり、51~65 歳では NTX より高い正診率を示した.



## 結果

1. 尿中 $\gamma$ -GTPは尿中DPDと弱いが有意な相関をみとめた
2. 46歳以降では50%程度の特異度と正診率を示し、診断の正確さはNTXと同等か、それ以上であった

### 3. 若年成人女性の尿中 $\gamma$ -GTP と超音波骨指標に関する検討

上西 一弘（女子栄養大学・栄養学部・教授）

尿中 $\gamma$ -GTP の骨代謝マーカーとしての有用性が検討されている。一方、骨密度測定のスリーニングとして超音波による踵骨の骨量測定が多用されている。最大骨量獲得年齢である女子大学生（平均年齢 19.5 歳）を対象に超音波法による踵骨骨量測定値と尿中 $\gamma$ -GTP の関係を検討した。なお、超音波法による骨量測定では超音波の透過速度(SOS)、超音波の減衰率(BUA)が測定され、それらを組み合わせて機器独自の骨量（今回はステフネス値）が計算される。それら個々の値と尿中 $\gamma$ -GTP および尿中 NTX との関係を検討した。その結果尿中 $\gamma$ -GTP はステフネス値、BUA と負の相関がみられた。一方尿中 NTX は SOS と負の相関関係、ステフネス値と負の相関傾向がみられた。

キーワード：尿中 $\gamma$ -GTP, ステフネス, SOS, BUS

#### A. 研究目的

尿中の $\gamma$ -GTP の骨代謝マーカーとしての有用性は、これまで高齢者を対象に検討されてきた。比較的若い世代、特に若年者での検討はほとんど報告されていない。本研究は女子大学生を対象に、尿中 $\gamma$ -GTP と超音波法による踵骨の各種測定パラメータとの関係について検討することを目的とした。

#### B. 研究方法

対象者は健康な女子大学生（平均年齢  $19.5 \pm 0.4$  歳（標準偏差））205 名である。

早朝空腹時に採血、採尿を行い、血清 $\gamma$ -GTP、アルカリフォスファターゼ、尿中 $\gamma$ -GTP、尿中デオキシピリジノリン（以下 DPD）、尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（以下 NTX）を測定した。測定は株式会社 SRL に依頼した。骨量は GE ヘルス

ケアジャパン社製 ACHILESS InSight により測定し、超音波の透過速度（SOS）、超音波の減衰率（BUA）、SOS と BUA から算出されるステフネス値を指標とした。

（倫理面への配慮）

本研究は香川栄養学園倫理委員会の承認を得て実施した。対象者は研究の趣旨を十分に理解し、研究への参加の同意が得られた者とした。

#### C. 研究結果

対象者の年齢、体格、骨量（SOS, BUA, ステフネス値）、尿中 $\gamma$ -GTP（クレアチニン換算値）、尿中 NTX（クレアチニン換算値）を表 1 に示した。

対象者のステフネス値は、 $98.1 \pm 13.9$ （平均 $\pm$ 標準偏差）であった。日本人成人女性の平均値である、92 以上の者は 130



名 (63.4%) であった。

尿中 $\gamma$ -GTP とステフネス値、BUA は負の相関 (ステフネス値 :  $R^2=0.0237$ ,  $p=0.0274$ , BUA :  $R^2=0.0231$ ,  $p=0.0297$ ) がみられたが、SOS とは相関はみられなかった。一方、尿中 NTX は SOS と負の相関が ( $R^2=0.0201$ ,  $p=0.0424$ )、ステフネス値とは負の相関傾向 ( $R^2=0.0181$ ,  $p=0.0543$ ) がみられたが、BUA との相関はみられなかった (表 2)。

尿中 $\gamma$ -GTP、尿中 NTX と体格の関係を表 3 に示した。尿中 NTX は体重、BMI と負の相関がみられた。尿中 $\gamma$ -GTP と体格の間には相関はみられなかった。

尿中 $\gamma$ -GTP は尿中 NTX、血清 $\gamma$ -GTP と関係は認められなかった。

#### D. 考察

尿中 $\gamma$ -GTP は BUA、ステフネス値と負の相関、尿中 NTX は SOS と負の相関、ステフネス値と負の相関傾向がみられた。BUA は骨質を、SOS は骨密度を反映していると考えられており、今回の結果は、尿中の骨代謝マーカー $\gamma$ -GTP と NTX が異なる指標となる可能性を示している。

尿中 NTX と体重、BMI との間に負の相関がみられたことから、尿中 NTX と SOS の間の負の相関は、体重を介したものである可能性が考えられる。このことは SOS が骨密度を反映しているという説明にもつながる。一方尿中 $\gamma$ -GTP は体格とは別に、骨質と関係している可能性が示唆された。

#### E. 結論

尿中 $\gamma$ -GTP とステフネス値、BUA は負

の相関がみられたが、SOS とは相関はみられなかった。一方、尿中 NTX は SOS と負の相関、ステフネス値とは負の相関傾向がみられ、BUA との相関はみられなかった。SOS、BUA の性質を考えると、尿中 $\gamma$ -GTP は骨質を反映するマーカーとして有用である可能性が示唆された。今回は最大骨量獲得世代の若年成人女性での検討を行ったが、今後はより高齢の世代での検討を行う予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. 検診対象者特性

		平均±標準偏差
年齢	歳	19.5±0.4
身長	cm	157.9±5.0
体重	kg	53.6±8.0
BMI	kg/m <sup>2</sup>	21.4±2.7
SOS	m/s	1590±27
BUA	dB/MHz	109.6±13.3
ステフネス		98.1±13.9
尿中NTX	nmolBCE/mmol・CRE	53.2±21.0
尿中γGTP	U/L	115.1±52.0
尿中γGTP	U/gCRE	50.5±12.2
血清γGTP	U/L	15.6±6.7

表2. 尿中γ-GTP, NTXと超音波骨指標との関係

	尿中γGTP	尿中NTX
SOS	R <sup>2</sup> =0.0111 NS	R <sup>2</sup> =0.0201 p=0.0424
BUA	R <sup>2</sup> =0.0231 p=0.0297	R <sup>2</sup> =0.0083 NS
ステフネス	R <sup>2</sup> =0.0237 p=0.0274	R <sup>2</sup> =0.0181 p=0.0543

尿中γGTPはクレアチニン換算値(U/gCRE)

表3. 尿中 $\gamma$ -GTP, NTXと身体組成との関係

	尿中 $\gamma$ GTP	尿中NTX
身長	R <sup>2</sup> =0.0105 p=0.0645	R <sup>2</sup> =0.0156 p=0.0746
体重	R <sup>2</sup> =0.0064 NS	R <sup>2</sup> =0.0463 p=0.0019
BMI	R <sup>2</sup> =0.0066 NS	R <sup>2</sup> =0.0370 p=0.0057
尿中NTX	R <sup>2</sup> =0.0005 NS	
血清 $\gamma$ GTP	R <sup>2</sup> =0.0044 NS	

尿中 $\gamma$ GTPはクレアチニン換算値(U/gCRE)

## 4. 腎尿細管上皮細胞における $\gamma$ -GTP 活性の誘導と分泌

池田 義孝（佐賀大学医学部・教授）

骨代謝に関連のある生体因子が腎尿細管細胞(LLC-PK1 細胞)における $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ( $\gamma$ -GTP)に与える影響を前年度に引き続き調べた。活性型ビタミン D3 による $\gamma$ -GTP の誘導の時間的推移を調べると、過去に報告のあるアルカリホスファターゼのそれとは全く違っており、誘導のメカニズムが異なることが示唆された。一方、PTH の作用については、同細胞は PTH 受容体を発現していないため、細胞内セカンドメッセンジャーである cAMP に影響を与える forskolin やジブチリル cAMP の効果を調べた。その結果、細胞内 cAMP の増加により、細胞内の $\gamma$ -GTP 発現が増加することなく、細胞からの遊離が有意に亢進することが分かった。

キーワード：尿細管上皮細胞、ビタミン D3、 $\gamma$ -GTP

### A. 研究目的

尿中 $\gamma$ -GTP 活性と生体における骨代謝との関連性を調べるため、腎臓の近位尿細管上皮由来の培養細胞をモデルとして用いて種々の物質による $\gamma$ -GTP の誘導について調べた。

### B. 研究方法

ブタ腎近位尿細管上皮細胞株 LLC-PK1 細胞を用いて、活性型ビタミン D3 [1 $\alpha$ , 25(OH)2D3]、forskolin、dibutyryl cAMP の存在下で培養し、細胞および培地に分泌される $\gamma$ -GTP 酵素活性を測定した。また、並行して、PTH 受容体を発現する近位尿細管上皮由来細胞の検索をした。

### C. 研究結果

活性型ビタミン D3 が LLC-PK1 細胞の $\gamma$ -GTP 活性を上昇させることを昨年度見出しており、LLC-PK1 細胞に活性型ビタミン D3 を添加して経時的に $\gamma$ -GTP 活性の変化を検討した。 $\gamma$ -GTP と同様に尿細管上皮に存在するアルカリホス

ファターゼはビタミン D3 によって 24 時間以内にプラトーに達する早い誘導を示すと報告されているのに対して、 $\gamma$ -GTP の場合はゆっくりと活性が増加していくような経時的变化を示し、アルカリホスファターゼで報告されている誘導の対応とは全く異なった変化であった(図1)。

ビタミン D3 と同様に骨代謝と密接に関連している PTH の効果を調べようとしたが、LLC-PK1 細胞は PTH 受容体を発現していないことが報告されている。ただし、受容体遺伝子を導入すると PTH に対する応答が回復するため、この受容体の研究によく利用されている。PTH からの細胞内情報伝達はよく機能していると考えられるので、その経路を mimic するため、細胞内 cAMP を上昇させる forskolin と dibutyryl cAMP の効果を調べた。これらの薬剤の存在下で LLC-PK1 細胞を培養し、 $\gamma$ -GTP 活性を測定してみると、細胞ホモジネート中の酵素活性の上昇は認められないにも関わらず、培地中の酵素活性は高くなっ