

特異な骨代謝回転状態にある妊娠・産褥期の解析及びCa摂取の意義

東京大学医学部母子保健学教室 助教授 福岡 秀興

〔はじめに〕

妊娠産褥の骨代謝はなお不明な点が多い。古くより妊娠することにより母体の骨量は減少するといわれるが果たしてそれが事実であるか否か、妊娠産褥を通じた、骨代謝回転の分析とその直接的なメディエーターとして機能するサイトカインの発現の分析を行って検討した。現在日本の出産数の減少傾向を考えると、もし妊娠分娩が母体の骨量を減少させるものであれば、それは母体の保護や超高齢化社会の出現の見地よりゆゆしき問題である。逆に母体の骨量を増加させるものであれば、それを明確にすべき緊急性があると考ええる。

エストロゲンは女性骨代謝の中心物質で、骨量を増加させ骨を保護する。妊娠中の母体では、エストロゲンが非妊時の100~200倍(1.7~3.4ng/ml)にまで達しているため、古くより当然骨は保護されていると考えられてきた。それに対し、産褥授乳期間には胎盤の娩出に伴い、急激なエストロゲンレベルの低下が起こる。それに続いて授乳による高プロラクチン血症が生じて、間脳下垂体の抑制及び卵巣の機能的な抑制によりエストロゲンレベルの更なる低下が持続する。すなわち閉経期にも似た低エストロゲン状態が持続するのである。さらに母乳中へ大量のCaが移行することが加わり、骨量の減少することが考えられる。即ち妊娠中は高エストロゲン血症・産褥は低エストロゲン血症となるので、それぞれ骨は保護されている状態から、骨量減少の状態へと変化していくと考えられていた。

妊娠中の骨量をみた報告には、変化しない、骨量減少があるというようになお一定の見解はみられていない。また、産褥期での骨量については非授乳群および6カ月未満の短期授乳群では減少しないが、6カ月以上の授乳をした場合、骨量が減少すると言われている。

最近では、妊娠中には骨量が減少するのではないかとする報告が散見される。即ち健康な女性で妊娠前と分娩直後4-5日にDEXA法による詳細に骨量の変化を分析したDrinkwaterは、妊娠中に腰椎で平均3.5%にも達するほどに減少することをみた。更に類発するマイナートラブルと思われる妊娠中の腰痛を訴えた群では、分娩直後の分析で同じく腰椎骨密度の減少(平均3.5%)が生じていることが明らかとなった。

翻って、産褥の骨量変化は授乳の有無により大きく変わる。多くの報告では、産褥6カ月以内に授乳を中止した群では骨量の減少が少ない、または減少しないのに対し、それ以上の授乳群に骨量の減少が起こるとの報告が多い。Chair-Frommel症候群にみるごとく長期授乳は低エストロゲン血症の持続によりそれは理解出来る。しかしもし3-4カ月間の短期授乳であってもその間は低エストロゲン状態が持続するので、GnRHによる子宮内膜症の治療にみるごとく骨量は減少するべきであると考えられるが、多くの報告は骨量の減少はないとしている。これは、エストロゲンレベルの産褥における推

移からも矛盾していると言うべきである。

以上より妊娠中及び産褥では、非妊時にみるエストロゲンと骨代謝では理解できない特異な骨代謝動態にあることが想定される。そこで妊娠中及び産褥の骨代謝回転を骨代謝マーカの経時的な変化を追って解析することを目的として分析を進めた。

骨代謝はエストロゲンに強く支配されており、低エストロゲン状態では、末梢血単球、骨髄間質細胞や骨芽細胞からのIL-1、TNF、IL-6などの骨吸収惹起サイトカインの産生が亢進して骨吸収優位の骨代謝回転となる。即ちサイトカインの動態は骨代謝回転を知る上で重要である。エストロゲンが減少すると骨髄間質細胞又は末梢血単球から骨吸収を促進するサイトカインが分泌され、骨吸収が起こる。このサイトカイン分泌動態も重ねて分析した。

【対象】

対象は産科外来で超音波診断法で胎児の正常な発育が確認された合併症のない妊婦と、正常な経過にある産婦で、対照として同年代の健常非妊女性とした。またすべての対象者よりインフォームドコンセントを得て行った。

【方法】

Biochemical Assays

外来診察時(10-12am)に採血・採尿を行い、血液は抗凝固剤としてEDTA採血した血漿あるいは血清に分離し、-30℃にて保存した。尿も-30℃で分析まで保存した。

骨代謝マーカー

骨吸収マーカーとして尿中総pyridinoline (Pyr)、総deoxypyridinonline (D-Pyr)、遊離deoxypyridinonline (D-Pyr)、血清酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase : TrACP)、骨形成マーカーとして血清骨型alkaline phosphatase (Al-PⅢ)、血漿intact osteocalcin (I-OC)、血漿procollagen type I C-propeptide (PICP) をみた。

Monocyte Cultures

末梢血単球の分離及び培養はPacifciら(1991)の方法に基づいて行った。ペパリン採血(10-12am)した血液をFicoll/Hypaque液で単核球層を遠心分離後、10%FCS (fetal calf serum) 含有RPMI 1640 medium (GIBCO/BRL) に浮遊させ、2回洗浄を行った。その3mlをマクロファージ純粋分離プレート(JIMRO, Tokyo)に採取し、37℃、5%CO₂、95%空気下で2時間静置し、プレートに単球を付着させた。培養後、プレートを洗浄し非付着細胞を除去し、10%FCS含有RPMI 1640 medium 3mlを添加し、48時間培養した。これらの操作はすべて無菌的に行い、上清は分析まで-30℃に保存した。

Cytokine Assays

末梢血単球の培養上清をIL-1 α 、TNF- α はTNF- α 、IL-6をELISAで定量した。

Statistical Methods

群間の差の検定には一元配置分散分析 (ANOVA) を用いた。

各パラメーターの相関の有意性の検定は t 検定を用いた。

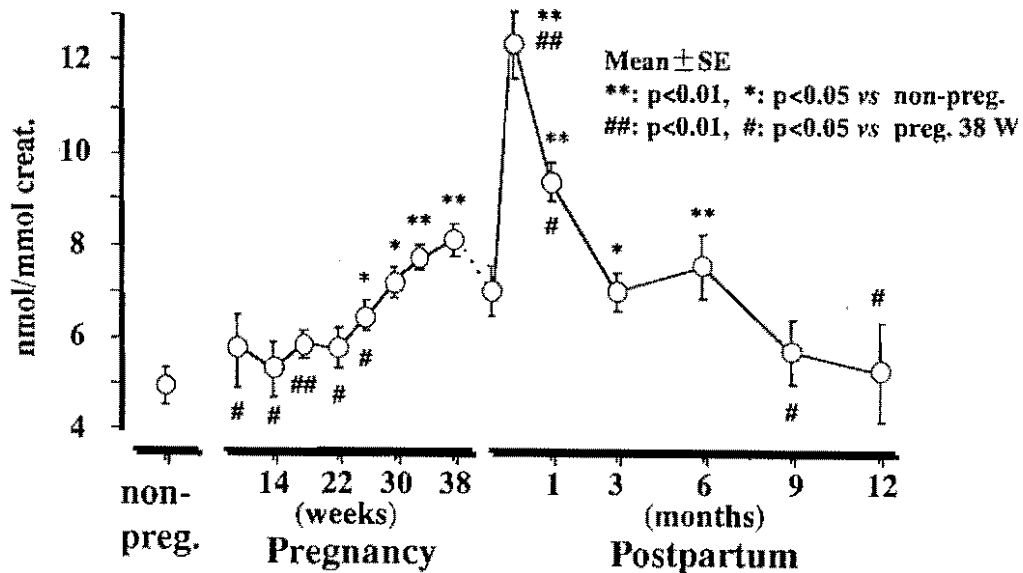
[結 果]

(A) 骨吸収マーカーの推移

(1) free-deoxypyridinolineの推移 (Fig. 1)

妊娠中は初期より漸増傾向にあり妊娠末期には、非妊時の約1.6倍の高値となり、分娩後は一過性に上昇した後、産褥6カ月までは妊娠末期のレベルを推移して、その後は漸減して12カ月には非妊時のレベルにまで達した。

(Fig. 1) free-deoxypyridinoline



(2) TrACP (Fig. 2)

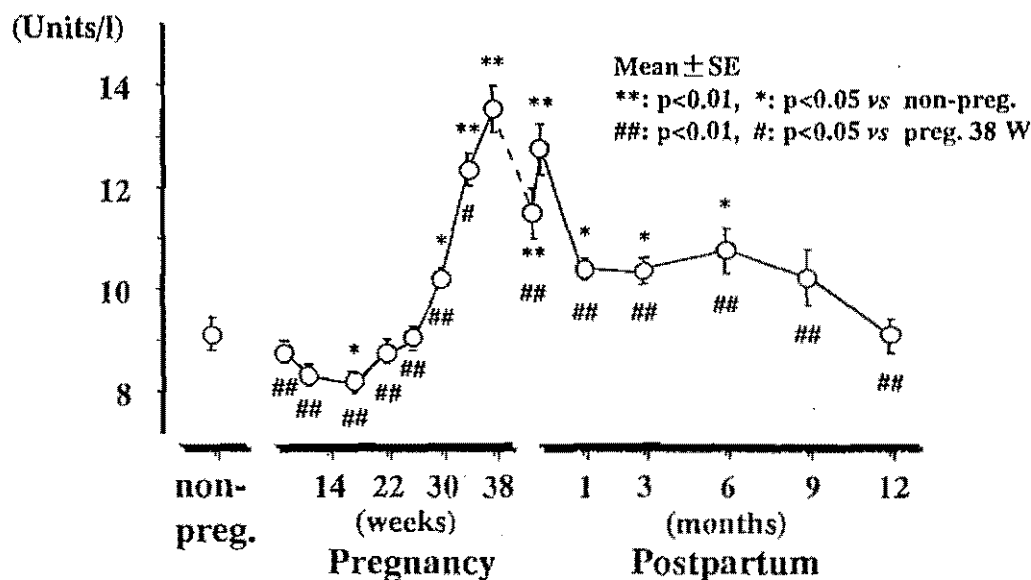
妊娠中は初期に軽度低下してそれ以降分娩に至るまで上昇していった。分娩後は軽度低下して再度上昇していくが産褥1カ月から3カ月までは非妊時の約1.4倍のレベルで推移して、その後は漸減して12カ月には非妊時のレベルにまで達した。

(B) 骨形成マーカーの推移

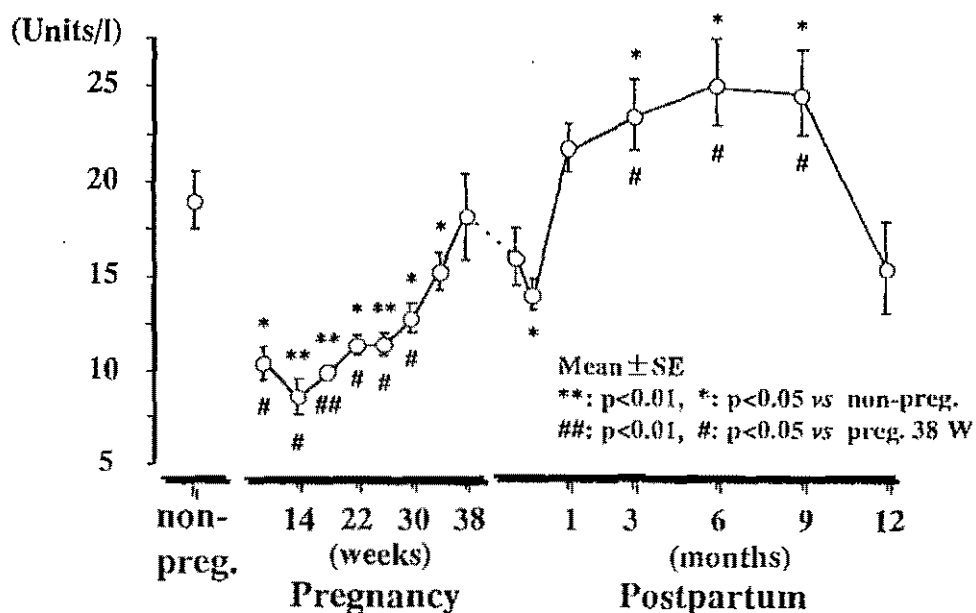
(1) 骨型アルカリフォスファターゼ (Fig. 3)

妊娠初期には非妊時の $\frac{1}{2}$ 以下にまで達して徐々に増加していったが、妊娠末期に至ってやっと非妊時のレベルにまで達した。妊娠中は極めて強い抑制状態にあったと言える。しかし分娩後は逆に増加傾向はそのまま続き、9カ月に至っても非妊時の約1.3倍の高値を持続して経過し産褥12カ月に至って非妊時のレベルに低下した。

(Fig. 2) TrACP



(Fig. 3) 骨型アルカリフォスファターゼ



(2) intact osteocalcin (Fig. 4)

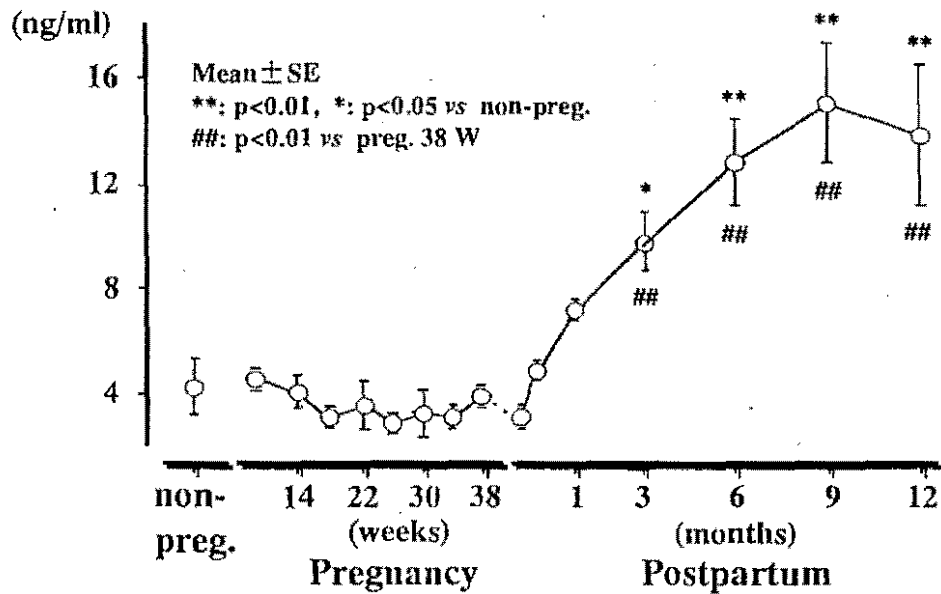
妊娠中は殆ど変化しないかむしろ非妊時よりも低値をとって推移した。しかし分娩後は急激に増加し、9カ月で非妊時の約4倍の高値にまで達している。更に12カ月経過してもなお3倍のレベルを維持しており、骨形成の優位を思わせる。

(C) $TNF\alpha$ の推移 (Fig. 5)

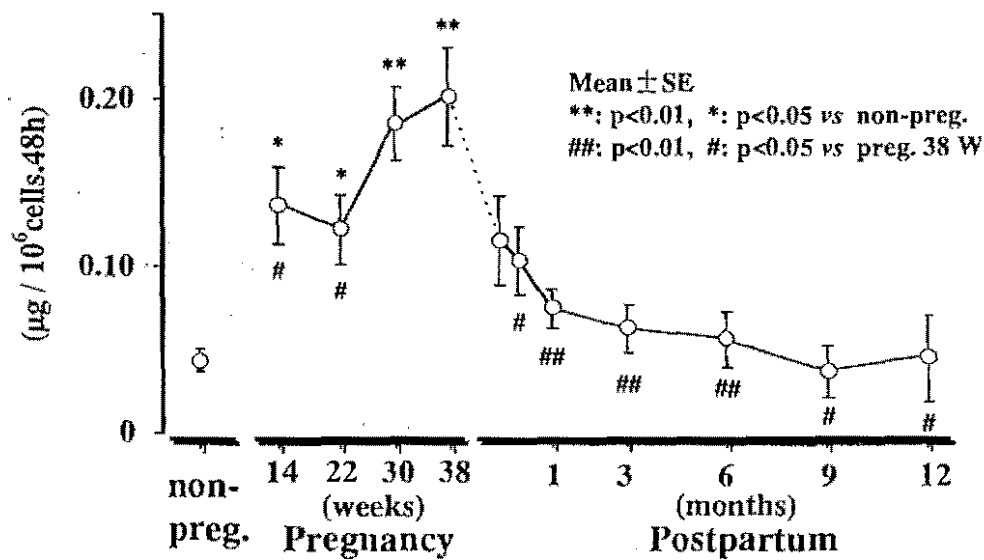
末梢血単球よりの $TNF\alpha$ 産生の経過をみた。妊娠初期よりすでにその産生量は増加して非妊時の約3-4倍量に達する大量のサイトカイン産生をみた。ところが分娩後は減少していき、産褥1カ

月で既に非妊時のレベルにまで低下していた。またその後産褥の1年に達するまで増加することなく経過した。即ち高エストロゲン状態の妊娠中はサイトカインの過剰産生があり、分娩後は低エストロゲン状態にあるにもかかわらず、その産生は抑制されている状態にあった。

(Fig.4) intact osteocalcin



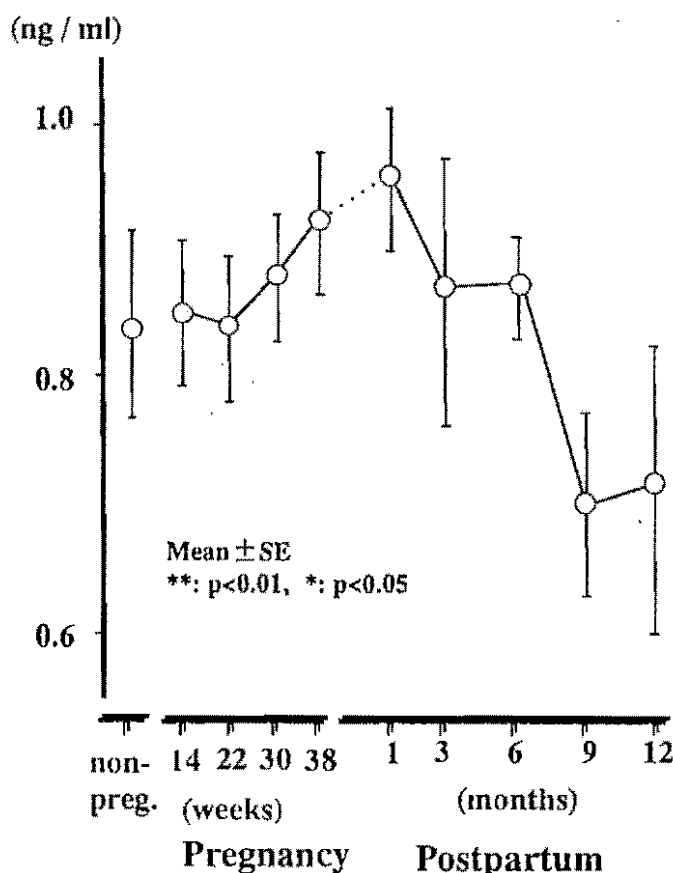
(Fig.5) TNF α の推移



(D) soluble IL-6 receptor (sIL-6R) の推移 (Fig. 6)

妊娠中は軽度な上昇傾向が認められるがほぼ避妊時のレベルであった。産褥は約3-6カ月まで軽度な減少傾向を示すがなお非妊時のレベルを推移した。しかしそれ以降は急激に低下して産褥12カ月には非妊時の $\frac{2}{3}$ 程度にまで低下した。

(Fig.6) soluble IL-6 receptor(sIL-6 R)の推移



(E) 妊娠産褥の骨吸収マーカーと骨形成マーカーの推移の比較 (Fig. 7)

TrACPとi-OCの推移をその非妊時のレベルを100%としてその後の推移をプロットしてみたものである。その結果妊娠中は骨吸収が亢進している。産褥になると骨形成がより亢進している状態となる。即ち妊娠中は骨減少・産褥は骨形成優位な状態となり両時期は共に逆のアンカップリング状態にあることが想定される。

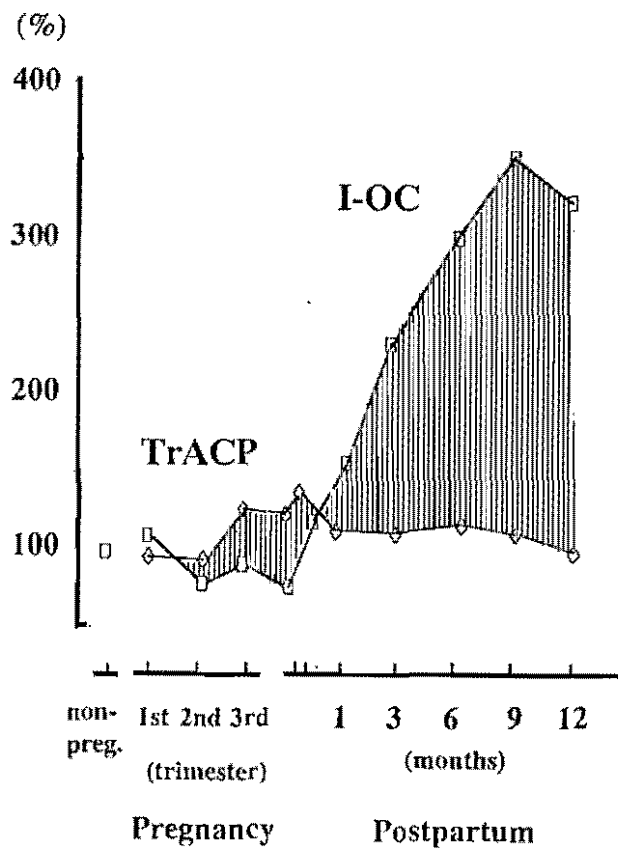
(F) 妊娠性または産褥骨粗鬆症の初発症状の発症時期 (Fig. 8)

文献的にみた妊娠性または産褥骨粗鬆症の発症時期を集めたものである。日本及び欧米の症例を集めてその発症時期をみた。その結果興味深い現象として、妊娠中その発症は妊娠経過とともに増加していく。分娩時に疼痛や骨折が起こるとすればそれは既に妊娠中に起こっていたと考えるべきであるから妊娠末期にその大部分が発症していると考えられるべきであろう。産褥は予想に反してむしろその発症は少なくなっていくとの結果であった。また産褥の後期に至ってはむしろその発症はまれになるとすら言える。

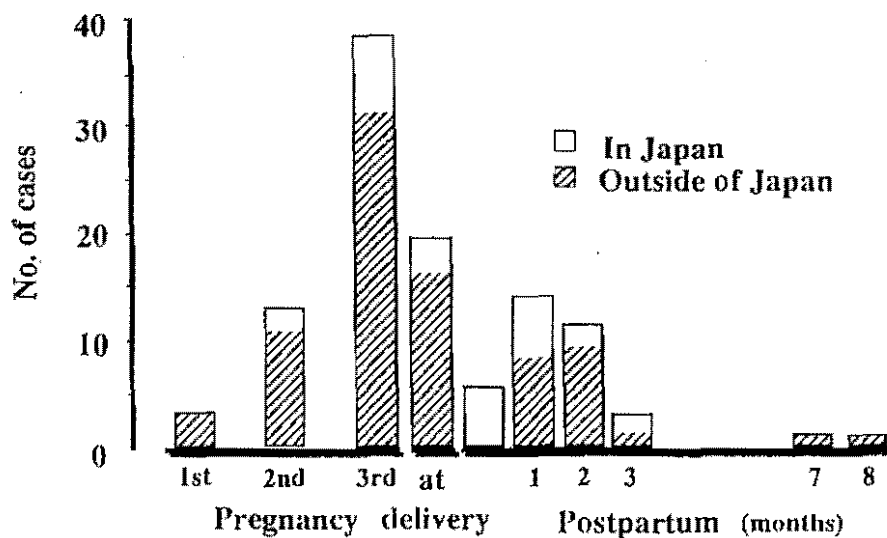
(G) 授乳と非授乳でのfree-deoxypyridinolineの推移 (Fig. 9)

授乳婦と非授乳婦でのfree-deoxypyridinolineの推移は6カ月頃までは差はなく推移するが、それ以降非授乳群は減少していき、授乳群はなお高値を取って推移した。産褥の6カ月までは両者に大きな差はなくそれ以降に差が出た。

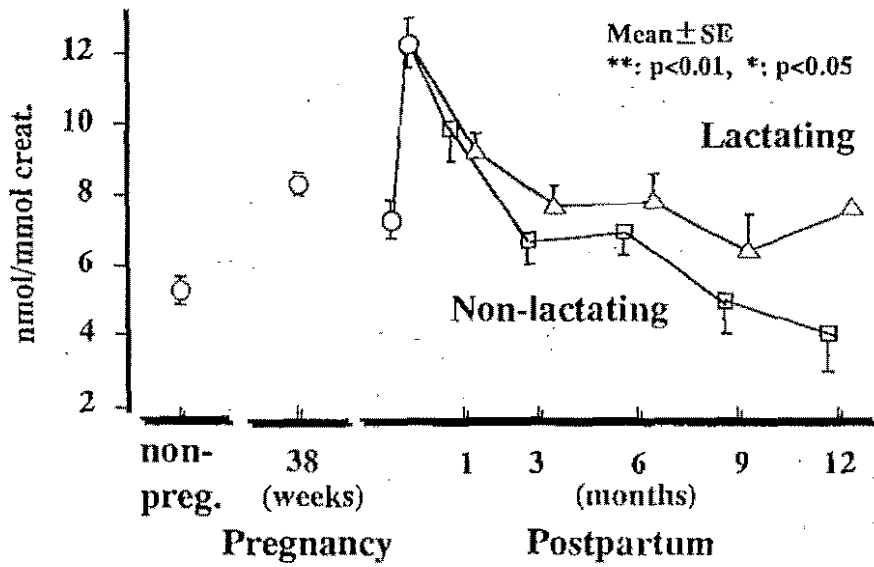
(Fig.7) 妊娠産褥の骨吸収マーカーと骨形成マーカーの推移の比較。



(Fig.8) 妊娠性または産褥骨粗鬆症の初発症状の発症時期



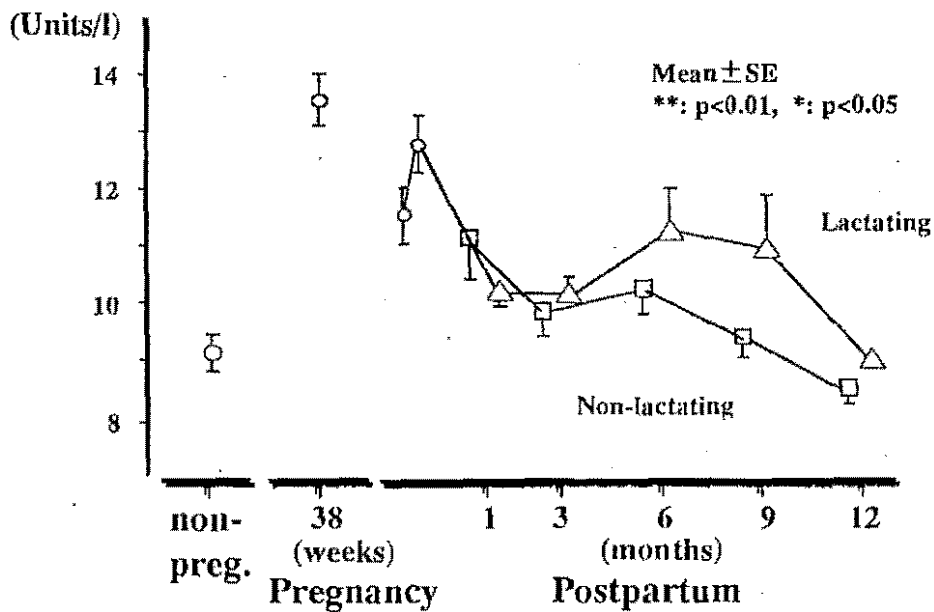
(Fig.9) 授乳と非授乳での free-deoxypyridinoline の推移



(H) 授乳と非授乳での TrACP の産褥の推移 (Fig. 10)

授乳婦と非授乳婦での TrACP の推移は 6 カ月頃までは差はなく推移するが、それ以降非授乳群は減少していき、授乳群はなお高値を取って推移した。産褥の 6 カ月までは両者に大きな差はなくそれ以降差が出た。

(Fig.10) 授乳と非授乳での TrACP の産褥の推移。

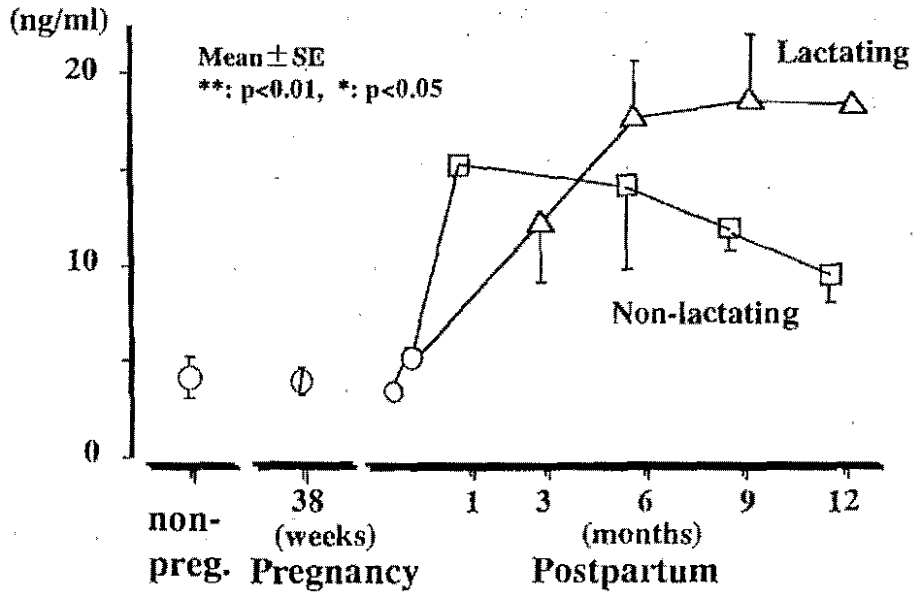


(I) 授乳と非授乳での i-OC の産褥の推移 (Fig. 11)

授乳婦と非授乳婦での i-OC の推移は 6 カ月頃までは差はなく推移するが、それ以降非授乳群は減

少していき、授乳群はなお高値を取って推移した。産褥の6カ月までは両者に大きな差はなくそれ以降差が出た。

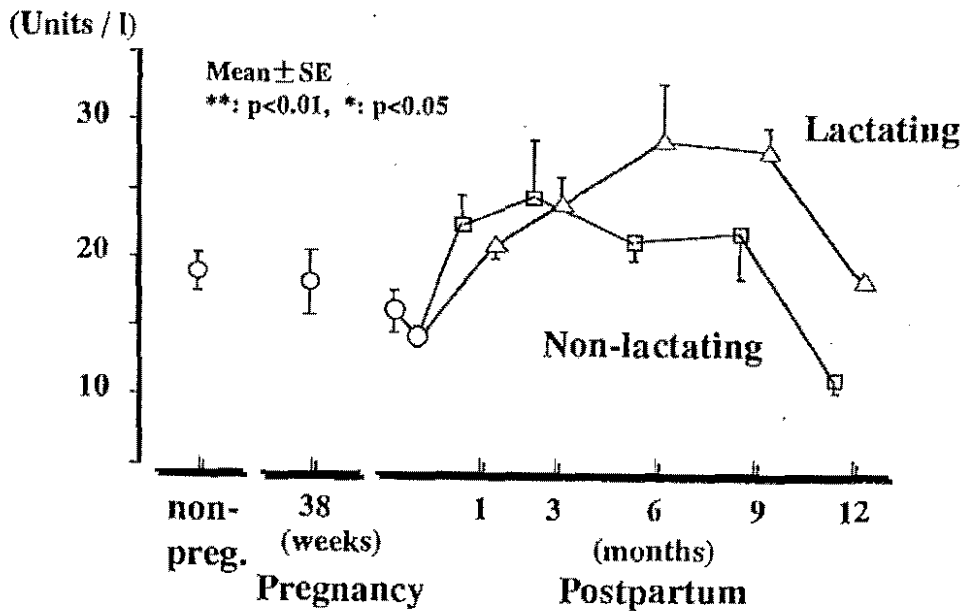
(Fig.11) 授乳と非授乳でのi-OCの産褥の推移。



(J) 授乳と非授乳での骨型アルカリフォスファターゼの産褥の推移 (Fig. 12)

授乳婦と非授乳婦での骨型アルカリフォスファターゼの推移は6カ月頃までは差はなく推移する

(Fig.12) 授乳と非授乳での骨型アルカリフォスファターゼの産褥の推移。

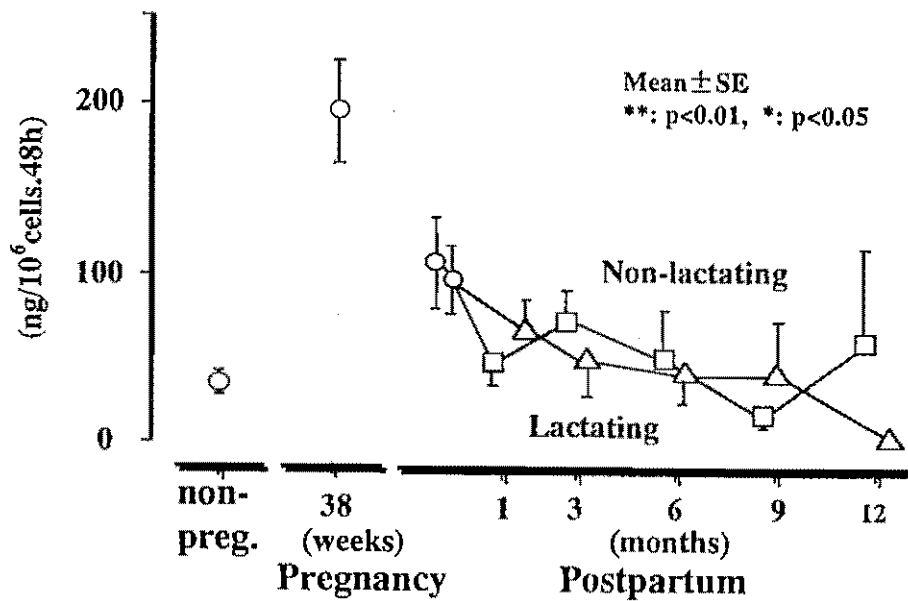


が、それ以降非授乳群は減少していき、授乳群はなお高値を取って推移した。産褥の6カ月までは両者に大きな差はなくそれ以降差が出た。

(K) 授乳と非授乳でのTNF α の産褥の推移 (Fig. 13)

授乳婦と非授乳婦とでサイトカインの産生の差をみたが、両者で全くその差は見いだせなかった。

(Fig.13) 授乳と非授乳での TNF α の産褥の推移。



これらの結果より、妊娠20週頃までは、破骨細胞機能は軽度抑制されるが、骨芽細胞機能は、強く抑制された状態にある。20週以降には破骨細胞機能は上昇していき、末期には非妊時の約6倍にまで達する機能亢進がみられる。それに対し骨芽細胞機能は、次第に上昇傾向にあるが末期に至ってやっと非妊時のレベルに達するに過ぎないのである。ところが分娩直後は破骨細胞・骨芽細胞が共に同様な機能の低下傾向を示し、産褥1週後には再度両者は上昇した。その後破骨細胞機能は低下して行き、産褥3カ月までは軽度な高値を維持していた。それ以降は非妊時レベルに低下していった。骨芽細胞機能はそれに比べ上昇して高値を維持していった。以上より、妊娠中は、破骨細胞機能が亢進した骨吸収亢進、骨芽細胞機能は抑制された骨形成抑制という負のアンカップリング状態にある。しかし分娩直後は、破骨細胞、骨芽細胞共に機能抑制状態が一過性に出現して、産褥1週に再度両者の機能亢進をみて、今度は逆に骨芽細胞機能の上昇していくのに対し、破骨細胞機能の抑制が起こって、やはり正のアンカップリング状態が出現する。以上より妊娠中は骨吸収優位なアンカップリングにより生理的な骨量の減少傾向が出現し、産褥は骨形成が優位となるといえる。

[考 察]

妊娠産褥の骨代謝調節についてはなお不明な点が多い。エストロゲンは骨代謝を強く支配しており、

骨保護作用がある。そのためエストロゲン濃度の高い妊娠中は骨が保護され、産褥は骨の減少があると思われる。しかし我々の結果はその逆であり、むしろ妊娠中は骨吸収の亢進と骨形成の抑制が生じていると言える。産褥は妊娠時中抑制されていた骨形成が逆に亢進していくとの結果を得た。即ち妊娠20週頃までは、破骨細胞機能は軽度抑制されるが、骨芽細胞機能は強く抑制された状態にある。20週以降には破骨細胞機能は上昇していき、末期には非妊時の約1.5倍にまで達する機能亢進がみられる。それに対し骨芽細胞機能は、次第に上昇傾向にあるが末期に至ってやっと非妊時のレベルに達するに過ぎないのである。ところが分娩直後は破骨細胞・骨芽細胞活性は共に低下傾向を示し、産褥1週後には再度両者は上昇した。その後破骨細胞機能は低下して行き、産褥3カ月までは軽度な高値を維持していた。その後は非妊時レベルに低下していった。骨芽細胞機能はそれに比べ持続的に上昇して高値を維持していった。産褥は、分娩直後に、破骨細胞、骨芽細胞共に機能抑制状態が出現して、産褥1週には再度両者の機能亢進をみて、今度は逆に骨芽細胞機能の上昇及び破骨細胞機能の抑制が起こって、正のアンカッピング状態が出現している。以上より妊娠中は骨吸収優位なアンカッピングにより生理的な骨量の減少傾向が出現し、産褥は骨形成が優位となることが明らかとなった。すなわち妊娠中は、metabolic uncoupling of bone turnover with high resorption and low formationとすべき特異な骨代謝回転状態にあって骨吸収の亢進した状態にある。

[妊娠中の骨量減少について]

Perkittのリモデリング説では、先ず破骨細胞が活性化して骨吸収を起こし、その後約20週前後遅れて骨芽細胞がその局所に出現する。この視点より妊娠中の骨代謝回転をみると、妊娠初期に破骨細胞は軽度に抑制された後、分娩に至るまで活性が持続的に亢進する。それに対し、骨芽細胞は破骨細胞機能の抑制後も更に活性が抑制され25-30週頃より軽度に活性が亢進し始めやっと分娩直前になって非妊時のレベルにまで到達している。そこでこの現象は、非妊時には不統一に機能している体全体の骨芽細胞及び破骨細胞が一定の活性状態に統一されて動くことにより、破骨細胞の活性化、それに続く骨芽細胞の活性化と解釈すべきかも知れない。しかしDrinkwaterの骨量測定に見る如く、異種の骨部位では増加する骨もみられるので総ての骨が同一の動きをすることは考えられず考えにくい解釈である。妊娠母体では、やはり破骨細胞機能が亢進し、骨芽細胞機能が抑制されていると見るべきであろう。

翻って妊娠性・分娩後骨粗鬆症 (Nordin and Roper, 1955) は、妊娠中に発症する稀な原因不明の疾患 (G. Khastgir, 1994) とされてきた。しかし我々の分析により妊娠中は生理的に骨量が減少し、その重症例が妊娠性骨粗鬆症になる可能性が示され、決して特発性疾患でなく生理的骨量減少例のうちで程度の強い例が骨粗鬆症になるに過ぎないと言える。多発性骨折を繰り返す重症例は稀としても、確実に増加しており (Dunne 29名, 1993; 浜松医大13名, 1991)、骨代謝・産婦人科・内分泌・整形外科等の学会での症例報告も増えている。若年女性にはダイエットを含めたライフスタイル及び摂取栄養の変化による骨量低下群や骨折例が増加 (広田1993) しており、妊娠前女性での低骨塩群の増加傾向

こそが本疾患の増加に繋がるのではないかと想定される。

それでは何故にこのような奇異とも言うべき現象が妊娠中に発症するのであろうか。閉経後または卵巣摘除後の骨量減少は、エストロゲン減少により引き起こされる骨吸収を惹起するサイトカイン（IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、TNF α 、GM-CSF、M-CSF等）が末梢血単球または骨髄間質で過量産生されることにより生ずる現象である。すなわちエストロゲンの効果はこれらサイトカインをメディエーター化する効果であり、直接の生理作用はサイトカインが担っているのである。これらのサイトカインは、主にエストロゲン濃度の減少により産生が増加する。またエストロゲンは骨芽細胞より、骨芽細胞の増殖を起し破骨細胞機能を強く抑制するTGF β を産生させる。またエストロゲンは破骨細胞のアポトーシスを引き起こす。以上よりエストロゲンは、メディエーターであるこれらの因子を介して生理作用を発揮する。しかし妊娠中の骨吸収は、高エストロゲン状態にありながら末梢血単球よりの骨吸収性サイトカインの過剰産生により引き起こされていることが示唆されたのである。今後はエストロゲンドグマを否定するようなこの現象の病態生理の解明が急がれる。

[産褥の骨代謝]

産褥は妊娠中と逆に骨形成が優位な状態となって推移していることが示唆される。早期産褥3-6か月頃までは骨吸収がなお妊娠後期のレベルを維持しており、骨形成はリバウンド的に亢進傾向にある状態と言える。その時授乳と非授乳群では差は特に見出されなかった。また妊娠中の骨吸収を起こすメディエーターのサイトカインは分娩後は抑制されている。授乳と非授乳の差が出てくるのは後期産褥であり、非授乳群では代謝マーカーは減少していく傾向にあった。これらは共に産褥に骨量の増加していく可能性を示唆する現象である。閉経前の女性の骨量を分析すると、分娩回数と骨密度は正の相関があり、分娩回数が増えると骨密度が増えるとの報告があるがこの結果と一致する。特に性成熟後（最大骨量獲得後）の女性は骨量を増加させることは無い。しかし例外としてこの産褥は生理的骨量増加の可能性がある時期とみることが出来る。女性に残された最後の骨量増加時期として、カルシウム摂取の増加に努めることが出来たならば生理的骨量増加を更に効率的に亢進させることが出来ると考えられる。

産褥がしばらく続く、骨吸収の亢進状態について考察を加える。エストロゲン欠乏はIL-6産生を引き起こさないとの報告もある。例えばエストロゲンリセプターを有するヒト骨細胞及び骨髄間質細胞では、エストロゲンにIL-6産生を抑制する効果は認められず、ヒトで卵摘した場合IL-6の末梢血単球での産生増加は起こらないが、sIL-6 receptorの血中濃度の上昇が起り、更に骨細胞に存在するIL-6リセプターを構成するgp130の増加を促す作用によって骨吸収の亢進がおこるとの報告もある。その視点でみると産褥の6か月頃まではサイトカイン産生が抑制されているにもかかわらず骨吸収は妊娠末期頃の状態をなお持続しており、サイトカインの過剰産生によって生じた現象ではなく、その低下する産褥6か月以降は吸収マーカーが減少していったことと考え併せると、むしろsIL-6 receptorの高値によっておこった現象であることが示唆される。

【結論】

非妊時、妊娠中、産褥での骨代謝マーカー及び末梢血単球のcytokine産生を測定した結果、以下のことが結論づけられる。estrogen高値となる妊娠中に末梢血単球からの骨吸収活性の高いTNF- α 、IL-6といったcytokineの産生能が亢進し、骨吸収の亢進が起こる。分娩を機に胎盤が娩出され、estrogen低値となる産褥期にcytokineの産生が低下するが、sIL-6 receptorのレベルがなお高値を持続して骨吸収の亢進した状態が産褥早期になお持続して続く。しかし産褥は妊娠中抑制されていた骨形成が亢進して骨形成優位な状態となり、骨量が増加していく可能性が示唆され、特に良質のカルシウム源である牛乳・乳製品の摂取や運動を心がけるべき時期と考えられる。