

如姫・生誕における特異な時代錯誤の分析

著者の名

# 妊娠・産褥における特異な骨代謝回転の解析

春 名 め ぐ み

## I. 緒言

エストロゲンは骨代謝の中心物質 (key component) であり (エストロゲンドグマ; Oursler 1993)、骨を保護し、増加させる作用を有する。エストロゲンが減少すると骨吸収性サイトカインの産生が増加して高代謝回転型の骨代謝となって骨量減少がおこる。思春期女性の急激な骨量増加は思春期発来と共にエストロゲンが上昇することにより起こり (Theintz 1992)、卵巣摘出後や更年期ではエストロゲン減少により骨吸収は亢進し、骨粗鬆症が生じる。なお不動状態でも骨量が減少するが、男性に比べ女性では減少量が少ない (Fukuoka 1994)。この様にエストロゲンには強い bone sparing effect (Pacifci 1996)がある。この視点にたつと妊娠母体では、エストロゲン ( $17\beta$ -estradiol) が非妊時の約 100 倍 ( $17-34\text{ ng/ml}$ ) にまで達しているの、当然骨は保護されていると考えられる。これに対し、産褥では胎盤の娩出に伴い、急激なエストロゲンの低下が起こる。さらに授乳をした場合には高プロラクチン血症による間脳下垂体系及び卵巣機能の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。即ち妊娠中は高エストロゲン血症、産褥は閉経期にも似た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る。

ところが妊娠中に骨量が減少する (Lamke 1977, Brooks 1990, Drinkwater 1991, Yamaga 1996) ことが報告されている。健康な女性で妊娠前と分娩後 4-5 日に DEXA 法 (dual energy X-ray absorptiometry; 二重エネルギーX線吸収測定法) で詳細に骨量の変化を分析した Drinkwater (1991) は、妊娠中に腰椎で平均 3.5% にも達する減少をみた。更に妊娠中に頻発する腰痛は一般にマイナートラブルと思われているが、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 (Brooks 1990)。これらの報告は高エストロゲン状態の妊娠中に骨量が減少する可能性を示唆するものといえる。また、この現象は、妊娠や分娩を契機として発症し、未だその発症機構が不明である妊娠性骨粗鬆症 (Pregnancy associated osteoporosis) との関連も考えられる。

産褥の骨量変化についてみると、産褥 6 か月未満の短期授乳群や非授乳群では骨量の減少が少ないまたは減少しない (Sowers 1993, Cross 1995) のに対し、6 か月以上の長期授乳をした場合には骨量の減少が起こる (Hayslip 1989, Sowers 1993,

Cross 1995, Kalkwarf 1995) という報告が多くみられる。Chiari-Frommel 症候群にみるように長期授乳での骨量減少は低エストロゲン血症の持続により理解出来る。しかし、短期授乳群や非授乳群であっても産褥早期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ように骨量は減少すると考えられるが、多くの報告は逆に骨量の減少はない。これはエストロゲンの産褥における推移からも理解し難い現象である。

以上より、妊娠中および産褥では、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。そこで本研究では、妊娠中および産褥での骨代謝回転を詳細に検討するため、骨代謝マーカーの経時的な変化をみた。

さらにもし、妊娠中に骨量減少が起こっているのならば、高エストロゲン状態でありながら、骨量が減少するメカニズムについての検討も必要である。低エストロゲン状態で骨量が減少するメカニズムには、末梢血単球、骨髓間質細胞や骨芽細胞からの IL-1、TNF、IL-6 などの局所性骨吸収因子であるサイトカインの産生が亢進して、骨吸収優位の高代謝型骨回転となる (Pacifci 1987, Jilka 1992) ことが知られている。即ちサイトカインがエストロゲンのメディエーターとして作用しており、その動態は骨代謝をみる上で最も重要と考える。そこで高エストロゲン状態にある妊娠中に骨吸収活性の高いサイトカインが過量分泌しているか否かにつき、末梢血単球での骨吸収性サイトカインの産生及び遺伝子発現についても検討した。また閉経期及び卵巣摘出後での高代謝型骨回転状態では血中のサイトカイン濃度の上昇はみられないが、時に上昇するとの報告 (Girasole 1995) もあるので念のため血中のサイトカインレベルの検討も加えた。

一方、閉経後骨粗鬆症では骨吸収性サイトカイン、特に IL-6 は過量分泌されており、血中の可溶性 IL-6 レセプター(soluble IL-6 receptor; sIL-6R) が増加し、更にレセプターのシグナル伝達物質である gp130 が増加していることにより、破骨細胞機能が亢進して高代謝型骨回転が生じるという新しい知見 (Girasole 1995, Maruo 1996) がある。即ち低エストロゲン状態での骨吸収亢進には、レセプター側のサイトカインに対する反応性の上昇が関与している可能性がある。そこで血中の sIL-6R を分析した。

## II. 対 象

本研究は cross sectional study であり、対象は産科外来で合併症がなく、かつ超音波診断法で胎児の正常な発育が確認された妊婦と正常な経過にある褥婦とした。コントロール群は同年代の健康非妊娠女性とした。褥婦については、採血および採尿時点で授乳を行っている者を授乳群とし、採血および採尿時点で授乳をしていない者を非授乳群とした。各対象者は研究目的、方法について説明を受け、十分な質疑応答（インフォームド コンセント）の後に研究への協力を了承したボランティアである。（対象者数は図表内に表記した。）

## III. 方 法

### 1. 検体

各対象者から、外来診察時（10-12 a.m.）に採血および採尿を行った。骨代謝マーカーを分析するため、採取した血液を  $800 \times g$  で 10 分間遠心分離し、血漿及び血清の状態にて  $-30^\circ C$  で保存した。尚、血漿は EDTA-2Na 加試験管で採血したものを遠心分離して得た。尿も  $-30^\circ C$  で分析まで保存した。また同時に末梢血単球を分離するため、8ml のヘパリン採血を行った。

### 2. 骨代謝マーカーの測定

骨吸収マーカーとして尿中総 pyridinoline (総 Pyr)、総 deoxypyridinoline (総 D-Pyr)、遊離型 deoxypyridinoline (遊離型 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-P III)、血漿 intact osteocalcin (I-OC)、血漿 procollagen type I C-propeptide (PICP) を以下の方法にて測定した。

尿中総 Pyr、総 D-Pyr は、蛍光検出高速液体クロマトグラフィ (HPLC) 法 (関根 1992) で測定した。尿試料 0.5ml に対して 12N-塩酸 0.5ml を加え、 $107^\circ C$ 、18 時間の加水分解後、 $4^\circ C$  にて  $800 \times g$ 、10 分間遠心分離し、その上清 0.25ml を CF-1 スラリー 0.25ml、酢酸 0.25ml、n-ブタノール 2ml で混合し、CF-1 セルロースカラムに流し込み、洗浄液 (蒸留水：酢酸：n-ブタノール = 1:1:4) 30ml で洗浄後、蒸留水 10ml で Pyr、D-Pyr の溶出を行った。この溶出液を室温で一晩減圧遠心乾燥後、1%ヘプタ



フルオロ酪酸 (HFBA) 溶液 0.5ml に溶解し、HPLC で測定した。HPLC の条件は、流速 1ml/min、励起波長(Ex)297nm、測定波長(Em)395nm で測定した。

尿中遊離型 D-Pyr は、enzyme immunoassay (EIA)法 (オステオリックス DPD: Metra Biosystems, U.S.A.)で測定した。

血清 TrACP は Bessey Lowry 法 (大西 1990)で測定した。血清試料を蒸留水で 5 倍希釈し、37°C で 1 時間放置し、各試料に以下に述べる混合反応液 (pH 5.5) を 50  $\mu$ l 加え、37°C で 1 時間反応させ、呈色後吸光度を測定した。混合反応液は 100nmol/l パラニトロフェニルリン酸 (PNPP: Sigma Chemical, U.S.A.)、200nmol クエン酸ナトリウム (J. T. Baker Chemical, Phillipsburg, N.J.)、200mmol 塩化ナトリウム、80mmol sodium L(+)-tartrate (Sigma Chemical, U.S.A.) によって構成した。

血漿 I-OC は OC の N 及び C 末端に対する二抗体を用いた two-site immunoradiometric assay (IRMA)法 (BGP IRMA ミツビシ: Mitsubishi, Tokyo)で測定した。血清骨型 alkaline phosphatase (Al-P III) は EIA 法 (ALKPHASE-B: Metra Biosystems, U.S.A.)で測定した。

血漿 PICP は enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA)法 (PIP 測定キット: TAKARA, Tokyo)にて定量した。

### 3. 末梢血単球からのサイトカイン産生量の測定

#### 1) 末梢血単球の培養

末梢血単球の培養は Pacifici らの方法 (Pacifici 1991) を改変して行った。ヘパリン採血で得た血液 8ml を Ficoll/Hypaque 法にて室温で 250  $\times$ g、20 分間遠心して単核球層を分離した。これを 10% fetal bovine serum (FBS: United Biotechnological, Tokyo) 含有 RPMI 1640 medium (GIBCO, U.S.A) (以下、Medium) に浮遊させ、2 回洗浄した。さらに得られた単核球を Medium に浮遊させ、その 3ml をマクロファージ純粋分離プレート (JIMRO, Tokyo) に添加し、37°C 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、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、培養上清は分析まで -30°C にて保存した。

## 2) ペルオキシダーゼ染色

プレート付着細胞が単球であることを確認するために、プレートにペルオキシダーゼ染色反応液を加えて10~20分間室温に放置後、光学顕微鏡 (Olympus, Tokyo) にて検鏡した。

## 3) 細胞数算定方法

1 プレートあたりの単球数を算定するため、マクロファージ純粋分離プレートに添加する Medium 中の単核球をチルク液 (Wako, Osaka) で染色し、Improved Neubauer 血球計算盤にて数えた。またスライドグラスに Medium を塗沫乾燥固定させ、ライト染色およびギムザ染色を行い、検鏡し、Medium の単核球中の単球の割合を算出した。1 プレートあたりの単球数は以下の計算式により求めた。

$(\text{Medium 中の単核球数/ml}) \times 3\text{ml (プレートに添加する Medium 量)} \times (\text{単核球中の単球の割合} \% / 100)$

## 4) サイトカインの定量

末梢血単球の48時間培養上清中の tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、interleukin-6 (IL-6) および血漿中の soluble IL-6 receptor (sIL-6R)、TNF- $\alpha$ 、IL-6 を ELISA 法 (BioSource International, U.S.A.) にて測定した。培養上清中のサイトカインは単球  $10^6$  個あたりの産生量で表した。

## 4. 統計的分析

群間の差の検定には一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、post-hoc 分析として、多群間の分散分析で有意差が認められたものについては Fisher's Protected Least Significant Difference (Fisher's PLSD) を用い、それ以外のものについては Bonferroni/Dunn (Dunn's Procedure As A Multiple Comparison Procedure) を用いた。

## IV. 結果

### 1. 骨吸収マーカー (mean $\pm$ S.E.)

妊娠中は、尿中遊離型 D-Pyr (図1. A)、尿中総 Pyr、総 D-Pyr (図2. A) は、ともに妊娠初期から後期にかけて漸増し、妊娠後期では非妊時 (遊離型 D-Pyr:  $5.3 \pm 0.4$ 、

尿中総 Pyr:  $24.8 \pm 1.6$ 、総 D-Pyr:  $3.51 \pm 0.25$  nmol/mmol creat.) の約 1.6~2 倍の有意な高値 (遊離型 D-Pyr:  $8.3 \pm 0.3$ 、尿中総 Pyr:  $58.5 \pm 5.1$ 、総 D-Pyr:  $9.3 \pm 1.0$ ,  $p < 0.01$ ) を示した。血清 TrACP (図 3. A) は妊娠前期 (12-19 週) では軽度の抑制状態にある ( $8.2 \pm 0.1$  units/l) もの、その後漸増し、妊娠 38 週では非妊時 ( $9.1 \pm 0.3$ ) の 1.5 倍の高値 ( $13.5 \pm 0.5$ ,  $p < 0.01$ ) を示した。即ち、骨吸収マーカーは妊娠初期もしくは妊娠中期より後期にかけて漸増し、妊娠後期での骨吸収亢進が示唆された。

産褥では、尿中遊離型 D-Pyr (図 1. A) は、産褥 3 日で軽度低下 ( $7.2 \pm 0.5$  nmol/mmol creat.) した後、産褥 6 日で非妊時の約 2.3 倍 ( $12.3 \pm 0.7$ ) まで急上昇し、その後漸減するが、産褥 6 カ月 ( $7.9 \pm 0.7$ ) ではまだ妊娠末期のレベルにあり、9 カ月 ( $6.0 \pm 0.7$ ) 以降非妊時レベルまで低下した。尿中総 Pyr (図 2. A) も産褥 6 日では非妊時の約 4 倍 ( $119.1 \pm 8.4$ ,  $p < 0.01$ ) まで急上昇し、その後漸減するが、産褥 6 カ月 ( $61.9 \pm 7.8$ ) で非妊時レベルまで低下した。尿中総 D-Pyr (図 2. A) は妊娠後期から産褥 3 カ月までは非妊時の約 2~3 倍もの高い値 ( $9.8 \pm 1.4$ ,  $p < 0.01$ ) を示し、産褥 6 カ月 ( $4.9 \pm 0.9$ ) でほぼ非妊時のレベルまで低下した。また産褥では総 Pyr と総 D-Pyr の推移に解離がみられた。Pyr/D-Pyr 比は非妊時、妊娠中とほぼ同じ比率であったが、産褥 6 日、1 カ月では総 D-Pyr に比べて、総 Pyr の上昇が大きいと、高値を示した。産褥 3 カ月以降は再び非妊時と同じ比率となった (図 2. A)。

血清 TrACP (図 3. A) は産褥 3 日で一過性の低下 ( $11.5 \pm 0.5$  units/l) がみられるが産褥 6 日 ( $12.8 \pm 0.5$ ) では再度上昇し、産褥 1 カ月 ( $10.4 \pm 0.2$ ) から 9 カ月 ( $10.3 \pm 0.6$ ) までは妊娠 30 週ころの高いレベル ( $10.2 \pm 0.2$ ) で推移して減少した。

即ち、骨吸収マーカーは産褥 3 日で軽度低下した後、産褥 6 日で急上昇し、その後漸減し、産褥 6 カ月もしくはそれ以降低下し非妊時のレベルとなり、産褥 6 カ月までは骨吸収は亢進し、それ以降骨吸収は低下することが示唆された。授乳群と非授乳群では有意差はみられないが、産褥 6 カ月以降は授乳群が高値をとる傾向 (D-Pyr:  $p = 0.2$ , TrACP:  $p = 0.2$ ) が示された (図 1. B, 3. B)。

## 2. 骨形成マーカー

妊娠中は血漿 I-OC (図 4. A) は非妊時 ( $4.1 \pm 1.1$  ng/ml) よりも上昇することはなく、低い値で推移した。血漿 PICP (図 5.) は妊娠初期より急激に低下し、妊娠 12~



19 週前後には非妊時 ( $649.3 \pm 66.8$  ng/ml) の約 1/2 ( $367.8 \pm 39.1$ ) にまで減少し、それ以降上昇するが妊娠 30 週前後 ( $652.7 \pm 41.9$ ) で非妊時レベルとなり、妊娠末期には非妊時の約 1.5 倍 ( $947.0 \pm 67.6$ ) にまで達する。血清 AI-PIII (図 6. A) も妊娠初期より急激に低下し、妊娠 14 週前後には非妊時 ( $19.0 \pm 1.4$  Units/l) の約 1/2 ( $8.7 \pm 0.9$ ) にまで減少する。それ以降上昇するが妊娠末期になってようやく非妊時のレベルに達し、ほぼ血漿 PICP と同様な推移をとっていた。即ち、妊娠中は骨形成は抑制された状態にあり、妊娠後期にかけて上昇してくることが示唆された。

産褥では、血漿 I-OC (図 4. A) は産褥 6 日 ( $4.9 \pm 0.4$  ng/ml) 以降上昇を続け、産褥 6 カ月 ( $12.8 \pm 1.6$ )、9 カ月 ( $15.1 \pm 2.2$ )、12 カ月 ( $13.9 \pm 2.6$ ) においては非妊時の約 3~3.5 倍の高値を示した。血清 AI-PIII (図 6. A, B) は、産褥 3 日 ( $16.1 \pm 1.5$  Units/l)、6 日 ( $14.2 \pm 0.8$ ) ではやや抑制された状態にあるが、それ以降上昇し、産褥 9 カ月 ( $24.8 \pm 2.1$ ) までは高値を示し、産褥 12 カ月 ( $15.6 \pm 2.4$ ) では非妊時レベルの値を示し、血漿 PICP と同様な推移をとっていた。即ち、骨形成は産褥 3 日、6 日では非妊時および妊娠中のレベルに抑制されているが、産褥 1 カ月以降、産褥 6 カ月もしくは 9 カ月までは骨形成が亢進し、それ以降低下していく傾向がみられた。授乳群と非授乳群では有意差はないが産褥 6 カ月以降授乳群が高値をとる傾向 (I-OC:  $p=0.05$ , AI-PIII:  $p=0.04$ ) が示された (図 4. B, 6. B)。

### 3. 末梢血単球からのサイトカイン産生

マクロファージ純粋分離プレートに末梢血単球を付着させ、48 時間培養後、培養上清中へのサイトカイン産生量を ELISA 法にて測定した。尚、細胞付着後のプレートをペルオキシターゼ染色し、付着細胞の 98.5% が単球であることを確認した。

妊娠中は、TNF- $\alpha$  (図 7. A) は妊娠初期より多く産生され、妊娠 14 週には非妊時 ( $35.3 \pm 6.4$  ng/ $10^6$  cells) の約 2 倍、妊娠末期には約 5~6 倍 ( $193.1 \pm 28.5$ ,  $p<0.01$ ) にも達した。IL-6 (図 8. A) は妊娠中、漸増傾向を示し、妊娠末期には非妊時 ( $354.6 \pm 68.9$ ) の約 3 倍 ( $1050.7 \pm 185.6$ ) に達した。即ち、妊娠中は末梢血単球からの TNF- $\alpha$ 、IL-6 産生が上昇し、高エストロゲン状態でありながら、骨吸収活性の高いサイトカインの産生が亢進していることが明かとなった。

産褥では、TNF- $\alpha$  (図 7. A) は急激に減少し、産褥 6 日 ( $97.6 \pm 20.9$ ) 以降、妊娠

末期に比べて有意な ( $p<0.01$ ) 低値を示した。産褥9カ月 ( $29.0\pm16.0$ ) 以降は非妊時のレベルの値を示した。IL-6 (図8. A) も分娩後は急激に減少し、産褥6日 ( $337.1\pm87.1$ ) では非妊時 ( $354.6\pm68.9$ ) のレベルを示した。産褥では妊娠末期のような大きな上昇はみられなかったが、3カ月 ( $702.6\pm205.4$ )、9カ月 ( $614.3\pm183.0$ ) ではやや高値を示した。即ち、産褥では低エストロゲン状態であるが、末梢血単球からのTNF- $\alpha$ 、IL-6といったサイトカインの産生は抑制されていた。TNF- $\alpha$  (図7. B)、IL-6 (図8. B) とともに、授乳群と非授乳群での差はみられなかった。

#### 4. 血漿中サイトカイン

血漿中sIL-6R濃度 (表1.)は非妊時 ( $844.2\pm73.8$  pg/ml) に比べ、妊娠中はやや高値 ( $921.6\pm55.3$ ) を示し、産褥6カ月 ( $870.7\pm40.4$ ) までは同様のレベルで推移し、産褥9カ月 ( $700.1\pm71.2$ ) 以降は低値を示した。産褥9カ月での低下は有意な変化ではないが、産褥1カ月に比べて低い傾向 ( $p=0.04$ ) がみられた。

血漿TNF- $\alpha$ 、IL-6濃度 (表2.) は末梢血単球からのサイトカイン産生と異なり、妊娠中、産褥ともに血中濃度の上昇はみられなかった。また血漿中sIL-6R、TNF- $\alpha$ 、IL-6濃度ともに、授乳群と非授乳群での差はみられなかった。

以上より、妊娠中は高エストロゲン状態にもかかわらず、骨吸収活性の高いサイトカインの末梢血単球からの産生が増加し、骨吸収が亢進していた。骨形成は反対に抑制され、負のアンカップリング状態 (metabolic uncoupling of bone turnover with high resorption and low formation) にあった。産褥ではエストロゲン低値となるが、末梢血単球からのサイトカインの産生はむしろ低下していた。さらに骨吸収活性の高いサイトカインの産生は低下しているにもかかわらず、産褥6カ月までは骨吸収は亢進し、それ以降骨吸収は低下していた。産褥での骨形成は、産褥6カ月もしくは9カ月まで亢進し、その後低下していたが、骨吸収に比べ、骨形成優位であり、正のアンカップリング状態 (metabolic uncoupling of bone turnover with low resorption and high formation) にあった。血漿中sIL-6Rは有意な変化はなかったが、妊娠中から産褥6カ月までは、やや高値を示し、産褥9カ月以降低下する傾向 ( $P=0.04$ )を示した。また授乳群は非授乳群に比べ、骨形成、骨吸収ともに亢進する傾向が

みられた (D-Pyr:  $p=0.2$ , TrACP:  $p=0.2$ , I-OC:  $p=0.04$ , Al-PH:  $p=0.04$ )。

## V. 考 察

骨代謝マーカーを用いて検討したところ、妊娠中は骨吸収が亢進し、骨形成は抑制された負のアンカップリング状態 (metabolic uncoupling of bone turnover with high resorption and low formation) にあり、母体の骨量は減少することが示唆された。妊娠中は破骨細胞の活性を示す TrACP および骨間質のコラーゲン線維の分解産物である Pyr、D-Pyr が類似した動態を示していることから破骨細胞自身が活性化して骨吸収が亢進し、骨コラーゲンの分解が生じているといえる。これに対し、骨形成は妊娠初期から中期では非妊時のレベルよりも低く抑制されていた。

産褥では産褥 6 カ月もしくは 9 カ月までは、骨吸収、骨形成ともに亢進し、その後は妊娠中とは逆に骨吸収は抑制され、骨形成優位の正のアンカップリング状態 (metabolic uncoupling of bone turnover with low resorption and high formation) にあることが示唆された。産褥 3 日で骨吸収マーカー、骨形成マーカーが共に一過性の低下傾向を示した後、産褥 6 日にかけて上昇するか、同レベルで推移する傾向がみられた。産褥 6 日では、非妊時にはほぼ一定である (Beardsworth 1990) といわれている尿中総 Pyr/総 D-Pyr 比が上昇していた。産褥では増大した子宮が短時間に縮小し復古していくが、総 Pyr の急上昇する時期はこの子宮復古の時期と一致しており、子宮の復古に伴うコラーゲン分解産物の増加により、総 Pyr が高値を示したことも考えられる。しかし、産褥 6 日での激しい変化には、TrACP といった子宮の復古の影響は受けないと思われるマーカーにおいても同様の傾向がみられることから、これらマーカーの変化はこの時期の骨代謝の変化を反映していると考えられる。

授乳群と非授乳群での差はみられなかった。産褥早期 (6 カ月まで) では、授乳の有無に関わらず、骨吸収及び骨形成が共に亢進した高代謝回転型の骨代謝状態がみられた。それ以降は有意差はないが、授乳群では非授乳群に比べて、骨吸収及び骨形成が共に高い傾向がみられた。授乳による骨量減少 (Sowers 1993, Kalwarf 1995) から考えると、授乳群において有意に骨吸収及び骨形成が共に高くなり、高代謝回転型の骨代謝状態が出現し、骨量減少が生じることが考えられるが、本研究における授乳群には母乳栄養のみの者の他、混合栄養の者も含まれており、また非授乳群は採血時点

で授乳を行っていない者であり、全く授乳を行っていない者の他、途中まで授乳を行っていた者も含まれ、サンプル数も少なかったため有意差がみられなかったものと思われる。

妊娠中の母体の骨代謝には、胎児側の骨代謝の影響がある。母体に比べて胎児側の骨代謝マーカーが高値を示す(福岡 1993, Yasumizu 1996)ことから、母体での骨代謝マーカーの上昇には胎児由来のものが含まれている可能性も否定できない。しかし、分娩時に得たさい帯動脈血と母体血での骨代謝マーカーの比較では、胎児側では骨形成が強く亢進しており、胎児側での I-OC は母体の約 10 倍、PIP では約 4 倍の高値であり、骨形成優位の高代謝型骨回転となっているのに対し、母体側では骨形成は抑制され、骨吸収が亢進しており、胎児と母体の骨代謝は全く異なる動態にある(福岡 1993, Yasumizu 1996)。本研究において、胎児および胎盤の影響がなくなる産褥 3 日では、妊娠 38 週ごろに比べ、各代謝マーカーは約 10% 程低下したが、これが胎児、胎盤系の影響を受けて上昇した分であると推測される。産褥 3 日においても骨吸収マーカーは非妊時の約 1.2~1.4 倍の高値を示し、骨形成に比べて骨吸収が優位であることから、本研究の骨代謝マーカーの結果は母体の影響が大部分であり、胎児の影響はその 10 分の 1 程度のわずかなものであるといえる。

本研究では妊娠中は後期にかけて骨吸収が亢進し、骨量が減少する可能性が示唆されたが、これまでの妊娠中の骨量についての報告では表 3、4 に示す如く、減少する、変化しない等と一定した傾向がみられない。一定の傾向が認められない原因としては、測定誤差がなお高い異なった多種の骨密度測定手技 (SPA、DPA、超音波法等) で行われていることや測定する骨部位が一定していないことがあげられる。例えば Christiansen ら(1976)は前腕骨で骨塩量の変化を認めておらず、Drinkwater (1991) も前腕骨においては骨塩量の変化はないが、大腿骨、腰椎骨では骨塩量が減少すると報告している。さらに両側大腿骨の骨塩量については Brooks ら(1990)が分娩後 48 時間以内に測定し、妊娠していないコントロール群と比較して骨塩量が低値であることを認めている。胎児の重量負荷を考えると、荷重骨と非荷重骨でも差が出ると思われる。また海綿骨と皮質骨では骨代謝動態が異なり、海綿骨量の含有量によってもその差は大きくなるのは当然である。更に骨代謝マーカーは全身の骨量変化を総計した結果を測定しているのものであり、骨局所の変化を見るものではない。骨量の変化は骨

代謝の変化に遅れて出現するものであるから、マーカーの変化と骨量の変化にずれがあることも考慮すべきである。

妊娠および産褥に発症する妊娠性骨粗鬆症が知られている。本疾患は Nordin と Roper (1955) が Post-Pregnancy Osteoporosis として 報告して以来、症例報告が散見されるものであり、これは妊娠中に発症する稀な原因不明の骨粗鬆症であると考えられてきた(Khastgir 1994)。頻度は極めて稀であり、妊娠中は高エストロゲン状態にあるので、その原因は不明であると考えられてきたのは当然である。そこで文献で抽出可能な症例を検討し、発症時期別にみたのが (図 10.) である。その結果、産褥よりもむしろ妊娠中に発症することが多く、産褥での発症は妊娠中に比べれば少ない結果を得た。この発症図をみると、今回検討した骨吸収及び形成マーカーの推移に極めて類似したものと見える。妊娠中や産褥 1 カ月以内の産褥早期に発症したものの中には、多くの重症例が含まれている。産褥早期で発症する場合には、妊娠中の骨量減少が遅れて顕在化したものと考えた方が、骨代謝回転の結果からは理解しやすい。部位別にみると、妊娠性骨粗鬆症は腰痛あるいは背部痛をもって発症する例が多く、大腿骨や腰椎骨の骨量減少が主な変化と考えられる。Drinkwater の報告(1991)では妊娠中の腰椎と大腿骨の減少があり、妊娠性骨粗鬆症においても妊娠中の生理的骨量減少においても腰椎・大腿骨での骨量減少が特徴であるといえる。

以上のようなことを考慮すると、今回の骨代謝マーカーの結果は妊娠中に骨量が減少することを強く示唆するものであり、妊娠中の腰椎骨や大腿骨等での骨量減少の報告を裏付けるものである。

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  $IL-1 \alpha, \beta$  (Gowen 1983, Lorenzo 1987, Gowen 1986, Canalis 1986, Stashenko 1987)、 $IL-6$  (Girasole 1992, Jilka 1992, Passeri 1993)、 $TNF \alpha, \beta$  (Bertolini 1986, Thomsom 1987)、macrophage colony stimulating factor (M-CSF) (Takahashi 1991, Tanaka 1993)、granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) (Schneider 1989, Kurihara 1989) 等のサイトカインが末梢血単球または骨髓間質で過量産生され、骨吸収を惹起することによって生じる現象である。すなわちエストロゲンの効果はこれらサイトカインを介する効果であり、直接の生理作用はサイトカインが担っている。そのため、メディエーターとしてのこれらサイトカインの動



態を検討することが骨代謝の解析に重要となる。

IL-1 と TNF  $\alpha$  は最も強力な骨吸収惹起物質で upstream cytokines と呼ばれる。これらのサイトカインは僅かな変化によって、downstream cytokines と呼ばれる別の一群のサイトカイン (IL-6、M-CSF、GM-CSF 等) の産生を強く制御する (Pacifci 1996)。大部分のサイトカインは、骨芽細胞及び骨髄間質細胞で産生されている (Fibbe 1988、Rifas 1995)。しかし upstream cytokines である IL-1 と TNF  $\alpha$  は末梢血単球及びマクロファージが主たる産生部位である (Dinarello 1991)。そこで本研究では末梢血単球のサイトカイン動態が重要であるとして検討を行った。末梢血単球でのサイトカイン産生が遠隔に位置する骨局所での代謝を反映するという理由は以下の仮説に基づいている。

単球の形成過程で骨髄の微少環境が単球のサイトカイン遺伝子発現能を制御しており (Horowitz 1993)、末梢血中へ流出しても形成過程で暴露されていた骨髄微少環境の影響が持続する (Witcell 1991)。即ち末梢血単球のサイトカイン遺伝子発現は形成過程で暴露された骨髄環境を反映するものといえる。更にこの末梢血単球が骨表面に接着して、接着刺激により産生されるサイトカインが骨吸収メディエーターとして骨局所で機能する (Dayer 1986、Fuhlbrigge 1987、Thorens 1987、Pacifci 1991、1992)。それ故に骨局所での動態は末梢血単球の分析で解析可能であると考えられる (Pacifci 1996)。この考え方は当初極めて大胆な仮説としか見られていなかったがこれを裏付ける事象が次第に明らかになってきている。

閉経または卵巣摘除により末梢血単球より IL-1、TNF- $\alpha$ 、GM-CSF などの骨吸収活性の高いサイトカインの産生が増加してくるが、これにエストロゲンを補充投与するとサイトカインの産生は減少する。この推移と全く平行して骨吸収マーカーは変化する (Pacifci 1989、1990)。更に Paget 病と閉経後の骨吸収亢進では、末梢血単球と骨髄単球の両方でサイトカイン産生が一致した動態を示し (Pioli 1989、Choen-Solal 1995)、慢性関節リウマチ、子宮内膜症、飢餓性高 Ca 尿症患者では骨量の減少があり、それは末梢血単球でサイトカインの過剰産生を同時に伴っている (Sambrook 1988、Comite 1989、Pacifci 1990)。更にベッドレスト実験での骨量減少時にも末梢血単球での骨吸収性サイトカイン産生は上昇する (Fukuoka 1994)。

このような視点に立脚して、末梢血単球でのサイトカイン産生を分析した。その結

果、高エストロゲン ( $17\beta$ -estradiol) 状態にある妊娠中では末梢血単球からの TNF- $\alpha$  や IL-6 といった骨吸収活性の高いサイトカインの産生が上昇し、破骨細胞機能が亢進し、骨吸収優位となっており、低エストロゲン状態となる産褥ではむしろこれらのサイトカインの産生の抑制がおり、破骨細胞機能は抑えられ、骨形成優位となることが明らかとなった。mRNA の発現においても非妊時に比べ、妊娠末期で強く発現することが確認されている (春名 1994)。これは閉経期、卵巣摘出後やホルモン補充療法中にみられるようなエストロゲンとサイトカインの関係とは全く異なっており、なぜこのような現象が生じるのか、考察を試みたい。

エストロゲンは間接的にサイトカイン遺伝子発現を調節していることが少しずつ明らかになってきている。末梢血単球及びマクロファージにはエストロゲンのレセプターが存在している (Weusten 1986, Cutolo 1993)。また IL-1/CAT assay、TNF- $\alpha$ /CAT assay では、共にエストロゲンは IL-1、TNF promoter 活性を抑制し (Kimble 1996)、単球での IL-1 mRNA 産生を用量依存性に抑制する (Polan 1989)。しかし、これらサイトカイン遺伝子は estrogen responsive element (ERE) を欠いている (Dinarello 1994) ので、エストロゲンはサイトカイン遺伝子へ直接に作用するのではなく、何らかの経路を介する間接的な作用によって末梢血単球に作用するか、または骨髓での単球形成過程でサイトカイン産生を制御していると考えられる。例えば卵巣摘出(OVX)マウスの骨髓細胞から IL-6 は過量に産生され、エストロゲン添加により抑制されるが、これは IL-6 プロモーター近位の 225bp の転写活性をエストロゲンが間接的に抑制していることにより生じる現象である (Pottiratz 1994, Ray 1994)。同様にヒト骨芽細胞および骨髓細胞では IL-6 プロモーターに対する間接的抑制効果をエストロゲンが持っている (Stein 1995)。

しかし逆にエストロゲン欠乏は IL-6 産生を引き起こさないと報告もある。エストロゲンレセプターを有するヒト骨細胞及び骨髓間質細胞では、エストロゲンに IL-6 産生を抑制する効果は認められず (Rifas 1995, Rickard 1992, Chaudhary 1992)、ヒトで卵巣摘出した場合、IL-6 の末梢血単球での産生増加は起こらないが、sIL-6R の血中濃度の上昇が起こり、更に骨細胞に存在する IL-6 レセプターのシグナル伝達蛋白である gp130 の増加を促す作用 (Girasole 1995) があり、閉経期の骨減少機構は sIL-6 R の血中濃度と平行して起こっている (Maruo 1996) という報告がされている。

即ちエストロゲン欠乏では骨局所でのサイトカインの過量発現よりも、むしろ gp130 や sIL-6R を増加させることにより、一定のサイトカイン産生量であっても、その効果を増強させて骨吸収を促進するという考え方がある (Pacifci 1996)。

そこで今回、sIL-6R の血中濃度の推移を検討した。妊娠中はやや高値をとり、産褥 6 カ月まで妊娠中と同じレベルで推移し、それ以降は減少する傾向 ( $p=0.04$ ) がみられた。末梢血単球からのサイトカイン産生をみると分娩後は急速に減少している。しかし骨吸収マーカーは 6 カ月頃まで妊娠末期の高値で推移してそれ以降減少した。今回は、サンプル数が少なく統計的な有意差には至らなかったが、相応の危険率を考慮すれば血漿中 sIL-6R の変化が産褥 6 カ月までの骨吸収亢進に関与している可能性が考えられた。即ち産褥 6 カ月までの骨吸収マーカーの高値はサイトカインによるものでなく、むしろレセプターの機能亢進により出現した可能性が示唆される。さらにサイトカインレセプターのシグナル伝達蛋白である gp130 が増加して骨吸収性サイトカイン作用を増強して骨代謝を調節している可能性も考えられ、今後検討していく必要がある。

妊娠、産褥でのサイトカイン遺伝子発現は、エストロゲン以外の因子により支配され、これが強い免疫調節因子 (immunomodulator) とし、機能している可能性がある。またエストロゲン量が過量になると二相性に作用して逆にサイトカイン遺伝子を発現するように作用する可能性も考えられる。単球は妊娠中に増加する活性型ビタミン D、グルココルチコイド、エストロゲン、プロゲステロンの受容体を有しており(当研究室、松井未発表データ)、いずれもサイトカイン産生を制御していると想像される。例えば免疫性脳症の治療薬として期待されている活性型ビタミン D (Hewison 1992) は、免疫機構を強く調節している可能性がある。活性型ビタミン D は末梢血単球より IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ 、IL-6 の産生を促進し (Taimi 1993)、同時に IL-2、Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、GM-CSF の発現を抑制する作用も持っている (Thomasset 1994)。またヒト単球系細胞の M-CSF 産生を促進する (Kaneki 1993)。この活性型ビタミン D は妊娠中に非妊時の約 3-5 倍の血中濃度 ( $146 \pm 32$  pg/ml) にまで達する (福岡 1988) ので本物質の関与が強く推定される。また末梢血単球の活性型ビタミン D のレセプターは分娩時は増加するのに対し、エストロゲンレセプターはむしろ減少傾向を示している(当研究室、松井未発表データ)。妊娠中はエストロゲンはレセプターのダウンレギュレーションを受

けて、その効果が低下し、反対に活性型ビタミンDは血中濃度及びレセプターの増加により、サイトカインの過量発現をきたしていることも考えられる。

骨吸収性サイトカインの血中濃度は閉経期の高代謝型回転状態にあっても上昇しない (Khosla 1994) といわれている。しかし最近、妊娠末期では骨吸収性サイトカインの血中濃度は上昇し、骨吸収マーカーとよく相関するという報告 (Taga 1997) が出た。そこで念のために血中サイトカイン濃度の測定を行ったが、血中濃度での上昇は全く認められなかった(表2.)。骨吸収性サイトカインの産生は末梢血単球が接着することにより生じ、血中では産生しない (Pacifici 1991, Pacifici 1992) といわれている。これはあくまでも骨表面局所でおこる現象であって、骨局所で産生されたサイトカインが血中に漏出して血中濃度を上昇させるならば、極めて大量のサイトカインが局所で産生されなければならず、血中での上昇は考えにくい。即ち妊娠中の骨量減少機構はあくまでも骨局所のサイトカインの亢進によるものであって、血中での骨吸収性サイトカインの上昇はないといえる。

更に骨吸収亢進メカニズムとして、エストロゲン減少に加え、PTHも単球や骨髄ストローマ細胞を刺激し、M-CSF、GM-CSF、IL-6を産生し、破骨細胞の分化増殖及び活性を高めることによって骨吸収が亢進する (McSheehy 1986, Gowen 1983, Bertolini 1986, Elford 1987, Thompson 1986, 1987)。妊娠中は低カルシウム血症にあって、高PTH血症にあるといわれていた。しかし胎盤に由来する高活性型ビタミンD血症により副甲状腺のPTH遺伝子発現が抑制されて活性のあるPTH濃度は低い (Davis 1988) ので、PTHがサイトカイン遺伝子発現を調節している可能性はないと思われる。

IL-1はタイプIIL-1レセプターに結合して生理作用を発揮するが、このレセプターとの結合には多くの因子により調節されている。すなわちIL-1 receptor antagonist (IL-1ra) (Thompson 1991)、可溶性タイプIIL-1レセプター(sIL-1RI)、可溶性タイプIIIL-1レセプター(sIL-1RII) (Symons 1995, Burger 1995)、anti-IL-1  $\alpha$  autoantibodies (Hansen 1991)、によりその結合は抑制される。しかもこれらの拮抗因子の産生はやはりエストロゲンの影響を強く受けており、これら拮抗因子の動態もみなくてはならない。

妊娠、産褥での骨代謝動態はこれまでのエストロゲンによる骨保護作用だけでは説



明のできないものである。今後、これらサイトカインの生理活性を直接に検討する必要がある。エストロゲン、活性型ビタミンD、グルココルチコイド、プロゲステロン等のホルモンレセプターの増減、レセプターに対する拮抗因子の動態もみていく必要がある。さらにエストロゲンはサイトカイン遺伝子へ直接に作用するのではなく、何らかの経路を介する間接的な作用によって制御していると考えられ、サイトカインレセプターのシグナル伝達蛋白や転写因子の動態を検討していくことが今後の課題であろう。

妊娠中の母体の骨量減少について、病的な現象であるとの観点は必ずしも適切ではない。妊娠中の母体の骨代謝は、胎児側のカルシウム需要と密接な関係がある。妊娠中の母体での骨吸収マーカーは、多胎妊娠では単胎妊娠に比べて高く、胎児側でのカルシウム等の需要が多いほど、母体での骨吸収が上昇するという報告 (Okah 1996) がある。従って、妊娠中の母体の骨量減少には、胎児発達のための適応的な生理的メカニズムの観点からの検討も今後必要であろう。妊娠性骨粗鬆症については、このような生理的変化の極端な例である可能性、あるいは全く別の特発性のメカニズムである可能性の両面からの検討が必要であろう。

## VI. 結 論

妊娠中は骨吸収が亢進し、骨形成は反対に抑制され、負のアンカップリング状態 (metabolic uncoupling of bone turnover with high resorption and low formation) にあり、妊娠中に母体骨量が減少する可能性が示された。このような現象が生じる原因として、高エストロゲン状態にもかかわらず、末梢血単球から骨吸収活性の高いサイトカインの産生が増加していることが明かとなった。

産褥6カ月もしくは9カ月までは骨吸収、骨形成ともに亢進し、その後は骨吸収に比べ、骨形成優位の正のアンカップリング状態 (metabolic uncoupling of bone turnover with low resorption and high formation) にあることが示唆された。産褥では、低エストロゲン状態にもかかわらず、末梢血単球からの骨吸収活性の高いサイトカインの産生は低下しており、血漿中 sIL-6R は妊娠中から産褥6カ月までは、やや高値を示したことから、産褥6カ月までの骨吸収亢進には、サイトカイン自体ではなくサイトカインレセプターの変化が関与している可能性も考えられた。



## 文 献

- Beardsworth LJ, Eyer DR, Dickson IR, Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylysyl pyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. *J bone Miner Res* 7: 671-676, 1990.
- Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR, Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors. *Nature* 319: 516-518, 1986.
- Brooks GG, Thomas BV, Wood MJ, Hip pain in late pregnancy. *J Reprod Med* 35: 969-970, 1990.
- Burger D, Chicheportiche R, Giri JG, Dayer JM, The inhibitory activity of human interleukin-1 receptor antagonist is enhanced by type II interleukin-1 soluble receptor and hindered by type I interleukin-1 soluble receptor. *J Clin Invest* 96: 38-41, 1995.
- Canalis E, Interleukin-1 has independent effects on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in cultures of rat calvariae. *Endocrinology* 118: 74-81, 1986.
- Chaudhary LR, Spelsberg TC, Riggs BL, Production of various cytokines by normal human osteoblast-like cells in response to interleukin-1  $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$ : Lack of regulation by 17  $\beta$ -estradiol. *Endocrinology* 130: 2528-2534, 1992.
- Christiansen C, Rodbro P, Heinild B, Unchanged total body calcium in normal human pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 55: 141-143, 1976.
- Choen-Solal ME, Graulet AM, Guerris J, Denne MA, Bergot C, Morieux C, sedel L, Kuntz D, de Vernejoul MC, Bone resorption at the femoral neck is dependent on local factors in nonosteoporotic late postmenopausal women: An in vitro-in vivo study. *J Bone Miner Res* 10: 307-314, 1995.
- Comite F, Delman M, Hutchinson-Williams K, DeCherney AH, Jensen P, Reduced bone mass in reproductive-aged women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 69: 837-842, 1989.
- Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF, Changes in bone mineral density and markers of bone remodeling during lactation and postweaning in women consuming high amounts of calcium. *J Bone Miner Res* 10: 1312-1320, 1995.
- Cutolo M, Accardo S, Villaggio B, Clerico P, Bagnasco M, Coviello DA, Carruba G, Iacasto M, Castagnetta L, Presence of estrogen-binding sites on macrophage-like synoviocytes and CD8+, CD29+, CD45RO+ T lymphocytes in normal and rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum* 36: 1087-1097, 1993.
- Davis OK, Hawkins DS, Rubin LP, Posillico JT, Brown EM, Schiff I, Serum parathyroid Hormone (PTH) in pregnant women determined by an immunoradiometric assay for intact PTH. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 850-852, 1988.

- Dayer JM, Ricard-Blum S, Kaufmann MT, Herbage D, Type IX collagen is a potent inducer of PGE<sub>2</sub> and interleukin 1 production by human monocyte macrophages. *31*: 208-212, 1986.
- Dinareello CA, The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw* 5: 517-531, 1994.
- Dinareello CA, Inflammatory cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune diseases. *Curr Opin Immunol* 3: 941-948, 1991.
- Drinkwater BL, Chesnut CH III, Bone density changes during pregnancy and lactation in active women: a longitudinal study. *Bone Mineral* 14: 153-160, 1991.
- Elford PR, Felix R, Cecchini M, Trechsel U, Fleisch H, Murine osteoblastlike cells and the osteogenic cell MC3T3-E1 release a macrophage colony-stimulating activity in culture. *Calcif Tissue Int* 41: 151-156, 1987.
- Fibbe WE, van Damme J, Billiau A, Goslinsk HM, Voogt PJ, van Eeden G, Ralph P, Altrock BW, Falkenburg JH, Interleukin 1 induces human marrow stromal cells in long-term culture to produce granulocyte colony-stimulating factor and macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 71: 430-435, 1988.
- Fuhrbrigge RC, Chaplin DD, Kiely JM, Unanue ER, Regulation of interleukin 1 gene expression by adherence and lipopolysaccharide. *J Immunol* 1: 3799-3802, 1987.
- Fukuoka H, Kiriya M, Nishimura Y, Higurashi M, Suzuki Y, Gunji A, Metabolic turnover of bone and peripheral monocyte release of cytokines during short-term bed rest. *Acta Physiol Scand (Suppl)* 616: 37-41, 1994.
- 福岡秀興, 向井伸治, 小林康浩, 神保利春, Ca, Vit D 代謝の母子相関, ホルモンと臨床 36: 251-257, 1988.
- 福岡秀興, 桐山めぐみ, 清田宗男, 角田郁夫, 本田利江, 吉田孝雄, 佐藤和雄, 小島俊行, 日暮眞, 分娩時に得たさい帯血, 母体血よりみた胎児, 妊娠母体の骨代謝回転の比較, 第 66 回日本内分泌学会学術総会抄録集 69: M3-4, 1993.
- Girasole G, Giuliani N, Fisiopatologia dell'osteoporosi: ruolo dei fattori locali. [The physiopathology of osteoporosis: the role of local factors]. *Ann Ital Med Int* 10: 9s-17s, 1995.
- Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Boswell S, Boder G, Williams DC, Manolagas SC, 17 beta-estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for the antiosseoporotic effect of estrogens. *J Clinical Invest* 89: 883-91, 1992.
- Gowen M, Mundy GR, Actions of recombinant interleukin 1, interleukin 2, and interferon-gamma on bone resorption in vitro. *J Immunol* 1: 2478-2482, 1986.
- Gowen M, Wood DD, Ihrie EJ, McMuire MKB, Russell RGG, An interleukin 1 like factor stimulates bone resorption in vitro. *Nature* 306: 378, 1983.

- Hansen MB, Svenson M, Bendtzen K, Human anti-interleukin 1 alpha antibodies. *Immunol Lett* 30: 133-139, 1991.
- 春名(桐山)めぐみ、本田利江、清田宗男、角田郁夫、吉田孝雄、佐藤和雄、三浦雅一、畠啓視、日暮眞、福岡秀興、妊娠・産褥の骨代謝回転と末梢血単球でのサイトカイン mRNA 発現の解析、第 67 回日本内分泌学会学術総会抄録集 70: G2-9, 1994.
- Hayslip CC, Klein TA, Wray HL, Duncan WE, The effects of lactation on bone mineral content in healthy postpartum women. *Obstet Gynecol* 73: 588-592, 1989.
- Hewison M, Vitamin D and the immune system. *J Endocrinol* 132:173-175, 1992.
- Horowitz MC, Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects. *Science* 30: 626-627, 1993.
- Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* 257: 88-91, 1992.
- Kalkwarf HJ, Specker BL, Bone mineral loss during lactation and recovery after weaning. *Obstet Gynecol* 86: 26-32, 1995.
- Kaneki M, Inoue S, Hosoi T, Mizuno Y, Akedo Y, Ikegami A, Nakamura T, Shiraki M, Ito H, Suzu S, Motoyoshi K, Ouchi Y, Orimo H, Effect of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 on macrophage colony-stimulating factor production and proliferation of human monocytic cells. *Blood* 83: 2285-2293, 1994.
- Khastgir G, Studd J, Pregnancy-associated osteoporosis. *Br J Obstet Gynaecol* 101: 836-838, 1994.
- Khosla S, Peterson JM, Egan K, Jones JD, Riggs BL, Circulating cytokine levels in osteoporotic and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 707-711, 1994.
- Kimble RB, Srivastava S, Ross FP, Matayoshi A, Pacifici R, Estrogen deficiency increases the ability of stromal cells to support murine osteoclastogenesis via an interleukin-1 and tumor necrosis factor-mediated stimulation of macrophage colony-stimulating factor production. *J Biol Chem* 271: 28890-28897, 1996.
- Kurihara N, Suda T, Miura Y, Nakauchi H, Kodama H, Hiura K, Hakeda Y, Kumegawa M, Generation of osteoclasts from isolated hematopoietic progenitor cells. *Blood* 74: 1295-1302, 1989.
- Lamke B, Brundin J, Moberg P, Changes of bone mineral content during pregnancy and lactation. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 56: 217-219, 1977.
- Lorenzo JA, Sousa SL, Alander C, Raisz LG, Dinarello CA, Comparison of the bone-resorbing activity in the supernatants from phytohemagglutinin-stimulated human peripheral blood mononuclear cells with that of cytokines through the use of an antiserum to interleukin 1. *Endocrinology* 121:1164-1170, 1987.

- Maruo N., Chen JT, Ogata E., Shiraki M., Morita I, Serum level of soluble interleukin 6 receptor is correlated with the change of bone metabolism during estrogen therapy. *J Bone Min Res*, 11(sup1): s118, 1996.
- McSheehy PMJ and Chambers TJ, Osteoblast-like cells in the presence of parathyroid hormone release soluble factor that stimulates osteoclastic bone resorption. *Endocrinology* 119:1654-1659, 1986.
- NordinBEC, Roper A, Post-pregnancy osteoporosis. *Lancet* 1: 431-434, 1955.
- Okah FA, Tsang RC, Sierra R, Brady KK, Specker BL, Bone turnover and mineral metabolism in the last trimester of pregnancy: effect of multiple gestation. *Obstet Gynecol* 88: 168-173, 1996.
- Oursler MJ, Landers JP, Riggs BL, Spelsberg TC, Oestrogen effects on osteoblasts and osteoclasts. *Ann Med* 25: 361-371, 1993.
- 大西奉文、血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ活性測定に関する研究、日大医誌、49: 904-911、1990.
- Pacifici R, Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 11: 1043-1051, 1996.
- Pacifici R, Is there a causal role for il-1 in postmenopausal bone loss? [editorial]. *Calcif Tissue Int* 50: 295-299, 1992.
- Pacifici R, Brown C, Puscheck E, Friedrich E, Slatopolsky E, Maggio D, McCracken R, Avioli LV, Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 5134-5138, 1991.
- Pacifici R, Rifas L, McCracken R, Avioli LV, The role of interleukin-1 in postmenopausal bone loss. *Exp Gerontol* 25:309-316, 1990.
- Pacifici R, Rifa SL, McCrackenR, Vered I, McMurtry, C, Avioli LV, PeckWA, Ovarian steroid treatment blocks a postmenopausal increase in blood monocyte interleukin 1 release. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 2398-2402, 1989.
- Pacifici R, Rifas L, Teitelbaum S, Slatopolsky E, McCracken R, Bergfeld M, Lee W, Avioli LV, Peck WA, Spontaneous release of interleukin 1 from human blood monocytes reflects bone formation in idiopathic osteoporosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 4616-4620, 1987.
- Passeri G, Girasole G, Jilka RL, Manolagas SC, Increased interleukin-6 production by murine bone marrow and bone cells after estrogen withdrawal. *Endocrinology* 133: 822-828, 1993.
- Pioli G, Girasole G, Pedrazzoni M, Sansoni P, Erroi A, Davoli L, Ciotti G, Mantovani A, Passeri M, Spontaneous release of interleukin-1 (IL-1) from medullary mononuclear cells of pagetic subjects. *Calcif Tissue Int*: 45: 257-259, 1989.

- Polan ML, Loukides J, Nelson P, Carding S, Diamond M, Walsh A, Bottomly K. Progesterone and estradiol modulate interleukin-1 beta messenger ribonucleic acid levels in cultured human peripheral monocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 69: 1200-1206, 1989.
- Rickard D, Russell G, Gowen M: Oestradiol inhibits the release of tumour necrosis factor but not interleukin 6 from adult human osteoblasts in vitro. *Osteoporos Int* 2: 94-102, 1992.
- Rifas L, Kenney JS, Marcelli M, Pacifici R, Cheng SL, Dawson LL, Avioli LV: Production of interleukin-6 in human osteoblasts and human bone marrow stromal cells: evidence that induction by interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha is not regulated by ovarian steroids. *Endocrinology* 136: 4056-4067, 1995.
- Sambrook PN, Reeve J, Bone disease in rheumatoid arthritis. *Clin Sci* 74:225-230, 1988.
- Schneider GB, Relfson M, Pluripotent hemopoietic stem cells give rise to osteoclasts in vitro: effects of rGM-CSF. *Bone Miner* 5: 129-138, 1989.
- Sowers M, Corton G, Shapiro B, Jannausch ML, Crutchfield M, Smith ML, Randolph JF, Hollis B, Changes in bone density with lactation. *JAMA* 23: 3130-3135, 1993.
- Stashenko P, Dewhirst FE, Peros WJ, Kent RL, Ago JM, Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol* 138:1464-1468, 1987.
- Stein B, Yang MX, Repression of the interleukin-6 promoter by estrogen receptor is mediated by nf-kappa b and c/ebp beta. *Mol Cell Biol* 15:4971-4979, 1995.
- Symons JA, Young PR, Duff GW, Soluble type II interleukin 1 (IL-1) receptor binds and blocks processing of IL-1 beta precursor and loses affinity for IL-1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 28: 1714-1718, 1995.
- 関根恭一、堀江均、畠啓視、南條正季、佐藤克彦、西井易穂、山本逸雄、森田陸司、蛍光検出高速液体クロマトグラフィによる尿中ビリジノリンおよびデオキシビリジノリンの定量、臨床化学、21:18-25、1992。
- Taga M, Yamaga A, Minaguchi H, Correlation of urinary excretion of bone resorption markers with serum levels of cytokines during pregnancy. *J Bone Min Res*, 12(sup1): s502, 1997.
- Taimi M, Defacque H, Commes T, Favero J, Caron E, Marti J, Dornand J, Effect of retinoic acid and vitamin D on the expression of interleukin-1 beta, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the human monocytic cell line U937. *Immunology* 79: 229-235, 1993.
- Takahashi N, Udagawa N, Akatsu T, Tanaka H, Shionome M, Suda T, Role of colony-stimulating factors in osteoclast development. *J Bone Miner Res* 6: 977-985, 1991.



- 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* 91: 257-263, 1993.
- Theintz G, Buchs B, Rizzoli R, Slosman D, Clavien H, Sizonenko PC, Bonjour JP. Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in healthy adolescents: evidence for a marked reduction after 16 years of age at the levels of lumbar spine and femoral neck in female subjects. *Clin Endocrinol Metab* 75:1060-1065, 1992.
- Thomasset M. Vitamin D and the immune system. *Pathol Biol*, 42:163-172, 1994.
- Thompson BM, Mundy GR, Chambers TJ. Tumor necrosis factors  $\alpha$  and  $\beta$  induce osteoblastic cells to stimulate osteoclastic bone resorption. *J Immunol* 138:775-779, 1987.
- Thompson BM, Saklatvala J, Chambers TJ. Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoblasts. *J Exp Med* 164:104-112, 1986.
- Thorens B, Mermod JJ, Vassalli P: Phagocytosis and inflammatory stimuli induce GM-CSF mRNA in macrophages through posttranscriptional regulation. *Cell* 27: 671-679, 1987.
- Weusten JJ, Blankenstein MA, Gmelig-Meyling FH, Schuurman HJ, Kater L, Thijssen JH. Presence of oestrogen receptors in human blood mononuclear cells and thymocytes. *Acta Endocrinol*, 112: 409-414, 1986.
- Witsell AL, Schook LB. Macrophage heterogeneity occurs through a developmental mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1: 1963-1967, 1991.
- Yamaga A, Taga M, Minaguchi H, Sato K. Changes in bone mass as determined by ultrasound and biochemical markers of bone turnover during pregnancy and puerperium: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 81:752-756, 1996.
- Yasumizu T, Kato J. Concentrations of serum markers of type I collagen synthesis and degradation and serum osteocalcin in maternal and umbilical circulation. *Endocr J* 43: 191-195, 1996.

表1. 妊娠、産褥でのsIL-6R値

	Non-preg.	Pregnancy (weeks)			Postpartum (months)	
		(~13)	(14~27)	(28~40)	(1)	(9)
Plasma sIL-6R (pg/ml)	844.2 (73.8)	842.9 (60.6)	860.1 (44.1)	904.5 (42.9)	955.3 (55.4)	700.1 (71.3)
n	12	13	34	34	18	6

Mean(S.E.),  $p=0.04$ ; postpartum 1m v.s. postpartum 9m

血漿soluble IL-6 receptor値をELISA法にて測定した。妊娠中から産褥1カ月にかけてやや高値を示し、  
 漸増していく傾向がみられたが、産褥9カ月では低値を示した。

表2. 妊娠、産褥でのTNF $\alpha$ 、IL-6血漿濃度および末梢血単球からの産生量

	Non-preg.	Pregnancy (weeks)		Postpartum (months)	
		( $\sim 19$ )	(20 $\sim$ )	( $\sim 3$ )	(6 $\sim 12$ )
Plasma TNF $\alpha$ (pg/ml)	152.8 (98.7)	101.5 (67.0)	225.8 (98.3)	212.7 (79.6)	232.5 (81.5)
Monocytic secretion of TNF $\alpha$ (ng/10 <sup>6</sup> cells)	35.3 (6.4)	129.9 <sup>**</sup> (17.6)	171.3 <sup>**</sup> (16.4)	72.3 <sup>##</sup> (8.5)	41.8 <sup>##</sup> (11.2)
Plasma IL-6(pg/ml)	128.3 (60.8)	99.4 (28.3)	121.2 (19.8)	80.7 (18.5)	112.9 (35.4)
Monocytic secretion of IL-6 (ng/10 <sup>6</sup> cells)	431.3 (98.8)	574.7 (109.3)	825.9 (101.2)	537.2 (78.0)	417.2 (92.3)

Mean(S.E.), \*\*:  $p < 0.01$  v.s. non-preg., ##:  $p < 0.01$  v.s. preg.38w.

血漿TNF $\alpha$ 、IL-6値および、48時間培養した末梢血単球からのTNF $\alpha$ 、IL-6産生量をELISA法にて測定した。末梢血単球からのTNF $\alpha$ 産生量は妊娠中高値を示し産褥で低下したのに対し、血漿濃度では変化はみられなかった。

表3. 妊娠中の骨量変化に関する報告 (参考文献は付録に記す)

Reporter	year	Study	Sample size cases(controls)	Measurement technology	Site(s)	Results
Christiansen	1976	Long	13(0)	SPA	forearm	no change
Lamke	1977	Cross	14(9)	X-ray, spectrophotometry	forearm	loss in trabecular, but not cortical bone
Drinkwater	1991	Long	6(25)	SPA, DPA	radius, lumbar, femoral neck, femur, tibia, fibula	loss in radius and femoral neck, increase in tibia
Sowers	1991	Long	32(32)	DPA	lumber	no change
Cross	1995	Long	10(0)	SPA	radius	no change
Yamaga	1996	Long	18(0)	US	right os calcis	decrease in the 3rd trimester of pregnancy

LONG: longitudinal study, CROSS: cross-sectional study

SPA: single-photon absorptiometry, DPA: dual-photon absorptiometry, US: ultrasound bone densitometry

表4. 授乳期の骨量変化に関する報告 (参考文献は付録に記す)

Reporter	year	Study	Sample size cases (controls)	Measurement technology	Site(s)	Results
Atkinson	1970	Long	10	SPA	lower femoral shaft	loss of 2.2% over 100 days lactation
Lamke	1977	Cross	18(9)	X-ray, spectrophotometry	forearm	short-term loss; long- term gain
Chan	1987	Long	teens: 21(15)	SPA	distal left radius	loss of 10% BMC
Hayslip	1989	Long	12(7)	SPA, DPA	radius, lumbar spine	6.5% loss at spine; none at Radius
Kent	1990	Cross	40(40)	SPA	forearm	7% loss: recovery
Drinkwater	1991	Long	6(25)	SPA, DPA	radius, lumbar, femoral neck, femur, tibia, fibula	3% loss at hip; no change at other sites
Sowers	1993	Cross	88(20)	DEXA	lumbar spine, femoral neck	5% loss hip and spine; recovery
Cross	1995	Long	10(0)	SPA	radius	no change
Kalkwarf	1995	Long	the lactation cohort: 65(48), the weaning cohort: 40(43)	DEXA	total body, lumbar spine, distal radius	loss in total body and lumbar spine BMC during lactation but gain after weaning
Prentice	1995	Long	30 with and 30 without Ca supplement	SPA	radius	no change
Yamaga	1996	Long	18(0)	US	right os calcis	no change

LONG: longitudinal study, CROSS: cross-sectional study

SPA: single-photon absorptiometry, DPA: dual-photon absorptiometry,

DEXA: dual-energy X-ray absorptiometry, US: ultrasound bone densitometry

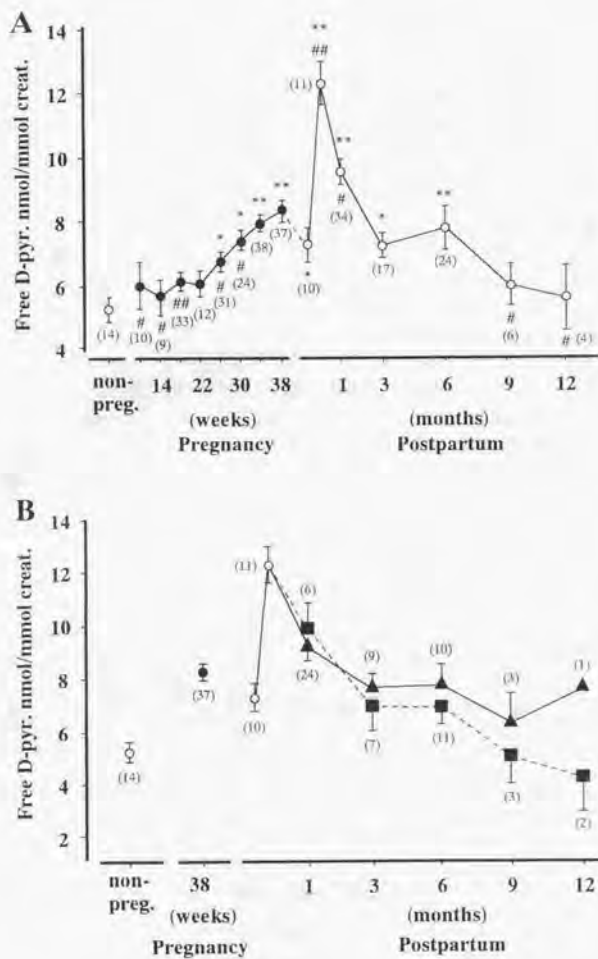


図1. 非妊時、妊娠中、産褥での尿中遊離型 deoxypyridinoline (Free D-Pyr.) 値  
 A: 非妊時、妊娠中、産褥3、6日及び1~12カ月での推移、B: 授乳群(▲)と非授乳群(■)の比較  
 Mean±S.E., \*\*:  $p<0.01$ , \*:  $p<0.05$  v.s. non-preg., ##:  $p<0.01$ , #:  $p<0.05$  v.s. preg. 38w.  
 対象者数は( )内に示す。尿中遊離型 D-Pyr. は妊娠初期から後期にかけて漸増し、妊娠後期では非妊時の約1.6倍の高値を示した。産褥6日では非妊時の約2.5倍まで急上昇し、その後漸減するが、産褥6カ月では妊娠末期のレベルになり、9カ月以降は非妊時レベルまで低下した。授乳群と非授乳群では有意差は認められないが、授乳群は非授乳群に比べてやや高値をとる傾向がみられた。



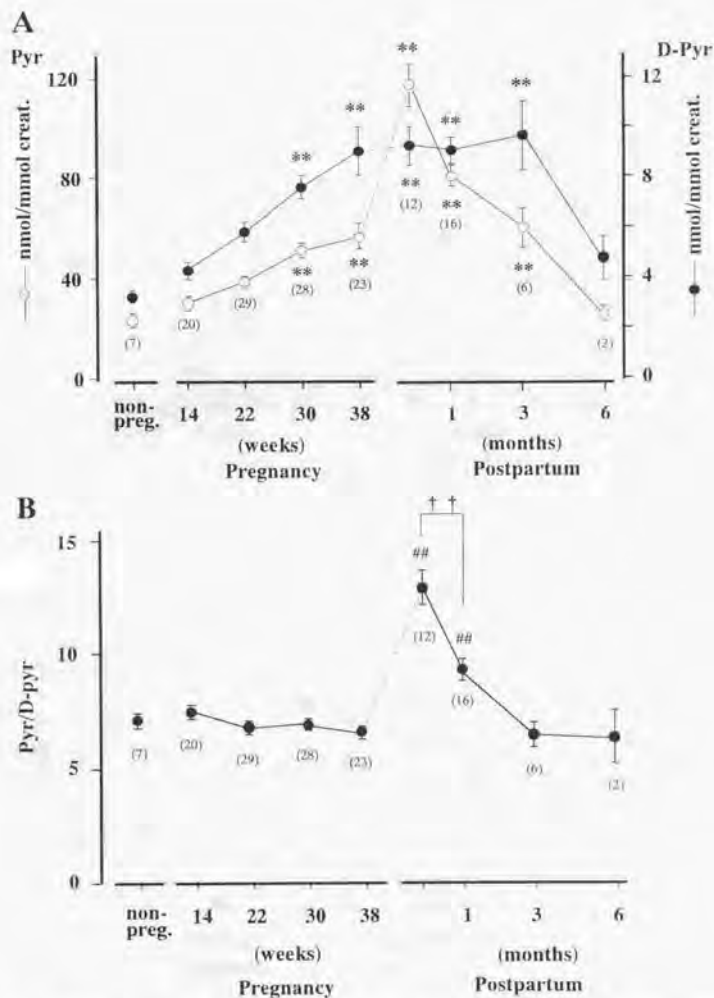


図2. 非妊時、妊娠中、産褥での尿中総 pyridinoline (Total Pyr)、総 deoxypyridinoline (Total D-Pyr.) 値

A: 非妊時、妊娠中、産褥6日及び1~6カ月での推移、B: 非妊時、妊娠中、産褥での尿中総 Pyr / D-Pyr 比  
Mean  $\pm$  S.E., \*\*:  $p < 0.01$  v.s. non-preg., ##:  $p < 0.01$  v.s. other stage including non-preg., ††:  $p < 0.01$   
対象者数は( )内に示す。尿中総 Pyr. は妊娠初期から後期にかけて漸増し、妊娠後期では非妊時の約2倍の高値を示した。産褥6日では非妊時の約4倍まで急上昇し、その後漸減するが産褥6カ月は非妊時レベルまで低下した。尿中総 D-Pyr も妊娠中漸増し、妊娠後期から産褥3カ月までは非妊時の約2~3倍もの高い値を示し、産褥6カ月ではほぼ非妊時のレベルまで低下した。尿中総 Pyr / D-Pyr 比は妊娠中は非妊時とほぼ同じ比率であったが、産褥6日、1カ月では高値を示した。産褥3カ月以降は非妊時と同じ比率となった。

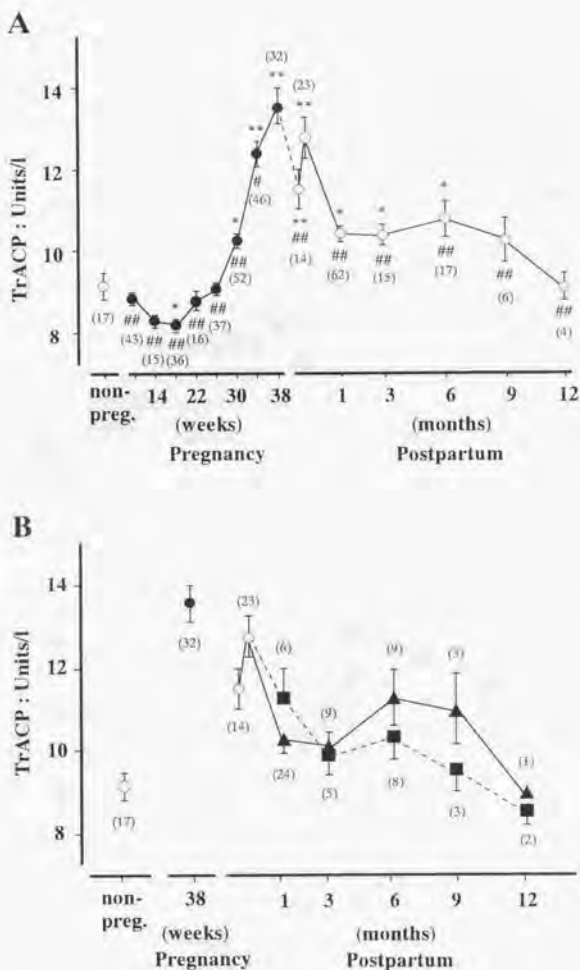


図3. 妊娠、産褥での血清tartrate-resistant acid phosphatase(TrACP)値

A. 非妊時、妊娠中、産褥3、6日及び1~12カ月での推移、B. 授乳群(▲)と非授乳群(■)の比較  
Mean±S.E., \*\*:  $p<0.01$ , \*:  $p<0.05$  v.s. non-preg., #:  $p<0.01$ , #:  $p<0.05$  v.s. preg. 38w.

対象者数は( )内に示す。TrACPは妊娠前期(14-19週)では軽度な抑制状態にあり、その後漸増し、妊娠38週では非妊時の1.5倍の高値を示した。分娩後3日で一過性の低下がみられるが、6日には再度上昇し、産褥1か月から9か月までは妊娠30週ごろの高いレベルで推移し減少した。授乳群と非授乳群では産褥6か月以降、授乳群が高値をとる傾向が示された。

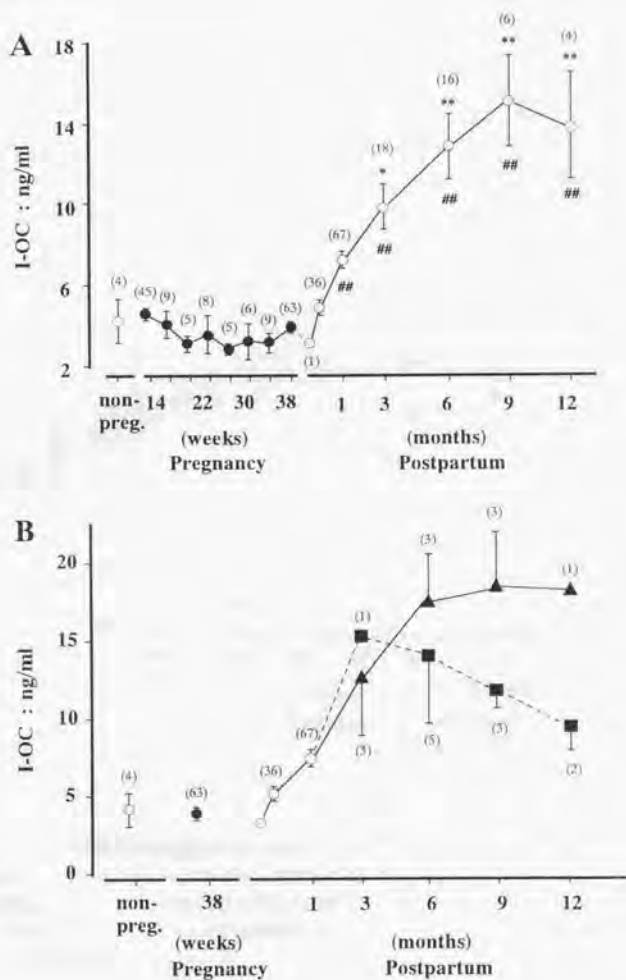


図4. 妊娠、産褥での血清intact osteocalcin (I-OC)値

A. 非妊時、妊娠中、産褥3、6日及び1～12カ月での推移、B. 授乳群(▲)と非授乳群(■)の比較

Mean±S.E., \*\*:  $p < 0.01$ , \*:  $p < 0.05$  v.s. non-preg., ##:  $p < 0.01$  v.s. preg. 38w.

対象者数は( )内に示す。妊娠中は非妊時よりも上昇することはなく、低い値で推移した。分娩後6日以降上昇を続け、産褥6カ月、9カ月、12カ月においては非妊時の約3～3.5倍の高値を示した。授乳群と非授乳群では産褥6カ月以降授乳群が高値をとる傾向が示された。

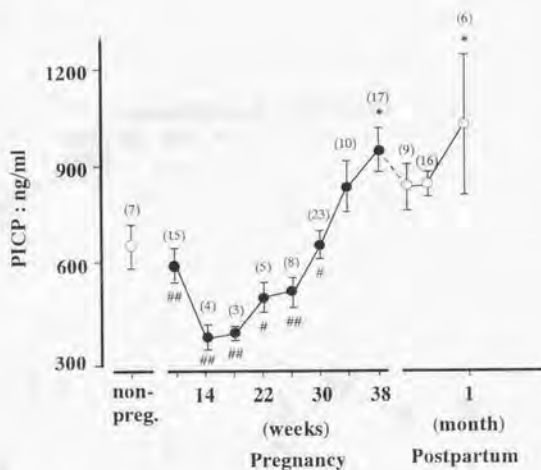


図5. 妊娠、産褥での血漿procollagen type I c-peptide (PICP)値

Mean ± S.E., \*:  $p < 0.05$  v.s. non-preg., ##:  $p < 0.01$  #:  $p < 0.05$  v.s. preg, 38w.

対象者数は( )内に示す。妊娠初期より急激に低下し、妊娠15週前後には非妊時の約1/2にまで減少する。それ以降上昇するが妊娠30週になってようやく非妊時のレベルに達する。産褥1カ月では妊娠末期のレベルにあった。

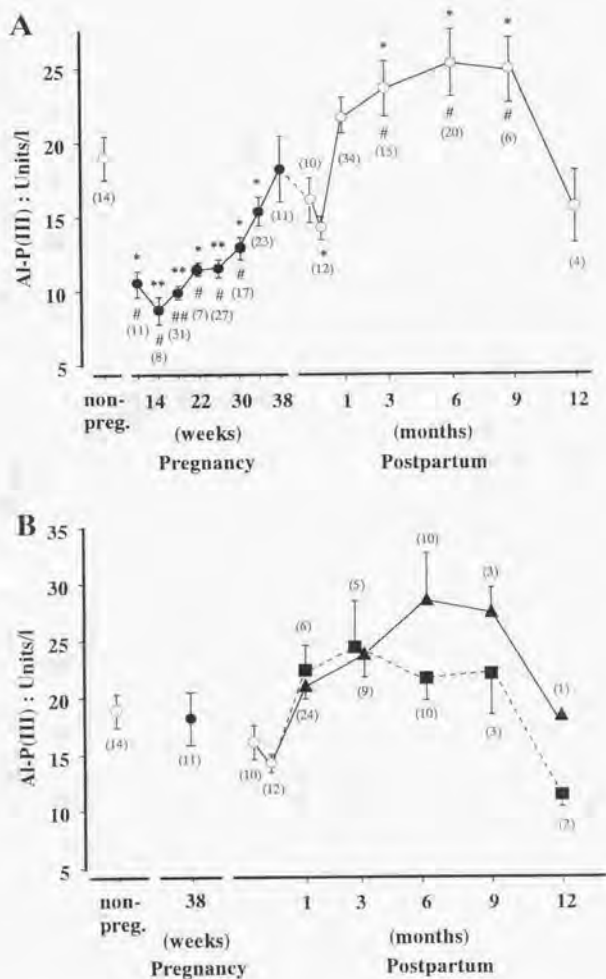
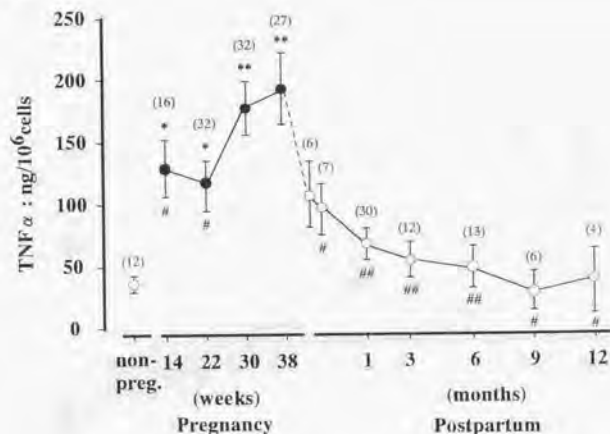


図6. 妊娠、産褥での血清骨型alkaline phosphatase (Al-P III)値

A. 非妊時、妊娠中、産褥3、6日及び1～12カ月での推移、B. 授乳群(▲)と非授乳群(■)の比較  
 Mean±S.E., \*\*:  $p<0.01$  \*:  $p<0.05$  v.s. non-preg., ##:  $p<0.01$  #:  $p<0.05$  v.s. preg.38w.  
 対象者数は( )内に示す。妊娠初期より急激に低下し、妊娠14週前後には非妊時の約1/2にまで減少する。それ以降上昇するが、妊娠末期になってようやく非妊時のレベルに達する。分娩後6日まではやや抑制された状態にあるが、それ以降上昇し、産褥9カ月までは高値を示し、産褥12カ月では非妊時レベルの値を示した。授乳群と非授乳群では産褥6カ月以降授乳群が高値をとる傾向( $p=0.04$ )が示された。



A



B

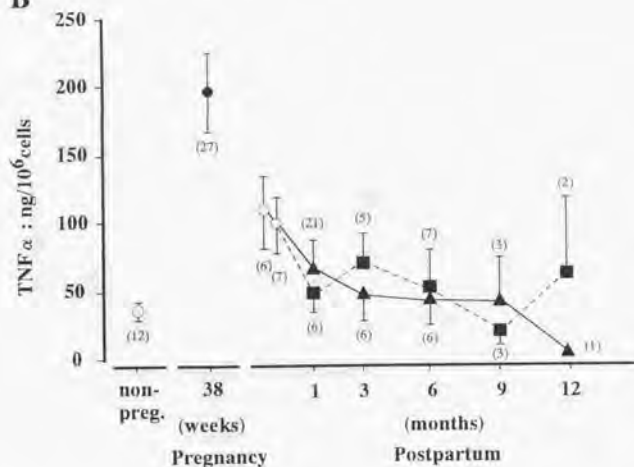


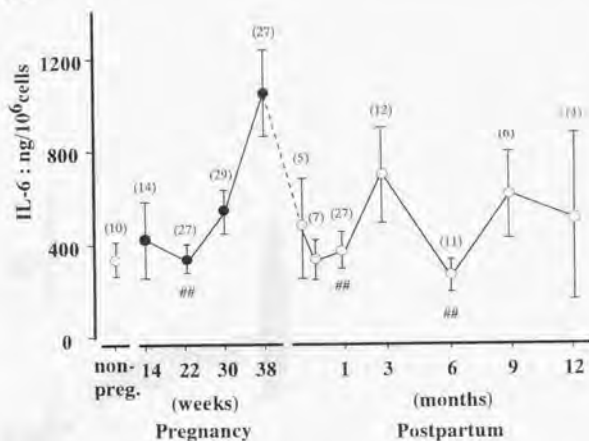
図7. 妊娠、産褥での末梢血単球からのTumor necrosis factor (TNF $\alpha$ )産生量

A. 非妊時、妊娠中、産褥3、6日及び1～12カ月での推移。B. 授乳群(▲)と非授乳群(■)の比較

Mean $\pm$ S.E., \*\*:  $p < 0.01$  \*:  $p < 0.05$  v.s. non-preg., ##:  $p < 0.01$  #:  $p < 0.05$  v.s. preg. 38w.

対象者数は( )内に示す。末梢血単球を48時間培養し、培養上清へのTNF $\alpha$ 産生量をELISA法にて測定した。TNF $\alpha$ は妊娠初期より多く産生され、妊娠14週には非妊時の約2倍、妊娠末期には約3.5倍にも達した。しかし、分娩後は急激に減少し、産褥3カ月以降は非妊時のレベルの値を示した。授乳群と非授乳群では、両者に差はみられなかった。

A



B

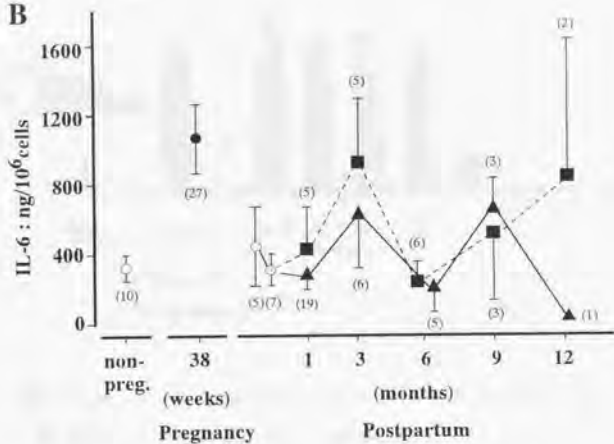


図8. 妊娠、産褥での末梢血単球からのInterleukin-6(IL-6)産生量

A. 非妊時、妊娠中、産褥3、6日及び1~12カ月での推移、B. 授乳群(▲)と非授乳群(■)の比較  
Mean ± S.E., ##:  $p < 0.01$  v.s. preg. 38w.

対象者数は( )内に示す。末梢血単球を48時間培養し、培養上清へのIL-6産生量をELISA法にて測定した。IL-6は妊娠中、漸増傾向を示し、妊娠末期には約2倍に達した。しかし、分娩後は急激に減少し、産褥6日では非妊時のレベルを示した。授乳群と非授乳群では、両者に差はみられなかった。

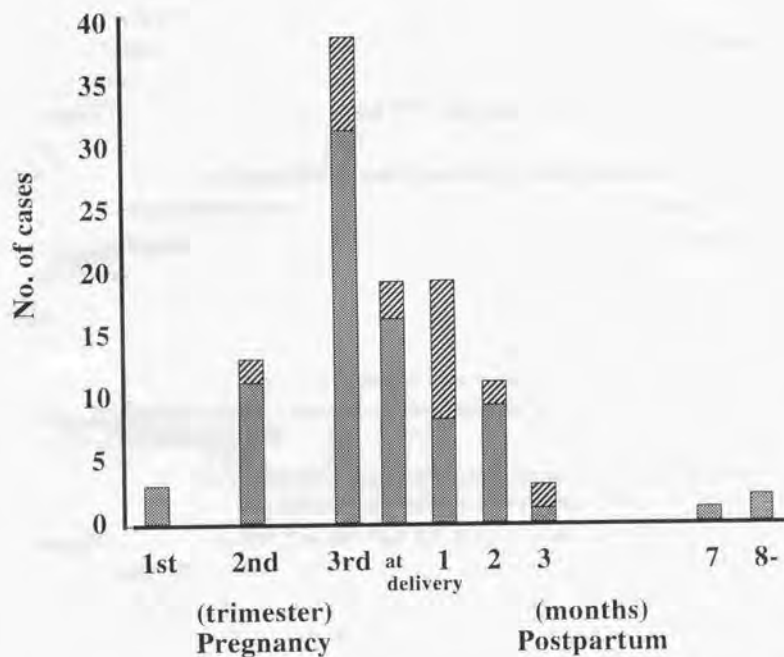


図9. Pregnancy associated osteoporosis の症状発現の時期

▨: 国内での症例報告, ■: 国外での症例報告

国内外46文献113症例において産褥よりもむしろ妊娠中での発症が多く、  
妊娠末期での発症が最も多くみられた。(文献は付録に記す)

付録

表3、4 および 図9 で使用した論文

- Atkinson PJ, West RR. Loss of skeletal calcium in lactating women. *J Obstet Gynaecol Br* 77: 555-560, 1970.
- 阿久津正、石井史朗、高桑好一、湯沢秀夫、佐藤芳昭、金沢浩二、竹内正七、高橋栄明  
Post-pregnancy osteoporosis の一症例、日産婦新潟地方部会誌 39: 51-56, 1985.
- Beaulieu JG, Razzano CD, Levine RB. Transient osteoporosis of the hip in pregnancy. *Clin Orthop* 115: 165-168, 1976.
- Blanch J, Pacifici R, Chines A. Pregnancy-associated osteoporosis: report of two cases with long-term bone density follow-up. *Br J Rheumatol* 33: 269-272, 1994.
- Bramlett KW, Killian JT, Nasca RJ, Daniel WW. Transient osteoporosis. *Clin Orthop* 222: 197-202, 1987.
- Brodell JD, Burns Jr JE, Heiple KG. Transient osteoporosis of the hip of pregnancy. Two cases complicated by pathological fracture. *J Bone Joint Surg Am* 71:1252-1257, 1989.
- Carbone LD, Palmieri GM, Graves SC, Smull K. Osteoporosis of pregnancy: long-term follow-up of patients and their offspring. *Obstet Gynecol* 86: 664-666, 1995.
- Chan GM, Slater P, Ronald N. Bone mineral status of lactating mothers of different ages. *Am J Obstet Gynecol* 144: 438-441, 1982.
- Chigira M, Watanabe H, Udagawa E. Transient osteoporosis of the hip in the first trimester of pregnancy. A case report and review of Japanese literature. *Arch Orthop Trauma Surg* 107:178-180, 1988.
- Christiansen C, Rodbro P, Heinild B. Unchanged total body calcium in normal human pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 55: 141-143, 1976.
- Chung HC, Lim SK, Lee MK, Lee MH, Huh KB. Pregnancy-associated osteoporosis. *Yonsei Med J* 29: 286-294, 1988.
- Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF. Changes in bone mineral density and markers of bone remodeling during lactation and postweaning in women consuming high amounts of calcium. *J Bone Miner Res* 10:1312-1320, 1995.
- Dent CE, Friedman M. Pregnancy and idiopathic osteoporosis. *Q J Med* 34: 341-357, 1965.
- Drinkwater BL, Chesnut CH III. Bone density changes during pregnancy and lactation in active women: a longitudinal study. *Bone Mineral* 14:153-160, 1991.
- Fingerroth RJ. Successful operative treatment of a displaced subcapital fracture of the hip in transient osteoporosis of pregnancy. A case report and review of the literature. *J Bone Joint Surg Am* 77:127-131, 1995.
- Funk JL, Shoback DM, Genant HK. Transient osteoporosis of the hip in pregnancy: natural history of changes in bone mineral density. *Clin Endocrinol* 43: 373-382, 1995.
- Gruber HE, Gutteridge DH, Baylink DJ. Osteoporosis associated with pregnancy and lactation: bone biopsy and skeletal features in three patients. *Metab Bone Dis Relat Res* 5:159-165, 1984.

- Hayslip CC, Klein TA, Wray HL, Duncan WE. The effects of lactation on bone mineral content in healthy postpartum women. *Obstet Gynecol* 73: 588-592, 1989.
- 広谷速人 Post-pregnancy osteoporosis. *整形外科* 13: 838-841, 1962.
- 林美代子、矢尾板孝子、白須尚夫 Post-pregnancy osteoporosis の 1 例 *東女医大誌* 46: 43-47, 1976.
- Kalkwarf HJ, Specker BL. Bone mineral loss during lactation and recovery after weaning. *Obstet Gynecol* 86: 26-32, 1995.
- Kent GN, Price RI, Gutteridge DH. Human lactation: Forearm trabecular bone loss, increased bone turnover, and renal conservation of calcium and inorganic phosphate with recovery of bone mass following weaning. *J Bone Miner Res* 5: 361-369, 1990.
- Kinsella P, O'Brien T, Brosnan E, O'Sullivan DJ. A case of pregnancy associated osteoporosis and empty sella syndrome. *Ir Med J* 84: 25-26, 1991.
- Knaepler H, Tamm J. Spontaneous fractures of the neck of the femur occurring in pregnancy in the absence of pregnancy osteoporosis. *Unfallchirurgie* 10: 96-99, 1984.
- 金丸恵子、松本隆史、沢木泰仁、大田武人、妊娠後骨そしょう症の 1 例 *三重医学* 28: 102-104, 1984.
- 建持薫 Post-pregnancy osteoporosis の一例 *日整会誌* 38: 167, 1964.
- Lamke B, Brundin J, Moberg P. Changes of bone mineral content during pregnancy and lactation. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 56: 217-219, 1977.
- Longstreth PL, Malinak LR, Hill Jr CS. Transient osteoporosis of the hip in pregnancy. *Obstet Gynecol* 41: 563-569, 1973.
- Lose G, Lindholm P. Transient painful osteoporosis of the hip in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 24: 13-16, 1986.
- 小野庫史、茂呂貞美、後藤渉、小鮎保雄、橋本俊英、千木良正機、宇田川英一 MRI で経過観察を行った Transient osteoporosis of the hip の 1 症例、*関東整災誌* 24: 209-212, 1993.
- 大森薫雄、伊丹康人、井上哲郎、白旗敏克、馬庭昌人、吉崎賢一 Post-pregnancy osteoporosis の 5 症例、*骨代謝* 5: 94-100, 1971.
- 大友克彦、沼木秀樹、今井立史、山内裕雄 Post-pregnancy osteoporosis の 1 例、*関東整災誌* 24: 363, 1993.
- Pantazopoulos T, Exarcho, E, Hartofilakidis-Garofalidis G. Idiopathic Transient Osteoporosis of the Hip. *J Bone and Joint surgery* 55A: 315-325, 1973.
- Prentice A, Landing MAJ, Cole TJ, Stirling DM, Dibba B, Fairweather Tait S. Calcium requirements of lactating Gambian mothers: Effects of a calcium supplement on breastmilk calcium concentration, maternal bone mineral content, and urinary calcium excretion. *Amer J Clin Nutr* 62: 58-67, 1995.
- Rillo OL, Di Stefano CA, Bermudez J, Maldonado Cocco JA. Idiopathic osteoporosis during pregnancy. *Clin Rheumatol* 13: 299-304, 1994.



- Sowers MF, Crutchfield M, Jannausch M. A prospective evaluation of bone mineral change in pregnancy. *Obstet Gynecol* 77: 841-845, 1991.
- Smith R, Athanasou NA, Ostlere SJ, Vipond SE. Pregnancy-associated osteoporosis. *QJM* 88: 865-878, 1995.
- Smith R, Ostlere S, Athanasou N, Vipond S. Pregnancy-associated osteoporosis [letter: comment]. *Lancet* 348: 402-403, 1996.
- 鈴木征雄、井上哲郎、串田一博、長谷川芳男、大量の母乳分泌を伴った Post-pregnancy osteoporosis の 1 症例について、*関東整災誌* 5: 338-342, 1974.
- 鶴田登代志、日井雅彦、向井智志、細井哲、Post-pregnancy osteoporosis の二例、*三重医学* 14: 84-89, 1970.
- 渡辺真、柳沢正信、佐藤勝彦、渡辺栄一、小林利男、栗野昇、樋口出、青木秀弘 Post-pregnancy osteoporosis 3 自験例の報告と本邦報告例の分析、*整形外科* 40: 683-689, 1989.
- Yamaga A, Taga M, Minaguchi H, Sato K. Changes in bone mass as determined by ultrasound and biochemical markers of bone turnover during pregnancy and puerperium: longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*, 81: 752-756, 1996.
- Yamamoto N, Takahashi HE, Tanizawa T, Kawashima T, Endo N. Bone mineral density and bone histomorphometric assessments of postpregnancy osteoporosis: a report of five patients. *Calcif Tissue Int* 54: 20-2, 1994.
- 吉田義夫、小山正信、柴田輝明、Post-pregnancy osteoporosis の経験、*整形外科と災害外科* 23: 230-234, 1975.

