

4. ビタミンD代謝物の測定

Determination of vitamin D metabolites

津川 尚子

Naoko Tsugawa (教授) / 大阪樟蔭女子大学健康栄養学部健康栄養学科公衆衛生学研究室

ビタミンDはカルシウム恒常性維持や骨代謝調節において重要な役割を果たす。ビタミンD代謝物のうち、25OHD (25-hydroxyvitamin D)はビタミンD栄養を最もよく反映する指標として用いられ、1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D]は副甲状腺機能、腎機能、Ca代謝調節機能に関する種々の疾患の指標となる。近年、ビタミンD欠乏頻度の増加が世界的に問題になっていることから血中25OHD濃度測定の需要が高まり、繁用性とハイスループットの面から高感度の自動測定法が25OHD濃度測定法の主流となっている。しかし、測定法間の偏差や施設間偏差も報告され、Gold standardであるLC-MS/MS法を用いた精度評価や精度確認用試薬の開発が行われている。

key words

ビタミンD代謝物
25-ヒドロキシビタミンD
1,25 - ジヒドロキシビタミンD
LC-MS/MS
免疫測定法

はじめに

ビタミンDの指標として測定されるビタミンD代謝物は、活性型ビタミンD [1,25-dihydroxyvitamin D : 1,25(OH)₂D]とその前駆体である25-hydroxyvitamin D (25OHD)である。1,25(OH)₂Dは骨代謝関連疾患や腎機能、副甲状腺機能の臨床診断指標として重要な測定意義があり、25OHDは食物より摂取された量あるいは皮膚での産生量を反映する栄養指標で低ビタミンD栄養を判定する上で重要なマーカーである。これらの代謝物の血中濃度測定には生物化学的および物理化学的原理を利用した方法がある。化学発光免疫測定法 (CLIA法)による血中25OHD濃度の自動測定は、2016年8月

に「ビタミンD欠乏性くる病もしくはビタミンD欠乏性骨軟化症の診断時またはそれらの疾患に対する治療中に測定した場合」において保険適用された。本稿では25OHDの自動測定法を中心に、各測定法の特徴や精度などについて概説する。

血中25-Hydroxyvitamin D濃度測定

1. 背景

皮膚および食事から供給されたビタミンDは、肝臓の25位水酸化酵素により代謝されて大部分が25OHDとなる。25OHDはビタミンD結合蛋白質 (DBP)と結合して血中を循環し、腎臓で1 α 位水酸化酵素 (CYP27B1)によって活性型である1,25(OH)₂Dに代謝さ

れ、核内受容体 (vitamin D receptor : VDR)との結合を介して生理作用を発揮する。25OHDはDBPとの結合性が高く血中半減期が約3週間と長いため、日照による産生量や摂取量を反映するビタミンDの栄養指標として重要な代謝物である。25OHDはDBPとの結合親和性が高いために血中循環性が高いが、血中濃度を測定するにはDBPから解離させるステップが必要となる。このステップには、化学的変性や固相分離の手法が用いられる。

血中25OHD濃度は、紫外外部吸収検出器を用いたHPLC法あるいは競合的蛋白結合法 (CPBA)法で測定されていた。しかし、これらの測定法では必要となる検体量が多く、抽出・精製も煩雑なため、熟練した技術と測定に長時