

200906015A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

ホルモン受容機構異常に関する調査研究

平成21年度 研究報告書

主任研究者 松本 俊夫

平成22年5月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

ホルモン受容機構異常に関する調査研究
平成21年度 研究報告書

主任研究者 松本 俊夫

平成 22 年 5 月

I. 序 文

序 文

「厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 ホルモン受容機構異常に関する研究班」は、ホルモン受容機構の解明やその異常に基づく一群の難病の予防および治療のために多大な貢献をしてきました。平成 17 年より新たにスタートした現在の研究班は、平成 20 年度より第二期目に入りました。

平成 20 年度も第一期に引き続き偽性及び特発性甲状腺機能低下症、ビタミン D 抵抗性くる病とその類縁疾患、甲状腺ホルモン不応症、TSH 受容体異常症および受容体抗体病を主な対象疾患として多角的な研究を展開してきました。その結果、低カルシウム血症と副甲状腺機能低下症の診断指針および FGF23 異常症に基づく低リン血症性くる病骨軟化症とその他の原因に基づく病態との血中 FGF23 濃度の測定による鑑別診断指針を策定すると共に、バセドウ病クリーゼの診断指針を策定し、これを基に新たな全国疫学調査を開始しました。さらに、ビタミン D 受容体や甲状腺ホルモン受容体による正・負の転写調節機構や non-genomic 作用についての検討、甲状腺ホルモン不応症の動物モデルを用いた甲状腺ホルモン受容体遺伝子異常と病態との関係の解明などの研究を進め、新たな成果を数多く得ることが出来ました。

本研究事業を遂行し貴重な成果を出して頂いた分担研究者ならびに研究協力者各位のご協力に対し、深謝いたします。また、厚生労働省健康局疾病対策課には暖かいご指導ならびにご支援を頂きまして、感謝に堪えません。

ここに、平成 20 年度の研究報告書がまとまりました。この報告書が今後のホルモン受容機構異常に関する研究に参考となり、少しでもその発展に貢献することを心より願っております。

平成 22 年 5 月

松本 俊夫

目 次

I.	序文	
II.	平成 21 年度総括研究報告書	1
III.	平成 21 年度分担研究報告	
1.	FGF23 関連低リン血症性疾患の全国疫学調査	9
	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	松本 俊夫
		遠藤 逸朗
	東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科	福本 誠二
2.	体内での線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) 蛋白の存在様式に関する検討	12
	東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科	福本 誠二
3.	血清カルシウム・リン維持機構に関する研究	14
	大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学小児科学講座	大菌 恵一
		難波 範行
4.	閉経後女性の骨脆弱性と血清 25(OH)D ならびに PTH との関係	17
	島根大学医学部内分泌代謝・血液腫瘍内科	杉本 利嗣
		山内 美香
5.	偽性副甲状腺機能低下症の病因・病態解析	21
	千葉大学大学院医学研究院小児病態学	皆川 真規
6.	ビタミンD不足を規定する血清 25(OH)D 濃度の閾値に関する研究	24
	帝京大学ちば総合医療センター第三内科	岡崎 亮
		井上 大輔
7.	ビタミンD受容体を介した遺伝子発現調節機構の解明	28
	東京大学分子細胞生物学研究所	加藤 茂明
8.	リンの代謝調節における骨細胞の機能に関する研究	32
	大阪府立母子保健総合医療センター研究所	道上 敏美

9. 環境化学物質が骨代謝障害を惹起する可能性の検討	35
虎の門病院 内分泌センター	竹内 靖博
10. HDAC阻害剤による甲状腺ホルモン不応症の分子治療	38
群馬大学大学院医学系研究科 病態制御内科学	森 昌朋 橋本 貢士
11. 甲状腺結節取り扱い診療ガイドライン作成について	42
浜松医科大学第二内科	中村 浩淑
12. 新診断基準に基づく甲状腺クリーゼの全国疫学調査の実施	45
京都大学医学部附属病院 探索医療センター	赤水 尚史
13. 甲状腺ホルモン不応症の診断基準作成に関する研究	49
名古屋大学環境医学研究所	村田 善晴
14. バセドウ病眼症の病因・病態の解明と診断・治療法の開発に関する研究	51
(1) バセドウ病眼症の疾患感受性遺伝子の検索	
(2) バセドウ病悪性眼球突出症の診断基準と治療指針の作成	
久留米大学医学部内分泌代謝内科	廣松 雄治
15. 粘液水腫性昏睡の診断基準と治療指針の作成に関する研究(第2報)	
- 粘液水腫性昏睡の診断基準(案) -	55
獨協医科大学内分泌代謝内科	笠井 貴久男
16. TSHR 遺伝子変異による甲状腺機能低下症での脂肪代謝への影響	57
山梨大学大学院医学工学総合研究部	遠藤 登代志
IV. 研究成果の刊行に関する一覧	61
V. 班構成員名簿	83

II. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
総括研究報告書

ホルモン受容機構異常に関する調査研究

主任研究者 松本俊夫 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授

研究要旨

本調査研究事業では、ホルモン受容機構異常に起因する難病とその関連疾患(副甲状腺関連疾患として偽性および特発性副甲状腺機能低下症、ビタミンD抵抗性くる病とその類縁疾患、甲状腺関連疾患として甲状腺ホルモン不応症、TSH受容体異常症(バセドウ病を含むTSH受容体抗体病など)を対象に、患者実態を把握するとともに基礎・臨床の両面からの研究を発展・融合させることにより原因・病態の解明、診断基準の作成、治療法の確立を行うことを目的として研究を遂行した。

分担研究者

赤水 尚史

京都大学医学部附属病院
探索医療センター 教授

大菌 恵一

大阪大学大学院医学系研究科
小児科学講座 教授

岡崎 亮

帝京大学ちば総合医療センター
第三内科 教授

加藤 茂明

東京大学分子細胞生物学研究所
核内情報研究分野教授

杉本 利嗣

島根大学医学部内科学第一 教授

中村 浩淑

浜松医科大学第二内科 教授

福本 誠二

東京大学医学部附属病院
腎臓・内分泌内科 講師

皆川 真規

千葉大学大学院医学研究院小児病態学
講師

村田 善晴

名古屋大学環境医学研究所 教授

森 昌朋

群馬大学大学院医学系研究科 教授

A. 研究目的

本研究は、副甲状腺関連疾患として偽性および特発性副甲状腺機能低下症、ビタミンD抵抗性くる病とその類縁疾患、甲状腺関連疾患として甲状腺ホルモン不応症、TSH受容体異常症、TSH受容体抗体病(バセドウ病)などのホルモン受容機構異常に起因する難病とその関連疾患について、患者実態を把握するとともに基礎・臨床の両面からの研究を発展・融合させることにより原因・病態の解明、診断基準の作成、治療法の確立を行うことを目的に行われた。これらのホルモン受容機構異常症は、早期発見・治療により良好な予後が期待されるため、的確な診断・治療指針が求められる。また、これらの疾患病態の解明は、ホルモン作用の異常に基づく広汎な疾患の病態解明や診断・治療法の開発にも寄与し、幅広い社会貢献が期待しうるものと考えられる。

B. 研究方法

副甲状腺ホルモン(PTH)、活性型ビタミンD、甲状腺ホルモン、TSHなどのホルモン作用による細胞内情報伝達系の*in vitro*解析およびこれらの受容機構異常症の疾患モデルとなる遺伝子改変動物の解析に基づき、疾患病態の理解や新規治療法の開発への基盤を築くとともに、これらの情報に立脚して臨床症例の病態解析、遺伝子異常の診断方法やホルモン血中濃度測定系の確立のみならず、診断基準、診断指針の策定を行った。副甲状腺、甲状腺両分野における基礎・臨床面の情報の統括や臨床サンプルの共有などについ

での調整は主に主任研究者が行った。

C. 研究結果

1) 偽性副甲状腺機能低下症(PHP)と関連疾患

・偽性副甲状腺機能低下症 1a型 5例および 1b型 10例において、PTHの反応性の違いを遺伝子刷り込み組織である腎尿細管と非刷り込み組織である骨について検討した。その結果、腎尿細管でのCa再吸収能力は1a型と1b型で違いがないが、骨におけるPTH反応性も一部の1b型で低下しており骨でも刷り込み現象が存在する可能性が示された。

・カルシウム感知受容体(CaSR)活性化変異に起因する副甲状腺機能低下症に対するcalcilyticsの有効性を更に検討するため、CaSR遺伝子の活性化変異を有するマウスの作成を進めた。

2) ビタミンD抵抗性くる病およびその類縁疾患

・FGF23関連低リン血症性疾患全国一次調査として、2010年1月～3月に、大学病院などの特定階層病院を含む2,895施設の内科(内分泌代謝内科)、整形外科、小児科を対象に2005-2009年の5年間および2009年1年間の患者数調査を実施した。2,895施設中1,149施設から回答があり(回答率39.7%)、「患者あり」の施設95施設、患者数計301人/5年間であった。今後、疫学調査班(永井正規班長)と共同で全国の患者数の推計作業を進めると共に、これらの施設へ二次調査票を送付し、その病態や疫学などの詳細な解析を予定している。

・ FGF23 蛋白は ^{179}Arg と ^{180}Ser の間でプロセッシングを受け、リン利尿作用を有さないフラグメントに切断される。しかし、このプロセッシングが *in vivo* でおこっているのか、さらにプロセッシングを受けた FGF23 フラグメントの意義は不明であった。免疫沈降-ウェスタンブロットにより、健常人を含め血中に FGF23 フラグメントが存在すること、また過剰な FGF23 フラグメントは、全長 FGF23 の作用を阻害することが明らかとなった。

・ 健常新生児 32 例を対象として新生児期の FGF23/Klotho 系について検討し、臍帯血では FGF23 は低値で可溶型 Klotho は高値であり、免疫染色から Klotho は胎盤由来と考えられた。臍帯血中 FGF23 の低値が新生児期の血清リン高値の原因である可能性がある。

・ 野生型マウス由来長管骨より、コラゲナーゼ-EGTA 処理を反復することにより、骨芽細胞・骨細胞を分化度に応じ段階的に単離し、単離した骨芽細胞と骨細胞における遺伝性低リン血症性くる病/骨軟化症の責任遺伝子 *Fgf23*、*Phex*、*Dmp1* の発現を検討した。*Fgf23*、*Phex* は骨芽細胞、骨細胞ともに発現を認め、*Fgf23* の発現は骨細胞でより強く *Dmp1* も骨細胞で高発現していた。

・ 日本人成人男女におけるビタミン D 不足の基準値を設定するため、ビタミン D_3 の経口負荷前後の血清 25(OH)D と PTH 濃度を測定した。血清 25(OH)D は PTH と負の相関を示し、25(OH)D 濃度 28 ng/ml 以上では PTH 濃度は 35-40 pg/ml でプラトーに達した。負荷前後の PTH 変化量も負荷前の 25(OH)D と負に相関し、前値が 28ng/ml 以上では PTH の変化はみられなかった。以上より日本人成人のビタミン D

不足の基準値は血清 25(OH)D 濃度 28 ng/ml とするのが妥当と判定された。

・ ビタミン D 充足状態が骨代謝に及ぼす影響について、健常閉経後女性を対象に検討した。血清 25(OH)D は PTH と負の、骨密度 (BMD) と正の相関を認めた。更に、25(OH)D 低値が日本人において年齢、PTH、骨代謝マーカー、BMD とは独立した脆弱性骨折の危険因子であることを明らかにした。脆弱性骨折の有無から算出した 25(OH)D のカットオフ値は 16ng/ml で、最も高い骨折率を示したのは低 25(OH)D かつ低 PTH 群であった。

・ ビタミン $\text{D} 1\alpha$ 水酸化酵素 [$1\alpha(\text{OH})\text{ase}$] 遺伝子プロモーター領域の VDR 転写抑制エレメント (nVDRE) に結合する転写因子 VDIR および制御因子 DNA メチル化酵素、更に VDIR 機能を制御する因子として新規に脱メチル化酵素 MBD4 を見出し、ビタミン D および PTH 依存性 VDR 転写制御機構において可逆的な DNA メチル化制御が重要な役割を担うことを見出した。今回、MBD4 欠損マウスを用いた解析で生体内においても MBD4 が $1\alpha(\text{OH})\text{ase}$ 遺伝子の脱メチル化に必須の因子であることを明らかにした。この成績は、ホルモン依存的な DNA メチル化/脱メチル化の可逆的な転写制御機構が生体内においてもカルシウム代謝の制御に重要な役割を果たすことを示すものである。

・ ステロイド・ゼノバイオティク受容体 (SXR) は、オーファン核内受容体に属し、肝臓や腸管に発現し CYP3A4 遺伝子の発現を調節している。薬剤性骨軟化症では、原因薬剤が SXR との結合を介し CYP3A4 を誘導し、活性型ビタミン D_3 代謝が亢進する。種々の食品添加物をスクリーニングし、アセチ

ルトリブチルクエン酸(ATBC)にSXRのリガンド活性があることが判明した。ヒト腸管細胞でATBCはSXRを介しCYP3A4遺伝子発現および酵素活性を誘導した。ラットにATBCを腹腔内投与しても十二指腸でCYP3A11 mRNAが増加した。以上より、薬剤添加物ATBCは腸管CYP3Aの誘導を介し活性型ビタミンD₃代謝を亢進させ、骨代謝に悪影響を及ぼす可能性が示された。

3) TSH 受容体 (抗体) 異常症

・昨年策定した甲状腺クリーゼの診断基準に基づいて、厚生労働省特定疾患の疫学に関する研究班と協同して全国疫学調査を行った。一次調査として、2009年1月～6月に、1,463施設の内科(内分泌代謝内科、循環器内科)、救急科、甲状腺専門病院、救急特定病院を対象に2004-2008年(5年間)の患者数調査を実施した。1,463施設中768施設から回答があり(回答率52.5%)、「患者あり」の施設が230施設、患者数計673人/5年間であった。その結果、推計患者数は1585人(95%信頼区間:1213-1958人)と算出された。引き続き二次調査を実施し、2009年6月～9月に、一次調査で患者ありと報告のあった230施設に、二次調査票を疫学班から送付して、患者背景、クリーゼ誘因の有無、クリーゼ診断時の臨床所見、クリーゼに対する治療内容、転帰、診断基準(第1版)との合致性、を調査した。その結果、114施設から333例の報告(回答率50%)があった。二次調査票に記載されたデータを解析中である

・TSH受容体に遺伝子変異を有するhytマウスに甲状腺ホルモンを補充すると体重換算精巣上体脂肪量が増加し、甲状腺摘除マ

ウスではTSH受容体変異マウスより精巣上体脂肪量は低値を示した。以上より、白色脂肪組織では甲状腺ホルモンは脂肪貯蔵に作用し、TSH/TSH受容体シグナルは脂肪分解に作用している可能性が示された。

・バセドウ病悪性眼球突出症の診断指針と治療指針の作成委員会において検討を進め、MRI診断を組み込んだ診断指針試案を作成した。更に、一般内科医・眼科医向け、および内分泌専門医・眼科専門医向けに、アトラスを加えた診断指針の作成を進めている。

・粘液水腫性昏睡の診断基準を作成するため、重症甲状腺機能低下症～粘液水腫性昏睡の主治医判定による確診成人例45例のデータを収集した。意識障害中等度以上の粘液水腫性昏睡仮診断群(23例)と、意識障害のない重症甲状腺機能低下症群(16例)および既報の多数例報告を含む粘液水腫性昏睡群(38例)の欧文論文発表データとを比較検討した。その結果、症候・検査項目として低体温、循環不全(心拍数、平均血圧、昇圧剤投与)、呼吸不全(PaCO₂、動脈血pH、酸素投与)、低Na血症を点数化し粘液水腫性昏睡の診断基準案を作成した。

・甲状腺結節は、良性腺腫と一部の悪性腫瘍との鑑別が問題となる。特に甲状腺濾胞癌は、腫瘍細胞の被膜浸潤、血管浸潤を認めることが診断の基本的条件であるため、術前診断が容易でない。そこで悪性と診断できない濾胞性甲状腺腫瘍を中心とした甲状腺結節取り扱い診療ガイドライン作成することを目的に委員会を立ち上げた。

4) 甲状腺ホルモン不応症(RTH)

・甲状腺ホルモン(TH)不応症(RTH)のモ

デルマウスとして、TH 受容体 (TR) β Δ 337T 変異を導入した TR β Δ 337T ノックイン(KI)マウスを用い、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDACs) 阻害薬 (HDACI) であるバルプロ酸ナトリウム (VPA) の胎生期からの投与が RTH の病態に及ぼす効果について検討した。KI マウスの呈する小脳におけるプルキンエ細胞の樹状突起形成異常および PCP-2 遺伝子発現の抑制は VPA 投与により著明に改善すると共に、平衡運動能も改善した。以上より VPA の投与が RTH における小脳を始めとする中枢神経系障害を防止する可能性が示された。

・SITSHを示す7家系においてTR β 遺伝子変異の検索を行い、2家系に変異が認められた。また、全国アンケート調査により、これまでに報告された症例も含め日本で TR β の変異が確認された症例は98例 (71家系) となった。このうち、抗甲状腺薬、アイソトープ治療、手術など甲状腺機能亢進症と間違えられて不適切に治療されたと思われる症例が、疑い例も含めて22症例に及んでおり、的確な診断に至る指針の必要性が示された。

D. 考察

1) 偽性副甲状腺機能低下症(PHP)と関連疾患

偽性副甲状腺機能低下症においては、病型およびPTH反応性の違いにより、治療を最適化する必要性が示唆された。また、成長途上にある小児の治療の最適化についても検討する必要があることが明らかとなった。

2) ビタミン D 抵抗性くる病およびその類

縁疾患

FGF23 関連低リン血症性疾患の全国疫学調査の成果により、これまで不明であったわが国における本症の疫学実態が明らかとなるとともに、治療法の開発への貢献も期待でき、さらに昨年策定した FGF23 関連低リン血症性疾患診断指針の検証が可能となると期待される。

FGF23 蛋白の一部はプロセッシングを受けること、FGF23 フラグメントの比率は腎機能による影響を受けないことが明らかとなった。FGF23 作用の低下に基づく高リン血症性腫瘍状石灰沈着症患者の一部では、血中に多量の FGF23 フラグメントが存在することが知られている。これらの例では、FGF23 フラグメントによる全長 FGF23 作用の阻害が病態の発症に關与する可能性が考えられ、その病因的意義につき更に検討を進める必要がある。

臍帯血中の FGF23 濃度が低値を示すことについては、これが胎盤におけるリンの能動輸送に関わっている可能性もあり、胎盤由来と考えられる臍帯血中の可溶性 Klotho の存在と併せ、リンの母体-胎児輸送における FGF23-Klotho 系の役割の解明に繋がるものと期待される。

日本人におけるビタミン D 不足の基準値を血清 25(OH)D 濃度 28 ng/ml と設定したが、ビタミン D 不足は本邦でも高頻度であり大部分の例で 28ng/ml 以下の値を示したことから、ビタミン D 不足の閾値が 28ng/ml 以上である可能性が否定できないことに留意すべきである。

ビタミン D 不足にも関わらず PTH が上昇していない例で高い骨折率を認めたことから、ビタミン D 欠乏における骨脆弱性の亢進に

副甲状腺機能亢進状態は必ずしも関与しない可能性が示された。したがって、ビタミンD不足症における骨脆弱性の改善をはかる上で、上昇したPTHの抑制をビタミンD補充時の充足指標として用いることの妥当性について再検討が必要と考えられる。

脱メチル化因子として同定した MBD4 が体内においてビタミン D の活性化制御に必須であることが明らかとなった。これらの結果は、可逆的なメチル化、脱メチル化により標的遺伝子の転写がホルモン依存性に制御されることを世界に先駆けて示すものである。

薬剤添加物に使用される ATBC が腸管特異的に CYP3A 酵素を誘導することが明らかとなった。これにより腸管での活性型ビタミン D の代謝分解が促進される可能性があることから、これらの薬剤添加物が活性型ビタミン D 濃度の低下を介し骨代謝に悪影響を及ぼす可能性が示された。

3) TSH 受容体(抗体)異常症

甲状腺クリーゼや粘液水腫性昏睡は現在でも生命にかかわる重篤な疾患であり、適切な診断基準を確立した上で患者実態を把握し、これに基づき適切な治療方針を策定する必要がある。またバセドウ病悪性眼球突出症については、その発症機序が不明であるばかりでなく治療抵抗性でもあり、病態把握や治療指針の策定が望まれる。さらに、甲状腺結節は日常診療で常に遭遇する非常に頻度の高い疾患であるが、その診断ガイドラインなどは存在しない。甲状腺クリーゼについては、全国疫学調査(一次)によって、推計患者数は 1585 人(95%信頼区間:1213-1958

人)と算出され、予想以上に多くの症例があることが判明した。二次調査の解析を進めることにより、疑診例などを除いた実態が更に明らかになるものと期待される。バセドウ病悪性眼球突出症に関しては診断・治療指針の策定に向け既に委員会が結成されているほか、甲状腺結節についても取り扱い診療ガイドライン作成のため、内科、外科、検査・放射線科、病理計 29 名からなる作成委員会を立ち上げている。これらの成果は、何れも国民健康の維持に多大な貢献ができるものと考えている。

TSH 受容体に変異を有する hyt マウスは、脂肪組織での TSH 作用、T4 作用を各々独立に検討しうる系である。今回、このマウスを用いて in vivo で T4 は脂肪増生に、TSH は脂肪分解に作用するという、細胞レベルでの結果と一致する成績が得られた。したがって、TSH 受容体異常症に対しては T4 補充のみでは脂肪代謝において不十分である可能性が示された。

4) 甲状腺ホルモン不応症(RTH)

わが国にはおよそ 3,000 人の RTH 患者が存在すると推定されている。しかし、これまでの報告例と今回のアンケート調査を併せても、TR β 変異により確認された RTH の症例は 100 例に満たず、未だ診断されていない RTH 症例が多数存在するものと推定される。また、今回確認された RTH 患者の約 4 人に 1 人は不適切と思われる治療を受けており、本症の的確な診断法を確立することの必要性を改めて示すものと考えられた。

RTH の病態モデルマウスである TR β Δ 337T ノックイン(KI)マウスに対する周産期の VPA 投与により、生後 4-8 週での投

与と同様に下垂体-甲状腺系の異常は是正されなかったものの、平衡能異常は改善傾向を示し、これが小脳プルキンエ細胞の樹状突起形成異常の改善による可能性が明らかとなった。これは VPA 投与群でプルキンエ細胞に特異的に発現する PCP-2 遺伝子発現が回復していることから裏付けられた。以上より RTH 患者への胎生期からの VPA 投与が小脳を主とする中枢神経系障害を改善する可能性が示された。

E. 結論

ビタミンD不足症に関連した 25(OH)D 濃度充足基準値の設定や甲状腺クリーゼ、

粘液水腫クリーゼおよびバセドウ病悪性眼球突出症の診断指針策定、甲状腺結節の診断ガイドライン作成は、病態解明や早期診断、治療による予後の改善などで国民の健康増進に多大な貢献ができるものと期待している。

同時に、副甲状腺ホルモン、甲状腺ホルモン、TSH、ビタミンDやFGF23などのホルモン受容体シグナルの解析とその不全状態・抵抗性病態の分子機序の解明は、様々なホルモン受容機構異常症の診断および治療法の開発に欠かせないものであり、更に今後も継続した検討を進める必要がある。

III. 分担研究報告

FGF23 関連低リン血症性疾患の全国疫学調査

主任研究者 松本俊夫 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授
分担研究者 福本誠二 東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 講師
共同研究者 遠藤逸朗 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 助教

研究要旨: FGF23関連低リン血症性疾患は、FGF23作用過剰に基づく腎尿細管リン再吸収障害、および $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 濃度低下に起因する疾患である。本症は、近年FGF23のアッセイ系が確立されたこともあり注目されている病態であるが、その有病率は不明である。本調査研究班では、本症を厚生労働行政上重要な疾患と位置づけ、その病態把握や疫学実態の調査を行っている。一次調査として、2010年1月～3月に、全国2,895施設の内科(内分泌代謝内科)、整形外科、および小児科を対象に2005-2009年(5年間)の患者数調査を実施した。2,895施設中1,149施設から回答があり(回答率39.7%)、「患者あり」の施設95施設、患者数計 301人/5年間であった。これらの施設へ二次調査票を送付し、その病態や疫学などの詳細な解析を予定している。

A. 研究目的

FGF23 関連低リン血症性疾患は、FGF23 作用過剰に基づく腎尿細管リン再吸収障害、および $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 濃度低下に起因する疾患である。本症は、近年 FGF23 のアッセイ系が確立されたこともあり注目されている病態であるが、その有病率は不明である。本症には、常染色体優性低リン血症性くる病・骨軟化症(ADHR)、常染色体劣性低リン血症性くる病・骨軟化症病(ARHR)、X染色体優性低リン血症性くる病・骨軟化症(XLH)、McCune-Albright 症候群(MAS)、腫瘍性骨軟化症(TIO)、含糖酸化鉄製剤の経静脈投与後などが含まれる。本症は生理量のビタミン D_3 製剤の投与では改善しないものの、TIOでは FGF23 を産生する責任腫瘍の摘出により完全治癒が見込めるなど、FGF23 過剰以外の原因による低リン血症性くる病・骨軟化症とは

治療法が異なる。従って本症と、その他の低リン血症性疾患との鑑別は非常に重要である。平成 19 年度の報告書で報告したように、われわれはすでに約 60 例の本症例を検討し、低リン血症の存在下で血清 FGF23 濃度が 30 pg/ml 以上であれば、FGF23 過剰に起因する低リン血症性くる病・骨軟化症と診断できるとの診断指針を策定している(Bone 42(6), 1235-9, 2008)。今回調査範囲を全国に広げることにより、これまで不明であったわが国における本症の疫学実態を明らかとするとともに、上記の診断指針の検証のために、アンケート調査を行った。

B. 研究方法

本研究は、“特定疾患の疫学に関する研究班”(班長、埼玉医科大学公衆衛生学 永井正

規教授)との共同研究である。大学医学部附属病院、および患者が集中すると考えられる特別階層病院等では抽出率 100%、他の病院では規模により抽出率を変動させ、全国の約 20% の病院を抽出した。対象診療科は、内科、小児科、整形外科とした。これらの施設に FGF23 関連低リン血症疾患診断の手引き、一次調査票を郵送し、一次調査で過去5年間の経験症例の有無を回答いただいた。また症例ありと回答をされた施設に対し、病型、血清および尿中 Ca、リン、血清 FGF23 濃度、治療の有無とその内容、治療後の経過等を記入していただく二次調査票を再度送付し、集計・解析を行う予定である。

C. 研究結果

1) 全国疫学一次調査の実施と解析

2010年1月～3月に、2,895施設の内科(内分泌代謝内科)、整形外科、小児科を対象に2005-2009年(5年間)の患者数調査を実施した。2,895施設中1,149施設から回答があり(回答率39.7%)、「患者あり」の施設95施設、患者数計301人/5年間であった。なお、回答いただいた施設の中にはFGF23血中濃度未検例も複数含まれており、さらに複数の施設から報告された重複例も存在すると考えられるため、二次調査において詳細に解析を行った後に、推定患者数を算出する予定である。

2) 全国疫学二次調査票の作成

一次調査で症例ありと回答をいただいた施設と埼玉医科大学公衆衛生学教室、および徳島大学生体情報内科学との共同研究として、徳島大学の倫理委員会に疫学調査の申請を行っている。この申請が受理された後、二次調査票を徳島大学か

ら送付する予定である。二次調査票は平成21年度の本研究班会議において検討されたものを使用する。具体的には、推定発症年齢、性別、病型、遺伝子検索の有無とその結果、血清Ca、リン、クレアチニン、1,25(OH)₂D、intact-PTH、ALP、BAP、FGF23、尿中クレアチニンおよびリンを、初診時と経過観察中(TIOは術後)、活性型ビタミンD₃あるいはリン製剤による治療の有無を記入できるように作成している。

3) 倫理面での配慮:

疫学研究に関する倫理指針に従って研究を行い、全国疫学調査に関しては徳島大学の倫理委員会に申請中である。

D. 考察

本一次調査の回答率は、39.7%にとどまった。これは、本研究班で2年前より行っている甲状腺クリーゼの全国一次調査(回答率 52.5%)より低い数字であった。FAXや郵便での督促を複数回行ったが、低い回収率であった原因として、本症は近年明らかとなった病態であり、すべての医師に広く認識されていない可能性、本症が比較的稀な疾患であり、症例を有さない施設からの返答が少なかった可能性が考えられる。前述のように、FGF23に起因する低リン血症であるかどうかの鑑別は、治療方針決定の上でも非常に重要である。従って今後も本研究班を通じて、本疾患の認知を広めるための広報も引き続き継続する必要があると考えられた。二次調査においては、既に協力いただけるとの回答を得ている施設が大部分であり、回収率は問題とならないものと期待される。

E. 結論

FGF23 関連低リン血症性疾患の全国疫学調査を開始した。本調査の成果により、これまで不明であったわが国における本症の疫学実態が明らかとなるとともに、将来的には治療法の開発にも貢献でき、さらに上記の診断指針の検証が可能であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Saito T, Nishii Y, Ysauda T, Ito N, Suzuki H, Igarashi T, Fukumoto S et al.: Familial hypophosphatemic rickets caused by a large deletion in PHEX gene. *Eur J Endocrinol* 161: 647-51, 2009.
- ② Shimizu Y, Tada Y, Yamauchi M, Okamoto T, Suzuki H, Ito N, Fukumoto S et al.: Hypophosphatemia induced by intravenous administration of saccharated ferric oxide. *Bone* 45: 814-6, 2009.
- ③ Aono Y, Yamazaki Y, Yasutake J, Kawata T, Hasegawa H, Urakawa I, Fukumoto S et al.: Therapeutic effects of anti-FGF23 antibodies in hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J Bone Miner Res* 24: 1879-88, 2009.
- ④ Kumamoto K, Nakamura T, Suzuki T, Matsumoto T et al.: Validation of the Japanese Osteoporosis Quality of Life Questionnaire. *J Bone Miner Metab* 28: 1-7, 2010.

2. 学会発表

- ① Endo I, Onishi Y, Kurahashi K, Fukumoto S, Matsumoto T et al: A new calcylitic compaund, JTT-305, inhibits enhanced signaling by activating mutations of calcium-sensing receptor in autosomal dominant hypocalcemia (ADH). ASBMR 31st Annual meeting. Denver Co, 2009/9/11-15
- ② 遠藤逸朗、大西幸代、木戸里佳、福本誠二、松本俊夫ら: 常染色体優性低 Ca 血症(ADH) に対する Calcilytics の治療応用への可能性 第 27 回骨代謝学会学術集会. 平成 21 年 7 月 23 日~25 日. 大阪国際会議場.

3. その他

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成 21 年度分担研究報告書

体内での線維芽細胞増殖因子 23(FGF23)蛋白の存在様式に関する検討

分担研究者 福本誠二（東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 講師）

研究要旨

FGF23は、骨によって産生され腎臓のKlotho-FGF受容体複合体に作用することにより、血中リン、1,25-水酸化ビタミンD[1,25(OH)₂D]濃度を低下させるホルモンである。In vitroの発現実験では、一部のFGF23蛋白は¹⁷⁹Argと¹⁸⁰Serの間でプロセッシングを受け、リン利尿作用を有さないフラグメントに切断される。しかし、このプロセッシングがin vivoでおこっているのか、またおこっているとするとプロセッシングを受けたFGF23フラグメントの意義は不明である。免疫沈降-ウェスタンブロットにより、健康人を含め血中にFGF23フラグメントが存在することが明らかになった。さらに過剰なFGF23フラグメントは、全長FGF23によるKlotho依存性のレポーター活性を抑制した。従って、FGF23フラグメントが増加する疾患においては、フラグメントによる全長FGF23作用の阻害が病態の発症に関与する可能性がある。

A. 研究目的

FGF23は、骨によって産生され腎臓のKlotho-FGF受容体複合体に作用することにより、血中リン、1,25-水酸化ビタミンD[1,25(OH)₂D]濃度を低下させるホルモンである。In vitroの発現実験では、一部のFGF23蛋白は¹⁷⁹Argと¹⁸⁰Serの間でプロセッシングを受け、リン利尿作用を有さないフラグメントに切断される。しかし、このプロセッシングがin vivoでおこっているのか、またおこっているとするとプロセッシングを受けたFGF23フラグメントの意義は不明である。

B. 研究方法

末期腎不全 20 例、腫瘍性骨軟化症 11 例、健康人 10 例の血中 FGF23 を、免疫沈降-ウェスタンブロットにより検討した。さらに全長 FGF23 と FGF23 フラグメントを発現する細胞の培養液を用い、全長 FGF23 による Klotho 依存性の Egr-1 プロモーター活性上昇に及ぼす FGF23 フラグメントの効果を検討した。

C. 研究結果

末期腎不全、腫瘍性骨軟化症、健康人のいずれにおいても、約 30%の FGF23 はプロセッ

シングを受けたフラグメントとして存在していた。また全長 FGF23 と同等濃度以上のフラグメントを添加した場合には、全長 FGF23 の作用が抑制された。

D. 考察

FGF23 蛋白は、in vivo でも一部はプロセッシングを受けることが明らかとなった。また全長 FGF23 と FGF23 フラグメントの比率は、腎機能により影響を受けなかった。一部の高リン血症性腫瘍状石灰沈着症患者では、血中に多量の FGF23 フラグメントが存在することが明らかにされている。このように、FGF23 フラグメントが全長 FGF23 に比較し多量に存在する場合には、FGF23 フラグメントによる全長 FGF23 作用の阻害が、病態の発症に関与する可能性が考えられる。

E. 結論

FGF23 蛋白は、in vivo でも一部が¹⁷⁹Argと¹⁸⁰Serの間でプロセッシングを受ける。この FGF23 フラグメントが大量に存在する場合には、全長 FGF23 作用が阻害される可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ① Saito T, Nishii Y, Yasuda T, Ito N, Suzuki H, Igarashi T, Fukumoto S, Fujita T. Familial hypophosphatemic rickets caused by a large deletion in PHEX gene. Eur J Endocrinol 2000; 161, 647-651.
- ② Shimizu Y, Tada Y, Yamauchi M, Okamoto T, Suzuki H, Ito N, Fukumoto S, Sugimoto T, Fujita T. Hypophosphatemia induced by intravenous administration of saccharated ferric oxide. Bone 2009; 45, 814-816.
- ③ Aono Y, Yamazaki Y, Yasutake J, Kawata T, Hasegawa H, Urakawa I, Fujita T, Wada M, Yamashita T, Fukumoto S, Shimada T. Therapeutic effects of anti-FGF23 antibodies in hypophosphatemic rickets/osteomalacia. J Bone Miner Res 2009; 24, 1879-1888.

2. 学会発表

- ① Shimizu Y, Saito T, Suzuki H, Ito N, Fukumoto S, Fujita T. Analysis of circulatory FGF23 protein. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian & New Zealand Bone & Mineral Society. Bone 2009; 44, S130.
- ② Suzuki H, Ito N, Fukumoto S, Fujita T. Significance of mucin-type O-linked glycosylation of FGF23 protein. 31st Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。