

Ⅲ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成 22 年度分担研究報告書

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（徳島大学病院 内分泌代謝内科 講師）

研究要旨 全国一次調査では FGF23 関連低リン血症性疾患の年間発症症例数は 117 例(95%CI 75-160)と算出された。二次調査では、施設回答率 36.8%で TIO 25 例、XLH 19 例、ARHR 3 例、含糖酸化鉄剤投与 6 例であった。これらはいずれも TmP/GFR 低下を伴う低リン血症が認められ、かつ FGF23 血中濃度が 30pg/ml 以上であった。したがって FGF23 関連低リン血症の診断にあたり、FGF23 血中濃度が 30pg/ml 以上であるとの条件の妥当性が確認できた。また、TIO 症例では腫瘍の全摘がリン代謝の改善には必須であり、含糖酸化鉄剤投与に伴う低リン血症では同剤の投与中止により血清リンは速やかに正常化が認められた。FGF23 関連低リン血症性疾患の原因は多様化しており、今後その簡便かつ明確な鑑別診断法の開発が必要である。

A. 研究目的

各 FGF23 関連低リン血症性疾患の本邦での実態を明らかにし、本疾患のより良い診断、治療法確立への一助とすることを研究目的とした。

B. 研究方法

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)との共同研究による全国調査を施行した。対象機関となる全国 2895 施設(抽出率約 20%)に対し、FGF23 関連低リン血症性疾患の診断の手引き、第一次調査票および調査依頼状を徳島大学より郵送した。第一次調査で 2005 年から 2009 年までに症例ありと回答を戴いた施設に対しては第二次調査票ファイル(Excel)をメールで送信し、記入、返信戴いた。第二次調査票送付施設、埼玉医科大学および徳島大学の共同臨床研究として、徳島大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

2895 施設中 1149 施設より回答があり(回答率 39.7%)、患者有りの施設は 95、患者数 331/5 年間であった。年間発症症例数は、男性 55 例(95% CI

30-81)、女性 62 例(95% CI 40-84)合計 117 例(95% CI 75-160)と算出された。

二次調査では、腫瘍性骨軟化症(TIO) 25 例、X 染色体優性低リン血症性くる病(XLH) 19 例、常染色体劣性低リン血症性くる病(ARHR) 3 例、含糖酸化鉄剤投与による低リン血症 6 例、そのほかに線状皮脂腺母斑症候群、グリベック投与後を 1 例ずつ認めた。一方、FGF23 関連低リン血症性くる病の正確な病因が確定されている例は 56.5%にとどまった。二次調査症例では、いずれの症例でも TmP/GFR 低下を伴う低リン血症が認められるとともに、血中 FGF23 濃度が 30 pg/ml 以上であった。TIO 症例において腫瘍摘出が行われた症例ではいずれも血清 P、TmP/GFR、FGF23 値の改善が認められたが、腫瘍残存例においては TmP/GFR は正常範囲まで改善しなかった。XLH 症例では、活性型ビタミン D₃ あるいは無機リン製剤による治療で、血清リン濃度の改善はほとんど認められなかった。含糖酸化鉄剤による低リン血症では、平均 1.12mg/dl と著明な低リン血症が認められたが、含糖酸化鉄剤の中止により速やかに血中 FGF23 値の正常化とともに血清リン値の正常化が認められた。

D. 考察

該当患者の診療を行っている施設を対象とした二次調査においても、回答率は低かった。今後も、担当医師に対し協力を求めていく必要がある。また、XLHにおいては、活性型ビタミン D₃ やリン製剤では生化学所見の改善は乏しい。従って XLH に対しては抗 FGF23 抗体療法など、新たな治療法の確立が必要と考えられた。わが国において FGF23 関連低リン血症性疾患の病因は多様化している。今後その簡便かつ明確な鑑別診断法の開発が必要である。

E. 結論

本疫学調査の結果により、FGF23 関連低リン血症性疾患の詳細が明らかとなった。将来的には治療法の開発にも貢献できると期待している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Horii M, Shimizu Y, Fukumoto S.: Minireview: fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and bone metabolism., *Endocrinology*. 2011 Jan;152(1):4-10.
- 2) Ito N, Shimizu Y, Fukumoto S. et al: Clinical utility of systemic venous sampling of FGF23 for identifying tumours responsible for tumour-induced osteomalacia., *Intern Med*. 2010 Oct;268(4):390-4.
- 3) Mori Y, Ogasawara T, Fukumoto S. et al: Tumor-induced osteomalacia associated with a maxillofacial tumor producing fibroblast growth factor 23: report of a case and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Mar;109(3):e57-63.
- 4) Ito M, Nakamura T, Matsumoto T. et al: Effect of eldcalcitol, an active vitamin D analog, on hip structure and biomechanical properties: 3D assessment by clinical CT. *Bone*. 2011 May 15.

2. 学会発表

- 1) FGF23 関連低リン血症性疾患に関する全国疫学調査 遠藤逸朗、福本誠二、松本俊夫 日本内分泌学会総会 2011/4/22, 神戸

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許の取得
なし。
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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 22 年度分担研究報告書

FGF23 関連低リン血症性くる病の病因の検討

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 線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)は、血中リン、1,25-水酸化ビタミン D 濃度を低下させるホルモンである。過剰な FGF23 活性により、ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症である X 染色体優性、常染色体優性、および 2 種類の常染色体劣性低リン血症性くる病が惹起される。これらの疾患の原因遺伝子として、*PHEX*、*FGF23*、*DMP1*、および *ENPP1* が知られている。しかしこれらの疾患の、本邦での頻度は明かではない。そこで 13 家系 20 名の FGF23 関連低リン血症性くる病患者の *PHEX*、*FGF23*、*DMP1*、*ENPP1* 遺伝子を検討した。その結果、11 家系 17 名に *PHEX* 遺伝子異常が認められ、このうち 7 種類の変異は新規変異であった。さらに 1 家系 1 名は、*ENPP1* 遺伝子異常による常染色体劣性低リン血症性くる病/骨軟化症 2 であることが明らかとなった。1 家系 2 名では、家族歴が明らかであるにも拘わらず、これらの遺伝子に異常は認められなかった。従って本邦における FGF23 関連低リン血症性くる病の大部分は、*PHEX* 遺伝子異常による X 染色体優性低リン血症性くる病/骨軟化症であるものの、その他の遺伝子異常による低リン血症性くる病/骨軟化症も存在することが明らかとなった。

A. 研究目的

線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)は、血中リン、1,25-水酸化ビタミン D 濃度を低下させるホルモンである。過剰な FGF23 活性による遺伝性低リン血症性くる病として、X 染色体優性低リン血症性くる病 (XLH)、上染色体優性低リン血症性くる病 (ADHR)、常染色体劣性低リン血症性くる病 (ARHR)1、および 2 が知られている。これらの原因遺伝子はそれぞれ、*phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases on the X chromosome* (*PHEX*)、*FGF23*、*dentin matrix protein 1* (*DMP1*)、および *ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1* (*ENPP1*)である。しかし、本邦におけるこれらの疾患の頻度は明かではない。そこで本研究では、遺伝性 FGF23 関連低リン血症性くる病/骨軟化症の病因を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

低リン血症性くる病患者のうち、FGF23 が 30 pg/ml で FGF23 関連低リン血症性くる病と考えられる患者

13 家系 20 名を対象とした。末梢血 DNA を用い、*PHEX*、*FGF23*、*DMP1*、および *ENPP1* 遺伝子変異を PCR 産物の直接シーケンス法などにより検討した。

C. 研究結果

11 家系 17 名に *PHEX* 遺伝子異常が認められ、このうち 7 種類の変異は新規変異であった。さらに 1 家系 1 名は、*ENPP1* 遺伝子異常による常染色体劣性低リン血症性くる病/骨軟化症 2 であることが明らかとなった。1 家系 2 名では、家族歴が明らかであるにも拘わらず、これらの遺伝子に異常は認められなかった。

D. 考察

FGF23 の同定により、ビタミン D 抵抗性くる病の多くが、過剰な FGF23 活性により惹起されることが明らかにされてきた。従来、ビタミン D 抵抗性くる病と XLH は、ほぼ同義と考えられてきた。このため遺伝性ビタミン D 抵抗性くる病は、すべて臨床的に XLH と診断されてきた。しかし本検討により、本邦における遺伝性

FGF23 関連低リン血症性くる病の大部分は XLH であるものの、XLH 以外の疾患も存在することが明らかとなった。従って FGF23 関連低リン血症性くる病の正確な診断には、遺伝子検索が必須と考えられる。一方一家系では、*PHEX*、*FGF23*、*DMPI*、および *ENPPI* のいずれの遺伝子にも異常を認めなかった。この理由としては、既知の遺伝子以外にも FGF23 関連低リン血症性くる病を惹起する遺伝子が存在する、*PHEX* 遺伝子変異のモザイクで変異を直接シーケンシング法では検出できなかった、あるいは遺伝子プロモーター領域の異常による、などの可能性が考えられる。

E. 結論

本邦における FGF23 関連低リン血症性くる病の大部分は、*PHEX* 遺伝子異常による X 染色体優性低リン血症性くる病/骨軟化症であるものの、その他の遺伝子異常による低リン血症性くる病/骨軟化症も存在することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ito N, Shimizu Y, Suzuki H, Saito T, Okamoto T, Hori M, Akahane M, Fukumoto S, Fujita T. Clinical utility of systemic venous sampling of FGF23 for identifying tumours responsible for tumour-induced osteomalacia. *J Intern Med* 2010; 268, 390-394.
- 2) Mori Y, Ogasawara T, Motoi T, Shimizu Y, Chikazu D, Tamura K, Fukumoto S, Takato T. Tumor-induced osteomalacia associated with a maxillofacial tumor producing fibroblast growth factor 23: report of a case and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109, e57-e63.
- 3) Hasegawa H, Nagano N, Urakawa I, Yamazaki Y, Iijima K, Fujita T, Yamashita T, Fukumoto S, Shimada T. Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. *Kidney Int* 2010; 78, 975-980.

2. 学会発表

- 1) Shimizu Y, Ito N, Suzuki H, Okamoto T, Hori M, Fukumoto S, Fujita T. Significance of measurement of FGF23 in the management of patients with tumor-induced osteomalacia (TIO). *ICE2010 Endocr J* 2010; 57, S499.
- 2) Shimizu Y, Saito T, Suzuki H, Fukumoto S, Fujita T. Role of processed FGF23 fragments. 32nd Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許の取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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 22 年度分担研究報告書

血清カルシウム・リン制御機構に関する研究

分担研究者 大菌恵一（大阪大学大学院医学系研究科小児科学教授）

研究協力者 難波範行（大阪大学大学院医学系研究科小児科学助教）

研究要旨 平成 21 年に日本小児内分泌学会、日本小児腎臓病学会の合同で「低リン血症性くる病の治療に関するアンケート調査」が施行され、データをまとめる担当者となった。大多数の家族性低リン血症性くる病患者は活性型ビタミン D およびリン酸製剤で治療されていること、リン酸製剤は殆どが院内製剤であり、投与量は概ね P として 40~60mg/kg/日（分 3~4）であることなどが明らかとなった。さらに、病状評価、治療の最適化を目指し、自験例の低リン血症性くる病患者において線維芽細胞成長因子 23 (fibroblast growth factor 23: FGF23) 値および諸因子との関連を解析した。FGF23 値は治療により上昇することが認められた。一方、FGF23 値は P 投与量と正の、血清クレアチニン値および推定糸球体濾過量とはそれぞれ正、負の相関が認められ、P 投与量 > 60mg/kg/day で軽度腎機能低下を来す可能性が示唆された。

A. 研究目的

低リン血症性くる病の明確な治療指針は存在せず、本邦における低リン血症性くる病患者の治療実態も不明であるため、実態を明らかにすることを目的にアンケート調査を施行した。さらに、治療時の FGF23 測定の有用性、すなわち FGF23 が病状評価、治療の最適化のためのマーカーとなり得るか否かを検討することを目的とし、自験例の低リン血症性くる病 (XLH) 患者において、従来の治療指標、治療内容と FGF23 との関連を解析した。

B. 研究方法

アンケート調査

本邦における治療実態を解析のため、日本小児内分泌学会、および日本小児腎臓病学会評議員の所属する施設・診療科にアンケートを送付した。今回は日本小児内分泌学会評議員の所属する 68 施設に送付したアンケートを解析した。対象は 6 ヶ月以上低リン血症が持続している患者で、調査は 11/11/2009~5/21/2010 に実施された。

自験例における解析

当院で経過観察中の XLH 患者 14 名のうち、2 回

以上血清 FGF23 値を測定し、かつ治療中である 9 名を対象に、血清 FGF23 (Kainos 社キット) とともに、年齢、身長、体重、治療内容、血清 Ca, P, Alb, ALP, PTH, 1,25(OH)₂D, 25OHD, BUN, Cre, 尿 Ca, P, Ca/Cr, %TRP, TmP/GFR, 推定 GFR (Schwartz の式より計算) を測定した。患者 n 数が少ないため、今回の解析では上記因子について治療開始後約 0.5 年毎の測定結果を各人最大 3 回まで採用している。FGF23 とそれぞれの因子との相関関係は統計解析ソフトウェア JMP 8 (SAS Institute Japan 株式会社) を用いて解析した。(倫理面への配慮) 研究計画は大阪大学大学院医学系研究科の倫理委員会に申請し、承認されている。承認内容に十分配慮して研究を遂行している。

C. 研究結果

アンケート調査

送付した 68 施設のうち、53 施設より回答が得られ、有効回答率は 78%であった。持続性低リン血症患者数は 135 人、うち家族性(遺伝性)は 126 人であった。大多数は活性型ビタミン D 製剤および経口リン酸製剤で治療されていた。リン酸製剤はほとんどが院内製

剤であり、投与量は概ね P として 40-60 mg/kg/day (分 3-4)であった。また、治療指標として血清 IP、ALP、intact PTH、尿 Ca/Cre、骨 X 線所見などが用いられており、総合的に判断されていた。

自験例における解析

FGF23 値は、1) 多くの XLH 症例で治療経過中に増加し、2) P 投与量と正の相関が認められた。3) %TRP と負の相関が認められたが、TmP/GFR とは相関が認められなかった。また、4) 血清 Cre および推定 GFR とそれぞれ正、負の強い相関が認められた。そして、2)、4) より、P 投与量 > 60mg/kg/day で軽度腎機能低下を来たす可能性が示唆された。ただし、推定 GFR は 2 ポイントを除き、すべて ≥ 90 ml/min/1.73 m²(慢性腎臓病(CKD)ステージ 1)であり、CKD ステージ 3 以上の者はいなかった。

D. 考察

アンケート調査

施設により投与量に若干のばらつきはあるものの、低リン血症性くる病に対し、ビタミン D 製剤と合わせて経口リン酸製剤が広く使用されており、特に経口リン酸製剤は未だに認可されていないため、認可の必要性は強い。

自験例における解析

XLH 患者では、FGF23 値と P 投与量は正の相関を示すことより、FGF23 分泌の増加は、治療による P 負荷増加を反映していると考えられた。FGF23 値は %TRP と正の相関が認められるものの、TmP/GFR とは相関が認められず、FGF23 値の上昇により低リン血症の悪化を来す可能性は低いと考えられた。また、上記結果に示したように P 投与量 > 60mg/kg/day で軽度腎機能低下を来たす可能性が示唆されたが、XLH 患者では FGF23 の基礎値が高いため、腎機能を比較的鋭敏に反映し、相関関係を見出すことができたと考えられる。XLH では治療により腎機能低下を来たす危険性があり、FGF23 値、治療内容、腎機能について今後更なる検討が必要である。なお、アンケート調査で得られた P 投与量(40-60 mg/kg/day)より、リンの過剰投与は概ね経験的に避けられてきたと解釈することもでき、興味深い。

E. 結論

XLH 患者においても、血清 FGF23 値の上昇は腎機能の低下を鋭敏に反映している可能性があり、治

療の最適化を念頭に、今後その有用性についてさらに検討を加える必要性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshida H, Hashii Y, Okuda T, Kusuki S, Sato E, Ozono K, et al. A case of congenital bone marrow failure with radio-ulnar synostosis. *Int J Hematol*, 2010. 91(2):331-332.
- 2) Kubota T, Michigami T, Ozono K. Wnt Signaling in Bone. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2010, 19(3):49-56.
- 3) Bessho K, Etani Y, Ichimori H, Miyoshi Y, Namba N, Ozono K, et al. Increased type 3 iodothyronine deiodinase activity in a regrown hepatic hemangioma with consumptive hypothyroidism. *Eur J Pediatr*, 2010, 169(2):215-221.
- 4) Yoshida H, Matsumura R, Sato E, Hashii Y, Ohta H, Ozono K. Late-onset differentiation syndrome in a child with acute promyelocytic leukemia. *Int J Hematol*, 2010, 92(2):409-411.
- 5) Kimata M, Michigami T, Tachikawa K, Okada T, Koshimizu T, Ozono K, et al. Signaling of extracellular inorganic phosphate up-regulates cyclin D1 expression in proliferating chondrocytes via the Na(+)/Pi cotransporter Pit-1 and Raf/MEK/ERK pathway. *Bone*, 2010, 47(5):938-947.
- 6) Yamazaki M, Ozono K, Okada T, Tachikawa K, Kondou H, Ohata Y, et al. Both FGF23 and extracellular phosphate activate Raf/MEK/ERK pathway via FGF receptors in HEK293 cells. *J Cell Biochem*, 2010, in press.
- 7) Miyoshi Y, Sakai N, Hamada Y, Tachibana M, Hasegawa Y, Ozono K, et al. Clinical aspects and adrenal functions in eleven Japanese children with X-linked adrenoleukodystrophy. *Endocr J*, 2010, in press.
- 8) Ohta H, Hashii Y, Yoshida H, Kusuki S, Tokimasa S, Ozono K, et al. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Against Recurrent Rhabdomyosarcoma. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2010, in press.

2. 学会発表
 - 1) Ichimori H, Kogaki S, Ishida H, Narita J, Ozono K. A Drastic Shift from Positive to Negative Effects of Estrogen on BMP Signaling in Pulmonary Arterial Endothelial Cells in Response to Hypoxia. ENDO2010: 10.06.19-22, San Diego
 - 2) Miyoshi Y, Tachibana M, Hamada Y, Hasegawa Y, Kiyohara Y, Ozono K, et al. Clinical Aspects and Adrenal Functions of Ten Japanese Patients with Childhood X-Linked Adrenoleukodystrophy. ENDO2010: 10.06.19-22, San Diego
 - 3) 橘真紀子, 長谷川泰浩, 三善陽子, 大藪恵一, Y 染色体成分をもつモザイク型ターナー症候群の一例, 第43回発育異常研究会: 10.06.26, 大阪
 - 4) 道上敏美, 宮川和晃, 高垣裕子, 大藪恵一, リン代謝における骨細胞の機能, 第45回日本骨代謝学会学術集会: 10.07.21-23, 東京
 - 5) 藤原 誠, 北岡太一, 三浦弘司, 難波範行, 平井治彦, 大藪恵一, 骨形成不全症児の身長に対するパミドロネート治療の影響, 第45回日本骨代謝学会学術集会: 10.07.21-23, 東京
 - 6) 宮川和晃, 大藪恵一, 立川加奈子, 高垣裕子, 古郷幹彦, 道上敏美, Hyp マウスにおける初期骨細胞・骨芽細胞においては、リン代謝関連分子の発現が特異的に変化している 第45回 日本骨代謝学会学術集会: 10.07.21-23, 東京
 - 7) 大幡泰久, 山崎美和, 岡田知子, 大藪恵一, 道上敏美, 胎盤合体栄養膜層は Klotho と FGFR1 を発現しており、FGF23 の標的となりうる, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 8) 三浦弘司, 難波範行, 藤原 誠, 北岡太一, 平井治彦, 大藪恵一, 道上敏美, ナトリウム利尿ペプチド受容体Bの機能獲得型変異により高身長、巨大母趾を呈した1家系 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 9) 冬木真規子, 池田 妙, 橘 真紀子, 長谷川泰浩, 下野九理子, 三善陽子, 大藪恵一, 橋本脳症が疑われる非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の一例, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 10) 藤原 誠, 大藪恵一, 低リン血症性くる病の治療に関するアンケート調査 結果報告, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 11) 河野智敬, 会津克哉, 立川加奈子, 道上敏美, 大藪恵一, 望月 弘, 低フォスファターゼ症の一部は低身長の精査を契機に診断される, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 12) 三善陽子, 難波範行, 大藪恵一, T3 優位型パセドウ病の治療体験, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 13) 中山尋文, 山本勝輔, 下辻常介, 山本威久, 北岡太一, 大藪恵一, アレルギーによる食事制限に伴って発症したビタミンD欠乏性くる病の一例, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 14) 大幡泰久, 大藪恵一, 山崎美和, 岡田知子, 中山雅弘, 平井治彦, 道上敏美, 胎盤合体栄養膜層は Klotho と FGFR1 を共発現しており、FGF23 シグナルを受容する, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 15) 橘真紀子, 中山雅弘, 光田信明, 北島博之, 位田忍, 三善陽子, 大藪恵一, SGA(small for gestational age)児の胎盤組織所見についての検討, 第44回日本小児内分泌学会学術集会: 10.10.07-09, 大阪
 - 16) Ohata Y, Yamazaki M, Okada T, Nakayama M, Ozono K, Michigami T. Placenta Expresses Klotho and FGFR1 in Syncytiotrophoblast and Might Be a Target Organ of FGF23. 32nd annual Meeting ASBMR 2010: 10.10.14-21, Toronto.
 - 17) Miyagawa K, Ozono K, Tachikawa K, Mikuni-Takagaki Y, Kogo M, Michigami T. Differential Gene Expression in Osteoblast/Osteocyte Lineage Cells between Hyp Mouse and Wild-type Mouse. 32nd annual Meeting ASBMR 2010: 10.10.14-21, Toronto
 - 18) Miura K, Namba N, Ozono K. A Survey on Vitamin D Deficiency in Children in Japan. 32nd annual Meeting ASBMR 2010: 10.10.14-21, Toronto

G. 知的所得権の取得状況

1. 特許の取得
特許なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

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 22 年度分担研究報告書

Vitamin D insufficiency による骨折リスク亢進の機序の検討

分担研究者 杉本利嗣（島根大学医学部内科学講座内科学第一 教授）
山内美香（島根大学医学部内科学講座内科学第一 助教）

研究要旨 Vitamin D(VD)充足状態を最も反映する 25(OH)D の臨床的有用性について検討を行った。これまで健常閉経後女性の約 8 割に VD insufficiency (VD 不足)を認めること、25(OH)D 低値が年齢、PTH、骨代謝マーカーや骨密度とは独立した全脆弱性骨折のリスク因子であることを明らかにした。さらにVD 不足による骨脆弱性の機序に続発性副甲状腺機能亢進が関与するかを明らかにするために、25(OH)D と PTH で 4 分割し検討したところ、低 25(OH)D 高 PTH 群ではなく低 25(OH)D 低 PTH 群で最も高い骨折率を示した。つまり、VD 不足における骨脆弱性亢進に副甲状腺機能亢進状態は必ずしも関与せず、むしろVD 不足にも関わらず PTH が上昇していないことが、骨折リスクの増大に関わる可能性を明らかにした。この機序についてさらに検討したところ、低骨代謝回転や耐糖能異常は関与しなかった。低 25(OH)D 低 PTH 群において骨折の有無で有意差を認める因子を検討したところ、Cr、eGFR に差を認めた。つまり、VD 不足状態にもかかわらず、PTH が上昇せず骨脆弱性が高まる機序の一部に腎機能障害が関与することを初めて明らかにした。

A. 研究目的

Vitamin D(VD)の充足状態を最も反映する 25(OH)D の臨床的有用性について検討を行っており、閉経後女性の約 8 割に VD insufficiency (VD 不足) [25(OH)D<20ng/ml]を認めること、25(OH)D 低値が年齢、PTH、骨代謝マーカーや骨密度(BMD)とは独立した全脆弱性骨折のリスク因子であることを明らかにした。VD 不足は PTH の上昇をきたし、この続発性副甲状腺機能亢進状態が骨脆弱性に関与するとされるが、その詳細については明らかになっていない。そこで、閉経後女性における VD 不足による骨脆弱性の機序について検討する。

B. 研究方法

対象は骨粗鬆症健診を受けた閉経後女性 202 名。血液検査にて 25(OH)D(ng/mL)、Ca(mg/dl)、P(mg/dl)、Cr(mg/dl)、HbA1c(%), intact PTH(pg/mL)、骨形成マーカーである I 型プロコラーゲン N-プロペプチド(PINP) (ng/mL)、オステオカルシン(OC) (ng/mL)、骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋

C-テロペプチド(CTX) (ng/mL)を測定し、DXA 法で腰椎(L2-4)、大腿骨頸部(FN)BMD を測定した。椎体骨折の有無はX線検査にて判定した。非椎体骨折の有無は医師による個別聴取により確認した。交通事故や身長以上の高さからの転落のような外傷性の骨折は除外した。椎体骨折および非椎体骨折のいずれかを有する者を全脆弱性骨折有りと判定した。統計学的解析は StatView (Abacus Concepts, Inc.) を用いて行った。

C. 研究結果

対象群の平均年齢は 63.3 ± 7.4 歳で、全脆弱性骨折既往者は 64 名であった。

【全脆弱性骨折の有無での比較】

25(OH)D は骨折群で有意に低値を示した(14.7 ± 3.2, 17.1 ± 4.6, p<0.001)。年齢、BMD に有意差を認め、年齢は骨折群で有意に高値(66.4 ± 6.7, 62.9 ± 7.3, p<0.001)、L2-4BMD (0.790 ± 0.142, 0.865 ± 0.142, p<0.001)、FNBM (0.595 ± 0.095, 0.633 ± 0.085, p<0.001)は骨折群で有意に低値を示した。ま

た、25(OH)D は年齢、PTH、CTX、BMD と相関を認めたことから、ロジスティック回帰分析にてこれらを独立因子として検討を行った。25(OH)D は年齢、BMI、Ca、P、Cr、CTX、PTH、FNBMD で補正後も全脆弱性骨折に関わる因子として選択された[OR 0.65 (95%CI 0.43-0.99), p=0.048]。25(OH)D は筋力やバランス機能に関与するとされることから、筋力の指標として握力、バランス機能の指標として継足歩行能を加え、さらに VD 摂取量を独立因子として検討した。25(OH)D は前述の独立因子に加え、握力、継足歩行能、VD 摂取量で補正後も全脆弱性骨折に関わる因子として選択された[OR 0.60 (0.38-0.94), p=0.027]。

【25(OH)D および PTH レベルと骨折の関係】

25(OH)D と PTH で 4 分割した検討において、高 25(OH)D 高 PTH 群における骨折者の割合は 23.1%、高 25(OH)D 低 PTH 20.3%、低 25(OH)D 高 PTH 37.1%、低 25(OH)D 低 PTH 47.6%で、低 25(OH)D 低 PTH 群が最も高い骨折率を示した。ロジスティック回帰分析にて低 25(OH)D 低 PTH 群であることは年齢、BMI、Ca、P、Cr、CTX、FNBMD を考慮しても有意な骨折リスク因子であった[OR 2.59 (1.19 - 5.63), p=0.017]。

【低 25(OH)D 低 PTH 群と低 25(OH)D 高 PTH 群の比較】

低 25(OH)D であるにもかかわらず PTH が上昇しない群の特徴を検討するため、低 25(OH)D 低 PTH 群と低 25(OH)D 高 PTH 群で比較した。2 群で年齢、BMI、BMD に差を認めなかったが、PINP(51.9±16.2, 59.9±16.8, p<0.05)、OC(20.3±6.6, 26.3±11.1, p<0.01)、CTX(0.39±0.15, 0.46±0.15, p<0.05)は低低群で有意に低値を示した。空腹時血糖や HbA1c、Cr、eGFR (estimated glomerular filtration rate)(ml/min/1.73m²)などに差は認めなかった。

【PTH レベルおよび骨代謝マーカーと骨折の関係】

我々はこれまでに糖尿病患者において、低 PTH かつ低 OC が椎体骨折のリスク因子である結果を得ているため、PTH と OC あるいは PTH と PINP や CTX で 4 群に分け骨折との関係を検討したがいずれの群でも差を認めなかった。

【低 25(OH)D 低 PTH 群における全脆弱性骨折の有無での比較】

骨折の有無で年齢、BMI、BMD、骨代謝マーカー、HbA1c に差を認めなかったが、Cr(0.62±0.09, 0.56±0.09, p<0.05)が骨折群で有意に高値、eGFR(74.6±12.2, 86.1±18.0, p<0.05)が有意に低値を示した。

Cr は年齢、BMI、25(OH)D、PTH、CTX、FNBMD で補正後も有意な予測因子として選択され[OR 3.19 (1.13 - 9.04), p=0.029]、eGFR も BMI、25(OH)D、PTH、CTX、FNBMD で補正後も有意であった[OR 0.23 (0.07 - 0.73), p=0.013]。

D. 考察

25(OH)D は VD の充足状況を反映する最も有用な指標であるが、現在のところその測定は保険収載されていない。この測定が臨床的に有用なものであるか否かについて検討を行った。

25(OH)D 低値は骨折予測因子のひとつであり、25(OH)D の 10ng/ml 低下により大腿骨近位部骨折リスクは、1.33 倍と有意に増大するとされる (Cauley JA et al, Ann Intern Med 149:242, 2008)。昨年の検討により、日本人においても、25(OH)D 低値が、年齢や PTH、骨代謝マーカー、BMD とは独立した全脆弱性骨折のリスク因子であることを明らかにした。

25(OH)D は PTH と有意な負の相関を示し (Garnero P et al, Bone 40:716, 2007, Nakamura K et al, Bone 42:271, 2008)、BMD と有意な正の相関を示すことから、VD 不足に伴う骨脆弱性の機序には続発性副甲状腺機能亢進が関わりとされる (Mezquita-Raya P et al, J Bone Miner Res 16:1408, 2001)。しかし、25(OH)D 濃度と PTH、および骨折の有無との関連性について同時に検討した報告はなく、ビタミン D における骨脆弱性に続発性副甲状腺機能亢進が関与するか否かは明らかとなっていなかった。25(OH)D と PTH で 4 分割した解析において、最も高い骨折率を示したのは低 25(OH)D 低 PTH 群との結果であり、VD 欠乏における骨脆弱性亢進に副甲状腺機能亢進状態は必ずしも関与せず、むしろ VD 不足にも関わらず PTH が上昇していないことが、骨折リスクの増大に関わる可能性を明らかにした。25(OH)D 低値は筋力の低下やバランス機能の低下と関連し、転倒頻度が高まることで骨折リスクが高まるとされるが、本検討では筋力やバランス機能とは独立したリスク因子であるとの結果であった。

25(OH)D 低値にも関わらず PTH が上昇しない原因として、糖代謝異常があげられる。糖尿病患者では PTH が低値を示すことが知られており、我々も同様の結果を得ている。しかし、本検討では糖尿病患者は含まれておらず、低 25(OH)D 低 PTH 群で HbA1c が有意に高値を示すこともなかった。耐糖能障害の関

与は否定された。また、我々は糖尿病群で PTH 低値かつ OC 低値が骨折のリスク因子であるとの結果を得ている。本群でも検討したが、低骨代謝回転の関与は認められなかった。

低 25(OH)D 低 PTH 群における骨脆弱性の機序を明らかにするため、この群のみで骨折の有無の検討を行ったところ、Cr や eGFR に有意差を認めた。我々はこれまでに CKD(chronic kidney disease)ステージ 2 程度の軽度腎障害であっても CCr が骨折リスク因子であることを報告している(Kaji H et al. J Clin Endocrinol Metab 95: 4635, 2010)。CKD ステージ 2 程度から、糖化終末産物(AGEs)の上昇を認めることや(Hou FF et al. J Am Soc Nephrol 15: 1889, 2004)、ホモシステインの上昇を認めることが報告されており(LeBoff MS et al. J Clin Endocrinol Metab 94:1207, 2009, Shiraki M et al. J Bone Miner Metab 26: 93, 2008)、これが骨折リスクの増大に関与する可能性がある。低 25(OH)D にもかかわらず PTH が上昇せず骨脆弱性が高まる機序の一部に腎機能低下に関与する可能性を明らかにした。

25(OH)D と PTH は有意な負相関を有するが、25(OH)D 低値にも関わらず PTH が上昇できない群が存在する。VD を補充する場合は上昇した PTH を低減させることを指標とするとされてきたが、この概念を再考する必要があり、25(OH)D 自体の測定を要する。また、25(OH)D と PTH の相関の機序の詳細は明らかとなっておらず、今後これらの群の更なる検討は PTH 分泌調節機構の解明の一助となりうると考える。

E. 結論

VD 不足における骨脆弱性亢進に副甲状腺機能亢進状態は必ずしも関与せず、むしろ VD 不足にも関わらず PTH が上昇していないことが、骨折リスクの増大に関わる。PTH 分泌不全を伴う VD 不足による骨の脆弱性に関わる因子として、腎機能低下の関与が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yano S, Brown EM, Takase H, Wada A, Suzuki K, Kobayashi A and Sugimoto T. A new parameter for quantifying parathyroid function in patients undergoing hemodialysis. Nephron Clin Pract. 2010, 115:C51-C58

- 2) Miyauchi A, Matsumoto T, Sugimoto T, Tsujimoto M, Warner MR and Nakamura T. Effect of teriparatide on bone mineral density and bone turnover markers in Japanese subjects with osteoporosis at high risk of fracture: a 12-month, randomized placebo-controlled, double-blind study with a 6-month open-label extension. Bone 2010, 47:493-502
- 3) Takaoka S, Yamaguchi T, Yano S, Yamauchi M and Sugimoto T. The calcium-sensing receptor (CaR) is involved in strontium ranelate-induced osteoblast differentiation and mineralization. Horm Metab Res. 2010, 42:627-631, 2010
- 4) Yamauchi M, Kaji H, Nawata K, Takaoka S, Yamaguchi T, Sugimoto T. Role of Parathyroid Hormone in Bone Fragility of Postmenopausal Women with Vitamin D Insufficiency. Calcif Tissue Int. 2011 Feb 2. [Epub ahead of print]
- 5) 杉本利嗣. 低リン血症. 今日の診断指針第 6 版, 2010, 100-101
- 6) 杉本利嗣. 副甲状腺機能低下症. 今日の診断指針第 6 版, 2010, 1148-1151
- 7) 杉本利嗣, 内科疾患の診断基準・病型分類・重症度; 副甲状腺機能亢進症. 内科 増大 2010, 10:1529-1532
- 8) 杉本利嗣, 内科疾患の診断基準・病型分類・重症度; 高 Ca 血症性クリーゼ. 内科 増大 2010, 105:1571
- 9) 杉本利嗣, 内分泌疾患における Evidence に基づいた治療とは? 無症候性と正カルシウム血症性原発性副甲状腺機能亢進症の治療方針. 内分泌・糖尿病・代謝内科. 2010, 30:428-435
- 10) 梶博史, 杉本利嗣. サイトカインと骨疾患: PTH の骨アナボリック作用とサイトカイン. Clinical Calcium. 2010, 20:1555-1561
- 11) 杉本利嗣. 骨粗鬆症 Update; 骨形成促進薬の現状と展望. BIO Clinica. 2010, 25:1238-1243

2. 学会発表

- 1) Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Nawata K and Sugimoto T. Decreased PTH secretion is associated with low bone formation and vertebral fracture risk in postmenopausal women with type 2 diabetes. The American

- Society for Bone Mineral Research 32th annual meeting, (Toronto), 2010. 10.15-19, ASBMR 2010 Annual Meeting Abstracts, S84, 2010
- 2) Matsumoto T, Sugimoto T, Sowa H, Tsujimoto M, Hatano M, Awa T, Iikuni N, Miyauchi A, Warner MR and Nakamura T. Teriparatide treatment in Japanese subjects with osteoporosis at high risk of fracture: Effect on bone mineral density and bone turnover markers during 12 month, randomized, placebo-controlled, double-blind and 12-month open-label study periods. The American Society for Bone Mineral Research 32th annual meeting, (Toronto), 2010. 10.15-19, ASBMR 2010 Annual Meeting Abstracts, S204, 2010
 - 3) 山内美香, 杉本利嗣. VitaminD insufficiency と骨代謝. Vitamin D insufficiency と骨脆弱性. 第 28 回日本骨代謝学会(東京)2010 年 7 月 21-23 日. 第 28 回日本骨代謝学会学術集会プログラム抄録集. p116. 2010
 - 4) 杉本利嗣. PTH(anabolic agent)の基礎と臨床. 骨形成促進剤としての PTH の臨床応用への展開. 第 28 回日本骨代謝学会学術集会(東京)2010 年 7 月 21-23 日. 第 28 回日本骨代謝学会学術集会プログラム抄録集. p127. 2010
 - 5) 高岡伸, 山口徹, 矢野彰三, 山内美香, 山本昌弘, 杉本利嗣. スロンチウムの骨芽細胞活性化、骨形成促進作用におけるカルシウム感知受容体の関与. 第 28 回日本骨代謝学会(東京)2010 年 7 月 21-23 日. 第 28 回日本骨代謝学会学術集会プログラム抄録集. p242, 2010
 - 6) 山本昌弘, 名和田清子, 山内美香, 山口徹, 杉本利嗣. 閉経後 2 型糖尿病女性の低 PTH 分泌に伴う低骨形成状態は、骨密度とは独立した椎体骨折の危険因子である. 第 12 回日本骨粗鬆症学会(大阪) 2010 年 10 月 21-23 日. Osteoporosis Japan 18, Suppl.1:209, 2010
 - 7) 山内美香, 山口徹, 名和田清子, 高岡伸, 杉本利嗣. 閉経後女性における脆弱性骨折リスクと血清 25(OH)D の関係:PTH の関与の検討. 第 12 回日本骨粗鬆症学会(大阪)2010 年 10 月 21-23 日. Osteoporosis Japan 18, Suppl.1:230, 2010

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許の取得
なし。
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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 22 年度分担研究報告書

偽性副甲状腺機能低下症の病因・病態解析

分担研究者 皆川真規（千葉大学大学院医学研究院小児病態学 講師）

研究要旨 偽性副甲状腺機能低下症は臨床症状により主に2病型に分類されている。この2病型の臨床的差異は Albright's hereditary osteodystrophy (AHO)の有無とされている。分子生物学的に診断確定した症例の臨床症状から PHP-1a と PHP-1b の鑑別は可能か否かについて検討した。PHP-1a と PHP-1b の臨床症状はオーバーラップがある可能性がある。AHO症状の乏しいものは PHP-1b である可能性が高いが、臨床症状による分類はかならずしも病因・病態を正しく反映せず、メチル化解析を実施して病型を確定する意義がある。

A. 研究目的

偽性副甲状腺機能低下症 (PHP) は臨床症状により主に2病型に分類されている。この2病型の臨床的差異は Albright's hereditary osteodystrophy (AHO)、すなわち、円形顔貌 round face、短指趾症 brachydactyly、皮下異所性石灰化 subcutaneous ossification、低身長 short stature、肥満 obesity、発達遅滞 mental retardation の症候の有無であるとされてきた。一方、各疾患の診断や病型分類は、病因・病態が明らかになるにつれて病因・病態ごとに分類、整理されることが普通である。これを PHP に適用すると、1a 型 (PHP-1a) は *GNAS* 遺伝子コード領域のヘテロ変異を原因として刷り込み組織と非刷り込み組織で $Gs\alpha$ 蛋白活性低下することによって生じる病態であり、一方、1b 型 (PHP-1b) は *GNAS* 発現調節領域の DNA メチル化異常を原因として刷り込み組織で $Gs\alpha$ 蛋白発現量低下することによって生じる病態と分類できる。

分子生物学的に診断確定した症例の臨床症状から PHP-1a と PHP-1b の鑑別は可能か否かについて検討した。

B. 研究方法

対象は、日本人 PHP-1b 患者 29 名 (男性 15 名、女性 14 名) で、内訳は孤発例 22 名、家族例 7 名 (3

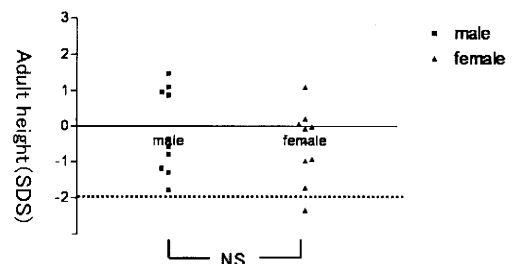
家系)であった。分子生物学的診断は Southern blot 法で確認した。家族例については PCR 法によりすべて *STX16* 領域の 3kb 欠失を伴うものと確認できた。

臨床症状の比較検討項目は、AHO の各症候の有無 (身長と体重)、その他の合併症、拳児の有無についてとした。

C. 研究結果

成人身長についての検討では、女性患者の 1 名のみが低身長とされる $-2SD$ 未満であったが、それ以外は正常範囲とされる平均値 $\pm 2SD$ の範囲であった。また、男性患者と女性患者で違いはなかった。

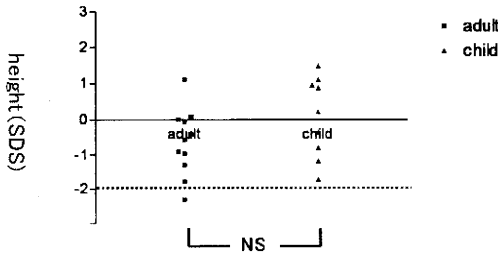
PHP-1b 患者の成人身長



成人患者と小児患者の身長 SD スコアを比較した場合、成人の SD スコアが低い傾向があったが有意差

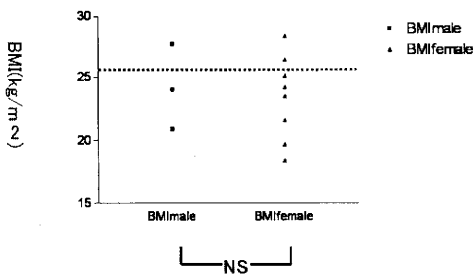
はなかった。

PHP-1b患者の成人身長と小児期身長

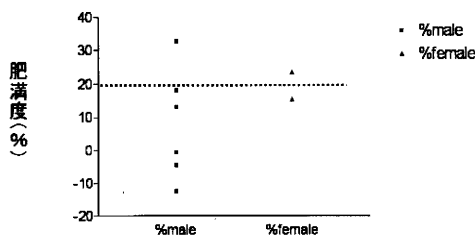


肥満について成人では BMI、小児では肥満度で評価したが、成人では3名が肥満に該当、小児では2名が肥満に該当したが、いずれも高度肥満に相当するものはなく、男女の差もみとめなかった。

PHP-1b成人患者のBMI



PHP-1b小児患者の肥満度



AHO の症状ごとの検討では表のような頻度であった。発達遅滞 mental retardation の有無は乳幼児期の運動、言語発達遅延、診断時のIQ低値によって判定したが、発達遅滞のあるとされた4例とも普通科高等学校を卒業し、自立して生活が可能であった。

AHOの症状	頻度
round face	7 / 22
brachydactyly	1 / 22
subcutaneous ossification	0 / 22
short stature	1 / 22
obesity	0 / 22
mental retardation	4 / 22

その他の合併症については、感音性難聴 1例、先天性眼裂狭小、先天性眼振、稀発月経 1例、膀胱尿管逆流現象 1例であった。また、妊育性については、孤発例の3例(男1名、女2名)が非罹児を挙児していた。

D. 考察

PHP-1b では女性の成人身長はほぼ平均的であったが、男性のみ思春期がやや早い傾向があり、成人身長は平均値と-2SD の間にあったことを私たちは報告している (Kinoshita K et al. *Clin Pediatr Endocrinol* 16:31, 2007)。今回の検討では、成人身長に男女差はなかったが、小児患者の身長 SD スコアは成人患者の身長 SD スコアより高い傾向があったことから PHP-1b では性腺系の発達過程、成長期の身長スパート、骨成熟に何らかの影響が出ている可能性はある。

AHO の症状に関する検討では、「円形顔貌 round face」については比較的頻度が高かったが、その他の症状の頻度は高くなかったことから、円形顔貌の判定に観察者の主観が入る余地が大きいことによるものと思われる。低身長、肥満については正常集団と変わらない程度であった。皮下石灰化は1例もおらず、この症状は PHP-1a に特異度の高いものと考えられる。一方、Mantovani らは、孤発性 PHP-1a と臨床診断されたが GNASコード領域に変異をみとめなかった症例40例中24例において孤発性 PHP-1b でみられる広範なメチル化異常(母系アリルパターンの消失)を同定しその臨床症状の検討を報告している (*J Clin Endocrinol Metab* 95:651, 2010)。これによれば、分子生物学的に PHP-1b と判定される症例にも臨床症状からは PHP-1a と区別困難な症例が相当数存在することになる。

今回の検討の対象では、明らかな AHO の合併と判定される症例は含まれていないことから、

AHOの症状	頻度
round face	22 / 24
brachydactyly	22 / 24
subcutaneous ossification	10 / 24
short stature	16 / 24
obesity	17 / 24
mental retardation	13 / 24

E. 結論

PHP-1aとPHP-1bの臨床症状はオーバーラップがある可能性がある。AHO症状の乏しいものはPHP-1bである可能性が高いが、臨床症状による分類はかならずしも病因・病態を正しく反映せず、メチル化解析を実施して病型を確定する意義がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Dai J, Kim OH, Cho TJ, Schmidt-Rimpler M, Tonoki H, Takikawa K, Haga N, Miyoshi K, Kitoh H, Yoo WJ, Choi IH, Song HR, Jin DK, Kim HT, Kamasaki H, Bianchi P, Grigelioniene G, Nampoothiri S, Minagawa M, Miyagawa SI, Fukao T, Marcelis C, Jansweijer MC, Hennekam RC, Bedeschi F, Mustonen A, Jiang Q, Ohashi H, Furuichi T, Unger S, Zabel B, Lausch E, Superti-Furga A, Nishimura G, Ikegawa S. Novel and recurrent TRPV4 mutations and their association with distinct phenotypes within the TRPV4 dysplasia family. *J Med Genet* (2010) 47(10):704-709
- 2) Takatani T, Matsuo K, Kinoshita K, Takatani R, Minagawa M, Kohno Y. A novel missense mutation in the AVPR2 gene of a Japanese infant with nephrogenic diabetes insipidus. *J Pediatr Endocrinol Metab* (2010) 23(4):415-418
- 3) 皆川真規. 骨系統疾患と低身長. *小児内科* (2010) 42(4):593-597
- 4) 皆川真規. 副甲状腺機能低下症. *小児の薬の*

使い方 (2010) 679-682

- 5) 南谷幹史, 廣田美和, 安片恭子, 数川逸郎, 皆川真規, 上瀧邦雄, 大西尚志, 眞山和徳, 高柳正樹, 猪股弘明. 新生児マス・スクリーニングにおける濾紙血 TSH 値の分布と先天性甲状腺機能低下症の発症率の季節変動に関する検討(千葉県). *日本マス・スクリーニング学会誌* (2010) 20(1):27-32

2. 学会発表

- 1) Takatani T, Saitoh T, Nishii Y, Minamitani K, Minagawa M, Nishioka T, Yasuda T, Fukumoto S, Kohno Y. Development of tertiary hyperparathyroidism in patients with X-linked hypophosphatemic vitamin D resistant rickets: Contribution of high FGF23 level before treatment. 14th International Congress of Endocrinology 2010 年 3 月 29 日 (*Endocr J* (2010) 57(Suppl.2):S459)
- 2) 木下香, 皆川真規, 高谷具純, 高谷里依子, 河野陽一. 病巣の特定に苦慮しているクッシング症候群の1例. 第 44 回日本小児内分泌学会学術集会. 2010 年 10 月 8 日
- 3) 皆川真規, 富板美奈子, 渡辺智之, 染谷知宏, 木下香, 高谷具純, 高谷里依子, 河野陽一. 無痛性甲状腺炎による甲状腺中毒症が5ヵ月遷延した橋本病の1例. 第 44 回日本小児内分泌学会学術集会. 2010 年 10 月 8 日
- 4) 大橋美香, 南谷幹史, 力石浩志, 皆川真規, 太田節雄. インフルエンザを契機として発症した低カルシウム血症の1例. 第 44 回日本小児内分泌学会学術集会. 2010 年 10 月 8 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許の取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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 22 年度分担研究報告書

ビタミンD充足度と PTH 反応性に関する研究

分担研究者 岡崎 亮（帝京大学ちば総合医療センター第三内科 教授）

研究要旨 骨軟化症を来さない程度のビタミンD不足も骨粗鬆症性骨折のリスクとなる。従来の検討において、血清 25(OH)D [25D]値 28ng/ml が日本人におけるビタミンD不足を規定する閾値として妥当であることを提唱してきた。また、別コホート(CHIBA study)においても 25D と PTH との関係はほぼ同様で、血清 25D が 28ng/ml 未満の群では 28ng/ml 以上の群に比して有意に PTH および骨代謝マーカーが上昇していた。しかし、既報通り、明らかなビタミンD不足例においても、PTH が上昇する例としない群が存在した。今回はこの CHIBA study コホートにおいて 25D 20 ng/ml 未満と明らかなビタミンD不足の存在する集団において、PTH 亢進に関連する因子を解析した。その結果、163 例中 53 例において、PTH は 40 pg/ml 未満で、分泌亢進が認められなかった。この PTH 分泌非亢進群においては、亢進群と比較して、骨代謝マーカー低値傾向、血清 P 高値および 1,25(OH)₂D 低値など、PTH 作用低下を反映すると推定される差異が認められた。しかし、血清 FGF23 値を含めて、PTH 分泌に影響を及ぼすと考えられる諸指標に差異はなかった。したがって、ビタミンD不足における PTH 分泌既定因子に関しては、更なる検討が必要であると考えられた。

A. 研究目的

体内のビタミンD貯蔵量は、血清 25(OH)D 濃度を測定することにより可能である。著しい低 25(OH)D 血症を呈するビタミンD欠乏症は、くる病・骨軟化症の原因となり、速やかな治療を要する。一方、欠乏症に至らない程度の低 25(OH)D 血症が PTH 分泌上昇を介した骨代謝回転の亢進や、筋力低下と関連した転倒頻度の増大をもたらす、骨粗鬆症性骨折のリスクとなっていることが、諸外国の検討から明らかにされ、このような状態は一般にビタミンD不足と呼ばれている。さらに、近年ではビタミンD不足が、糖尿病などの代謝疾患、心筋梗塞・高血圧などの心血管系疾患、感染症、自己免疫疾患などのリスクになっているとの報告もある。しかし、ビタミンD不足を規定する血清 25(OH)D 濃度については未だ一定の見解がない。

一般に、血清 25(OH)D 濃度と PTH 濃度は負の相関関係を示すことから、ビタミンD不足の域値決定法として PTH を用いることが最も多い。横断的に両者を検討した過去の欧米での結果からは、血清 25(OH)D 値 20~44 ng/ml で PTH 値は底値に安定すると報告

されている。しかし、ビタミンD充足時の PTH 値は個人により異なると考えられ、事実、明らかにビタミンD不足・欠乏と考えられても、PTH が基準値内に収まる例も多い。また、現行の PTH 基準値はビタミンD不足者を多く含む一般人口から設定されているため、横断的検討から PTH の分泌過剰の有無を判断するのは困難である。

本研究においては、これまでにビタミンD3 負荷前後の血清 25(OH)D と PTH 値を測定し、PTH の変化からビタミンD不足と充足の境界域値を 28ng/ml と提唱してきた。さらにその妥当性について多角的な統計的検討を加えるとともに、他のコホートにおいてその妥当性を検証してきた。

しかし、前述したように、明らかにビタミンD不足であっても、PTH の上昇が認められない例が多く認められる。今年度は、明らかなビタミンD不足がある集団において、PTH 反応性を規定する因子について検討を加えた。

B. 研究方法

- 1) 帝京大学ちば総合医療センターで冠動脈造影検査を受けた腎機能正常 (eGFR>60ml/min) 男性 168 名においてビタミン D 代謝産物および諸種の骨・Ca 関連指標の血中濃度を測定した CHIBA (Coronary Heart Disease of Ischemia And Bone Association) study。
- 2) 倫理面への配慮: 本研究のプロトコールは倫理委員会で承認された。

C. 研究結果

- 1) 昨年までに報告したとおり、血清 25D 濃度は、平均 19.5ng/ml であり、28 ng/ml 以上を呈したのは 10%未満に過ぎず、全対象の 90%以上がビタミン D 不足に分類された。そこで、本年は、明らかなビタミン D 不足例 (25D 20 ng/ml 未満例 163 例) を用いて、PTH40 pg/ml 未満 (53 例) と以上群 (110 例) について解析した。
- 2) PTH=40pg/ml で 2 群に分けると、40 以上の群では 40 未満の群に比して、N-mid osteocalcin が有意に高値であり、その他の骨代謝マーカーも有意ではないが高値傾向を示したことから、骨代謝の亢進が起こり骨粗鬆症のリスクが増大する可能性が示唆された。一方、PTH 高値群は P が有意に低値で、1,25(OH)₂D が高値であったが、これらは PTH 作用亢進の結果と考えられた。
- 3) FGF23 を含め、その他の指標については、PTH 高値群と低値群の間に有意な差異は認められなかった。

D. 考察

以上の検討により、血清 25(OH)D 濃度が 20 ng/ml で、明らかなビタミン D 不足であっても PTH 40 pg/ml 未満と PTH 分泌の亢進が認められない例が多く存在することが確認された。

PTH 高値例と低値例間には、骨代謝マーカー、血清 P 濃度など、差異が認められたが、これらは PTH 作用の結果と考えられた。FGF23 値を含め、PTH 分泌に影響を及ぼすとかんがえられる指標には差異がなく、PTH 反応性の既定因子についてはさらに検討が必要と考えられた。

E. 結論

ビタミン D 不足者における PTH 反応性は、血清 Ca、P、Mg、FGF23 など既存の因子によっては規定されない。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Vitamin D Insufficiency Defined by Serum 25-Hydroxyvitamin D and Parathyroid Hormone Before and After Oral Vitamin D₃ Load in Japanese Subjects. Ryo Okazaki, Toshitsugu Sugimoto, Hiroshi Kaji, Yoshio Fujii, Masataka Shiraki, Daisuke Inoue, Itsuro Endo, Toshio Okano, Takako Hirota, Issei Kurahashi, Toshio Matsumoto JBMM 29(1): 103-110, 2011.

2. 学会発表

- 1) 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 (5/27-29/10、岡山) 腎機能正常な CAG 施行男性例において HbA1c 及び骨吸収 (コラーゲン代謝) マーカーは冠動脈狭窄病変枝数や心機能障害の予測因子となる 井上大輔、天木幹博、中津裕介、綾部健吾、大橋潤一、檜垣忠直、田井宣之、中村文隆、岡崎亮
- 2) 第 28 回日本骨代謝学会学術集会 (7/21-23/10、東京) 骨代謝回転は 1,25 ビタミン D と独立な血清 FGF23 濃度の規定因子である。井上大輔、天木幹博、福本誠二、清水祐一郎、田井宣之、中村文隆、岡崎亮
- 3) 第 12 回日本骨粗鬆症学会 (10/22-24、大阪) 低カルボキシル化オステオカルシン/総オステオカルシン比は高骨代謝回転で増加し、高血糖で低下する。井上大輔、天木幹博、田井宣之、中村文隆、岡崎亮
- 4) 第 12 回日本骨粗鬆症学会 (10/22-24、大阪) 糖尿病、高血圧及び脂質代謝異常合併骨粗鬆症患者に対するリセドロネート (RIS) の有効性と安全性—日本国内 Phase3 データを利用したサブ解析— 岡崎亮、西澤良記、井上大輔、杉本利嗣
- 5) 14th International Congress of Endocrinology (Kyoto, Japan, 3/26-30/10) MMP-dependent collagen breakdown is a major contributor to the

increased bone markers in cardiovascular diseases: CHIBA (Coronary Heart Diseases of Ischemia And Bone Association) Study. Daisuke Inoue, Mikihiro Amaki, Yusuke Nakatsu, Kengo Ayabe, Jun-ichi Ohashi, Tadanao Higaki, Nobuyuki Tai, Fumitaka Nakamura, Ryo Okazaki

- 6) IOF WCO-ECCEO10 (Florence, Italy, 5/4-8/2010) ICTP Is the Best Predictor of Cardiac Damage And Dysfunction Among Bone Metabolic Markers And Hormones in Men: CHIBA (Coronary Heart Disease of Ischemia And Bone Association) Study. Daisuke Inoue, Toshihiro Amaki, Yusuke Nakatsu, Kengo Ayabe, Jun-ichi Ohashi, Tadanao Higaki, Nobuyuki Tai, Fumitaka Nakamura, Ryo Okazaki
- 7) ASBMR 32th Annual Meeting (Toronto, ON, Canada 10/15-19/10) (Plenary Poster) Bone turnover and 1,25-dihydroxyvitamin D are independent determinants of circulating FGF23: a sub-analysis of CHIBA (Coronary Heart Disease of Ischemia and Bone Association) study. Daisuke Inoue, Toshihiro Amaki, Yuichiro Shimizu, Seiji Fukumoto, Yusuke Nakatsu, Kengo Ayabe, Jun-ichi Ohashi, Tadanao Higaki, Nobuyuki Tai, Fumitaka Nakamura, Ryo Okazaki
- 8) ASBMR 32th Annual Meeting (Toronto, ON, Canada 10/15-19/10) Safety and efficacy of Risedronate in osteoporosis patients with diabetes mellitus, hypertension or dyslipidemia -A pooled analysis of three clinical trials in Japan- Ryo Okazaki, Daisuke Inoue, Yoshiki Nishizawa, Ryoichi Muraoka, Toshitsugu Sugimoto

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許の取得
なし。
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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 22 年度分担研究報告書

ビタミン D 受容体を介した遺伝子発現調節機構の解明

分担研究者 加藤茂明（東京大学分子細胞生物学研究所 教授）

研究要旨 ビタミン D 受容体 (VDR) を介するリガンド依存的な転写抑制機構に関しては、リガンド依存的転写活性化機構と比較し、依然として不明な点が多い。特に転写抑制に関係する因子群の実態は未知である。現在までに、ビタミン D_3 1α 水酸化酵素 [1α (OH)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、生体内カルシウム代謝制御におけるビタミン 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可能性が示唆された。また MBD4 ノックアウトマウスを用いた解析により、生体内においても MBD4 が 1α (OH)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。今回更に、MBD4 ノックアウトマウスでは皮質骨の骨量が減少することを明らかにし、MBD4 ノックアウトマウスの骨において有意に発現が上昇する標的遺伝子候補を数種類同定した。これらの研究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重要な位置づけを占めていることを示唆するものであり、骨代謝を考える上で新しい知見となり得ると考えられる。

A. 研究目的

ビタミン D は、カルシウム代謝の主要制御ホルモンである。その生理的重要性については広く認められており、更にビタミン D 剤は臨床的にも汎用されている。ビタミン D の作用はその核内レセプター (VDR) を介して発揮されると考えられているが、VDR を介する転写制御の分子機構や VDR 発現組織での特異的高次機能に関しては未だ不明な点が多く、特に VDR を介するリガンド依存的な転写抑制機構に関しては未知である。我々はこれまでビタミン D_3 1α -水酸化酵素 [1α (OH)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 および制御因子である DNA メチル化酵素 Dnmts を同定した。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 を見出した。これらの結果より、生体内カルシウム代謝制御におけるビタミン 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可能性が示唆された。よって本研究では MBD4 ノックアウトマウスの解析により、DNA メチル化制御因子の

機能欠損がカルシウム代謝および骨代謝におよぼす影響を検討し、生体内カルシウム代謝に関わるビタミン D 依存的転写制御の分子機構の解明をめざす。

B. 研究方法

脱メチル化制御因子である MBD4 の重要性を個体レベルで評価するため、MBD4 ノックアウトマウスの解析をおこなった。

- 1) MBD4 ノックアウトマウスのカルシウム代謝に関わる血中生化学データについて検討した。
- 2) MBD4 ノックアウトマウスの骨の表現型について軟 X 線撮影および骨密度測定により検討した。
- 3) マイクロアレイ解析およびリアルタイム PCR 法により MBD4 による脱メチル化を介し制御される標的遺伝子の同定を試みた。

C. 研究結果

MBD4 ノックアウトマウスのカルシウム代謝に関わる血中生化学データについて検討した結果、MBD4 ノックアウトマウスでは血中カルシウム、リン、PTH、