

講演 ゆうぼうと 東京・五反田) 骨・

関節領域における再生医療の現況

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

- キメリズム解析、網羅的遺伝子発現解析 -

研究分担者 福田 誠司（島根大学医学部小児科 准教授）

研究要旨

低ホスファターゼ症は、骨の石灰化障害を来たす疾患である。今回の臨床研究では骨髄移植を行い、その後複数回、骨芽細胞に分化する間葉系幹細胞を複数回移植する。間葉系幹細胞により効果は明らかにするために、移植後の造血および間葉系幹細胞のキメリズム解析を行った。また、石灰化障害の機序を明らかにするために、網羅的遺伝子発現解析を行った。さらに、培養した間葉系幹細胞の骨分化能を評価した。キメリズム解析において、造血細胞はドナー由来を確認したが、間葉系幹細胞はレシピエント由来の状態であった。網羅的遺伝子発現において、間葉系細胞・骨芽細胞ともに、健康人と患者の間では、遺伝子発現に大きな開きがあったが、健康人と骨髄提供者（保因者）での比較では、間葉系幹細胞はわずかな差しか認めなかった一方、骨芽細胞では大きな差が認められた。臨床的には骨の石灰化が改善していることから、キメリズム解析方法の再検討することでレシピエント由来の間葉系幹細胞の同定を行う必要がある。また、網羅的遺伝子発現で差を認めた個々の遺伝子ならびに石灰化に關与する pathway に關与する遺伝子群について、詳細な検討を行っていく。さらに、今後、凍結した間葉系幹細胞の利用、骨への homing を改善させる培養条件の検討を行い、より適切な間葉系幹細胞の作製を行っていく。

研究協力者

服部美保（島根大学医学部附属病院輸血部）

江田理恵（島根大学医学部附属病院輸血部）

永瀬真弓（島根大学医学部附属病院輸血部）

内藤真祐美（島根大学医学部附属病院輸血部）

安部真理子（島根大学医学部小児科）

勝部好裕（産業技術総合研究所）

小田泰昭（産業技術総合研究所）

A. 研究目的

低ホスファターゼ症は、骨および歯の石灰化障害を来す常染色体劣性疾患である。本研究では、石灰化を改善するために、骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植を行っている。これまでの研究・報告では、この疾患で石灰化障害を来す原因が明らかではないこと、骨髄移植では

石灰化は改善しないこと、間葉系幹細胞移植により骨の石灰化は改善するが、臨床的には不十分であることがわかっている。そのために、移植細胞が骨の石灰化を促進しているか明らかにするために、キメリズム解析を行い、また、本疾患の石灰化の機序を明らかにするために網羅的遺伝子発現解析を行った。

B. 研究方法

骨髄からの間葉系幹細胞の培養

骨髄液を遠心（900 rpm, 10 min, 4 °C）したのち、赤血球層と有核細胞層に、FBS 培地を添加（計 15 mL）して、インキュベータ（37 °C、CO₂ 濃度 5%）で培養した。目視で培養フラスコを観察し、凝固・血餅塊の有無、血球成分の残り具合等を調べ、培養上清を吸引除去した。FBS 培地は 13 mL/Flask で、出来るだけゆっくり注いだ。この操作を週 3 回繰り返し行い、

細胞が増殖した後、PBS で洗浄後、TrypLE Select（動物由来成分不含のトリプシン様酵素）を添加し、インキュベータ内で3分間反応させた。FBS培地で反応を停止させ、数回 suspension し、フラスコ内に残っている細胞を FBS 培地で回収した。Nucleo Counter で死細胞数、全細胞数を測定し、生細胞数を計算し、回収した細胞（間葉系幹細胞）浮遊液は遠心（900 rpm, 5 min, 4 °C）後、 5×10^5 cells/mL に調整した。

(1) キメリズム解析

移植後に患者から造血細胞および培養した間葉系幹細胞（上述）を単離して、それぞれの細胞の由来（ドナー由来、レシピエント由来）を検討するために、AmpFlSTR SGM Amplification kit (PE Biosystems, San Jose, CA)を用いて個人識別マーカーである short tandem repeat を増幅させ、シーケンス解析で塩基配列を決定した。

(2) 網羅的遺伝子発現解析

患者および骨髄提供者（保因者）、正常健康人の間葉系幹細胞および骨芽細胞を用いた網羅的遺伝子発現を解析して、遺伝子発現パターンの違いから、本疾患の病態を検討した。それぞれの細胞から RNA を抽出し、RNA 品質を確認した後、GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA) を用いて、網羅的遺伝子発現解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成16年度12月28日)に従い、島根大学医の倫理委員会および産業技術総合研究所の倫理委員会の承認を得た後、行っている。書面によるインフォームド・コンセントを取得後に検体を採取して、使用している。

C. 研究結果

(1) キメリズム解析

症例 1 に関して、骨髄移植 1 か月後の造血細胞は、100%ドナータイプであったが、移植 8 か月頃から、10~20%台にまでドナー細胞が低下した。その後、現在までこの比率を維持している。間葉系幹細胞は、これまで 4 回移植しているが、骨髄から採取して培養した間葉系幹細胞は、100%レシピエント由来のままである。

症例 2 に関して、骨髄移植 1 か月後から現在まで、100%ドナータイプを維持している。間葉系幹細胞は、今後検討する予定である。

(2) 網羅的遺伝子解析

間葉系幹細胞 (図 1)

正常人に対して患者で有意に変動している遺伝子数において、発現増加しているものが 133 遺伝子、発現低下しているものが 257 遺伝子、正常人に対して保因

者で有意に変動している遺伝子数において、発現増加しているものが 21 遺伝子、発現低下しているものが 13 遺伝子あった。また、患者に対して保因者で有意に変動している遺伝子数において、発現増加しているものが 297 遺伝子、発現低下しているものが 111 遺伝子、正常人および保因者に対して患者で有意に変動している遺伝子において、発現増加しているものが 210 遺伝子、発現低下しているものが 374 遺伝子あった。

骨芽細胞 (図 2)

正常人に対して患者で有意に変動している遺伝子数において、発現増加しているものが 323 遺伝子、発現低下しているものが 216 遺伝子、正常人に対して保因者で有意に変動している遺伝子数において、発現増加しているものが 179 遺伝子、発現低下しているものが 189 遺伝子あった。また、患者に対して保因者で有意に変動している遺伝子数において、発現増

加しているものが 279 遺伝子、発現低下しているものが 202 遺伝子、正常人および保因者に対して患者で有意に変動している遺伝子において、発現増加しているものが 210 遺伝子、発現低下しているものが 374 遺伝子あった。

階層クラスタリング解析 (図 3)

間葉系幹細胞 (a)

393 遺伝子を、Normal (正常人), Carrier (保因者)および Patient (患者)の RNA を用いて階層クラスタリング解析を行った。

正常人および保因者に対して、患者の遺伝子発現量が有意に差が見られた。

骨芽細胞 (b)

540 遺伝子を、Normal (正常人), Carrier (保因者)および Patient (患者)の RNA を用いて階層クラスタリング解析を行った。

D. 考察

(1) キメリズム解析

2 症例ともに、骨髄移植後に造血細胞はドナータイプに置き換わったが、症例 1 はレシピエント優位のキメラとなっている。間葉系幹細胞は、間葉系幹細胞移植をこれまで 4 回行っているが、レシピエントのままである。しかし、臨床的には、骨化の改善が認められているあるいは石灰化障害の進行を食い止めることができていることから、間葉系幹細胞移植の効果があると思われる。現在の間葉系幹細胞のキメリズム解析は、培養した間葉系幹細胞を用いて行っていることから、今後、フローサイトメトリー法により骨髓液から間葉系幹細胞を単離して、そのキメリズムを解析する予定である。さらに、症例 1 は、造血細胞がレシピエント優位な状況にも関わらず骨の石灰化が改善していることから、間葉系幹細胞と造血細胞の免疫寛容が生体内で起こっている可能性が示唆された。これを明らかにするためにも、ドナー由来の間葉系幹細胞が

患者の骨髄内で生存していることを明らかにする必要がある。

(2) 網羅的遺伝子解析

間葉系幹細胞に関して、正常健康人と骨髄提供者（保因者）の遺伝子発現に大きな差は認めなかったが、骨芽細胞においては、正常健康人と骨髄提供者（保因者）の遺伝子発現に大きな開きがあった。正常健康人ならびに骨髄提供者（保因者）に対する患者の遺伝子発現解析では、間葉系幹細胞および骨芽細胞ともに、多くの遺伝子が発現の差が認められた。移植細胞は間葉系幹細胞であるが、その細胞が骨芽細胞に分化して石灰化に貢献することを想定している。しかし、遺伝子発現パターンでは、骨芽細胞では患者と骨髄提供者（保因者）が異なる発現パターンを示していることは骨髄提供者の選定に一石を投じた結果となった。しかし、保因者であっても臨床的に骨の石灰化は問題ないことから、個々の遺伝子におい

て、詳細な検討を行うことで、石灰化の機序を明らかにしていく予定である。

E. 結論

今回の検討では、ドナー由来の間葉系幹細胞が生着していることを証明できなかった。臨床的には改善していることから、今後、骨髄を採取する方法や間葉系幹細胞を単離する方法を再検討して、間葉系幹細胞の生着を明らかにしていく必要がある。網羅的遺伝子発現でも、骨髄提供者（保因者）と正常健康人の骨芽細胞における遺伝子発現に大きな差を認めたため、個々の遺伝子ならびに石灰化に関与する pathway に関与する遺伝子群について、詳細な検討を行う。なお、ドナーの負担を考慮すると、凍結した間葉系幹細胞を移植細胞として使用できるかどうかの検討や、間葉系幹細胞を静脈内投与した場合、肺に 90%以上が取りこまれてしまうため、骨への homing 効率を高める検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

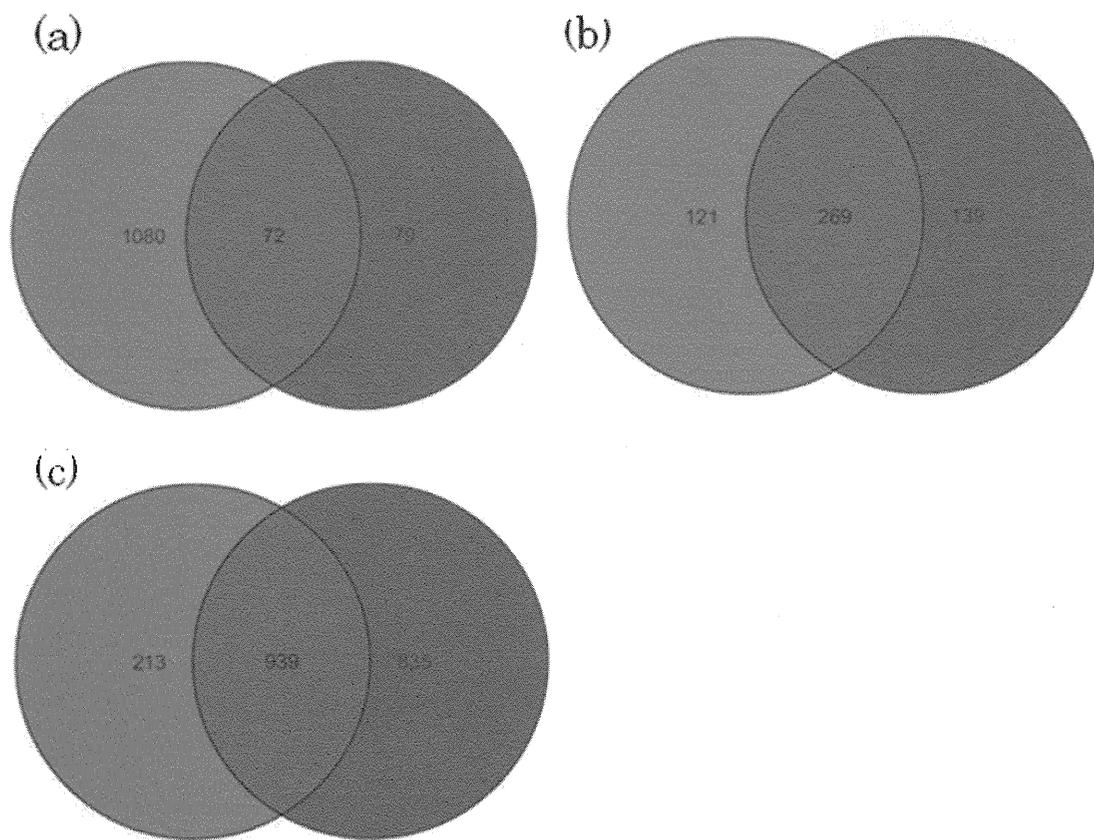


図1 間葉系幹細胞における Venn 図解析

(a) Patient と Carrier で共通して発現が変動している遺伝子の絞り込み (b) Patient と Carrier で共通して発現が変動している遺伝子の絞り込み (c) Patient と Carrier で共通して発現が変動している遺伝子の絞り込み

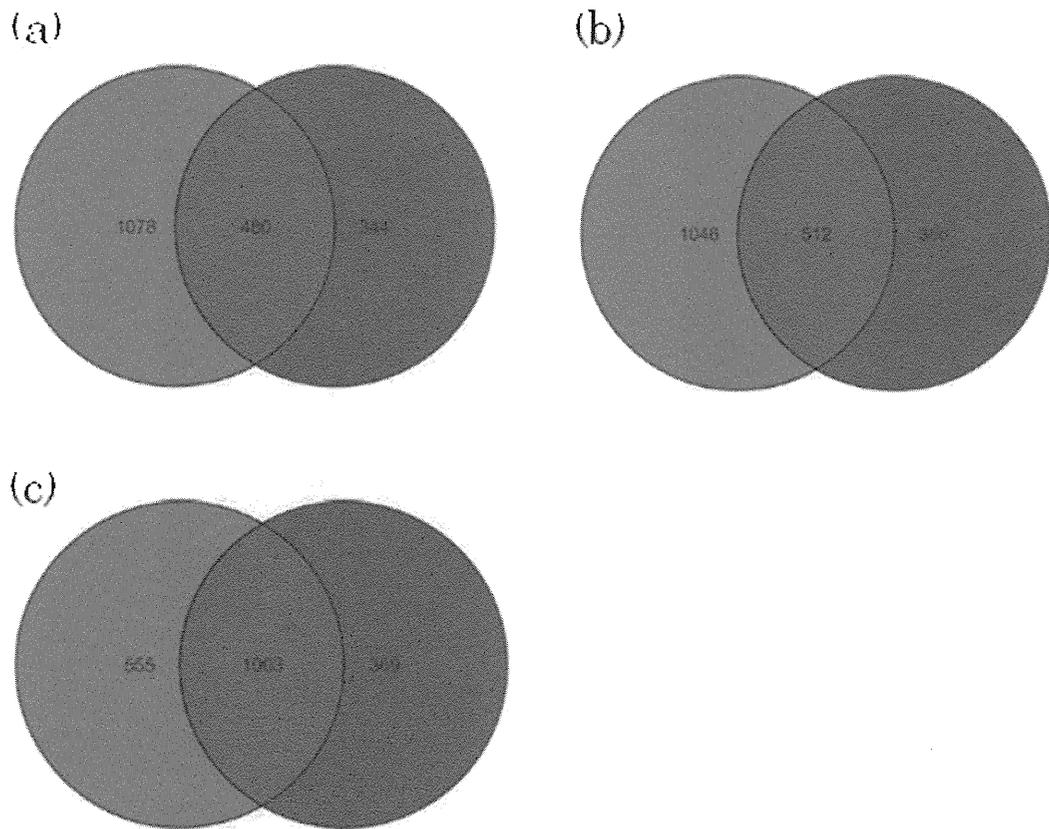


図2 骨芽細胞における Venn 図解析

(a) Patient と Carrier で共通して発現が変動している遺伝子の絞り込み (b) Patient と Carrier で共通して発現が変動している遺伝子の絞り込み (c) Patient と Carrier で共通して発現が変動している遺伝子の絞り込み

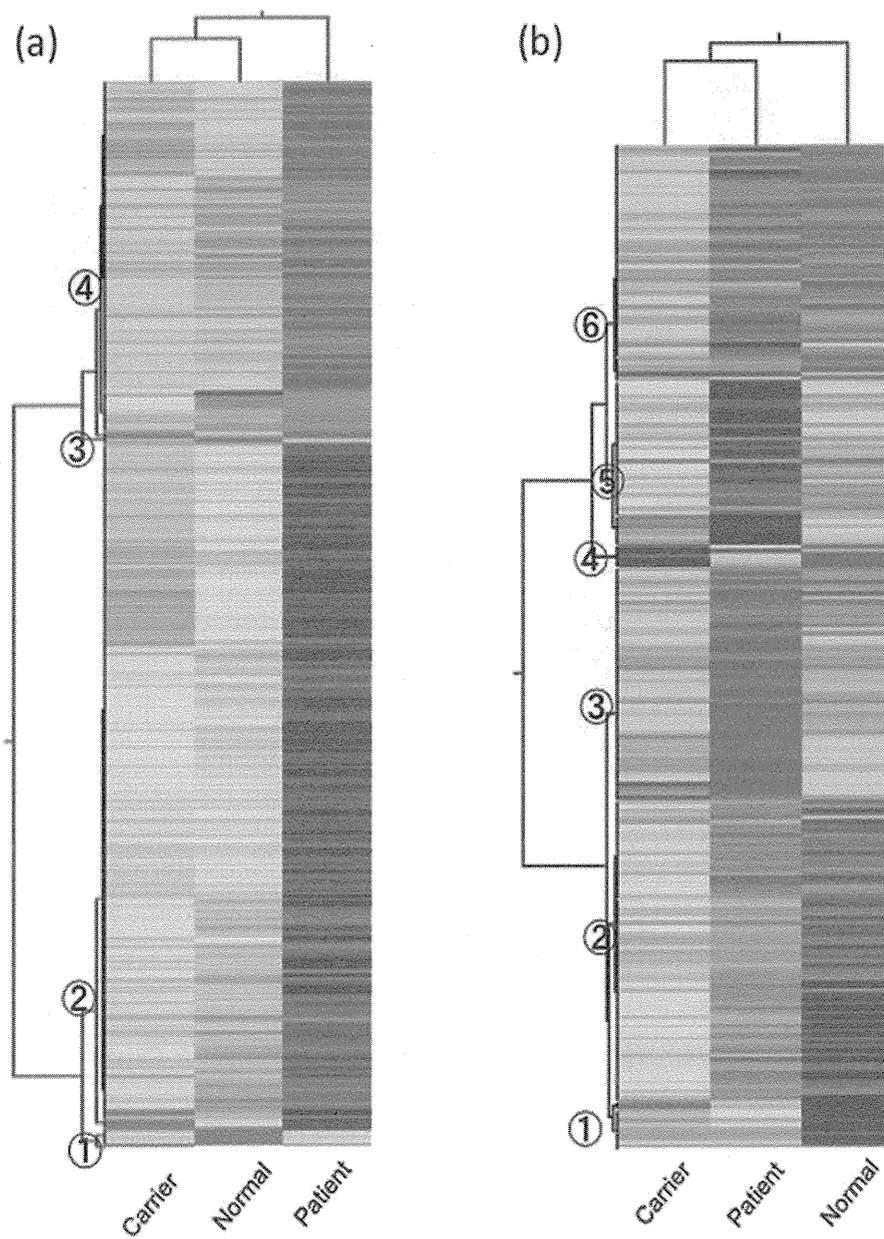


図3 クラスタ解析ヒートマップ図

青色が発現低下、赤色が発現増加(a) 間葉系幹細胞:保因者と正常人で発現比較し、保因者および正常人に対して患者で発現が変動している遺伝子の解析を行った。(b) 骨芽細胞:保因者と患者で発現量を比較し、保因者および患者に対して正常人で変動している遺伝子の解析を行った。数字は今後解析する予定の領域を示している。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
竹谷健、鬼形和道、 小林弘典、山口清次	日本における低ホスファターゼ 症の臨床像.	ホルモンと 臨床	58	1091-109 5	2011
Kato T, Hattori K, Deguchi T, Katsube Y, Matsumoto T, Ohgushi H, Numabe Y	Osteogenic potential of rat stromal cells derived from periodontal ligament	J Tissue Eng Regen Med	10	798-805	2011
Yokoi M, Hattori K, Narikawa K, Ohgushi H, Tadokoro M, Hoshi K, Takato T, Myoui A, Nanno K, Kato Y, Kanawa M, Sugawara K, Kobo T, Ushida T	Feasibility and limitations of the round robin test for assessment of in vitro chondrogenesis evaluation protocol in a tissue-engineered medical product	J Tissue Eng Regen Med		doi: 10.1002/ term.460	2011
Saito S, Morita K, Kohara A, Masui T, Sasao M, Ohgushi H, Hirano T	Use of BAC array CGH for evaluation of chromosomal stability of clinically used human mesenchymal stem cells and of cancer cell lines	Hum Cell	24	2-8	2011
Oliveira JM, Sousa RA, Malafaya PB, Silva SS, Kotobuki N, Hirose M, Ohgushi H, Mano JF, Reis RL	In vivo study of dendronlike nanoparticles for stem cells "tune-up": from nano to tissues	Nanomedicine	7	914-924	2011
Matsumoto T, Hattori K, Matsushima A, Tadokoro M, Yagyuu T, Kodama M, Sato J, Ohgushi H	Osteogenic potential of mesenchymal stem cells on expanded polytetrafluoroethylene coated with both a poly-amino-acid urethane copolymer and collagen	Tissue Eng Part A	17	171-180	2011
Tadokoro M, Matsushima A, Kotobuki N, Hirose M, Kimura Y, Tabata Y, Hattori K, Ohgushi H	Bone morphogenetic protein-2 in biodegradable gelatin and β -tricalcium phosphate sponges enhances the in vivo bone-forming capability of bone marrow mesenchymal stem cells.	J Tissue Eng Regen Med.		doi: 10.1002/ erm.427	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohnishi H, Yuba S, Ohgushi H	Forced Expression of Transcription Factors in Human Mesenchymal Cells to Promote Proliferation and Osteogenic Differentiation.	Bioceramics Development and Applications	1	doi:10.4303/bda/D110166	2011
Kihara T, Haghparast SM, Shimizu Y, Yuba S, Miyake J	Physical properties of mesenchymal stem cells are coordinated by the perinuclear actin cap	Biochem Biophys Res Commun	409	1-6	2011
大串 始、有馬靖佳、竹谷健	間葉系幹細胞研究（臨床研究からみた同種間葉系幹細胞移植）	日本臨床	69	2121-2127	2011

IV. 研究成果の刊行物・別刷

II. 臨床研究 (性腺, その他)

日本における低ホスファターゼ症の臨床像

竹谷 健*^{1,2} 鬼形 和道*² 小林 弘典*²
 虫本 雄一*² 山口 清次*²

はじめに

低ホスファターゼ症 (Hypophosphatasia, HPP) は, tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP) をコードする *liver/bone/kidney alkaline phosphatase (ALPL)* 遺伝子変異により発症する先天性骨代謝疾患の1つでは, *ALPL* 遺伝子変異によりアルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase, ALP) 活性が低下し, 骨や歯の石灰化障害をきたす¹⁻³⁾. 発症時期や重症度はさまざまであるが, 遺伝子型と表現型との関連が注目されている²⁾. しかし, 日本における臨床像の大規模な疫学調査が行われていないため, 全容に関して情報が少ない. 今回, 我々は, 日本の HPP の実態を調査し, HPP の臨床像を検討した.

1 対象と方法

全国の小児科約 500 施設に, 西暦 2000 年以降に本疾患を診断, 治療, 管理しているかどうか, アンケート調査を行い, その後, 病型, 診断の契機, 症状, ALP 値, 合併症, 予後などについて, 詳細な臨床像が検討した. 病型に関しては発症年齢で規定した. すなわち発症年齢によって, 生後

1 カ月までを「周産期型」, 1 カ月から 6 カ月までを「乳児型」, および 6 カ月以降を「小児型」とした.

2 結果

1) 疫学調査

今回のアンケート調査により, 詳細な臨床像の解析ができたのは, 40 症例であった (アンケート回収率; 73%). 40 症例の病型別内訳は, 周産期型, 乳児型, 小児型が, それぞれ 26 例, 5 例, 9 例であった. このうち, 家族内発症は, 11 家系存在した. 11 家系のうち 9 家系は同じ病型であったが, 2 家系が, 異なる病型 (周産期型と小児型の組み合わせ) であった.

2) 病型別臨床像 (表 1)

(1) 周産期型

周産期型 26 例中 18 例 (69%) は, 妊娠中に胎児超音波で, 四肢の変形や短縮, 長幹骨の骨折, 羊水過多を指摘されていた. 異常に気付かれた妊娠週数は, 20 ~ 30 週が多かったが, 20 週未満に発見された症例もあった. 診断時年齢は, 生後 3 日以内がほとんどであったが, 生後 2 ~ 3 週間後に, 状態が悪化して初めて診断された症例も数例あった.

診断の契機になった症状は, 四肢短縮, 変形が最も多かった. しかし, 診断時に, 約半数にあたる 14 人 (54%) に呼吸障害が認められた. この 14 例中 13 人が人工呼吸管理を必要とし, 呼吸器

*1 島根大学医学部附属病院輸血部

*2 島根大学医学部小児科

Takeshi Taketani: Clinical Features of Japanese patients with Hypophosphatasia.

Division of Blood Transfusion, Shimane University Hospital.

表1 低ホスファターゼ症40例の病型別臨床像

	周産期型		乳児型		小児型	
人数	26人		5人		9人	
診断時年齢	日齢0～3		2～3カ月		8～63カ月	
診断の契機	四肢短縮, 骨折		体重増加不良 高カルシウム血症		低身長 乳歯早期脱落	
症状						
四肢短縮・変形	16人	62%	0人	0%	3人	33%
骨折	7人	27%	1人	20%	0人	0%
呼吸障害	14人	54%	3人	60%	0人	0%
けいれん	8人	31%	1人	20%	2人	22%
大泉門開大	7人	27%	4人	80%	0人	0%
低身長	11人	42%	2人	40%	5人	56%
体重増加不良	6人	23%	5人	100%	1人	11%
乳歯早期脱落	4人	15%	0人	0%	3人	33%
精神発達遅滞	5人	19%	1人	20%	3人	33%
高カルシウム血症	5人	19%	5人	100%	0人	0%
頭蓋骨早期癒合	1人	4%	2人	40%	0人	0%
ALP 中央値 [IU] 範囲	24 感度以下～149		82 29～193		133 66～214	
レントゲン						
石灰化障害	15人	58%	5人	100%	1人	11%
骨欠損	6人	23%	0人	0%	0人	0%
長幹骨の変形	19人	73%	0人	0%	3人	33%
骨幹端の不整	14人	54%	5人	100%	1人	11%
骨幹端の舌状変化	9人	35%	1人	20%	0人	0%
狭胸郭	13人	50%	4人	80%	0人	0%
予後						
生存	15人	58%	2人	40%	9人	100%
死亡	11人	42%	3人	60%	0人	0%

からの離脱困難な状態であった。けいれんは、26例中8例(31%)に認められた。このけいれんは、通常の抗けいれん薬(ジアゼパム, ミタゾラム, フェノバルビタールなど)抵抗性で、ビタミンB6の投与が有効な症例が少なからず認められた。ALP値は、中央値24 IU/L(感度以下～149 IU/L)と低値であった。

ALPの基質である、Phosphoethanolamineを尿で測定した症例は、全例異常高値を示していた(中央値4,475 $\mu\text{mol/gCr}$: 1456.4～10132.2 $\mu\text{mol/gCr}$) (基準値; 30～80 $\mu\text{mol/gCr}$)。高カルシウム血症は26例中5例(19%)に認められた。骨レントゲン所見では、長幹骨の変形、石灰化障

害、骨幹端の不整、狭胸郭がそれぞれ半数以上の症例でみられた(図1A, B)。骨の欠損は6例(23%)でみられ、本疾患で特徴的な、骨幹端の舌状変化は、9人(35%)であった(図1C)。

(2) 乳児型

乳児型5例の診断時年齢は、生後2～3カ月であった。周産期に異常を指摘された症例はおらず、全例が体重増加不良と高カルシウム血症を契機に診断された。大泉門開大および呼吸障害はそれぞれ、4例、3例にみられ、けいれんは1例のみであり、四肢の短縮および変形は今回の調査では認められなかった。ALP値は、中央値82 IU/L(29～193)と低値であった。骨レントゲン写真

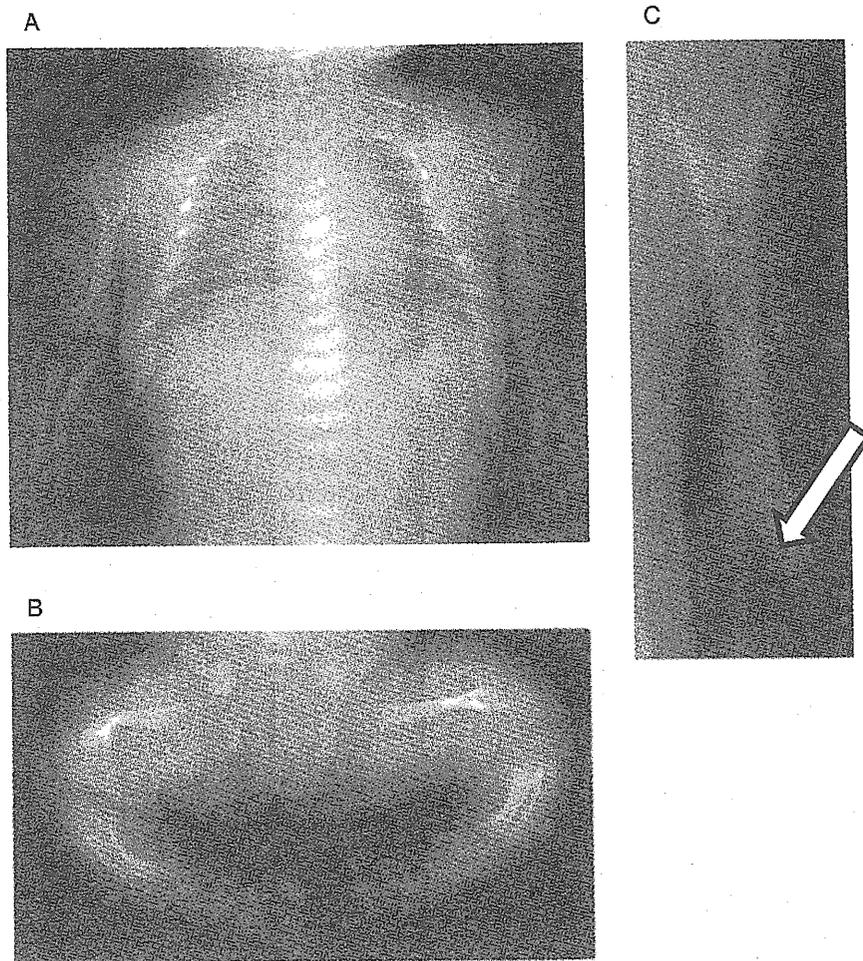


図1 低ホスファターゼ症のレントゲン写真

- A 胸部, 上肢
- B 骨盤部, 下肢
- C 上腕骨: 矢印は骨幹端の舌状変化

において、全例に石灰化障害および骨幹端の不整があり、狭胸郭も4例(80%)に認められた。レントゲン上も、長幹骨の変形はなかった。

(3) 小児型

小児型9例の診断時年齢は、8～68カ月(平均39カ月)で、低身長あるいは乳歯の早期脱落(4歳未満)で発見される症例が多かった。四肢の短縮および変形およびけいれんは、それぞれ3例、2例のみで、呼吸障害は認められなかった。ALP値は、中央値133 IU/L(66～214)と低値であったが、高カルシウム血症を認めた症例はいなかった。骨レントゲン写真では、石灰化障害は1例(11%)のみで、長幹骨の変形および骨幹端

の不整も、それぞれ3例(33%)、1例(11%)のみであった。胸郭の異常や骨の欠損は認められなかった。

3) ALPL 遺伝子解析 (表2)

20例の遺伝子解析の結果、1559delT変異、pF327L変異の順に高頻度であった。特に、1559delT変異のホモ接合体は周産期型にのみ認められた。また、1559delT/pF327Lは周産期型、乳児型および小児型の各病型に認められた。

4) 予後

予後に関して、小児型は全例生存しているが、周産期型26例中11例、乳児型5例中3例が亡くなっていた(表1)。生存期間を検討したところ、

表2 病型別 ALPL 遺伝子変異

遺伝子変異	
周産期型	1559delT/1559delT (4), 1559delT/pR433C (1), 1559delT/pN190del (1), 1559delT/pF327L (2), pF327L/pR428X (1), pF327L/pG439R (1), pF327del/pR184 W (1) pA40V/pE191G (2)
乳児型	1559delT/pF327L (1), 1559delT/pL299P (1), 1559delT/pY436C (1)
小児型	1559delT/pF327L (1), pF327L/pR30X (1), pF327L/pA111T (1) pF327L/pG339R (1)

かっこ内は、患者数を示す

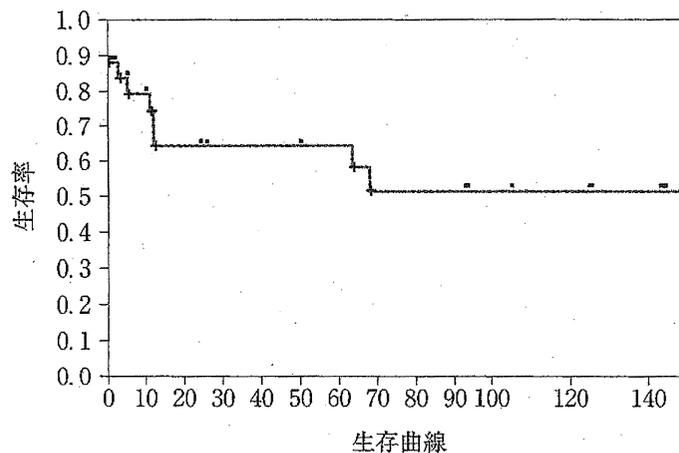


図2 周産期型・乳児型の生存曲線 (Kaplan-Meier)
横軸：月齢

死亡例の多くは、1年以内に亡くなる傾向がみられた (図2)。しかし、人工呼吸管理をしながら、長期生存 (2歳以上) している症例も散見された。予後不良因子を明らかにするために、臨床像との比較を行った結果、呼吸障害、石灰化障害、骨の欠損および狭胸郭を認める症例は予後不良であったが、けいれんは予後不良因子とは認められなかった (表3)。なお、ALP値での予後解析を行ったが、予後不良例のALP値が低い傾向がみられたが、カットオフ値は同定できなかった。一方、生存例の半数以上が、低身長や乳歯の早期脱落、精神発達遅滞などを伴い、QOLが低下していることが明らかとなった。

3 考察

我々は日本におけるHPPの臨床的特徴を検討した。

表3 予後不良因子の解析

項目	p value
呼吸障害	0.0004
けいれん	0.3527
石灰化障害	0.0033
骨の欠損	0.0024
狭胸郭	0.0055

χ^2 乗検定

海外の報告と比べると、日本では周産期型が最も多い病型であることが明らかとなった。周産期型の頻度は、海外では100万人に1人という報告¹⁾もあるが、我々の調査によると、年間出生100万人余りで数例程度発生していると思われる。しかし、本疾患とわからず死産したり、中絶される症例もありうるため、その頻度はもう少し多いかもしれない。周産期型の特徴として、呼吸障害およびけいれんを合併し、予後は極めて不良

であると指摘されている¹⁻³⁾。しかし、我々の検討では、けいれんを合併する症例は少なく、また周産期型の約50%の症例は致死性的には限らず、生命予後がこれまで考えられたほど悪くないことがわかった。観察期間が短い症例も存在するが、最近では、benign perinatal typeとして、海外の周産期型の症例でも生命予後が良好なケースのあることがわかっている³⁾。そこで、我々は、周産期型の診断時の臨床的症状で予後を規定できるか検討した結果、呼吸障害、石灰化障害、骨の欠損および狭胸郭が予後不良因子であることを明らかとなった。また、Michigamiらは、ALPL遺伝子の1559delT変異のホモ接合体症例が予後不良であることを報告している⁴⁾。したがって、日本人の周産期型患者では、上述した予後不良因子を持つもの、および1559delT変異のホモ接合体を有する症例は予後不良であると推測される。

乳児型の頻度は、日本においてその頻度が低いと思われる。体重増加不良と高カルシウム血症を合併し、約40%の症例が死亡した点では、これまでの海外の報告と同じ臨床像であった¹⁻³⁾。

小児型の特徴として、低身長や乳歯の早期脱落を契機に発見されることが多かった。これは、低身長の鑑別、および3歳児の歯科検診でのスクリーニングで、同疾患を念頭に置く必要があるかもしれない。

ALPL遺伝子変異と臨床像との関連について、今回は遺伝子解析が検討できた症例が少なかったが、1559delT変異のホモ接合体は周産期型のみ存在した。この変異は日本人に特有の変異で、予後不良であることが報告されている⁴⁻⁶⁾。ALPL遺伝子変異と病型が関連することは、海外でも報告されており^{2,7)}、この疾患の臨床像を明らかにするために、ALPL遺伝子解析は有用と思われる。しかし、我々の検討では、1559delT/pF327Lを有する症例は、周産期型、乳児型、小児型に存在していたため、遺伝子変異の解釈は慎重に行う必要がある。

この疾患の根治療法は現在、確立していない。

致死的な症例だけでなく、生存例でも低身長や乳歯の早期脱落などを合併している症例が存在するため、生命予後の改善のみならずQOLの改善のためにも、根治療法が必要である。最近、海外では酵素補充療法の治験が始まり、その効果が期待されている^{8,9)}。また、細胞治療の有効性も散見される¹⁰⁻¹²⁾。我々は、現在、重症低ホスファターゼ症に対して、骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植の臨床研究 (<http://www.med.shimane-u.ac.jp/pediatrics/2-2/2-2.html>) を行っている。今後、遺伝子治療を含めて、この疾患に対する有効かつ安全な治療法の開発が最重要課題である。

謝辞 アンケート調査にご協力頂いた、全国の小児科、産科、整形外科の先生方に深謝致します。

文 献

- 1) Whyte, M. P. : Hypophosphatasia. In ; Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B (eds) ; The metabolic and molecular bases of inherited disease, 8th ed, McGraw-Hill, Vol 4 : 5313, 2001.
- 2) Mornet, E., Nunes, M. E. : Hypophosphatasia. GeneReviews
- 3) 大藪恵一 : Clin. Calcium, 17 : 1600, 2007.
- 4) Michigami, T., et al. : Eur. J. Pediatr., 164 : 277, 2005.
- 5) Watanabe, A., et al. : J. Hum. Genet., 56 : 166, 2011.
- 6) Ozono, K., Michigami, T. : J. Hum. Genet., 56 : 174, 2011.
- 7) Mornet, E. : Hum. Mutat., 15 : 309, 2000.
- 8) Millán, J. L., et al. : J. Bone Miner. Res., 23 : 777, 2008.
- 9) McKee, M. D., et al. : J. Dent. Res., 90 : 470, 2011.
- 10) Whyte, M. P., et al. : J. Bone Miner. Res., 18 : 624, 2003.
- 11) Cahill, R. A., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 92 : 2923, 2007.
- 12) Tadokoro, M., et al. : J. Pediatr., 154 : 924, 2009.