

軟骨異栄養症 (SADDAN(severe achondroplasia with developmental delay and acanthosis nigricans))

1. 概要

線維芽細胞増殖因子受容体 3 型(Fibroblast Growth Factor Receptor Type 3:FGFR3)の異常による疾患であり、軟骨無形成症同様の四肢の短縮、前頭部の突出、平らな鼻根部などの症状を認めるがこれらの症状は軟骨無形成症よりも程度が強い。下腿の骨は後方への彎曲を示すのも特徴である。また胸郭の低形成からくる出生後の呼吸困難が認められる。その他黒色表皮腫(acanthosis nigricans)や中枢神経系の合併症を認める。

2. 疫学

明確な出生頻度については不明であるが、日本国内での報告は数例にとどまる。

3. 原因

FGFR3 の異常が原因である。1 種類の遺伝子変異 (K650M 変異)のみが原因として同定されている。

4. 症状

四肢の短縮、前頭部の突出、平らな鼻根部などの症状を認める。これらの症状は軟骨無形成症よりも程度が強い。下腿の骨は後方への彎曲を示す。また胸郭の低形成からくる出生後の呼吸困難が認められる。黒色表皮腫(acanthosis nigricans)は幼少期に頸部をはじめ胸部、腋窩、そけい部、手背などに出現する。中枢神経系の合併症も効率に合併し、発達遅延の他、てんかん、水頭症などが報告されている。成人に至った例でも身長が 100cm 程度と軟骨無形成症の 8-9 歳程度の身長にとどまる。

5. 合併症

中枢神経系の合併症も効率に合併し、発達遅延の他、てんかん、水頭症などが報告されている。

6. 治療法

胸郭の低形成による呼吸困難に対して気管内挿管、及び人工呼吸管理が行われるが人工呼吸管理から離脱できる者が多い。

7. 研究班 重症骨系統疾患の予後改善に向けての集学的研究

V. 実施アンケート

重症骨系統疾患診療の現状把握のためのアンケート調査 (小児科・新生児科用)

この度はアンケート調査にご協力頂きありがとうございます。
以下の質問にご記入、あるいは該当する回答に○をつけてください。

Q1：貴施設名、回答者名を記載してください。

貴施設名：

回答者名：

Q2：貴施設では、2003年～2012年の10年間に骨系統疾患の診療経験がありますか？

はい

いいえ

「はい」の方は以下の質問にもご回答ください。いずれも、2003年～2012年の10年間の御経験について記載してください。

Q3: Thanatophoric Dysplasia(致死性四肢短縮症)あるいは SADDAN 症候群の御経験についてお
うかがいします。

総数および現時点での生存数：

呼吸管理を要した人数：

看取りの医療を選択した人数：

遺伝子診断を施行した人数：

出生前診断されていた人数：

Q4：骨形成不全症の御経験についておうかがいします。

総数および現時点での生存数：

呼吸管理を要した人数：

看取りの医療を選択した人数：

ビスフォスフォネート治療を施行した人数：

遺伝子診断を施行した人数：

出生前診断されていた人数：

Q5：低ホスファターゼ症の御経験についておうかがいします。

呼吸管理を要した人数：
けいれんを認めた人数：
高カルシウム血症を呈した人数：
看取りの医療を選択した人数：
2012年9月現在、生存している人数：
遺伝子診断を施行した人数：
出生前診断されていた人数：

Q6：乳児大理石骨病の御経験についておうかがいします。

総数および現時点での生存数：
呼吸管理を要した人数：
看取りの医療を選択した人数：
骨髄移植を施行した人数：
遺伝子診断を施行した人数：
出生前診断されていた人数：

Q7：上記以外の骨系統疾患症例の病名及び症例数を記載してください。

病名：	症例数および現時点での生存数：
病名：	症例数および現時点での生存数：
病名：	症例数および現時点での生存数：

また、そのうち呼吸管理を行った症例の病名及び症例数を記載してください。

病名：	症例数：
病名：	症例数：
病名：	症例数：

また、そのうち出生前診断されていた症例の病名及び症例数を記載してください。

病名：	症例数：
病名：	症例数：
病名：	症例数：

ご協力どうもありがとうございました。

重症骨系統疾患診療の現状把握のためのアンケート調査 (産科用)

この度はアンケート調査にご協力頂きありがとうございます。
以下の質問にご記入、あるいは該当する回答に○をつけてください。

Q1：貴施設名、回答者名を記載してください。

貴施設名：

回答者名：

Q2：貴施設では、2003年～2012年の10年間に児が骨系統疾患であった妊娠／分娩の経験がありますか？

はい

いいえ

「はい」の方は以下の質問にもご回答ください。いずれも、2003年～2012年の10年間の御経験について記載してください。

Q3：児が Thanatophalic Dysplasia(致死性四肢短縮症)あるいは SADDAN 症候群であった妊娠／分娩の御経験についておうかがいします。

総数および現時点での生存数：

児が呼吸管理を要した人数：

看取りの医療を選択した人数：

妊娠中絶を選択した人数：

遺伝子診断を施行した人数：

出生前診断されていた人数：

Q4：児が骨形成不全症であった妊娠／分娩の御経験についておうかがいします。

総数および現時点での生存数：

児が呼吸管理を要した人数：

看取りの医療を選択した人数：

妊娠中絶を選択した人数：

遺伝子診断を施行した人数：

出生前診断されていた人数：

Q5：児が低ホスファターゼ症であった妊娠／分娩の御経験についておうかがいします。

総数および現時点での生存数：
児が呼吸管理を要した人数：
看取りの医療を選択した人数：
妊娠中絶を選択した人数：
遺伝子診断を施行した人数：
出生前診断されていた人数：

Q6：児が上記以外の骨系統疾患であった妊娠／分娩についておうかがいします。

病名および現時点での生存数：
児が呼吸管理を要した人数：
看取りの医療を選択した人数：
妊娠中絶を選択した人数：
遺伝子診断を施行した人数：
出生前診断されていた人数：

Q7：上記以外の骨系統疾患症例の病名及び症例数を記載してください。

病名：	症例数および現時点での生存数：
病名：	症例数および現時点での生存数：
病名：	症例数および現時点での生存数：

また、そのうち呼吸管理を行った症例の病名及び症例数を記載してください。

病名：	症例数：
病名：	症例数：
病名：	症例数：

また、そのうち出生前診断されていた症例の病名及び症例数を記載してください。

病名：	症例数：
病名：	症例数：
病名：	症例数：

ご協力どうもありがとうございました。

VI. 業績別刷

XIV 結合組織異常

低ホスファターゼ症

Hypophosphatasia

Key words : 骨石灰化, 骨系統疾患, アルカリホスファターゼ, くる病, 酵素補充療法

大 園 恵 一

はじめに

低ホスファターゼ症は骨系統疾患の一つで, 組織非特異的アルカリホスファターゼ(ALP)遺伝子の異常により引き起こされ, 血清ALP値は低値となる. ALPは骨石灰化に必須の酵素で, 重症の低ホスファターゼ症では, 骨石灰化が低下する. 最近, 低ホスファターゼ症に対して, 酵素補充療法の治験が北米で開始され, 注目すべき疾患である.

1. 概念・定義

低ホスファターゼ症(OMIM 146300, 171760, 241500, 241510)は, 組織非特異的ALPの欠損により引き起こされる疾患である. 骨X線検査で骨の低石灰化, くる病様変化がみられ, 血液検査でビタミンD欠乏性くる病では血清ALP値が高値となるのに対して, 本症では低下するのが特徴である¹⁾. ALPの基質である phosphoethanolamine, inorganic pyrophosphate(ピロリン酸), pyridoxal 5'-phosphate(PLP)の上昇がみられる. 通常, 常染色体劣性遺伝性であるが, まれに常染色体優性遺伝性もある.

2. 疫 学

周産期型低ホスファターゼ症は, 10万出生に1人程度の頻度で見られるまれな疾患である. 日本で最も頻度の高い変異であるc.1559delT変異は一般人口の1/480の頻度で見られ, ホモ接合体となって周産期重症型として発症する確率は1/920,000であると計算される²⁾. c.1559delT

のホモ接合体以外で重症型となる比率を勘案すると, 重症型は150,000人に1人程度の発症となる. 他の病型の頻度は知られていないが, 周産期型より多い可能性がある.

3. 病 因

組織非特異的ALPをコードするALPL遺伝子異常により, ALPの酵素活性が低下することにより発症する. 今までに200以上の変異が報告され, 登録されている[http://www.sesep.uvsq.fr/03_hypo_mutations.php].

4. 病 態

低ホスファターゼ症の中心的な病態は, 骨石灰化障害であるが, ALPの活性低下が, 低石灰化を引き起こす機序については, まだ完全には理解されていない. 骨はI型コラーゲン・オステオカルシンなどよりなる骨基質にカルシウム・リンを中心とするミネラル(骨塩)が沈着してできている. 骨芽細胞より放出された基質小胞中において, カルシウム, リンは濃縮され, 一方, 石灰化阻害物質であるピロリン酸は分解されることで, ヒドロキシアパタイトとして結晶化した後, コラーゲン線維上に沈着する. 骨基質である類骨の量が増加する疾患がくる病・骨軟化症で, 骨端線の閉鎖以前に石灰化障害が起きた場合をくる病, 閉鎖以後に起こった場合を骨軟化症と呼ぶ. したがって, 本症ではALPの活性低下に伴い蓄積するピロリン酸が石灰化を障害することや, 局所のリン濃度の低下が低石灰化の原因と考えられている. 本症においては,

XIV

結合組織異常

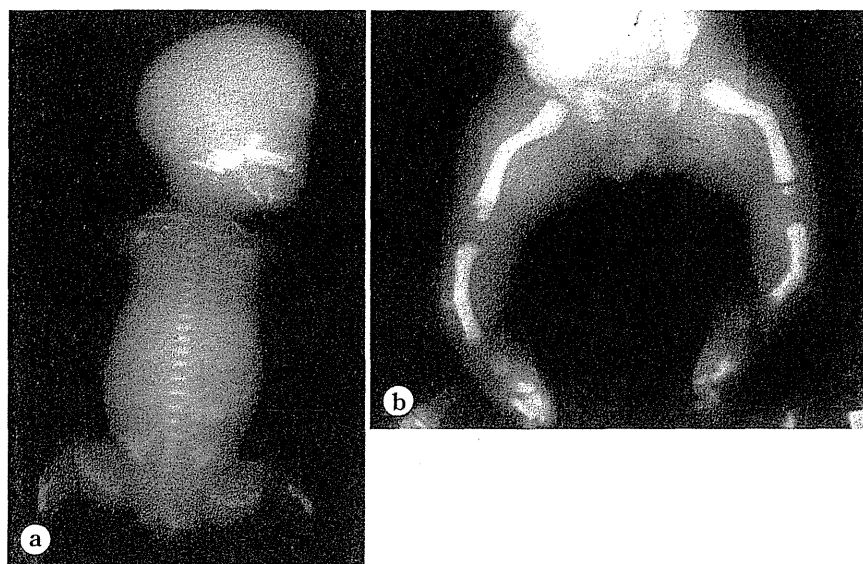


図1 周産期型低ホスファターゼ症の全身X線写真

a. 周産期重症型：頭蓋骨，椎体，長管骨などの全身骨の低石灰化があり，長管骨の変形も認める．骨幹端にくる病様の不整像を認める．b. 周産期軽症型：大腿骨は変形し，肋骨部に骨棘を認めるが，石灰化の障害を認めない．

骨基質が生成されるにもかかわらずミネラルが沈着できず，その結果，非石灰化骨基質である類骨が増加した状態がみられ，ビタミンD欠乏によるくる病(rickets)に近似した病態である．しかし，ピロリン酸の蓄積は，血清ALP値が高値となるビタミンD欠乏症ではみられず，低ホスファターゼ症に特徴的である．また，ALPL遺伝子多型と骨塩量の相関性についても報告されていて，ALPは骨塩量の規定因子として重要である³⁾．

5. 診断と鑑別診断

1) 臨床診断

臨床症状が多彩で現在6病型に分類されており，この理解が必要である．

a. 周産期重症型

最も重症なのが，周産期型で，通常致死性である．羊水過多を伴うことが多く，出生時には，四肢短縮，頭圍の相対的拡大，狭胸郭が認められる．全身X線像で，全身骨の低石灰化，長管骨の変形，骨幹端不整などがみられる(図1)．肺の低形成に伴う呼吸不全で生後早期に死亡することが多い．しかしながら，最近の新生児医療の進歩により，長期生存している例もある．

痙攣を伴うことがあり，本症においてはALP活性低下によるPLP代謝異常が引き起こされるので，痙攣はビタミンB₆依存性とされる⁴⁾．

b. 周産期軽症型

骨変形により胎児期に診断された低ホスファターゼ症患者の中に，石灰化不良がほとんどなく，予後良好で通常の生活が営める例があり，独立した病型として最近確立した^{5,6)}．日本人例ではF310L変異との相関性が高い．低身長を呈することもある．遺伝相談などにおいて本症の致死性の判定については注意すべきである．

c. 乳児型

生後6カ月までに発症するタイプが乳児型である．発育は最初順調であるが，徐々に体重増加不良，筋力低下がみられ，大泉門は大きく開いている．くる病様変化は次第に明瞭となる．血清および尿中カルシウム値の上昇を伴い，腎石灰化をきたす場合がある．呼吸器感染症から呼吸不全で死亡する例が多く，乳児型の予後も良好とはいえない．骨X線像は細い肋骨とくる病に特徴的な著しい骨幹端のカッピングがみられる．乳児型ではしばしば高カルシウム血症がみられ，そのため，多尿，腎尿路結石，体重増加不良などがみられる⁷⁾．頭蓋縫合の早期癒合

表1 低ホスファターゼ症の診断指針

<p>主症状</p> <ol style="list-style-type: none"> 骨石灰化障害 骨単純X線所見として骨の低石灰化, 長管骨の変形, くる病様の骨幹端不整像 乳歯の早期脱落(4歳未満の脱落) <p>主検査所見</p> <ol style="list-style-type: none"> 血清アルカリホスファターゼ(ALP)値が低い(年齢別の正常値に注意) <p>参考症状</p> <ol style="list-style-type: none"> ビタミンB₆依存性痙攣 四肢短縮, 変形 <p>参考検査所見</p> <ol style="list-style-type: none"> 尿中ホスホエタノールアミンの上昇(尿中アミノ酸分析の項目にあり) 血清ピロリン酸値の上昇 乳児における高カルシウム血症 <p>遺伝子検査</p> <ol style="list-style-type: none"> 確定診断, 病型診断のために組織非特異的ALP(ALPL)遺伝子検査を行うことが望ましい <p>参考所見</p> <ol style="list-style-type: none"> 家族歴 両親の血清ALP値の低下 <p>診断基準</p> <p>主症状1つ以上と血清ALP値低値があれば遺伝子検査を行う。参考症状, 参考検査所見, 参考所見があれば, より確実である。</p>

厚生労働省難治性疾患克服研究事業‘低ホスファターゼ症’研究班[hypophos@ped.med.osaka-u.ac.jp]作成。

も問題となる。

d. 小児型

小児期に発症するタイプが小児型で, 重症度は様々である。乳歯の早期喪失(4歳以前)を伴い, 食事摂取において問題となることがある。くる病様変化のみられる骨幹端から骨幹に向かってX線透過性の舌様の突出がみられることがあり, 本症に特徴的である。

e. 成人型

成人(中年期以前)になってから発症するタイプが成人型で, 病的骨折, 骨痛などで気づかれる。小児期にくる病や乳歯の早期喪失などの病歴をもつこともある。X線的にLooser zoneがみられることがある。

f. 歯限局型

骨には症状がなく, 歯に異常が限局するタイプがodonto typeである。乳歯の早期脱落は, 多数の乳歯で起こった場合, 見かけの問題に加

えて機能的にも残存歯にかかる圧力が更に他の乳歯の脱落を促進するため, 小児用の義歯の装着が必要となる。

2) 臨床検査, 骨X線

骨X線上はくる病様変化, 病的骨折がみられ, 一般の血液検査では, 血清ALP活性およびALPアイソザイム活性が低下する。尿中phosphoethanolamineの上昇は, 尿中アミノ酸分析で証明される。これらの所見があれば, 低ホスファターゼ症と診断されるが, 家族歴も参考となる。通常両親は, 異常遺伝子のキャリアで, 血清ALP活性は中等度に低下している。更に診断を確実にするには, 遺伝子変異を検索するとよい。著者らは厚生労働省研究助成難治性疾患克服研究事業において本症の診断基準を作成したので参照してほしい(表1)。

3) 遺伝子診断

ヒトのALPL遺伝子は1番染色体に位置し,



結合組織異常

50kb以上からなり、12のエクソンから構成される。変異は全エクソンにわたってみられる。多くはミスセンス変異であるが、一塩基欠失による frame shift および3塩基欠失も存在する。また、変異の位置が2つのアレルによって異なるヘテロ接合体が比較的多い。このことから、ALPLアレルの頻度は比較的まれではないと推定される。ただ、多くの症例で両親が変異遺伝子のキャリアであることが証明され、いわゆる *de novo* の変異の頻度は低いものと考えている。

日本人の本症では、310番目のフェニルアラニンがロイシンに置換される F310L と 1,559番目の塩基 T の欠失 (T1559del) が比較的多くみられる⁵⁾。T1559del は周産期重症型との相関性が高く、F310L は周産期軽症型に多い。酵素活性の検討では、F310L は野生型の約 70% の酵素活性が残存するのに対して、T1559del はほぼ完全に酵素活性を喪失している。

常染色体優性遺伝を示す症例では、変異型 ALPL は野生型 ALPL の活性を阻害するようないわゆる dominant negative 効果を示すために発症するとされる。最近、*Akp2* 遺伝子のスプライス部位に変異をもつ半優性型のマウスモデルも報告された⁸⁾。

4) 鑑別診断

骨幹端の変化(不整像)を呈する疾患としては、ビタミンD欠乏性くる病、低リン血症性くる病、骨幹端異形成症があげられる。本症に特異的な臨床検査と必要に応じ遺伝子検査を行うことで診断可能である。

6. 治療と予後

予後は病型により異なる。また、確立された治療法はない。ビタミンD欠乏によるくる病様変化ではないので、ビタミンD投与は適用とな

らない。むしろ、高カルシウム尿症および血症の増悪をきたすので避けるべきである。重症型における痙攣はビタミンB₆依存性である可能性が高いので、まずB₆の投与を試みる。

乳児型ではしばしば高カルシウム血症がみられ、これに対し、低カルシウムミルクを使用する。

頻回の骨折と骨折治癒の遅延を示した成人型の本症にリコンビナントPTH製剤を使用して、骨症状が改善したという報告がある。これには異論もある⁹⁾。

乳児型の本症に対する骨髄移植の報告がなされたが、一般的な治療法となるかどうか、今後の症例の蓄積が必要である¹⁰⁾。

最近、ALP酵素補充療法への道が開かれつつある。骨への移行を良くするために、ALPのC末端にL-Aspが10個つながっている。モデルマウスでは骨病変の改善し、長期生存が可能となる¹¹⁾。北米では本症に対し、この高骨親和性ALP組換えタンパク質を使用した酵素補充療法の治験が行われており、良好な成績が発表された¹²⁾。

また、モデルマウスでは、胎児期治療の有効性も示されたが、今後、生後早期からの治療も含めて、治療開始時期の検討を行う必要がある¹³⁾。

本症におけるビスホスホネート治療の副作用として非定型骨折が報告されたので注意が必要である¹⁴⁾。

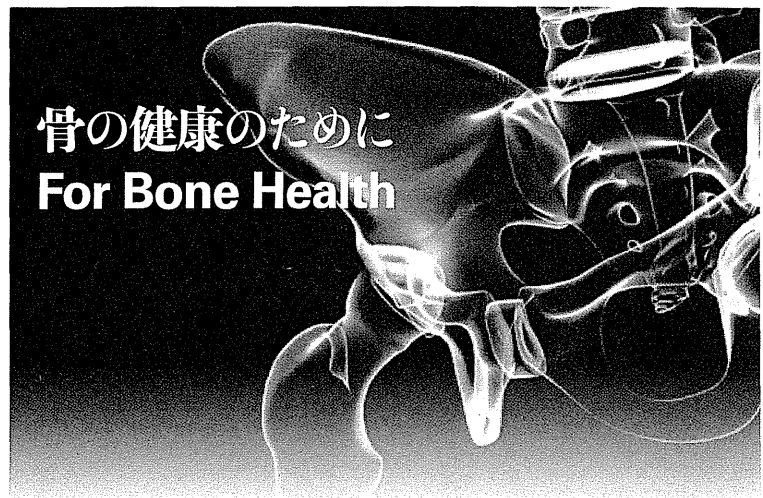
おわりに

酵素補充療法は、モデルマウスで有効性が示され、現在、北米で治験が行われ、顕著な有効性が認められている。日本にも、本症に対する酵素補充療法が導入されることが期待される。

文献

- 1) Mornet E: Hypophosphatasia. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 22(1): 113-127, 2008.
- 2) Watanabe A, et al: Prevalence of c.1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasia in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers. *J Hum Genet* 56(2): 166-168, 2011.
- 3) Goseki-Sone M, et al: Functional analysis of the single nucleotide polymorphism (787T>C) in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene associated with BMD. *J Bone Miner Res* 20

- (5): 773–782, 2005.
- 4) Litmanovitz I, et al: Glu274Lys/Gly309Arg mutation of the tissue–nonspecific alkaline phosphatase gene in neonatal hypophosphatasia associated with convulsions. *J Inherit Metab Dis* **25**(1): 35–40, 2002.
 - 5) Michigami T, et al: Common mutations F310L and T1559del in the tissue–nonspecific alkaline phosphatase gene are related to distinct phenotypes in Japanese patients with hypophosphatasia. *Eur J Pediatr* **164**(5): 277–282, 2005.
 - 6) Wenkert D, et al: Hypophosphatasia: nonlethal disease despite skeletal presentation in utero (17 new cases and literature review). *J Bone Miner Res* **26**(10): 2389–2398, 2011.
 - 7) Mochizuki H, et al: Severe hypercalcaemia and respiratory insufficiency associated with infantile hypophosphatasia caused by two novel mutations of the tissue–nonspecific alkaline phosphatase gene. *Eur J Pediatr* **159**(5): 375–379, 2000.
 - 8) Hough TA, et al: Novel mouse model of autosomal semidominant adult hypophosphatasia has a splice site mutation in the tissue nonspecific alkaline phosphatase gene *Akp2*. *J Bone Miner Res* **22**(9): 1397–1407, 2007.
 - 9) Gagnon C, et al: Lack of sustained response to teriparatide in a patient with adult hypophosphatasia. *J Clin Endocrinol Metab* **95**(3): 1007–1012, 2010.
 - 10) Tadokoro M, et al: New bone formation by allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in a patient with perinatal hypophosphatasia. *J Pediatr* **154**(6): 924–930, 2009.
 - 11) Millán JL, et al: Enzyme replacement therapy for murine hypophosphatasia. *J Bone Miner Res* **23**(6): 777–787, 2008.
 - 12) Whyte MP, et al: Enzyme–replacement therapy in life–threatening hypophosphatasia. *N Engl J Med* **366**(10): 904–913, 2012.
 - 13) Sutton RA, et al: “Atypical femoral fractures” during bisphosphonate exposure in adult hypophosphatasia. *J Bone Miner Res* **27**(5): 987–994, 2012.
 - 14) Sugano H, et al: Successful gene therapy in utero for lethal murine hypophosphatasia. *Hum Gene Ther* **23**(4): 399–406, 2012.



骨の健康のために
For Bone Health

骨の健康のために—小児科医の観点から

FOR BONE HEALTH-FROM THE VIEW OF PEDIATRICIAN

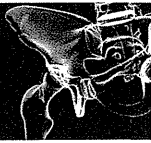
はじめに

大
菌
恵
一

Ozono Keiichi

大阪大学大学院医学系研究科小児科学教授

小児期は成長期であり、骨においても、その大きさと骨密度が増加する。健全な骨の獲得には、骨が大きくなることと骨が硬くなる必要があるが、本文では、これを骨の量(骨量)が増えることとして解説する。骨は静止した状態にあるのではなく、常に骨形成と骨吸収を行っていて、動的平行の状態にある。骨形成を担う細胞が骨芽細胞であり、骨吸収を担当するのが多核巨細胞である破骨細胞である。最近では骨内に埋め込まれ、最も数の多い骨細胞が、重力を感知し骨形成と骨吸収の司令塔的役割を有することが明らかとなり、その機能調節が注目されている¹⁾。胎児から小児期にかけては、骨形成が骨吸収を上回るので骨量が増えていく。この時期には、骨形成を支える栄養、運動がとくに重要である。その後、20歳代から35歳頃までに最大骨量期と呼ばれる最も骨量の多い時期に到達し、以後骨



吸収が骨形成を凌駕して骨量は減少する。

最も顕著に骨の健康を表す指標は骨折率が低い事であるが、一般的には小児の骨折率は低下しておらず、むしろ増加しているとする報告が多い。小児の骨折は、骨の弱さ（脆弱性）によるというよりも、転倒や外傷など、環境要因によることが多い。運動不足は、骨発育に障害を与えるとともに、受け身の姿勢をとれないなど反射的な問題ももたらす。

骨の構造とその異常

骨は 硬い組織で、重力に対抗して姿勢を維持し、筋肉による運動を可能とする支柱としての働きをもつ。長管骨に存在する成長軟骨帯で軟骨が骨に置き換わることにより、骨が長軸方向に伸びていく（軟骨内骨化）。これに対して太くなる（横軸方向の伸長）ためには、骨膜性の骨形成と骨髓側での骨吸収が重要である。

骨は I 型コラーゲン、オステオカルシンなど種々の蛋白質より成る骨基質にカルシウム (Ca)、リン (P) を中心とするミネラル（骨塩）が沈着してできている。この沈着過程を石灰化と呼ぶ。I 型コラーゲンは、骨基質に最も多く含まれる蛋白質で、2本の $\alpha 1$ 鎖と1本の $\alpha 2$ 鎖が3つ編み構造を形成し、コラーゲン細線維となる。コラーゲン分子同士は相互に架橋構造を形成してより安定な線維構造をとる。コラーゲン分子などに異常があると、骨が脆くなる。

骨を硬くするうえで、骨の石灰化は重要である。骨の石灰化は、骨芽細胞から分泌された基質小胞内にて開始される²⁾。基質小胞膜はCaイオンチャンネル、ナトリウム (Na) 依存性リン酸トランスポーターにより、CaおよびPを取り込み濃縮する。基質小胞内でリン酸Caの結晶が析出し、ヒドロキシアパタイト結晶 (HA) が形成され、骨基質の石灰化が進んでゆく。

骨粗鬆症 (osteoporosis) は、骨量の減少により骨折が生じやすくなる疾患であるが、石灰化骨量と非石灰化骨基質である類骨の量の比率は正常と変わらず、一方、類骨が増加する病態がくる病・骨軟化症である。骨量は主として骨密度測定装置 (dual energy X-ray absorptiometry ; DXA) により骨密度として表現される。近年は、骨折の生じやすさは骨密度のみに規定されるのではないので、骨強度は骨密度と骨質の2つのパラメーターをもつとされる。骨粗鬆症は多因子病の代表的疾患

であり、多くの遺伝子とその発症に関与する。また、骨粗鬆症は生活習慣病とも考えられ、栄養および運動などの生活習慣や環境要因もその発症に関与する。

カルシウムの栄養学的側面

Ca は 生体において、神経興奮、筋肉収縮、血液凝固、細胞内シグナル、骨・軟骨石灰化に関して必須の働きを担っている。このため、血清Ca値は厳密に制御され、軽度のCa摂取不足では低下しないように調節されている。しかし、Ca摂取不足は、長期的には歯、骨、爪等にさまざまな障害をもたらす。Caは体内では99%が歯と骨に存在し、人の骨格を形成するとともに、骨吸収によりCaが血液中に供給されることで、Caの恒常性維持に役立っている。

Caは必須の栄養素であるが、吸収率がよくないこと、短期的な欠乏症状に乏しいことなどより、必要量の設定は困難である。たとえば、Caの吸収にはビタミンDが促進的に働くので、ビタミンDの充足が前提となるが、しばしばビタミンDとCaの摂取不足はオーバーラップする。先進諸国においてもビタミンD欠乏性くる病はまれではなく、ビタミンDの摂取とともにCaの摂取に心がける必要がある。

Caの必要量の目安は、『日本人の食事摂取基準 (2010年版)』(第一出版, 2010) に示されている。日本において、Caは摂取不足である代表的栄養素で、30歳以上の成人の推奨量が一日622~778mgであるのに対して、平成16年度の調査では平均520~545mg程度で、とくに若年成人の摂取量は少ない。『骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン2006年度版』では、骨粗鬆症の予防のために1日800mgの摂取が推奨されている。

ビタミンD

小児期は 骨成長の盛んな時期であり、ビタミンDの必要量も多い。ビタミンDの欠乏によりくる病がもたらされるが、近年、先進国においても、ビタミンD欠乏性くる病の増加が指摘されている³⁾。

1. ビタミンD代謝と必要量

食物として摂取されたビタミンDおよび皮膚で合成されたビタミンDは肝臓において25位が、腎臓において1 α 位が水酸化され、1 α 、25位水酸化ビタミンD [1 α , 25(OH) $_2$ D]となる。1 α , 25(OH) $_2$ Dは最も強い生物活性をもつため活性型ビタミンDと呼ばれている。

ビタミンDの推奨量は、その時代および地域により一定ではない。日本の2010年版食事摂取基準によると、ビタミンDの目安量は6カ月未満が100単位、6カ月～1歳未満が200単位、1～7歳が100単位、8～9歳が120単位、9～14歳が140単位となっており、米国と比較して少ない量となっている⁴⁾。ただし、日照を受ける機会の少ない乳児の目安量は200単位に増量されている。ビタミンDを多く含んだ食品には、魚介類、卵黄、バター、キノコ類などがある。

紫外線は皮膚でのビタミンD合成に必須なので、紫外線照射不足もビタミンD欠乏の原因となる。外遊びの減少や紫外線カットの化粧などが、紫外線照射不足をもたらす。また、緯度の高い地域の冬期に紫外線量が不足しやすい。米国の基準では、皮膚への悪影響を回避するために、日光曝露はとくに6カ月未満は推奨しないとなっている⁴⁾。

2. ビタミンD欠乏症

臨床的には、歩行開始後に目立つO脚、長管骨関節部腫脹や肋軟骨部の腫脹(肋骨念珠)、成長障害などがみられる。このほか、乳児期においては低カルシウム血症に伴うテタニーおよびけいれんなどがみられるのが特徴である。

ビタミンD欠乏症の臨床検査データとしては、血清カルシウム値および血清リン値の低下、血中アルカリホスファターゼ活性の上昇、血中副甲状腺ホルモン値の上昇がみられる。骨X線学的には、骨端線の拡大、盃状陥凹、毛ばだちなどがみられる(図1)。ビタミンD欠乏の診断は、血中25水酸化ビタミンD値により行うことが重要で、20 ng/dL以下をビタミンD欠乏症とする報告が増えている。しかし、日本では保険適用がないという問題がある。

ビタミンD欠乏症の危険因子としては、日光照射不足、皮膚の高い色素含量、菜食主義、母親のビタミンD不足、ビタミン補充のない完全母乳栄養などが



図1 | ビタミンD欠乏性くる病の骨X線像

膝関節周囲の長管骨骨幹端に杯様変化、けば立ちなどのくる病様所見がみられる。

従来あげられている。わが国の最近の傾向としては、アレルギー疾患に対する過度な食事制限や偏食、生活習慣の変化による日光照射不足などが増えている。

まとめ

小児の骨の健康には、栄養、運動などが大切であるが、これらの重要さを示すエビデンスは乏しい⁵⁾⁶⁾。まず、骨粗鬆症やくる病など、明らかな骨の異常を示す疾患を通じて、重要な因子を理解していく必要がある。

References

- 1) Bonewald LF, Johnson ML : Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone* **42** : 606-615, 2008
- 2) Anderson HC : Molecular biology of matrix vesicles. *Clin Orthop Relat Res* **314** : 266-280, 1995
- 3) Holick MF : Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* **116** : 2062-2072, 2006
- 4) Wagner CL, Greer FR, American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding, American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition : Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* **122** : 1142-1152, 2008
- 5) Winzenberg T, Shaw K, Fryer J, Jones G : Effects of calcium supplementation on bone density in healthy children : meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* **333** : 775-778, 2006
- 6) Bass SL, Naughton G, Saxon L, et al : Exercise and calcium combined results in a greater osteogenic effect than either factor alone : a blinded randomized placebo-controlled trial in boys. *J Bone Miner Res* **22** : 458-464, 2007

<TOPICS>

10. ビタミン D・カルシウム代謝マーカーに関する動向

Methods of measurements of vitamin D metabolites and parathyroid hormone : 2012 update

窪田 拓生・大藪 恵一

Takuo Kubota (助教) / 大阪大学大学院医学系研究科小児科学, 大阪大学大学院歯学研究科顎口腔病因病態制御学 (口腔外科学第一)

Keiichi Ozono (教授) / 大阪大学大学院医学系研究科小児科学

key words

カルシウムおよびリン代謝異常症の診療において、ビタミン D 代謝物や副甲状腺ホルモン (PTH) の測定方法の種類や特性を理解することは重要である。血中 PTH 濃度の測定には、活性を有する PTH を測定する intact PTH や whole PTH が有用である。ビタミン D 欠乏症の診断に、血中 25 水酸化ビタミン D 濃度の測定は必須であるが、測定法間の差が大きく、基準値のコンセンサスが得られていないことが問題である。一方、血中 1,25 水酸化ビタミン D 濃度の測定は比較的安定しておりビタミン D の活性化状態を反映するが、ビタミン D 欠乏症の判定には用いられない。

副甲状腺ホルモン
25水酸化ビタミンD
1,25水酸化ビタミンD
測定法

はじめに

カルシウム (Ca) およびリン (P) 代謝異常において、ビタミン D 代謝物や副甲状腺ホルモン (PTH) の血中濃度を測定することが多いが、測定方法の種類や特性を理解することは診療上重要である。本稿では、血中 PTH、血中 25 水酸化ビタミン D (25OHD)、血中 1,25 水酸化ビタミン D [1,25 (OH)₂D] の測定について概説する。

副甲状腺ホルモン

1. 概念

副甲状腺ホルモン (PTH) は 84 個のアミノ酸より構成されるポリペプチドで、骨代謝を制御する主要なホルモン

の一つであり、血中 Ca 濃度を一定の範囲内に厳密に維持している。PTH は腎臓の近位尿細管における 1,25 (OH)₂D の産生を増加することにより、間接的に腸管での Ca の吸収を促進する。また、腎臓の遠位尿細管における Ca の再吸収を増加させ、さらに骨において骨吸収を促進することにより骨から Ca を血中に動員する。一方、PTH は腎臓の近位尿細管における P の再吸収を低下させる。つまり、PTH は血清 Ca 値を上昇させ、血清 P 値を低下させる。

PTH はペプチドホルモンであり、G 蛋白共役受容体である PTH/PTHrP 受容体に結合して作用を発揮する [副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) と PTH の受容体は共通である]。

PTH/PTHrP 受容体は Gs 蛋白を活性化させアデニル酸シクラーゼを活性化し、セカンドメッセンジャーである cAMP を増加させて、プロテインキナーゼ A (PKA) を活性化する。また、PTH/PTHrP 受容体は Gq 蛋白も活性化させ、ホスホリパーゼ C を活性化し、セカンドメッセンジャーであるジアシルグリセロール (DAG) とイノシトール三リン酸 (IP₃) を増加させ、プロテインキナーゼ C (PKC) を活性化し、細胞内 Ca 濃度を増加させる。PKA や PKC、細胞内 Ca はさまざまな蛋白のリン酸化を介して標的遺伝子を制御する。

PTH の半減期は数分であり、さまざまなペプチド断片としても血中を循環している¹⁾²⁾。完全長の PTH1-84 や

N末端側のPTH1-34はホルモン活性を有しているが、切断されたPTH7-84はホルモン活性を有していない。PTH1-6残基はPTH/PTHrP受容体を活性化するために不可欠であり、PTH18-34が受容体結合部位である。したがって、PTH1-6残基はないがPTH18-34残基を有するPTH7-43はPTH/PTHrP受容体に結合するが、受容体を活性化しないためPTHの作用に競合する¹⁾。血中PTH1-84は主に肝臓と腎臓において代謝されるが、切断されたC末端側PTHは腎臓において排泄されるため、腎機能障害によるクリアランスの影響を受ける。糸球体濾過率が60mL/min/1.73m²を下回ると血漿intact PTH値が増加してくる²⁾。また、腎機能が低下するにつれてC末端側PTH/PTH1-84比が増加し、血液透析患者においては血漿intact PTH値は基準値の上限の3倍以上となる。健康者においては血漿intact PTH値のうちC末端側PTHは20%以下であるが、血液透析患者においては約50%にも達する²⁾。PTHは半減期が短いため、副甲状腺摘出術施行中に血漿PTH濃度を迅速測定することにより、副甲状腺腫の機能を術中に評価することが可能である²⁾。

2. 測定

血中PTH測定の第一世代は放射性免疫測定 (radioimmunoassay : RIA) として1960年代、1970年代に開発されたが、PTH1-84への感度や特異度が比較的低かった。また、C末端側や中間部 (M-PTHあるいはHS-PTH) を認

識している測定系が少なくなかった。1980年代に開発された第二世代の免疫放射定量測定 (immunoradiometric assay : IRMA) は2つの抗体がC末端側とN末端側 (1-34) を認識し、PTH1-84のみを認識することから「インタクト (intact) PTH」と呼ばれている。基準値はおよそ10~65pg/mLである。しかしその後、intact PTHはPTH1-84のみならず、PTH7-84などの他の断片も認識することが判明している。したがって、腎機能障害によるクリアランスの低下のため、血漿intact PTH値は血漿PTH1-84の真の値より高値となる。測定方法としては他に化学発光免疫測定 (chemiluminescent immunoassay : CLIA) がある。最近、第三世代の測定法が開発され、ホール (whole) もしくはバイオアクティブ (bioactive) PTHと呼ばれている。whole PTHはN末端側の抗体がPTHのN末端1-4を認識し、PTH1-84に特異的と考えられている。基準値はおよそ9~39pg/mLである。しかし、臨床的には血漿intact PTH値および血漿whole PTH値の両方が用いられている。慢性腎臓病 (CKD) の管理においてintact PTHに対するwhole PTHの優越性は示されていない。CKDの管理においては、データがより蓄積されている血漿intact PTH値の管理目標が設定されている³⁾。

3. 検査の適応

CaやP代謝異常症の診断および治療効果の判定、副甲状腺機能低下症および亢進症の診断および病型分類。

4. 血清PTH濃度が高値を示す疾患

原発性副甲状腺機能亢進症 (家族性低Ca尿性高Ca血症、新生児重症副甲状腺機能亢進症、多発性内分泌腺腫症、副甲状腺機能亢進症-下顎腫瘍症候群、cyclin D1の発現亢進、孤発性)、二次性副甲状腺機能亢進症 (慢性腎不全、高リン血症、ビタミンD欠乏症、ビタミンD代謝異常症、hungry bone症候群、偽性副甲状腺機能低下症)、三次性副甲状腺機能亢進症、薬剤 (リチウム、サイアザイド利尿薬、ループ利尿薬、ビスフォスフォネート)。

5. 血清PTH濃度が低値を示す疾患

副甲状腺機能低下症 (常染色体優性副甲状腺機能低下症、常染色体劣性副甲状腺機能低下症、22q11.2欠失症候群、HDR症候群、自己免疫性、手術後、放射線照射、金属の沈着 (鉄、銅、アルミニウム)、悪性細胞の浸潤、低マグネシウム血症、特発性)、続発性副甲状腺機能低下症 [PTHrP産生腫瘍、悪性腫瘍 (多発性骨髄腫、白血病) による骨融解、1,25(OH)₂D産生腫瘍 (リンパ腫)、活性型ビタミンD過剰投与、サルコイドーシス、甲状腺機能亢進症]。

25 水酸化ビタミンD, 1,25 水酸化ビタミンD

1. 概念

ビタミンDは食事から摂取されるとともに、皮膚において7-デヒドロコ

レステロールから紫外線照射により合成される。ビタミンDは植物由来のビタミンD₂と動物由来のビタミンD₃の2種類ある。その後、肝臓において25位水酸化ビタミンD (25OHD)に変換され、ビタミンD結合蛋白と結合し、血中を循環している。25OHDは体内での半減期が10~20日と長く、代謝による影響が少なく、体内のビタミンDの充足状態を反映していると考えられている。25OHDはさらに腎臓の近位尿細管において1 α , 25位水酸化ビタミンD [1,25(OH)₂D]に変換され、活性型となる。1,25(OH)₂Dは標的臓器にあるビタミンD受容体に結合し、標的遺伝子の転写を調節するホルモンとして作用する。特に小腸におけるCaやPの吸収、骨における石灰化の促進、副甲状腺におけるPTHの分泌抑制などの作用を発揮することにより、ビタミンDは体内のCa・P代謝や骨代謝に重要な役割を担っている。さらに最近、骨ミネラル代謝以外の疾患とビタミンDとの関連を示唆する報告がなされている。

血清25OHD濃度は体内のビタミンDの充足状態の指標であるが、その基準値については議論がある。米国IOM (Institute of Medicine) の報告では、未石灰化骨基質である類骨の有無や腸管でのカルシウムの吸収を基に、乳児から高齢者までの全年齢において血中25OHD値を50nmol/L (20ng/mL)以上に維持することが望ましいとされている⁴⁾。しかし、血中PTH濃度が増加し始める前の75nmol/L (30ng/mL)以上に血中25OHD値を維持したほうが

よいと主張する専門家もいる⁵⁾。つまり、血中25OHD濃度が20~30ng/mLの場合、ビタミンDの不足があると判断するか、不足がないと判断するか、議論がある。しかし、血中25OHD濃度が少なくとも20ng/mL以下であればビタミンDの欠乏であるということに異論を唱える専門家は少なく、測定キットの基準値内であってもビタミンDの欠乏であることが少なくないことに注意が必要である。血中25OHD濃度の上限についてのデータは非常に少ない。50ng/mL以上で副作用の可能性が報告されている⁶⁾。残念ながら、わが国においては、血清25OHD濃度の測定に保険適応は認められていない。

血清1,25(OH)₂D濃度はPTHやP利尿因子であるFGF23 (fibroblast growth factor 23)によって、厳密に制御されており、半減期は約数時間である。血清1,25(OH)₂D濃度は体内のビタミンDの充足状態を反映しておらず、疾患の診断や治療効果の判定に適している。

2. 検査の適応

CaやP代謝異常の診断および治療効果の判定。

3. 25OHDの測定

血清25OHD濃度の測定は1970年代初期にCPBA (competitive protein binding assay)が開発され、結合試薬としてラットのビタミンD結合蛋白が使われていた⁷⁾。1970年代後半には高速液体クロマトグラフィー (high per-

formance liquid chromatography: HPLC)、1980年代には25OHDに対する抗体を用いたRIAが開発された。現在では、放射性物質の使用を避けるために、CLIAや酵素免疫測定法 (Enzyme immunoassay: EIA)によって測定されていることが多い。また、米国においては2000年代に入り、液体クロマトグラフィー質量分析法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS)の利用が増加してきている。HPLCやLC-MS/MSは物理的に25OHD₃と25OHD₂をそれぞれ測定でき、免疫測定法より正確であると考えられているが、機器が高価であり、また専門の知識を必要とし、解析に時間がかかることが不利な点である⁷⁾。血清25OHD濃度の測定は上記のようにさまざまな方法で行われており、測定法間差、施設間差が生じている^{7,8)}。ビタミンDは非常に疎水性が強く、25OHD₃と25OHD₂の2種類存在することが測定をより難しくしている。免疫測定法は、25OHDを他の疎水性の脂質分子と区別しビタミンD結合蛋白より分離させる前処理の影響を強く受け、また25OHD₃と25OHD₂を区別できない。血清25OHD濃度の測定法間差、施設間差を検討するため、DEQAS (vitamin D external quality assessment scheme)が1989年に設立され、現在世界中の多くの施設が参加している。DEQASはヒト血清を各施設に分配し、各施設のデータを集め、全施設の平均であるALTM (all laboratory trimmed mean)値を提供している⁷⁾。

2009年において、施設間の変動係数(CV)は約15%である⁹⁾。血清25OHD濃度の測定における測定方法間差と施設間差をなくすための標準化作業が行われている。標準化に必要な基準測定法はLC-MS/MSとされており、米国のNIST(National Institute of Standards and Technology)によって開発されたstandard reference material 972が25OHDの標準物質として利用されている⁷⁾。わが国においては、臨床的には血清25OHD濃度の測定にRIAおよびCPBAが用いられており、さらに全自動CLIAの臨床試験が行われている。

4. 1,25(OH)₂Dの測定

血清1,25(OH)₂D濃度の測定は1970年代にトリ小腸ビタミンD受容体を用いたCPBA(competitive protein binding assay)の一種であるRRA(radioreceptor assay)が開発された¹⁰⁾。その後、1980年代にウシ胸腺ビタミンD受容体が用いられるようになり、血清の前処理もより簡便になり、必要な血清の量も格段に減少した。ただ、リガンド-受容体結合の特異性が高いため、血清中の1,25(OH)₂Dと競合する試薬として³H-1,25(OH)₂D₃のみが使用可能であり、化学発光レポーターは使用されていない。RIAはRRAより遅れて開発され、結合試薬として利用するためのビタミンD受容体を他の動物から抽出する必要はなくなったが、1,25(OH)₂Dに対する特異抗体の特異性の問題があった。現在はその特異性がかなり改善され、測定方法間差

と施設間差はあまりない。基準値はおよそ15~60pg/mLである。1,25(OH)₂Dの測定においてもHPLCがRRAやRIAよりも正確であると考えられている。わが国においては、2種類の抗体を用いたRIAによって測定されている場合が多いが、最近、放射性同位元素を用いないELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)も利用できる。

5. 血清25OHD濃度が高値を示す疾患

ビタミンD過剰症。

6. 血清25OHD濃度が低値を示す疾患

ビタミンD欠乏症、くる病、骨軟化症、肝疾患、胆道閉鎖症、ネフローゼ症候群、尿管障害、ファンconi症候群、脂質吸収障害、薬剤(抗癌薬)。

7. 血清1,25(OH)₂D濃度が高値を示す疾患

原発性副甲状腺機能亢進症、ビタミンD依存性くる病II型、サルコイドーシス、粟粒結核、PTHrP産生腫瘍、1,25(OH)₂D産生腫瘍、薬剤(活性型ビタミンD、エストロゲン)。

8. 血清1,25(OH)₂D濃度が低値を示す疾患

慢性腎不全、副甲状腺機能低下症、ビタミンD依存性くる病I型、ファンconi症候群、甲状腺機能亢進症。

文 献

1) Shoback D, Sellmeyer D, Bikle

DD: Metabolic bone disease. Greenspan's basic & clinical endocrinology, 9th ed (Gardner DG, Shoback D). New York, McGraw-Hill, 227-258, 2011

- 2) Rodgers SE, Lew JI: The parathyroid hormone assay. *Endocr Pract* **17**(Suppl. 1): 2-6, 2011
- 3) 日本透析医学会: 慢性腎臓病に伴う骨・ミネラル代謝異常の診療ガイドライン. *透析会誌* **45**: 301-356, 2012
- 4) Rosen CJ, Gallagher JC: The 2011 IOM report on vitamin D and calcium requirements for north america: clinical implications for providers treating patients with low bone mineral density. *J Clin Densitom* **14**: 79-84, 2011
- 5) Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al: Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab* **97**: 1153-1158, 2012
- 6) Ross AC, Manson JE, Abrams SA, et al: The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* **96**: 53-58, 2011
- 7) Wallace AM, Gibson S, de la Hunty A, et al: Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids* **75**: 477-488, 2010
- 8) Binkley N, Krueger D, Lensmeyer G: 25-hydroxyvitamin D measurement, 2009: a review for clinicians. *J Clin Densitom* **12**: 417-427, 2009
- 9) Barake M, Daher RT, Salti I, et al: 25-hydroxyvitamin D assay variations and impact on clinical deci-

sion making. J Clin Endocrinol Metab **97** : 835-843, 2012
10) Hollis BW, Horst RL : The assess-

ment of circulating 25(OH)D and 1,25(OH)₂D ; where we are and where we are going. J Steroid

Biochem Mol Biol **103** : 473-476, 2007

窪田 拓生 (Takuo Kubota)

大阪大学医学部医学科を卒業後、小児科の研修および医員としての勤務を行った。大阪大学大学院医学系研究科小児科学において博士課程を修了後、米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校Bikle研究室にて研究員として勤務し、2011年に現職に赴任した。

専門は小児科学、骨ミネラル代謝学、腎臓病学、内分泌代謝学。

