

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患政策研究事業)

ホルモン受容機構異常に関する調査研究

分担研究報告書

ビタミン D 抵抗性くる病・骨軟化症の検討

研究分担者 大菌恵一 大阪大学大学院医学系研究科小児科学 教授

研究要旨:副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症の全国アンケート調査から、推定患者数を明らかにした。副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症の症状や合併症などの臨床像は遺伝子型によって異なった。ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症のアンケート調査から、様々な筋骨格軟部組織等の症状・症候を有していることが明らかになった。PHEX 遺伝子変異部位や立体構造変化が PHEX 蛋白機能障害に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

- 1) 副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症、および偽性副甲状腺機能低下症類縁疾患:偽性副甲状腺機能低下症は 30 年前に診断基準が作成されたが、他の病型(類縁疾患)でも PTH 不応性があることが報告され、診断基準の見直しが必要である。副甲状腺機能低下症の鑑別診断となるビタミン D 不足・欠乏の判定基準等を作成してきたが、最近、副甲状腺機能低下症に関しては新知見が報告されている。そこで患者の現況調査と最新の知見に基づき、病型分類、診断法を見直す。また、低カルシウム血症の鑑別診断の手引き等を作成してきたが、これらの疾患に関する新規知見が多く得られている。そこで、本手引きを改訂することを目的とする。さらに、患者レジストリを構築し、診療ガイドラインを作成する。
- 2) ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症、ビタミン D 依存性くる病/骨軟化症:ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症については、今後罹患患者の管理法が変わることが予想されるため、状況に応じ診療ガイドラインの作成を目指す。これらの成果に基づき、状況によ

っては該当疾患のレジストリ構築を検討する。ビタミン D 抵抗性くる病は、PHEX 遺伝子の機能喪失型変異により線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) の発現が増加し低リン血症を呈する疾患である。しかし、PHEX 遺伝子の変異により FGF23 発現が上昇する機序は明らかではない。さらに、PHEX 遺伝子変異と表現型相関についても結論に至っていない。そこで、日本人 XLH 患者の遺伝子型と表現型の相関を明らかにする。

B. 研究方法

本研究は研究班研究分担者である福本誠二(徳島大学先端酵素学研究所)、竹内靖博(虎の門病院内分泌センター)、井上大輔(帝京大学ちば総合医療センター)、皆川 真規(千葉県こども病院)と実施した。

- 1) 副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症:平成 30 年度は、「難治性疾患の継続的な疫学データの収集・解析に関する研究」班(主任 中村好一)と共同で、副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症患者を対象に、現況につき全国アンケート調査を行った。約 3500 診療

科(内科、小児科、神経内科、神経科)に送付。その後、症例のある診療科に2次アンケート調査を行う。結果の解析により、現状の問題点を明らかにする。二次調査に回答があった診療科に患者レジストリの同意に関する依頼を実施する。患者レジストリの症例数をより多くするため、二次調査に回答がなかった診療科に再度二次調査票を送付する。

- 2) ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症、ビタミン D 依存性くる病/骨軟化症に関して、日本骨代謝学会の支援を受けて、日本骨代謝学会評議員にアンケート調査を行う。結果の解析により、合併症や治療の妥当性など現状の問題点を明らかにする。PHEX 遺伝子解析対象患者は28家系日本人38名、男性12名(年齢中央値2.5歳)、女性26名(年齢中央値2.0歳)。臨床データ(n = 24~29)は、身長 SDS -2.09(中央値)、Pi (mg/dL) 2.5、ALP (U/L) 1779、FGF23 (pg/mL) 77、iPTH (pg/mL) 69.3、1,25(OH)2D (pg/mL) 61、TmP/GFR (mg/dL) 2.22であった。副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症、ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症の患者レジストリを構築し、全国調査から得られた症例の病歴、身体所見、血液・尿検査、画像検査、遺伝学的検査、治療内容を患者レジストリに蓄積し、検討することによって、4疾患の指定難病の診断基準の妥当性の検討、管理の指針などを策定する。患者レジストリとして、米国 Vanderbilt 大学が開発したデータ集積管理システム REDCap を利用する。臨床カルクエスチョン(CQ)の作成する。

(倫理面への配慮)

千葉大学倫理委員会、大阪大学倫理審査委員会へ研究計画書を提出し、承認を得た。課題名:偽性副甲状腺機能低下症とその類縁疾患および副甲状腺機能低下症(二次性を除く)の全国疫学調査研究(承認番号2940)、骨ミネラル代謝異常の診療指針の策定に関する研究(承認番号19121)、カルシウム代謝異常・リン代謝異常・骨疾患の遺伝学的解析(承認番号700)

本研究は高谷里依子(千葉大学予防医学センター)、中山尋文、大幡泰久、窪田拓生(大阪大学大学院医学系研究科)との共同作業である。

C. 研究結果

- 1) 副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症の関連疾患の一次調査(患者数調査)を行った。3501診療科に送付し、1807診療科(52%)から回答を得た。報告患者数は、副甲状腺機能低下症が704名、偽性副甲状腺機能低下症が478名であった。副甲状腺機能低下症の推定患者数は約2300名、偽性副甲状腺機能低下症の推定患者数は約1500名であった。次に、二次調査では、209診療科から、副甲状腺機能低下症及び疑いは360名、偽性副甲状腺機能低下症及び疑いは251名の個人調査票を回収することができた。副甲状腺機能低下症の内訳は特発性が238名、22q11.2欠失症候群が72名、HDR (Hypoparathyroidism, Deafness, Renal dysplasia)症候群が19名、カルシウム感知受容体(CaSR)異常症が18名であった。発症時年齢は、特発性が37.9歳、22q11.2欠失症候群が8.1歳、HDR症候群が10.8歳、CaSR異常症が3.8歳、調

査時年齢は、特発性が 49.8 歳、22q11.2 欠失症候群が 19.4 歳、HDR 症候群が 28.5 歳、CaSR 異常症が 13.8 歳であった。特発性副甲状腺機能低下症では、脳内石灰化が 58%に、白内障が 15%に、脂質異常症が 32%に、高血圧が 25%に、腎機能障害が 35%に認められた。22q11.2 欠失症候群では、精神発達遅滞が 80%に、心血管系異常が 68%に、腎機能障害が 35%に、感染症による入院が 32%に認められた。HDR 症候群では、精神発達遅滞が 33%に、脳内石灰化が 27%に、難聴が 76%に、腎機能障害が 28%に認められた。CaSR 異常症では、脳内石灰化が 50%に、腎機能障害が 17%に認められた。

PHP の内訳は PHP1A(変異あり)52 名、PHP1A(臨床診断)58 名、PHP1B(メチル化異常あり)40 名、PHP1B(臨床診断)72 名であった。発症時年齢は、PHP1A(変異あり)が 5.6 歳、PHP1A(臨床診断)が 11.9 歳、PHP1B(メチル化異常あり)が 14.4 歳、PHP1B(臨床診断)が 18.8 歳、調査時年齢は、PHP1A(変異あり)が 17.2 歳、PHP1A(臨床診断)が 29.1 歳、PHP1B(メチル化異常あり)が 23.4 歳、PHP1B(臨床診断)が 30.8 歳であった。PHP1A(変異あり)では、円形顔貌が 90%、短指(趾)症が 96%、異所性骨化が 41%、精神発達遅滞が 79%、甲状腺機能低下症が 92%に認められた。PHP1A(臨床診断)では、円形顔貌が 82%、短指(趾)症が 68%、異所性骨化が 35%、精神発達遅滞が 41%、甲状腺機能低下症が 55%に、脂質異常が 32%、腎機能障害が 17%に認められた。PHP1B(メチル化異常あり)では、円形顔貌が 32%、短指(趾)症が 10%、精神発達

遅滞が 10%、甲状腺機能低下症が 23%に認められた。PHP1B(臨床診断)では、円形顔貌が 10%、精神発達遅滞が 11%、甲状腺機能低下症が 14%に認められた。二次調査に回答があった 210 診療科に患者レジストリの同意に関する依頼を実施し、151 診療科から回答を得た。同意は 146 診療科から得た。二次調査に回答がなかった 170 診療科に再度二次調査票を送付し、30 診療科から調査票を回収した。患者レジストリにデータを登録した。

2) ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症、ビタミン D 依存性くる病/骨軟化症に関しては、日本骨代謝学会評議員 82 名に調査票を送付し、評議員が所属する 18 診療科から回答を得た。12 診療科が症例を有していた。患者数は、ビタミン D 抵抗性くる病・骨軟化症が 118 名であった。118 名の内、選択基準を満たした 115 名を解析対象とした。115 例中、指定難病の definite と除外診断を満たした症例は 74 名(64.3%)であった。家族歴は 115 名中 45 名に認められた。ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症の原因遺伝子検査が 59 名において実施され、PHEX 変異が 55 名(93%)において同定された。発症時年齢(中央値)は 2 歳、調査時年齢 38 歳であった。症状・徴候として、下肢変形が 63 名(54.8%)、骨痛が 62 名(53.9%)、関節痛が 54 名(47.0%)、骨折が 35 名(30.4%)、変形性関節症が 32 名(27.8%)、脊柱靭帯骨化症が 21 名(18.3%)、腱附着部症が 20 名(17.4%)、腎石灰化が 19 名(16.5%)、筋力低下が 19 名(16.5%)、歯周炎が 13 名(11.3%)に認められた。データを患者レジストリに登録した。クリニカルクエスチョン(CQ)の作成を開始した。

PHEX 遺伝子解析では、23 家系 33 名で 18 種類の変異が同定され、そのうち 7 種類(9 名)は新規変異であった。既報変異は 8 種類(20 名)、既報部位に異なる塩基置換は 3 種類(4 名)同定された。4 種類の変異は非血縁家族間で共通であった。C 端側に変異が多く分布していました。また、変異未同定 5 症例で MLPA を行ったがコピー数異常は認められず、FGF23、DMP1、ENPP1 遺伝子にも変異は同定されなかった。PHEX 遺伝子解析対象者の臨床データ解析では、治療開始前の血清 FGF23 値はリン投与量、活性型ビタミン D 製剤投与量と有意な正相関を認めました。さらに、N 端側に変異がある場合リン製剤の必要量が高値であった。変異 PHEX 蛋白構造予測解析では、iTASSER を用いて解析したところ、2 種のミスセンス変異蛋白は細胞膜から蛋白自体の露出面に変化が起こる可能性が考えられました。また、3 次元構造としてはほとんど構造変化が起こらない p.Arg747*変異蛋白の解析から、PHEX 蛋白機能には基質結合性よりも細胞外タンパクの角度のような部分的な 3 次元構造の変化が重要である可能性が考えられた。

D. 考察

- 1) 副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症の関連疾患の一次調査、二次調査により、副甲状腺機能低下症の報告患者数は 704 名、偽性副甲状腺機能低下症は 478 名であった。副甲状腺機能低下症の推定患者数は約 2300 名、偽性副甲状腺機能低下症の推定患者数は約 1500 名であった。副甲状腺機能低下症、偽性副甲

腺機能低下症の症状や合併症などの臨床像は遺伝子型によって異なった。遺伝学的な原因同定が重要と考えられた。

- 2) ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症のアンケート調査から 115 名のデータを収集した。指定難病の definite と除外診断を満たした症例は約 64%と、割合としては十分ではなかった。家族歴を認めない症例も多かった。様々な筋骨格軟部組織等の症状・症候を有していた。患者レジストリに登録した。また、PHEX 遺伝子解析では、変異部位が治療抵抗性に関連する可能性が示唆された。さらに、PHEX 蛋白の 3 次元構造解析モデルより、その立体構造変化が基質結合性とは独立して作用発現に寄与している可能性が示唆された。

E. 結論

副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症の全国アンケート調査から、推定患者数を明らかにした。副甲状腺機能低下症、偽性副甲状腺機能低下症の症状や合併症などの臨床像は遺伝子型によって異なった。ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症のアンケート調査から、今後の指定難病の診断基準の妥当性の検討、様々な筋骨格軟部組織等の症状・症候を有していることが明らかになった。PHEX 遺伝子変異部位や立体構造変化が PHEX 蛋白機能障害に関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Michigami T, Tachikawa K, Yamazaki M,

- Kawai M, Kubota T, Ozono K. Hypophosphatasia in Japan: ALPL Mutation Analysis in 98 Unrelated Patients. *Calcif Tissue Int*, 106:221-231, 2020.
- 2) Michigami T, Ohata Y, Fujiwara M, Mochizuki H, Adachi M, Kitaoka T, Kubota T, Sawai H, Namba N, Hasagawa K, Fujiwara I, Ozono K. Clinical practice guidelines for hypophosphatasia. *Clinical Pediatric Endocrinology*, 29:9-24, 2020.
 - 3) Okawa R, Kokomoto K, Kitaoka T, Kubota T, Watanabe A, Taketani T, Michigami T, Ozono K, Nakano K. Japanese nationwide survey of hypophosphatasia reveals prominent differences in genetic and dental findings between odonto and non-odonto types. *PLoS ONE*, 14:e0222931, 2019.
 - 4) Nakano C, Kitabatake Y, Takeyari S, Ohata Y, Kubota T, Taketani K, Kogo M, Ozono K. Genetic correction of induced pluripotent stem cells mediated by transcription activator-like effector nucleases targeting ALPL recovers enzyme activity and calcification in vitro. *Mol Genet Metab*, 127:158-165, 2019.
 - 5) Fukushima K, Kawai-Kowase K, Yonemoto Y, Fujiwara M, Sato H, Sato M, Kubota T, Ozono K, Tamura J. Adult hypophosphatasia with compound heterozygous p.Phe327Leu missense and C.1559delT frameshift mutations in tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene: a case report. *J Med Case Rep*, 13:101-106, 2019
2. 学会発表
- 1) Ohata Y, Kubota T, Takeyari S, Kitaoka T, Nakano Y, Miyata K, Yamada C, Ozono K, Ishihara Y, Nakayama H, Yamamoto K, Fujiwara M, Yamamoto K, Michigami T, Mabe H, Yamaguchi T, Matsui K, Tamada I, Namba N, Yamamoto A, Etoh J, Kawaguchi A. Mutation analysis of the PHEX gene and genotype-phenotype correlation in 37 Japanese patients X-linked hypophosphatemic rickets. *ASBMR 2019 Annual Meeting*. Orland, FL, USA. 2019.09.20-23.
 - 2) Yamazaki M, Kawai M, Michigami T, Ozono K. Functional Control of Osteoblasts by Type III Sodium/Phosphate Cotransporters *ASBMR 2019 Annual Meeting*. Orland, FL, USA. 2019.09.20-23.
 - 3) Kubota T, Ohata Y, Ishihara Y, Fujiwara M, Takeyari S, Yamamoto K, Nakano Y, Miyata K, Nakayama H, Kitaoka T, Okawa R, Nakano K, Akiyama T, Ozono K. Biochemical and genetic analysis in patients with odontohypophosphatasia in Japan. *9th International Conference on Children's Bone Health*. SALZBURG, AUSTRIA 2019.06.22-25.
 - 4) 原田大輔, 柏木博子, 上山 薫, 折山 恭子, 武鑑真司, 大幡泰久, 石原康貴, 窪田拓生, 清野佳紀, 難波範行 :ALP157IU/L から診断した小児型低ホスファターゼ症の16歳男児例 第29回臨床内分泌代謝 Update 高知 19.11.29-30
 - 5) 中野由佳子, 武鑑真司, 北岡太一, 大

- 幡泰久, 山本賢一, 宮田 京, 中山尋文, 藤原 誠, 窪田拓生, 三善陽子, 大藪恵一: 酵素補充療法を導入した低ホスファターゼ症成人 2 症例の検討 第 29 回臨床内分泌代謝 Update 高知 19.11.29-30
- 6) 高谷里依子, 皆川真規, 窪田拓生, 井上大輔, 杉本利嗣, 福本誠二, 大藪恵一, 中村好一: 偽性副甲状腺機能低下症とその類縁疾患および副甲状腺機能低下症の全国アンケート調査(臨床プログラム推進委員会企画) 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 7) 向井昌史, 山本威久, 武鐘真司, 大幡泰久, 長谷川泰浩, 北岡太一, 窪田拓生, 山本勝輔, 道上敏美, 大藪恵一: ビタミン D 欠乏症あるいは不足による内反膝(O脚) の程度と関連する因子の検討(口演). 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 8) 高谷里依子, 皆川真規, 窪田拓生, 井上大輔, 杉本利嗣, 福本誠二, 大藪恵一, 中村好一: 偽性副甲状腺機能低下症とその類縁疾患および副甲状腺機能低下症の全国疫学調査(口演) 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 9) 山崎美和, 川井正信, 大藪恵一, 道上敏美: III 型ナトリウム/リン酸共輸送担体を介する骨芽細胞機能制御 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 10) 道上敏美, 立川加奈子, 山崎美和, 川井正信, 窪田拓生, 大藪恵一: 日本人における低ホスファターゼ症の特徴: 患者 98 名における変異アレル頻度および遺伝子型—表現型相関解析(口演) 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 11) 原田大輔, 柏木博子, 武鐘真司, 大幡泰久, 石原康貴, 窪田拓生, 清野佳紀, 難波敏行: 骨折治癒遅延を呈した低ホスファターゼ症小児型の男児例(口演) 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 12) 大幡泰久, 石原康貴, 窪田拓生, 武鐘真司, 北岡太一, 中山尋文, 中野由佳子, 山本賢一, 藤原 誠, 道上敏美, 難波範行, 大藪恵一: 日本人 XLH 患者 37 名の PHEX 遺伝子解析結果と表現型相関の検討(口演) 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 13) 窪田拓生, 大幡泰久, 石原康貴, 藤原誠, 武鐘真司, 山本賢一, 中野由佳子, 中山尋文, 北岡太一, 大藪恵一: 歯限局型低ホスファターゼ症の生化学的・遺伝学的検討(口演) 第 37 回日本骨代謝学会学術集会 神戸 19.10.10-12
- 14) 道上敏美, 大幡泰久, 藤原誠, 望月弘, 安達昌功, 北岡太一, 窪田拓生, 澤井英明, 難波範行, 長谷川高誠, 藤原幾磨, 大藪恵一: 低ホスファターゼ症診療ガイドラインの策定 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 15) 武鐘真司, 山本威久, 向井昌史, 長谷川泰浩, 大幡泰久, 北岡太一, 窪田拓生, 山本勝輔, 道上敏美, 大藪恵一: パス解析を用いたビタミン D 欠乏性くる病患児の内反膝(O脚) と関連する臨床検査値の検討 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 16) 藤原幾磨, 窪田拓生, 道上敏美, 渡邊

- 淳, 難波範行, 鬼頭浩史, 室月 淳, 杉山裕一朗, 仲野和彦, 横沢恭一, 藤井庄人, 長谷川航, 澤井英明, 大藪恵一: 低ホスファターゼ症に対する酵素補充療法の全例調査(特定使用成績調査) -中間解析データ- 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 17) 高谷里依子, 皆川真規, 窪田拓生, 井上大輔, 杉本利嗣, 福本誠二, 大藪恵一, 中村好一: 偽性副甲状腺機能低下症の臨床疫学像(全国疫学調査の結果から) 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 18) 窪田拓生, 難波範行, 室谷浩二, 田中弘之, 神田洋紀, 大藪恵一, 清野佳紀: 低リン血症性くる病(XLH)患者を対象とした burosumab の有効性及び安全性の検討(非盲検第 III 相臨床試験) 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 19) 窪田拓生, 藤原幾磨, 道上敏美, 渡邊淳, 難波範行, 鬼頭浩史, 室月 淳, 杉山裕一朗, 仲野和彦, 笹谷晴恵, 長谷川航, 別所友子, 澤井英明, 大藪恵一: 日本人低ホスファターゼ症患者 52 例のベースラインの検討 —ALP 酵素補充療法特定使用成績調査より— 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 20) 大幡泰久, 石原康貴, 窪田拓生, 武鐘真司, 北岡太一, 中山尋文, 中野由佳子, 山本賢一, 宮田 京, 山田知絵子, 藤原 誠, 山本勝輔, 道上敏美, 難波範行, 間部裕代, 山口健史, 松井克之, 玉田 泉, 山本晶子, 江藤潤也, 河口亜津彩, 大藪恵一: 日本人 XLH 患者 38 名の PHEX 遺伝子解析結果と表現型相関の検討 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 21) Nakano Y, Kitaoka K, Miyata K, Yamamoto K, Takeyari S, Nakayama H, Fujiwara M, Ohata Y, Kubota T, Ozono K: Clinical study on factors relevant to metabolic syndrome in obese children with Achondroplasia and Hypochondroplasia 第 53 回日本小児内分泌学会学術集会 京都 19.09.26-28
- 22) 向井昌史, 山本威久, 武鐘真司, 大幡泰久, 長谷川泰浩, 北岡太一, 窪田拓生, 山本勝輔, 溝口好美, 道上敏美, 大藪恵一: ビタミン D 欠乏性くる病による内反膝(0 脚)の程度と関連する因子の検討 第 92 回日本内分泌学会学術総会 仙台 19.05.09-16
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
特記事項なし