

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

ホルモン受容機構異常に関する調査研究

ビタミンD抵抗性くる病/骨軟化症のガイドライン作成、レジストリ構築

研究代表者 大菌 恵一 大阪大学 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二次調査で収集したデータをもとに intact PTH の PTH 不足性副甲状腺機能低下症と偽性副甲状腺機能低下症のカットオフ値を算出した。指定難病診断基準の妥当性検討の必要性が示唆された。ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症のアンケート調査では様々な筋骨格軟部組織等の症状・症候に関連性を有していることが明らかになった。上記疾患の情報を疾患レジストリに登録している。PHEX 遺伝子立体構造変化が 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、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。回答がなかった診療科に再度調査票を送付する。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。二項目の関連性は Fisher の正確確率検定を用いて検討した。PHEX 遺伝子解析対象患者は 28 家系日本人 39 名、男性 10 名、女性 29 名で年齢中央値 25 か月(6-720 か月)であった。臨床データ (n = 30~35) は、身長 SDS  $-2.17 \pm 0.99$ 、Pi (mg/dL)  $2.9 \pm 0.8$  (1 歳未満、n = 4)、 $2.7 \pm 0.5$  (1-10 歳、n = 25)、 $2.2 \pm 0.3$  (20 歳以上、n = 6)、ALP (U/L)  $1603 \pm 596$  (1 歳未満、n = 4)、 $2056 \pm 657$  (1-10 歳、n = 24)、 $247 \pm 143$  (20 歳以上、n = 6)、FGF23 (pg/mL)  $82.9 \pm 26.3$  (n = 30)、iPTH (pg/mL)  $73.2 \pm 35.7$  (n = 32)、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  (pg/mL)  $64.1 \pm 22.4$

(n = 30)、TmP/GFR (mg/dL)  $2.5 \pm 0.8$  (1歳未満、n = 4)、 $2.3 \pm 0.5$  (1-10歳、n = 23)、 $1.6 \pm 0.3$  (20歳以上、n = 5)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。クリニカルクエスチョン(CQ)を作成する。

対象疾患の遺伝学的解析を実施した。

(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。欠損値のない副甲状腺機能低下症194名と偽性副甲状腺機能低下症107名を対象とした。ROC曲線を作成し、intact PTHのPTH不足性副甲状腺機能低下症と偽性副甲状腺機能低下症のカットオフ値を算出し、それぞれ検討した。

副甲状腺機能低下症(HP)の内訳は特発性が141名、22q11.2欠失症候群が38名、カルシウム感知受容体(CaSR)異常症が9名HDR

(Hypoparathyroidism, Deafness, Renal dysplasia)症候群が5名、ミトコンドリア病が1名であった。PHPの内訳はPHP1Aが38名、PHP1Bが69名であった。HPとPHPにおいて、

男性がそれぞれ106名(55%)50名(46%)であった。同様に、診断時年齢はそれぞれ、 $32.3 \pm 23.1$ 歳(平均±SD)、 $16.8 \pm 14.5$ 歳であった。血清補正カルシウム値はそれぞれ、 $6.3 \pm 1.2$  mg/dL、 $6.1 \pm 1.1$  mg/dLであった。血清リン値はそれぞれ、 $6.2 \pm 1.8$  mg/dL、 $7.1 \pm 1.8$  mg/dLであった。血清intact PTH値はそれぞれ、 $15.8 \pm 18.0$  pg/mL、 $403.5 \pm 223.6$  pg/mLであった。発症時年齢はHPでは、10歳未満が最も多く、次いで10歳代と50歳代が多かった。PHPでは10歳未満が最も多く、年齢が上がるにつれて患者数は減少した。ROC曲線を作成し、intact PTHの副甲状腺機能低下症と偽性副甲状腺機能低下症のカットオフ値を算出した。乳幼児(0~6歳)では、HPの38名、PHPの17名において、PTHのカットオフ値を90~93とすると、感度と特異度がともに100%であった。小児(7~15歳)では、HPの26名、PHPの57名において、PTHのカットオフ値を43~137とすると、感度と特異度がともに100%であった。16歳以上では、HPの131名、PHPの33名において、PTHのカットオフ値を53~57とすると、感度と特異度がともに100%であった。HPの14症例において現在のカットオフ値であるPTH >30 pg/mLを認めた。6歳以下の7症例の中で、最もPTH値は22q11.2欠失症候群の90 pg/mLであった。7歳以上の7症例の中で、最もPTH値は特発性HPの53 pg/mLであった。HPの14症例において現在のカットオフ値であるPTH >30 pg/mLを認めた。

2021年度は副甲状腺機能低下症の3症例で遺伝学的検査を行い、1例(HDR症候群)でGATA3の病的バリエントを同定した。偽性副甲状腺機能低下症Ia型1例でGNAS病的バリエントを同定した。偽性副甲状腺機能低下症のメチル化異常解析実施のための整備を行った。

二次調査に回答があった211診療科に患者レジストリの同意に関する依頼を実施して156診療科から回答があり、その内149診療科から同意を得た(9診療科は症例なし)。回答のなかった52診療科に再度依頼を行い、21診療科から回答を取得し、その内17診療科から同意を得た。二次調査に回答のなかった170診療科に再度二次調査票(患者レジストリを含む)を送付し、31診療科から調査票を回収した。最終的に症例を有する188診療科からデータを取得し、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が所属する病院診療科(小児科、内科、内分泌代謝科、整形外科、リウマチ科、リハビリテーション科、関節外科)、医院の73診療科(65施設)に調査票を送付した。回答数が少なかったた

め、再送付を行った。30 診療科から回答を得た。14 診療科（小児科 6、内科 6、整形外科 2）が症例を有していた。16 診療科は症例を有さなかった。患者数は、ビタミン D 抵抗性くる病・骨軟化症が 128 名であった。128 名の内、選択基準を満たした 125 名を解析対象とした。125 例中、指定難病の definite と除外診断を満たした症例は 80 名

（64.0%）であった。家族歴は 125 名中 46 名に認められた。ビタミン D 抵抗性くる病／骨軟化症の遺伝学的検査が 62 名において実施され、PHEX 変異が 58 名（93.5%）において同定された。発症時年齢（中央値）は 2 歳であったが、ピークは 1 歳と 40 歳代と二峰性であった。調査時年齢（中央値）は 39 歳で、幅広い年齢に分布していた。症状・徴候として、下肢変形が 65 名（56.5%）、骨痛が 67 名（58.3%）、関節痛が 56 名（48.7%）、骨折が 37 名（32.2%）、変形性関節症が 35 名（30.4%）、脊柱靭帯骨化症が 21 名（18.3%）、腱付着部症が 20 名（17.4%）、腎石灰化が 20 名（17.4%）、筋力低下が 23 名（20.0%）、歯周炎が 14 名（12.2%）に認められた。以下の症状や徴候において関連性を認めた：下肢変形と腎石灰化、骨折既往と関節痛、骨痛と筋力低下、偽骨折と変形性関節症、関節痛と筋力低下、変形性関節症と脊柱靭帯骨化症、腱付着部症、腎石灰化、腎機能障害、歯周炎、高血圧、脊柱靭帯骨化症と腱付着部症、腎石灰化、歯周炎、難聴、高血圧、脊柱管狭窄症と腱付着部症、高血圧、腱付着部症と腎石灰化、歯周炎、高血圧、腎石灰化と腎機能障害、歯周炎、高血圧、腎機能障害と高血圧。データを患者レジストリに登録した。CQ を検討している。

PHEX 遺伝子解析では、28 家系 39 名で 23 種類の変異が同定され、そのうち 8 種類（8 名）は新規変異であった。サンガー法で変異が同定されなかった 2 症例において MLPA 法を行い large duplication と large deletion がそれぞれ同定された。既報変異は 15 種類（31 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する傾向が見られた。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 値はくる病重症度スコア、活性型ビタミン D 製剤投与量と有意な正相関を認めた一方で、これまで報告されていた女性の方が男性より症状が軽症となる gene dosage effect は見いだされなかった。また truncating 変異の方が non-truncating 変異より重症化するという報告があるが、本解析では有意な差は認めなかった。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、亜鉛結合部位や cavity が残存する変異では喪失する変異より有意に治療開始前血清 FGF23 値が高値であった。このような結果から PHEX 蛋白機能には基質結合性に関わると考えられる亜鉛結合部位や cavity

の保存が重要である可能性が考えられた（Ishihara Y, et al. Bone, 2021）。

2021 年度は 7 家系 8 症例の PHEX 遺伝子解析を行い、いずれの家系においても病的バリエーションを同定した。

#### 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。intact PTH の副甲状腺機能低下症と偽性副甲状腺機能低下症のカットオフ値は現在 30 pg/mL と定められているが、HP の 14 症例において 30 pg/mL 以上であった。乳幼児、小児期、青年期・成人期のカットオフ値を 90~93、43~137、53~57 とすると、感度と特異度がともに 100%であった。intact PTH のカットオフ値の修正を検討する必要があると考えられた。

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 125 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く、診断基準の妥当性を検討していく必要である。様々な筋骨格軟部組織等の症状・症候を有し、症状・徴候の関連性を認めた。臨床課題の解決のために、長期的なデータ蓄積が必要である。また、PHEX 遺伝子解析では、3 次元構造解析モデルより、亜鉛結合部位や cavity の立体構造変化が作用発現に寄与している可能性が示唆された。

#### E. 結論

intact PTH の副甲状腺機能低下症と偽性副甲状腺機能低下症のカットオフ値の修正を検討する必要があると考えられた。ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症の診断基準の妥当性検討の必要性が示唆され、症例情報の継続的蓄積が必要であると考えられた。PHEX 遺伝子立体構造変化が PHEX 蛋白機能障害に関与している可能性が示唆された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ito N, Kubota T, Kitanaka S, Fujiwara I, Adachi M, Takeuchi Y, Yamagami H, Kimura T, Shinoda T, Minagawa M, Okazaki R, Ozono K, Seino Y, Fukumoto S. Clinical performance of a novel chemiluminescent enzyme immunoassay for FGF23. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 39(6) : 1066-1075, 2021.

- 2) Briot K, Portale AA, Brandi ML, Carpenter TO, Cheong HI, Cohen-Solal M, Crowley RK, Eastell R, Imanishi Y, Ing S, Insogna K, Ito N, Jan de Beur SM, Javaid MK, Kamenicky P, Keen R, Kubota T, Lachmann RH, Perwad F, Pitukcheewanont P, Ralston SH, Takeuchi Y, Tanaka H, Weber TJ, Yoo HW, Nixon A, Nixon M, Sun W, Williams A, Imel EA. Burosumab treatment in adults with X-linked hypophosphataemia: 96-week patient-reported outcomes and ambulatory function from a randomised phase 3 trial and open-label extension. *RMD Open*, 7(3): e001714, 2021.
  - 3) Ishihara Y, Ohata Y, Takeyari S, Kitaoka T, Fujiwara M, Nakano Y, Yamamoto K, Yamada C, Yamamoto K, Michigami T, Mabe H, Yamaguchi T, Matsui K, Tamada I, Namba N, Yamamoto A, Etoh J, Kawaguchi A, Kosugi R, Ozono K, Kubota T. Genotype-phenotype analysis, and assessment of the importance of the zinc-binding site in PHEX in Japanese patients with X-linked hypophosphatemic rickets using 3D structure modeling. *Bone*, 153, 116135, 2021.
  - 4) Namba N, Kubota T, Muroya K, Tanaka H, Kanematsu M, Kojima M, Orihara S, Kanda H, Seino Y, Ozono K. Safety and Efficacy of Burosumab in Pediatric Patients With X-linked Hypophosphatemia: A Phase 3/4 Open-Label Trial. *Journal of the Endocrine Society*, 6(5), bvac021, 2022.
2. 学会発表
- 1) 窪田拓生. 小児骨疾患の疾患モデルと新規治療法の開発 (シンポジウム). 第 94 回 日本内分泌学会学術総会 : 21.04.22-24, Web 開催
  - 2) 窪田拓生. FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症の治療薬の進歩. 第 39 回 日本骨代謝学会学術集会 : 21.10.08-10, Web 開催
  - 3) 高谷由依子, 福本誠二, 皆川真規, 窪田拓生, 井上大輔, 大藪恵一. 副甲状腺機能低下症・偽性副甲状腺機能低下症の診断. 第 39 回 日本骨代謝学会学術集会 : 21.10.08-10, Web 開催
  - 4) 窪田拓生. ビタミン D 抵抗性くる病・骨軟化症のレジストリ. 第 39 回 日本骨代謝学会学術集会 : 21.10.08-10, Web 開催
  - 5) 窪田拓生. くる病診断と線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) 測定の意義. 第 31 回 臨床内分泌代謝 Update : 21.11.27-27, 大阪
  - 6) 大幡泰久. 副甲状腺機能低下症の診断と治療. 第 31 回 臨床内分泌代謝 Update : 21.11.27-27, 大阪
  - 7) 窪田拓生, 中山尋文, 高谷里依子, 皆川真規, 井上大輔, 竹内靖博, 福本誠二, 大藪恵一. 低リン酸血症性ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症の他施設研究と疾患レジストリ. 第 94 回 日本内分泌学会学術総会 : 21.04.22-24, (Web 開催)
  - 8) Ishihara Y, Ohata Y, Takeyari S, Kitaoka T, Fujiwara M, Nakano Y, Yamamoto K, Yamada C, Yamamoto K, Michigami T, Mabe H, Yamaguchi T, Matsui K, Tamada I, Namba N, Yamamoto A, Etoh J, Kawaguchi A, Kosugi R, Ozono K, Kubota T. Genotype-phenotype analysis, and assessment of the importance of the zinc-binding site in PHEX in Japanese patients with X-linked hypophosphatemic rickets using 3D structure modeling. 2021 Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research : 21.10.1-4, Web 開催
  - 9) 中山尋文, 窪田拓生, 石見壯史, 山田知絵子, 武鍵真司, 山本賢一, 中野由佳子, 藤原誠, 大幡泰久, 北岡太一, 大藪恵一. 全国アンケート調査による低リン血症性くる病・骨軟化症における臨床像の検討. 第 54 回 日本小児内分泌学会学術集会 : 21.10.28-3, Web 開催
  - 10) 山田知絵子, 窪田拓生, 藤原誠, 大幡泰久, 北岡太一, 香川尚己, 大藪恵一. 新規 PHEX 遺伝子病的バリエーションを同定した頭蓋縫合早期癒合症を呈した X 連鎖性低リン血症性くる病の 1 例. 第 22 回 日本内分泌学会近畿支部学術集会 : 21.11.13, 兵庫
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得  
該当なし
  2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他  
該当なし