

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)に送付し、その後、症例のある診療科に 2 次アンケート調査を行った。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 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 ± 0.99 、Pi (mg/dL) 2.9 ± 0.8 (1 歳未満、n = 4)、 2.7 ± 0.5 (1-10 歳、n = 25)、 2.2 ± 0.3 (20 歳以上、n = 6)、ALP (U/L) 1603 ± 596 (1 歳未満、n = 4)、 2056 ± 657 (1-10 歳、n = 24)、 247 ± 143 (20 歳以上、n = 6)、FGF23 (pg/mL) 82.9 ± 26.3 (n = 30)、iPTH (pg/mL) 73.2 ± 35.7 (n = 32)、1,25(OH)2D (pg/mL) 64.1 ± 22.4 (n = 30)、TmP/GFR (mg/dL) 2.5 ± 0.8 (1 歳未満、n = 4)、 2.3 ± 0.5 (1-10 歳、n = 23)、 1.6 ± 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。クリニカルクエスション(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。

二次調査で報告された症例のうち、診断時の年齢、血清補正カルシウム濃度、リン濃度、副甲状腺ホルモン(intact PTH)濃度の測定値がそろっている副甲状腺機能低下症 162 名と偽性副甲状腺機能低下症 103 名について結果を比較した。それぞれの中央値は、発症時年齢が 34.1 歳・15.3 歳、血清補正カルシウム濃度 6.3 mg/dl・6.5 mg/dl、血清補正リン濃度 6.1 mg/dl・6.8 mg/dl、intact PTH 濃度 14.3 pg/ml・379.1 pg/ml だった。intact PTH 濃度について、指定難病の診断基準では副甲状腺機能低下症 30pg/ml 未満、偽性副甲状腺機能低下症 30pg/ml 以上となっているが、副甲状腺機能低下症のうち 18 例(11%)は 30pg/ml 以上だった。一方、偽性副甲状腺機能低下症については全例 50 pg/ml 以上で基準を満たしていた。

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、調査時年齢 39 歳であった。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 の作成を開始した。

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。また細胞膜から蛋白自体の露出面に変化が予測される変異では活性型ビタミン D 製剤投与量が有意に高い結果であった。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の保存や、細胞外タンパクの角度のような他の蛋白と相互作用する部位の 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。遺伝学的な原因同定が重要と考えられた。二次調査の結果、指定難病の診断基準を満たさない症例も報告されており、症例の診療情報を蓄積し、診断基準の妥当性を検討する必要がある。
- 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かった。今後、診断基準の妥当性の検討が必要であると思われる。また、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、基質結合性やほかの蛋白と相互作用する部位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

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も、様々な筋骨格軟部組織等の症状・症候、それらの関連性が明らかになり、指定難病診断基準の妥当性検討の必要性が示唆された。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. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kubota T, Fukumoto S, Hae Il Cheong, Michigami T, Namba N, Ito N, Tokunaga S, Gibbs Y, Ozono K. Long-term outcomes for Asian patients with X-linked hypophosphataemia: rationale and design of the SUNFLOWER longitudinal, observational cohort study. *BMJ Open* 2020, 10 : e036367, 2020.

- 2) Koyama S, Kubota T, Naganuma J, Arisaka O, Ozono K, Yoshihara S. Incidence rate of vitamin D deficiency and FGF23 levels in 12- to 13-year-old adolescents in Japan. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, PMID: 33206223, 2020.
- 3) Ikeuchi M, Kiyota K, Itonaga T, Kawano-Matsuda F, Ohata Y, Fujiwara M, Kubota T, Ozono K, Ihara K. A case of HDR syndrome coexisting with tetralogy of Fallot, with a novel GATA3 mutation, which manifested as a renal abscess. *CEN Case Rep*. 2020 Nov 7. doi: 10.1007/s13730-020-00551-0. Online ahead of print. PMID: 33159669, 2020.
- 4) Yamamoto A, Nakamura T, Ohata Y, Kubota T, Ozono K. Phenotypes of a family with XLH with a novel PHEX mutation. *Hum Genome Var*. 2020 Mar 31;7:8. doi: 10.1038/s41439-020-0095-1. eCollection 2020. PMID: 32257293, 2020.
- 5) Saitou H, Nakatani D, Myoui A, Kubota T, Ozono K. Pediatric drug development in Japan: Current issues and perspectives. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2020;29(1):1-7. doi: 10.1297/cpe.29.1. Epub 2020 Jan 9. PMID: 32029968, 2020.
2. 学会発表
- 1) Takatani R, Minagawa M, Kubota T, Inoue D, Sugimoto T, Fukumoto S, Ozono K, Nakamura Y: (Pseudo)hypoparathyroidism in Japan. 17th Asia-Oceania Congress of Endocrinology and the 8th Seoul International Congress of Endocrinology and Metabolism. Virtual 2020.10.28-31.
- 2) 大藪恵一:小児における FGF23 関連低リン血症性くる病の診断とこれからの治療戦略 第 93 回 日本小児内分泌学会学術総会:20.07.01-08.31 (web 開催)
- 3) 窪田拓生:小児とビタミン D(クリニカルアワー) 第 93 回 日本小児内分泌学会学術総会:20.07.01-08.31 (web 開催)
- 4) 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:低リン血症性ビタミン D 抵抗性くる病/骨軟化症のアンケート調査と患者レジストリ 第 38 回 日本骨代謝学会 :2020,10,09-11(Web 開催)
- 5) 山本威久, 道上敏美, 武鍵真司, 中山尋文, 大幡泰久, 北岡太一, 窪田拓生, 大藪恵一:ビタミン D 欠乏性クル病における O 脚の程度と血中生化学的マーカーとの関連性 第 38 回 日本骨代謝学会 :2020,10,09-11(Web 開催)
- 6) 大藪恵一:FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症の診断と治療 第 31 回 日本小児整形外科学会学術集会 イブニングセミナー:2020.12.4-21,web 開催
- 7) 山田知絵子, 窪田拓生, 大幡泰久, 北岡太一, 大藪恵一:家族歴を有し遺伝子診断された X 連鎖性低リン血症性骨軟化症の 1 例 第 30 回 臨床内分泌代謝 Update:2020.11.13-14,(web 開催)
- 8) 大藪恵一:FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症の診断と治療 第 113 回日本小児科学会大分地方会共催セミナー :2021.3.7, WEB 配信
- G. 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