

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

## 2型コラーゲン異常症の遺伝子変異と症状に関する研究

研究分担者 澤井 英明 兵庫医科大学教授

研究分担者 大森 崇 神戸大学特命教授

### 研究要旨

先天性脊椎骨端異形成症は2型コラーゲン異常症（本疾患）に属する代表的な疾患で、一般臨床的には厳密に鑑別や分類が困難なため、2型コラーゲン異常症と記載している。2型コラーゲン異常症（以下、本疾患）は出生10万人に1-2例と世界的にも非常に稀な骨系統疾患であり、本邦でも1000-1500人程度と推定される。本症の発症機序は不明であり、原因遺伝子こそ共通であるが疾患ごとに症状は多彩で、同じ疾患でも周産期死亡を起こす重症例から小児期以降に診断される比較的軽症例まで重症度は幅広く、そのため適切な医療が受けられていない診断困難例が多数ある。遺伝子検査による診断も可能であるが、10疾患に細分化された2型コラーゲン遺伝子の変異の詳細はまだ解明されていない。そこで、本疾患（疑いも含む）の患者を集め遺伝子解析を行い、表現型・遺伝子変異から本症の診断に必要な疾患概念を確立していく研究を現在実施している。将来のiPS細胞を用いた治療薬の開発に有用な遺伝子変異と病態の関連を明らかにしている。

今年度は本疾患の表現型と遺伝子解析を実施しており、70例の患者検体から遺伝子診断を実施した。その結果2型コラーゲン遺伝子の病的バリエーションは40例に認められた。これらの患者では臨床的に先天性脊椎骨端異形成症を含む2型コラーゲン異常症と診断されているが、表現型と遺伝子変異の関連を調べた。2型コラーゲン異常症と診断されていても、必ずしも2型コラーゲン遺伝子の変異がみつからない患者もあり、厚生労働省の小児慢性特定疾病の診断基準では厳密に、先天性脊椎骨端異形成症を含む2型コラーゲン異常症が2型コラーゲン遺伝子変異を有する狭義の本疾患とは診断困難であると考え。本研究開発計画により見いだされた2型コラーゲン異常症治療薬を適応する際には遺伝子変異を確認する必要があると考える。

骨形成不全症や2型コラーゲン異常症の治療薬を開発するうえで重要な疾患レジストリの構築を進めている。AMEDの難病プラットフォームを用いて、今年度は骨系統疾患の共通部分を構築した。

## A. 研究目的

遺伝子検査による診断も可能であるが、10疾患に細分化された2型コラーゲン遺伝子の変異の詳細はまだ解明されていない。そこで、本疾患（疑いも含む）の患者を集め遺伝子解析を行い、表現型・遺伝子変異から本症の診断に必要な疾患概念を確立していく研究を現在実施している。将来のiPS細胞を用いた治療薬の開発に有用な遺伝子変異と病態の関連を明らかにしている。

## B. 研究方法

1) 本疾患は、2型コラーゲン遺伝子の突然変異で発症し、X線に共通した所見を認めるが多彩な臨床表現型を示す一連の疾患群である。上記に示すように非常に稀な疾患で診断困難例が多数あり、成人期の疾患の病態もはっきりしていない。本研究の目的は、表現型・遺伝子変異から本症の診断に必要な疾患概念を確立することで、本疾患をより簡便に確定的に診断することである。

- ・全国の大学病院、総合周産期センター、こども病院、小児整形外科に調査協力を依頼（1398施設中、556施設の回答あり）
  - ・本邦の患者数調査、国際分類による各疾患と表現型の調査
  - ・本疾患患者から希望者を募り、2型コラーゲン遺伝子の遺伝子解析を実施、変異の有無や内容を調査
  - ・患者会の協力も得て調査を希望される患者を募集
  - ・成人期まで生存している患者の病状を把握
- 2) 骨形成不全症と2型コラーゲン異常症

について、AMED難病プラットフォームを用いた疾患レジストリの構築を進めている。

3) 上記の1)と2)を合わせて、本研究開発で見いだされた治療薬候補を適切な患者に投与できるようにレジストリの整備を進める。

（倫理面への配慮）

兵庫医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て実施している。

## C. 研究結果

### 1) 2型コラーゲン異常症

- ・全国の患者数は261例（2018年度調査）
- ・これまでに、遺伝子解析を実施した症例は70例（前年と比較し23例増）

2) AMED難病プラットフォームを用いた軟骨無形成症と2型コラーゲン異常症を含む骨系統疾患の疾患レジストリを構築している。

## D. 考察

本疾患は2016年度に指定難病と小児慢性特定疾病に申請され、後者については認定されたが前者は認定されなかった。

その理由としては全国の数や疾病状況が把握できておらず、成人期の疾患病態も明確にされていないことが原因であった。

しかし、本調査で現在通院中の本疾患症例（疑いも含め）が、国内だけで200例以上も存在することが判明した。現時点では症例間での表現型や遺伝子変異に明らかな一貫性がみられていない症例が多いが、更

なる全国調査を行い、症例数を増やしていきたい。

すでに遺伝子解析を他施設で実施済の患者も調査対象とし、表現型の詳細を聴取する。

2型コラーゲン異常症と診断されているが、必ずしも2型コラーゲン遺伝子の変異がみつからない患者もあり、厚生労働省の小児慢性特定疾病の診断基準では厳密に、先天性脊椎骨端異形成症を含む2型コラーゲン異常症が2型コラーゲン遺伝子変異を有する狭義の本疾患とは診断困難であると考え。本研究開発計画により見いだされた2型コラーゲン異常症治療薬を適応する際には遺伝子変異を確認する必要があると考える。

疾患レジストリを通じて対象患者の遺伝子変異を含めたデータベース化を進めている。

#### E. 結論

非常に稀な疾患ではあるが本研究で本邦に200例以上の本疾患症例が存在することが判明した。

同じ診断名の症例であっても遺伝子変異の有無や内容は様々で、表現型も多様であったが、ごく一部の遺伝子変異は世界のデータベースの報告と一致しており、更なる症例数の解析をすすめ関連性を調査していくことで今後、本疾患の診断をより簡便で確定的なものにできるかもしれない。

70例の2型コラーゲン異常症関連疾患と診断されているが、40例にしか病的バリエーションが認めないということから、本疾患多の多様性が示されたと考える。

#### F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Adachi S, Tokuda N, Kobayashi Y, Tanaka H, Sawai H, Shibahara H, Takeshima Y, Shima M. Association between the serum insulin-like growth factor-1 concentration in the first trimester of pregnancy and postpartum depression. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2021 Jan 18;.

2. Suzumori N, Sekizawa A, Takeda E, Samura O, Sasaki A, Akaishi R, Wada S, Hamanoue H, Hirahara F, Sawai H, Nakamura H, Yamada T, Miura K, Masuzaki H, Nakayama S, Kamei Y, Namba A, Murotsuki J, Yamaguchi M, Tairaku S, Maeda K, Kaji T, Okamoto Y, Endo M, Ogawa M, Kasai Y, Ichizuka K, Yamada N, Ida A, Miharu N, Kawaguchi S, Hasuo Y, Okazaki T, Ichikawa M, Izumi S, Kuno N, Yotsumoto J, Nishiyama M, Shirato N, Hirose T, Sago H. Retrospective details of false-positive and false-negative results in non-invasive prenatal testing for fetal trisomies 21, 18 and 13. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2021 Jan;256:75-81.

3. Nagata M, Setoh K, Takahashi M, Higasa K, Kawaguchi T, Kawasaki H, Wada T, Watanabe A, Sawai H, Tabara Y, Yamada T, Matsuda F, Kosugi S.

Association of ALPL variants with serum alkaline phosphatase and bone traits in the general Japanese population: The Nagahama Study. *J Hum Genet.* 2020 Mar;65(3):337-343.

4. Yotsumoto J, Sekizawa A, Inoue S, Suzumori N, Samura O, Yamada T, Miura K, Masuzaki H, Sawai H, Murotsuki J, Hamanoue H, Kamei Y, Endo T, Fukushima A, Katagiri Y, Takeshita N, Ogawa M, Nishizawa H, Okamoto Y, Tairaku S, Kaji T, Maeda K, Matsubara K, Ogawa M, Osada H, Ohba T, Kawano Y, Sasaki A, Sago H. Qualitative investigation of the factors that generate ambivalent feelings in women who give birth after receiving negative results from non-invasive prenatal testing. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020 Feb 17;20(1):112.

5. Michigami T, Ohata Y, Fujiwara M, Mochizuki H, Adachi M, Kitaoka T, Kubota T, Sawai H, Namba N, Hasegawa K, Fujiwara I, Ozono K. Clinical Practice Guidelines for Hypophosphatasia. *Clin Pediatr Endocrinol.* 2020;29(1):9-24. doi: 10.1297/cpe.29.9. Epub 2020 Jan 9. PubMed PMID: 32029969; PubMed Central PMCID: PMC6958520.

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

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

## 新骨系統疾患国際分類 2019 の和訳作業に関する検討

研究分担者 芳賀 信彦 東京大学教授

### 研究要旨

2019 年版骨系統疾患国際分類の和訳に関する検討経過を報告した。和訳作業は前回に引き続き日本整形外科学会、日本産科婦人科学会、日本小児科学会のメンバーに放射線科医を加えたワーキンググループで行われた。その結果、従来の和訳からの変更、新規用語の検討などが適切に行われ、その成果として「2019 年版骨系統疾患国際分類の和訳」が日本整形外科学会誌に掲載された。

### A. 研究目的

骨系統疾患には数多くの疾患が含まれ、その表現型、病態は多様である。これら多くの疾患を整理する目的で、1969 年に世界各国の専門家が集まり命名法、分類に関する話し合いが行われ、公表された。以後新しい疾患が加わり、また病態が解明されるに従い数回の改定を重ね、2015 年の分類では疾患数は 436 に上った。2019 年に公表された最新の改訂版国際分類 (Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, et al: Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. Am J Med Genet A 2019) 42 グループ 461 疾患が収められ、うち 425 疾患 (92%) で 437 の遺伝子変異が判明している。2015 年版では 42 グループ

436 疾患、うち 385 疾患 (88%) で 364 の遺伝子変異が判明していたのと比較すると、疾患の整理により疾患数は減少し、遺伝子の解明が進んだことになる。2 つの疾患グループで名称の変更があり、Group 18 の名称を “Campomelic dysplasia and related disorders” から “Bent bone dysplasia group” に、Group 19 の名称を “Slender bone dysplasia group” から “Primordial dwarfism and slender bones group” に変更している。

一方、日本整形外科学会 (日整会) の骨系統疾患委員会 (2007 年より身障福祉・義肢装具等委員会と統合し小児整形外科委員会に改組) では 1983 年版の国際分類から和訳作業を続け、2010 年版国際分類の和訳作業に際しては日整会小児整形外科委員会の

もとに骨系統疾患国際分類和訳作業ワーキンググループ (WG) を立ち上げ、日本産科婦人科学会、日本小児科学会からもメンバーを推薦して頂き作業を行い、2019年版国際分類でも同様の作業を行った。

本研究の目的は、2019年版骨系統疾患国際分類の和訳作業について検討することである。

## B. 研究方法

日本整形外科学会小児整形外科委員会骨系統疾患国際分類和訳ワーキンググループの活動経過を振り返り、同グループの成果物である「2019年版骨系統疾患国際分類の和訳」の内容を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は患者の臨床情報を扱わない研究であり、倫理委員会への申請等は不要である。

## C. 研究結果

研究分担者の芳賀は今回、日本整形外科学会小児整形外科委員会骨系統疾患国際分類和訳ワーキンググループを離れていたが、同ワーキンググループの中心的立場である滝川一晴氏からメールで相談を受けることがあり、過去の和訳作業の経緯を伝えるなどのサポートを行った。

和訳に際してはワーキンググループの議論を経て、代表的なものとして以下のような方針が決められた。

1) グループ 18 の Campomelic dysplasia は、以前から「屈曲肢異形成症」と和訳されていたが、2015年の分類で「彎曲肢異形成症」と和訳されている。しかしグループ 18 の名称が「彎曲骨異形成症 (bent bone

dysplasia)」に戻り、グループ名とこの疾患名の区別もつきにくいため、疾患名を2010年版以前の表記の「屈曲肢異形成症」に戻した。

2) グループ 20 の B3GAT3 deficiency の noteにある“linkeropathy”は、池川志郎氏が命名の比較的新しい用語である。Multisystem linkeropathy の訳として、リンカー病の前に GAG もしくはプロテオグリカンという語がないと元の意味を表さないもので、直訳ではないが和訳を「多系統 GAG リンカー病」とした。

3) 日本医学会医学用語辞典の記載も参考に、グループ 27 の“lysosomal storage disease”の和訳を、従来の「リソソーム蓄積症」から「ライソゾーム病」に変更した。またグループ 19 およびグループ 8 注釈の“dwarfism”の和訳を、従来の「小人症」から「低身長症」に変更した。

4) 古代ギリシア語を語源とするグループ 15 の“Geleophysic dysplasia”は従来「幸福顔貌骨異形成症」と和訳されてきたが、実際には幼少時の死亡例が少なくとも5例報告されており、和訳病名と病状との乖離がある。従ってこの和訳病名は患者家族に外国語のままよりも不快感を与える可能性があるため、原文のカタカナ表記の「ゲレオフィジック骨異形成症」に変更した。また今回新たに加わったグループ 39 の“Sirenomelia”は、同じく古代ギリシア語が語源の用語で直訳は「人魚体 (奇形)」であるが、上記と同じ理由から「シレノメリア」とした。

以上の結果、成果物として「2019年版骨系統疾患国際分類の和訳」が日本整形外科学会誌に掲載された(94巻611-655ページ、

2020年)。

#### D. 考察

今回の骨系統疾患国際分類の和訳作業は、前回に引き続き日本整形外科学会、日本産科婦人科学会、日本小児科学会のメンバーに放射線科医を加えたワーキンググループで行われた。これにより、関連領域のコンセンサスを得た形で作業が行われた。中でも2010年版の和訳作業の際に古代ギリシア語が語源の“Thanatophoric dysplasia”の和訳を「致死性骨異形成症」から原文のカタカナ表記の「タナトフォリック骨異形成症」に変更したことを発端とし、古代ギリシア語を語源とする疾患名について今回も検討が行われ適切に修正されたことは特記すべきである。骨系統疾患に対する医療の現状と、患者・家族が病名から受ける印象を重視した取り組みは、今後も継続されるであろう。

#### E. 結論

2019年版骨系統疾患国際分類の和訳に関する検討経過を報告した。和訳作業は前回に引き続き日本整形外科学会、日本産科婦人科学会、日本小児科学会のメンバーに放射線科医を加えたワーキンググループで行われた。その結果、従来の和訳からの変更、新規用語の検討などが適切に行われ、その成果として「2019年版骨系統疾患国際分類の和訳」が日本整形外科学会誌に掲載された。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 芳賀信彦: 小児希少疾患のリハビリテーション診療 (教育講座). *Jpn J Rehabil Med* 57(4): 334-339, 2020.4
- 2) 芳賀信彦: 成人後を見据えた小児骨系統疾患の診療. *日整会誌* 94(4): 248-254, 2020.4
- 3) Matsushita M, Mishima K, Yamashita S, Haga N, Fujiwara S, Ozono K, Kubota T, Kitaoka T, Ishiguro N, Kitoh H: Impact of fracture characteristics and disease-specific complications on health-related quality of life in osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Metabol* 38(1): 109-116, 2020
- 4) Matsuoka M, Tsukamoto S, Orihara Y, Kawamura R, Kuratani M, Haga N, Ikebuchi K, Katagiri T\*: Design of primers for direct sequencing of nine coding exons in the human ACVR1 gene. *Bone* 138: 115469, 2020
- 5) Pignolo RJ, Cheung K, Kile S, Fitzpatrick MA, De Cunto C, Al Mukaddam M, Hsiao EC, Baujat G, Delai P, Eekhoff EMW, Di Rocco M, Grunwald Z, Haga N, Keen R, Levi B, Morhart R, Scott C, Sherman A, Zhang K, Kaplan FS: Self-reported baseline phenotypes from the International Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (FOP) Association Global Registry. *Bone* 134: 115274, 2020

## 2. 書籍

該当なし

該当なし

## 3. 学会発表

- 1) 芳賀信彦: 軟骨無形成症と骨形成不全症の患者さんが成人期に到達した際の現状と問題点を理解する、2020年日本小児内分泌学会特別学術集会、2020.10.1-31、Web開催
- 2) Pignolo RJ, Al Mukaddam M, Baujat G, Berglund SK, Cheung AM, De Cunto C, Delai P, Di Rocco M, Haga N, Hsiao EC, Kannu P, Keen R, Mancilla EE, Grogan DR, Marino R, Strahs A, Kaplan FS: Palovarotene (PVO) for fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP): Data from the phase III MOVE trial. ASBMR 2020, 2020.9.11-15, Virtual Event
- 3) Matsuoka M, Tsukamoto S, Orihara Y, Kawamura R, Kuratani M, Haga N, Ikebuchi K, Katagiri T: Design of primers for direct sequencing of nine coding exons in the human ACVR1 gene. ASBMR 2020, 2020.9.11-15, Virtual Event

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



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

大理石骨病に対する全国疫学調査

研究分担者 鬼頭 浩史 あいち小児保健医療総合センター室長

研究要旨

大理石骨病は全身性のびまん性骨硬化を特徴とする難病で、海外からの報告では 10 万出生当たり 0.4-0.5 人の罹患率といわれているが、本邦での罹患率に関する報告はない。我々は全国の大学附属病院をはじめとした 341 施設の小児科、整形外科、脳神経外科および耳鼻咽喉科にアンケートを郵送し (全 1364 診療科)、大理石骨病の罹患率や臨床症状、合併症の有無、重症度などを検討した。一次調査では、2017 年 4 月から 2018 年 3 月までの 1 年間に受診した患者数を調査し (回答率 82.4%)、50 名の大理石骨病患者を集積した。二次調査では 42 例の患者情報が集積され、本邦の罹患率はおよそ 10 万出生につき 0.6 と推計された。本症の臨床症状は多彩であったが、骨折歴を有するものが 52%あった。Modified Rankin Scale(mRS)による重症度評価では、Grade3 以上が 9 例 (21%) あり、それらでは脳神経外科的な合併症を有するものが多かった。

A. 研究目的

大理石骨病は全身性びまん性の骨硬化をきたす疾患であり、指定難病と小児慢性特定疾病に認定されている。海外からの報告では、罹患率は 10 万出生当たり 0.4-0.5 人とされているが、本邦における発生頻度のまとまった調査はない。また易骨折性や骨癒合不全、骨髄炎、脳神経圧迫など多彩な症状を呈するといわれているが、患者の臨床情報や長期予後の詳細な報告はない。本研究は大理石骨病に対して全国調査を実施

し、罹患率や治療介入の現状、臨床疫学像を検討し、本邦における本症の現状を明確にすることを目的とする。

B. 研究方法

<一次調査>

全国の大学附属病院(144 施設)、その他の病床数 500 床以上の病院(135 施設)、および小児医療関連施設(62 施設)、計 341 施設の小児科、整形外科、脳神経外科および耳鼻咽喉科 (全 1364 診療科) にアンケートを郵送し、調査を依頼した。調査対象期間は

2017年4月から2018年3月までの1年間とし、期間内に受診した大理石骨病患者の有無および患者数を調査した。

#### <二次調査>

一次調査で大理石骨病「有り」と回答した診療科に対して二次調査を実施し、該当患者の診断名、生年月、初診年月、身長・体重、家族歴、治療歴、臨床症状や合併症、血液・X線・遺伝子検査所見、骨折歴、骨髄炎治療歴および最近の生活状況（移動の程度、身の回りの管理、ふだんの生活、痛み/不快感、不安/ふさぎ込み）、modified Rankin Scale(mRS)による重症度評価について調査した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学医学部附属病院生命倫理委員会の承認を受けており、二次調査における調査票は本疾患群の実態把握のためだけに使用し、個人のプライバシーは厳守した。

### C. 研究結果

一次調査において281施設から回答があり（回答率は82.4%）、大理石骨病は50例集積された。二次調査では33施設36診療科より回答を得た。明らかな重複を除くと、大理石骨病は42例あり、それらの臨床情報を収集できた。男性23例、女性19例で平均年齢は26.0歳、家族歴を10例で認め、3組6例は同胞例であった。調査期間中の初診（新規発症）患者は5例であり、回答率と年間出生数を考慮すると罹患率はおおよそ10万出生につき0.6と推計された。

臨床症状としては、貧血が11例（26%）、脳神経症状が7例（17%）、顔貌異常が6

例（14%）、聴覚障害が3例（7%）報告された。-2.0SD以下の低身長は身長の記載があった38例中14例（37%）で認めた。骨折歴は22例（52%）86骨の報告があり、5例で偽関節治療が施行されていた。また、骨髄炎治療歴は2例2骨であった。

遺伝子検査は16例で実施されていた。遺伝子異常は12例で同定され、CLCN7が10例、LRP5が1例、NEMOが1例であった。3例は異常なし、1例は検査中であった。

生活状況は、移動や身の回りの管理などの普段の活動にはいくらか問題がある患者が多かった。痛みや不快感、不安やふさぎ込みを感じている患者は多くはなかった。mRSで表した重症度評価ではGrade0:13例、Grade1:11例、Grade2:7例、Grade3:5例、Grade4:1例、Grade5:3例、Grade6:0例であった。Grade3以上である9例中5例で脳神経学的合併症を有していた。また、Grade5の3例は高度貧血に対して臍帯血移植治療歴があった。調査時の年齢と重症度との関連はみられなかった。

### D. 考察

本研究ではアンケートを依頼した施設を全国の大学付属病院、病床数500床以上の大病院、および小児医療関連施設に限定したので、小規模病院や診療所などは含まれない。しかし、大理石骨病は発生が非常に稀であることから、ある程度専門性の高い施設でのみ診療が行われている。よって調査対象とした施設以外で診療されている患者は極めて少ないことが予想され、定期受診している本症患者の大多数が網羅できたと考えられる。

大理石骨病の罹患率は海外の報告では10

万出生につき 0.4–0.5 とされているが、本研究では 10 万出生につき 0.6 と推計され、おおむね一致した。本症の臨床像は主に発症時期によって早期発症で重症の新生児型／乳児型，中等症の中間型，軽症の遅発型（成人型）の 3 つに分類され、新生児型／乳児型および中間型は常染色体劣性遺伝，遅発型は常染色体優性遺伝とされる。今回の調査対象例においては、詳細な発症時期は不明と言わざるをえないが、重症度や治療介入の現状も症例によって様々であった。さらに、遺伝子変異が同定されていたのは 1/3 以下であり、本症の臨床像の分類にはさらなる研究が必要であると思われた。

大理石骨病では、破骨細胞の機能不全により骨のリモデリングが障害される。骨折を契機に診断されることが多く、有症状患者の多くは骨折治療歴を有していた。本症では骨折治癒が遅延し、5 例（12%）が長管骨の偽関節に対する治療介入を受けていた。骨折や偽関節に対する整形外科的な治療介入が患者の QOL を維持するために重要になると思われた。

頭蓋骨の骨肥厚は脳神経圧迫をきたし、神経の除圧を要することがある。脳神経学的合併症や高度貧血を合併している患者では mRS で Grade3 以上の重症度が特に高い傾向があった。これら重篤な合併症の発症頻度は高くはないが、患者の QOL に与える影響は大きい。

生活状況の調査では身体活動でいくらか問題がある患者が多かったが、精神面で問題を感じている患者は多くはなかった。しかしこれは本研究の弱点として、アンケートは患者立脚型の調査ではなく医師主導で評価しており、患者の精神面が正確に評価

できていない可能性がある。また、今回の調査対象歴において遺伝子異常が同定されているものが少なかったことも本研究の limitation である。

#### E. 結論

大理石骨病の全国調査を実施して臨床疫学像を検討した。大理石骨病の罹患率はおよそ 10 万人に 0.6 人と推計された。大理石骨病では骨折治療歴を有するものが多く、脳神経外科的合併症や高度貧血が重症化と関連している可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Mishima K, **Kitoh H**, Matsushita M, Nagata T, Nishida Y, Takahashi Y, Ishiguro N. Lower limb pain following allogeneic hematological stem cell transplantation in Japanese children. J Orthop Sci 25(4):682-687, 2020
2. Matsushita M, Mishima K, Yamashita S, Haga N, Fujiwara S, Ozono K, Kubota T, Kitaoka T, Ishiguro N, **Kitoh H**. Impact of fracture characteristics and disease-specific complications on health-related quality of life in osteogenesis imperfecta. J Bone Miner Metab 38(1):109-116, 2020
3. Kaneko H, **Kitoh H**, Mishima K, Matsushita M, Hattori T, Noritake K, Ishiguro N, Yoshihashi Y. Comparison of surgical and nonsurgical

- containment methods for patients with Legg-Calvé-Perthes disease of the onset ages between 6.0 and 8.0 years: Salter osteotomy versus non-weight-bearing hip flexion-abduction brace. *J Pediatr Orthop B* 29(6):542-549, 2020
4. Nagata T, Matsushita M, Mishima K, Kamiya Y, Kato K, Toyama M, Ogi T, Ishiguro N, **Kitoh H.** Severe achondroplasia due to *de novo* variants in the transmembrane domain of FGFR3 on the same allele: A case report. *Mol Genet Genomic Med* 8(3):e1148, 2020
  5. **Kitoh H.** Matsushita M, Mishima K, Nagata T, Kamiya Y, Ueda K, Kuwatsuka Y, Morikawa H, Nakai Y, Ishiguro N. Pharmacokinetics and safety after once and twice a day doses of meclizine hydrochloride administered to children with achondroplasia. *PLoS One* 15(4):e0229639, 2020
  6. Kaneko S, Matsushita M, Mishima K, Takegami Y, Imagama S, **Kitoh H.** Effect of periosteal reaction on longitudinal bone growth in a mouse model of achondroplasia. *Bone Reports* 13:100708, 2020
  7. **Kitoh H.** Clinical aspects and current therapeutic approaches for FOP. *Biomedicine* 8(9):325, 2020
  8. Mishima K, Mizuno S, Matsushita M, Nagata T, Kamiya Y, **Kitoh H.** Legg-Calve-Perthes disease in a patient with Bardet-Biedl syndrome -A case report of a novel *MKKS/BBS6* mutation. *Clin Case Rep* 00:1-6, 2020
  9. Kaneko H, **Kitoh H.** Iwata K, Mishima K, Matsushita M, Hattori T. Gradual reduction using overhead traction for developmental dysplasia of the hip after walking age: 30-year retrospective study. *Int J Pediatr Orthop* 6(2):12-17, 2020
  10. Sawamura K, Mishima K, Matsushita M, Kamiya Y, **Kitoh H.** Neglected unstable slipped capital femoral epiphysis: A case report. *Acta Scientific Orthopaedics* 3(12):87-90, 2020
2. 書籍
    1. **鬼頭浩史** 骨形成不全症 水口雅他 今日の小児治療指針 17 版 (医学書院) 東京 2020 794
  3. 学会発表
    1. **鬼頭浩史**. 骨系統疾患における成人期の問題. 第 93 回日本整形外科学会. 2020.5.21-24.
    2. **Kitoh H.** Treatment strategies for DDH and unstable SCFE. 17<sup>th</sup> live webinar of Paediatric Orthopaedic Society of India. 2020.5.24
    3. **鬼頭浩史**. 小児の歩容異常 (O 脚・X 脚・うちわ歩行). 第 82 回八事整形科会. 2020.6.10
    4. **鬼頭浩史**. 小児整形外科医が診断にかかわる遺伝性の骨系統疾患—ALP 低値の臨床的意義—. 第 31 回日本小児整

形外科学会. 2020.12.3-21

5. 鬼頭浩史. レントゲン所見が決め手  
となって診断し得た壊血病. 第2回東  
海地区骨系統疾患研究会. 2021.1.30
6. 鬼頭浩史、金子浩史、北村暁子、澤村  
健太、伊藤亮太. 小児専門病院におけ  
る創外固定の応用. 第34回日本創外固  
定・骨延長学会. 2021.3.27-28 (Web)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定  
を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

軟骨無形成症と骨形成不全症の適切な診断の実施と医療水準および  
QOLの向上をめざした研究

研究分担者 窪田 拓生 大阪大学講師、大菌 恵一 大阪大学教授

研究要旨

軟骨無形成症患者では肥満を認め、肥満群では血清インスリン値の上昇を認めた。体脂肪率と臀部周囲/身長比は強い正相関を認めた。骨形成不全症の診療ガイドラインの策定をMindsに準拠して行った。日本小児内分泌学会骨代謝委員会と連携し、16項目のクリニカルクエスチョン原案を作成し、参考文献を系統的に検索し、推奨案を策定した。軟骨無形成症患者、低ホスファターゼ症患者、骨形成不全症患者において遺伝学的解析を行った。今後、診療ガイドラインの策定、臨床データの蓄積と検討を進めていく必要がある。

A. 研究目的

小児の骨系統疾患（軟骨無形成症・骨形成不全症）の医療水準およびQOLの向上のために、軟骨無形成症（ACH）の合併症、骨形成不全症（OI）の診療ガイドライン策定、遺伝学的解析、疾患レジストリについて検討する。

B. 研究方法

当科フォロー中のACHの肥満やメタボリック症候群のパラメータについて検討した。対象は32名のACH患者。男児19名、女児13名。年齢は男児9.5歳（中央値、範囲：

1.9～18.5）、女児12.0歳（3.1～18.7）。検討項目：腹囲/身長比、臀部周囲/身長比、腹囲/臀部周囲比、BMI SDS、BMIパーセンタイル、血圧、dual-energy X-ray absorptiometry (DXA)による体脂肪率、血清ALT、空腹時血糖、インスリン値、HOMA-IR、HOMA-β、血清HDL-コレステロール、LDLコレステロール、中性脂肪。

OIに関しては日本小児内分泌学会骨代謝委員会（委員長：難波範行、委員：窪田など）と連携し、Mindsに準拠してOI診療ガイドラインを策定した。骨代謝委員会は各クリニカルクエスチョン（CQ）に対して系統的文献検索を行い、推奨を作成した。CQ

原案を作成し、系統的文献検索を行い、推奨案を策定した。

当科で、ACH の原因遺伝子である *FGFR3* と HPP の原因遺伝子である *ALPL* をサンガー法によって解析した。OI の遺伝学的解析は、全エクソームシーケンスによって実施した。

### (倫理面への配慮)

骨系統疾患に関する遺伝子診断に関しては、すでに倫理委員会で承認されており、説明と同意を取得した上で検査を行った。得られた遺伝情報と臨床情報については、個人情報管理者をおいて管理している。また、HPP の疾患レジストリ、ACH の肥満の検討についても倫理委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

当科の 32 名の ACH 患者の検討において、11 名 (34%) に肥満が認められたが、メタボリック症候群の診断基準を満たす症例を認めなかった。非肥満群に比べて、肥満群において体脂肪率、腹囲/身長比、臀部周囲/身長比、BMI SDS、BMI パーセントイル、腹囲/身長比、血清インスリン値、HOMA-IR の上昇を認めた。腹囲/身長比、臀部周囲/身長比、BMI SDS が DXA による体脂肪率と有意な正相関を認めた。この中で、臀部周囲/身長比の相関性が最もよく ( $r = 0.84$ )、ROC 解析では、カットオフ値を 0.68 とした場合 AUC (area under the curve) は 0.84 であった。

OI の診断ガイドラインは日本小児内分泌学会骨代謝委員会と連携して、以下の 16 項目の CQ 原案を作成した。参考文献を系統的に検索し、推奨案を策定した (今後、

変更する可能性がある)。一部の推奨案は下記の通りである。

### 1. 骨形成不全症はどのように病型分類すべきか

骨形成不全症(OI)の分類				
型	表現型	遺伝形式	原因遺伝子	付記
1型	骨変形を認めない軽症OI (non-deforming with persistently blue)	AD	<i>COL1A1 COL1A2</i>	青色強膜を伴う
2型	周産期致死型OI (perinatal lethal form)	AD, AR	<i>COL1A1 COL1A2 CRTAP LEPRE1 PPIB</i>	
3型	進行性骨変形を認める重症OI (progressively deforming type)	AD, AR	<i>COL1A1 COL1A2 CRTAP LEPRE1 PPIB SERPINF1 BMP1 FKBP10 IFITM5 SERPINF1 SPARC WNT1 TMEM38B CREB3L1 TENT5A</i>	
4型	軽度骨変形を認める中等症OI (moderate form)	AD, AR	<i>COL1A1 COL1A2 CRTAP PPIB FKBP10 SERPINF1 WNT1 SP7</i>	青色強膜を通常認めない
5型	骨間膜の骨化や仮骨過形成を認めるOI (calcification of the interosseous membranes and/or hypertrophic callus)	AD	<i>IFITM5</i>	

### 2. 骨形成不全症の遺伝子診断はどのように進めるべきか

【推奨文】: 骨形成不全症(OI)の遺伝子診断は、2020年4月より保険収載がされている(8000点)。かずさ DNA 研究所にて次世代シーケンサー(NGS)を用いた gene panel による遺伝子検査を行っているため、臨床的に OI が疑われる患者においては遺伝子検査を進めるべきである(推奨 2、エビデンスレベル B)。保険収載されている検査対象遺伝子は、*BMP1*、*COL1A1*、*COL1A2*、*CRTAP*、*FKBP10*、*IFITM5*(5'UTR の 20 塩基を含む)、*P3H1*(*LEPRE1*)、*PPIB*、*SERPINF1* である。診断の補助として参考のために、*SERPINF1*、*SP7*、*TMEM38B*、*WNT1*、*CREB3L1*、*SPARC*、*TENT5A*(*FAM46A*)、*MBTPS2*、*MESD* の解析も可能である。注意すべき点として、①大規模欠失・挿入等のコピー数変化や大規模なゲノム構造変化、数百 bp 単位の欠失や重複は検出されにくいこと、②*PLOD2*、*LRP5*、*ALPL*、*PLS3*、*LRP6*、*SEC24D*

については別途自費となること、③OIにおける遺伝子バリエーションの浸透率は100%ではない場合があること、などが挙げられる。得られたバリエーションについては、HGMDやClinVarなどの病的データベースを用いて既に病原性が確認されているかどうかを確認し、病原性の不明なバリエーションについてはCADDスコアなどを用いてその病原性を推測する(推奨1、エビデンスレベルB)。

3. 骨形成不全症の骨症状、骨外症状は何か

【推奨文】: 骨形成不全症では、骨症状の骨折、骨変形、胸郭変形、頭蓋底の異常に加えて、骨外症状として、成長障害、歯牙(象牙質)形成不全、青色強膜、難聴、側弯、後弯、関節過伸展、関節症、心疾患、呼吸機能低下、口腔の異常、移動の障害、疼痛、QOLの低下、筋量低下などが見られる。症状の頻度や程度は、年齢や重症度によって異なる。V型は他の病型と異なる症状を認める。(推奨の強さ: 1、エビデンスレベル: B) 出血・打撲傷、睡眠障害、角膜菲薄化、消化管疾患、脳血管疾患が見られるかもしれない。(推奨の強さ: 2、エビデンスレベル: C)

4. 骨形成不全症の治療前評価として推奨される項目は何か

【推奨文】: 骨形成不全症の内科的治療開始前に、骨折頻度、骨レントゲン所見、骨密度、身長、胸郭変形、呼吸状態、歯科、血清カルシウム値、血清副甲状腺ホルモン濃度、腎機能、骨代謝マーカーを評価することを推奨する。(推奨の強

さ: 1、エビデンスレベル: B) さらに、25水酸化ビタミンD濃度、疼痛、身体機能、運動発達、移動手段、握力、自己セルフケア、健康関連QOLなどを評価することも推奨する。(推奨の強さ: 1、エビデンスレベル: C)

5. ビスホスホネート系薬剤による治療の適応の基準は何か

【推奨文】: 重症の骨形成不全症(タイプ3など)、骨脆弱性を示唆する骨折歴(椎体圧迫骨折や、複数回の長管骨骨折)がある児は、ビスホスホネート系薬剤による治療の検討を進める。(推奨グレード1、エビデンスレベルC)

6. 推奨されるビスホスホネート系薬剤による治療プロトコールは何か

【推奨文】: ビスホスホネート系薬剤による治療は、骨形成不全症(Osteogenesis imperfecta; OI)における標準療法である。我が国では、パミドロネート(pamidronate)のみがOIに対する治療において保険適応となっており、OIの治療にはパミドロネートの定期静注投与が推奨される。(推奨グレード1、エビデンスレベルC)

7. ビスホスホネート系薬剤による治療の効果判定に推奨される方法は何か

8. ビスホスホネート系薬剤以外の内科的治療は何が推奨されるか

9. 整形外科的治療はどのような時に考慮されるべきか

10. ビスホスホネート系薬剤による治療の副作用・副反応は何か

【推奨文】: 悪寒や発熱といったインフルエンザ様症状が出現する頻度が高い。血清カルシウム値が低下することがあ



るので、慎重なモニタリングを推奨する。(推奨グレード1、エビデンスレベルC)

11. ビスホスホネート系薬剤による治療中にモニターすべき項目は何か

【推奨文】：骨形成不全症(Osteogenesis imperfecta; OI)に対するビスホスホネート系薬剤による治療中には、有効性と安全性をモニターする必要がある。生化学検査、骨密度(BMD)、骨レントゲン検査、側弯、成長の評価、痛みや運動機能の評価、生活の質(QOL)の評価などを定期的に行うことを推奨する。(推奨グレード1、エビデンスレベルC)

12. ビスホスホネート系薬剤による治療の副作用・副反応の対応には何が推奨されるか

13. 骨折時、整形外科手術時はビスホスホネート系薬剤を休薬すべきか

【推奨文】：骨切り術後は4ヶ月以上のビスホスホネート系薬剤の休薬期間をとることを提案する。(推奨グレード2、エビデンスレベルC)

14. 歯科処置時はビスホスホネート系薬剤を休薬すべきか

【推奨文】：侵襲的な歯科処置前2ヶ月間、処置後3ヶ月間のビスホスホネート系薬剤の休薬を提案する。(推奨グレード2、エビデンスレベルD)

15. ビスホスホネート系薬剤はいつまで投与すべきか、また投与量の調整は必要か

【推奨文】：なし(エビデンスレベルD)

16. 成人診療科へのトランジション、成人後のフォローアップはどうすべきか

【推奨文】：成人期医療への移行の際には個々の状況に応じた移行を検討することを提案する。(推奨グレード2、エビデンスレベルD)

遺伝学的解析結果として、*FGFR3* 遺伝子解析では変異同定3例、変異未同定2例、*ALPL* 遺伝子解析では変異同定8例、OIの遺伝子解析では *COL1A1* 遺伝子変異同定2例、*COL1A2* 遺伝子変異同定2例であった。

医療者、患者向けにホームページを作成し、骨形成不全症、軟骨無形成症、低ホスファターゼ症に関する解説を掲載した (<http://bonemineralped.jp/disease/ex04.html>、<http://bonemineralped.jp/disease/ex04.html>、<http://bonemineralped.jp/disease/ex04.html>)。

#### D. 考察

ACHでは四肢短縮型低身長を認め、ACHにおける身体計測の肥満の基準は明らかではない。本研究では、臀部周囲/身長比はDXAによる体脂肪率との強い相関性が認められ、肥満のよい指標になる可能性がある。肥満群ではACHにおいてもインスリン抵抗性を認めることが示唆されたため、血清インスリン値や血糖をモニタリングするとともに適切な体重管理が重要であると考えられた。OIの診療ガイドラインについては、CQの原案と推奨案を策定した。今後、学会と連携しながら、OI診療ガイドラインの公開を目指す。診療ガイドラインが作成されることによって、診断・治療・合

併症管理・QOLの向上が期待される。遺伝学的解析は確定診断に繋がり、骨系統疾患の適切な診断の実施のために必要である。

#### E. 結論

ACH患者では肥満を認め、肥満群では血清インスリン値の上昇を認めた。OI診療ガイドラインのCQ原案と推奨案を設定した。

#### F. 健康危険情報

とくにありません

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(発表者氏名、論文タイトル名、発表誌名、巻号、ページ、出版年等)

Savarirayan R, Tofts L, Irving M, Wilcox W, Bacino CA, Hoover-Fong J, Ullot Font R, Harmatz P, Rutsch F, Bober MB, Polgreen LE, Ginebreda I, Mohnike K, Charrow J, Hoernschmeyer D, Ozono K, Alanay Y, Arundel P, Kagami S, Yasui N, White KK, Saal HM, Leiva-Gea A, Luna-González F, Mochizuki H, Basel D, Porco DM, Jayaram K, Fischeleva E, Huntsman-Labed A, Day J. Once-daily, subcutaneous vosoritide therapy in children with achondroplasia: a randomised, double-blind, phase 3, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*, 396(10252) : 684-692, 2020.

Matsuda N, Takasawa K, Ohata Y, Takishima S, Kubota T, Ishihara Y, Fujiwara M, Ogawa E, Morio T, Kashimada K, Ozono K. Potential pathological role of single

nucleotide polymorphism (c.787T>C) in alkaline phosphatase (ALPL) for the phenotypes of hypophosphatasia. *Endocr J*, 67(12) : 1227-1232, 2020.

Takeyari S, Kubota T, Ohata Y, Fujiwara M, Kitaoka T, Taga Y, Mizuno K, Ozono K. 4-phenylbutyric acid enhances the mineralization of osteogenesis imperfecta iPSC-derived osteoblasts. *J Biol Chem*, 296:100027, 2020.

Fujisawa Y, Kitaoka T, Ono H, Nakashima S, Ozono K, Ogata T. Case Report: Efficacy of Reduced Doses of Asfotase Alfa Replacement Therapy in an Infant with Hypophosphatasia Who Lacked Severe Clinical Symptoms. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020.

##### 2. 書籍

窪田拓生, 大藪恵一. Wnt シグナル・スクレロチンと骨系統疾患. 松本俊夫 編, 抗スクレロチン抗体編, メディカルレビュー社, p. 70-80, 2020.

##### 3. 学会発表

Ravi S, Louise T, Melita I, William W, Carlos B, Julie Hoover-F, Rosendo Ullot Ft, Paul H, Frank R, Michael B, Lynda P, Ignacio G, Klaus M, Joel C, Daniel H, Ozono K, Yasemin A, Paul A, Kagami S, Yasui N, Klane W, Howard S, Antonio L-G, Felipe L-G, Mochizuki H, Donald B, Dania P, Kala J, Elena F, Alice H-L, Jonathan D. A Randomized Controlled Trial of

Vosoritide in Children with Achondroplasia. ASBMR 2020 Annual Meeting : 2020, 09, 11-15, (web 開催)

Kathryn M. D, Priya K, Anna P, Wolfgang H, Agnès L, Gabriel Á M-M, Ozono K, Shona F, Cheryl R-G, Lothar S. Real-World Clinical Profiles of Adults With Hypophosphatasia (HPP) From the Global HPP Registry. ASBMR 2020 Annual Meeting : 2020, 09, 11-15, (web 開催)

Kubota T, Ohata Y, Ishihara Y, Fujiwara M, Takeyari S, Yamamoto K, Nakano Y, Kitaoka T, Nakayama H, Yamada C, Ishimi T, Okawa R, Nakano K, Akiyama T, Kakimoto H, Araki S, Sano S, Ogata T, Ozono K. Clinical, Biochemical and Genetic Study in Patients with Odontohypophosphatasia in Japan. ASBMR 2020 Annual Meeting : 2020, 09, 11-15, (web 開催)

Takeyari S, Ohata Y, Fujiwara M, Kitaoka T, Kubota T, Taga Y, Mizuno K, Ozono K. 4-phenylbutyric acid likely improves the quality of extracellular matrix and promotes mineralization in patients with osteogenesis imperfecta-derived cells. ICCBH VIRTUAL FORUM 2020 Bone Fragility Disorders in Children : 2020. 11. 18-20,

窪田拓生. 骨系統疾患の診療<小児科の立場から> (シンポジウム). 第6回 日本産科婦人科遺伝診療学会 : 2020. 12. 09, (web 開催)

中山尋文, 山田知絵子, 宮田 京, 中野由佳子, 山本賢一, 武鍵真司, 大幡泰久, 藤原誠北岡太一, 窪田拓生, 大藪恵一. パミドロン酸からゾレドロン酸に投与変更した小児骨疾患の検討. 第93回 日本内分泌学会学術総会 : 2020. 07. 20-08. 31, (web 開催)

藤原誠, 北岡太一, 石見壮史, 山田知絵子, 武鍵真司, 山本賢一, 中野由佳子, 中山尋文, 大幡泰久, 窪田拓生, 大藪恵一. 小児骨形成不全症における血清スクレロスチン値の関連因子の解析. 臨床内分泌代謝 UPDATE2020 : 2020. 11. 13-14, (Web 開催)

北岡太一, 藤原 誠, 山田知絵子, 大幡泰久, 蛭名耕介, 窪田拓生, 大藪恵一. 小児骨形成不全症患者における海綿骨スコア (TBS) および骨代謝関連因子の解析. 第22回 日本骨粗鬆症学会 : 2020. 10. 09-10. 11, (Web 開催)

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

なし

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

## 日本人における骨系統疾患関連遺伝子バリエーション解析による

### 保因者頻度の推定

研究分担者 室月 淳 東北大学客員教授

#### 研究要旨

日本人の大規模な一般集団の全ゲノムレファレンスパネルである 3.5KJPNv2 を用いて、30 の骨系統疾患関連遺伝子バリエーションを調査し、骨系統疾患のなかのいくつかの代表的疾患の保因者頻度の推定をおこなった。今回はとくに骨形成不全症 *osteogenesis imperfecta* についてくわしく解析し、日本人に特徴的な遺伝子についてあきらかにできた。

#### A. 研究目的

骨系統疾患のなかで常染色体劣性遺伝をとる遺伝子に焦点をあて、日本人の大規模なゲノム情報を用いて骨系統疾患関連遺伝子のバリエーション頻度を調査し、保因者頻度および遺伝的要因を有する潜在的な発症者の割合を推定する。

#### B. 研究方法

東北メディカルメガバンク機構によって構築された 3,552 人の一般集団の全ゲノム参照パネルである 3.5KJPNv2 を用いて調査研究をおこなった。対象となる骨系統疾患関連遺伝子は国内のいくつかの統計をもとに、頻度の高い上位 100 疾患のうち常染色

体劣性遺伝形式の 30 疾患に関連する 73 の原因遺伝子を対象とした。3.5KJPNv2 のデータから複数の方法を用いて注釈づけられた 73 遺伝子のバリエーションを同定して抽出した。得られたバリエーションを InterVar を用いて pathogenic から benign まで 5 段階に分類し、さらにアレル頻度 (3%未満)、ClinVar, HGMD によって病的意義の確からしさの順に 4 つのカテゴリ (set1~set4) に分類した。保因者頻度および潜在的発症者の割合の推定は、アレル頻度の合計から Hardy-Weinberg 平衡に基づいて算出した。

(倫理面への配慮)

東北メディカルメガバンク機構によって構築された 3,552 人の一般集団の全ゲノム

参照パネルである 3.5KJPNv2 は、すべての参加者から研究参加の同意書を取得し、「ヘルシンキ宣言 (1964) : ヒトを対象とする医学研究の倫理原則」に基づき、東北大学東北メディカル・メガバンク機構の倫理委員会の承認を受けたうえで実施された (倫理申請承認番号 2018-038)。

### C. 研究結果

3.5KJPNv2 のデータから常染色体劣性遺伝形式の 73 遺伝子のバリエントを抽出すると、82,817 のバリエントが認められた。これらのバリエントを複数の方法のバリエント解釈に基づき病的意義の確からしさの順に 4 つに分類すると、set1 に 13, set2 に 152, set3 に 166, set4 に 198 の病的バリエントが分類された。73 遺伝子のうち 52 遺伝子にバリエントが検出されたが、残りの 21 遺伝子には検出されなかった。Osteogenesis imperfecta では 7 遺伝子に 24 の病的バリエントが抽出された。アレル頻度から推定される保因者頻度は 0.04564 で、潜在的な発症者の割合は 1/3,074 と推定された。

### D. 考察

Osteogenesis imperfecta は日本、欧米ともに罹患率が高く、報告数も多く、複数の遺伝子が報告されていて、多様な表現型を示す遺伝子疾患である。85-90%は結合組織の主要成分である 1 型コラーゲン遺伝子の突然変異に起因する常染色体優性遺伝であるが、近年は 1 型コラーゲン以外に新しい遺伝子がつぎつぎと発見されるようになった。BMP1, LEPRE1, CRTAP, PPIB, SERPINH1 などさまざまな遺伝子が報告され

ている。これらはすべて常染色体劣性遺伝形式をとるが、ひとつひとつがきわめてまれであるため、保因者頻度や発症頻度はまったく知られていなかった。そのために今回の結果はおおきな意義があるだろう。

### E. 結論

日本人の大規模な一般集団の全ゲノムレファレンスパネルである 3.5KJPNv2 を用いて、30 の骨系統疾患関連遺伝子バリエントを調査し、独自のバリエント解釈により病的意義を評価することで、一般集団における保因者頻度と潜在的な発症者の割合を推定することに取りくんだ最初の研究である。Osteogenesis imperfecta についてくわしく解析したが、今後はほかの疾患にたいしても調べていきたい。一般集団における osteogenesis imperfecta の疫学的理解を深めると同時に、周産期医療においてもバリエント情報を活用した個別化医療にたいしても有用な情報を提供していく

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

(1) Nagaoka S, Yamaguchi-Kabata Y, Murotsuki J, et al: Estimation of the carrier frequencies and proportions of potential patients by detecting causative gene variants associated with autosomal recessive bone dysplasia using a whole-genome reference panel of Japanese individuals. Hum Genome Var. 2021 Jan 15;8(1):2. doi:

10.1038/s41439-020-00133-7

## 2. 書籍

(1) 室月淳：出生前診断と選択的中絶のケア。メディカ出版，東京，2021

## 3. 学会発表

(1) 室月淳：イントロダクションー骨系統疾患。第6回日本産科婦人科遺伝診療学会。2020年12月9-10日，東京

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

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

放射線科学の立場から X 線、CT 等の放射線医学検査による診断支援、  
診断基準の作成、日本医学放射線学会等との調整

研究分担者 宮寄 治 国立成育医療研究センター部長

研究要旨

胎児 CT 推奨プロトコルで自作ファントムを用いた実測を行った。その結果、胎児 CT 検査における胎児被ばく線量の推定を、コンピュータによる仮想的なものではなく計測結果から撮影時のコンソール上の  $CTDI_{vol}$  の値が計測値とほぼ同等であることが判明した。また推奨線量での画質の担保も確定できた

A. 研究目的

本研究班の研究結果である 2015 年での 2 度目の調査結果 (AJR 208:862- 867; 2017 に論文発表) からその集計における中央値 (3mGy) を胎児 CT 被ばく線量の推奨値 (achievable dose 以下 AD) と結論づけた (Fig. 1)。その値を作成中の本邦の胎児 CT ガイドラインの推奨とした場合、その時の胎児被ばく線量が如何ほどかを知る必要がある。

B. 研究方法

胎児と母体を模し作成した疑似ファントムを用い X 線被ばく線量を実測した (Fig 2)。撮影時の AD は  $CTDI_{vol}$ :3mGy、管電圧は 80、

100、120kV で行った。実測には Black Piranha などの高性能な計器を用いた。またファントム内に仮想骨格を充填し内部の吸収値を計測し指摘線量を評価した。

Measurement	$CTDI_{vol}$ (mGy) <sup>a</sup>	
	2011	2015
Maximum	23.1	27.5
75th percentile	11.3	4.9
Median	7.7	3.2
25th percentile	3.7	2.4
Minimum	2.1	0.5

Fig. 1 2015 年での研究調査に基づく診断参考レベル

## Custom-made phantom corresponds to the pregnant woman

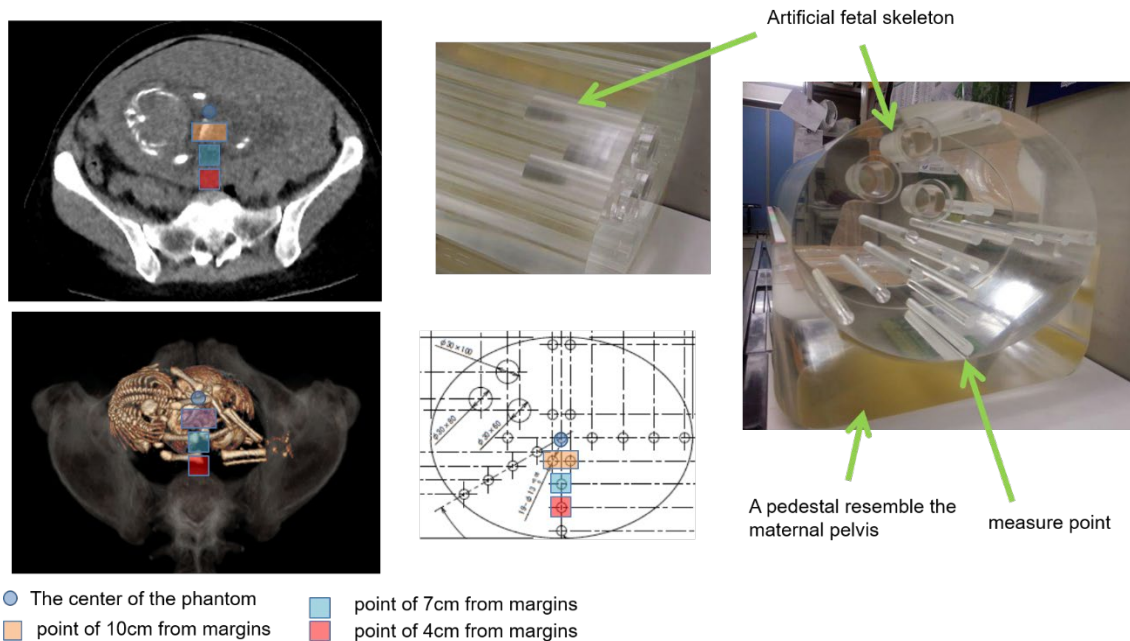


Fig. 2 自作アクリルファントムと計測点の図示。これらが実際のCT画像に投影した際のイメージ図を示す。

計測方法は妊婦・胎児を模したアクリル製ファントムの内部に被ばく線量のためのペンシルチェンバーを設置して被ばく線量を計測した (Fig. 2)。複数(4 台; 兵庫医大、国立成育医療研究センター、北海道大学(2 台))の CT を用いて実測値を求め傾向を検索した (Fig. 2)。

### 1) 撮影時CTDIvolとファントムの吸収線量測定値との比率

CTDIvolを0.5~5mGyの6段階に変化させ撮影し収集した被ばく線量データを計測ポイント毎、CTDIvol毎にまとめ平均を求めた。また、計測された線量データを、それに対応する撮影時のCTDIvolで除した比をCTDIvolとの増減(パーセント)としてとら

え、計測部位ごとにまとめた。またこのパーセントのデータより線形近似方程式を導き撮影線量と計測線量が等しく(100%)となる深さを求めた。またachievable dose (CTDIvol; 3mGy)における3つの管電圧(120, 100, 80 kV)、4つの計測ポイントでのすべての計測で得た値をBoxpotで表示を試みた。2) 異なる管電圧と被ばく線量の関係 120kV、100kV、80kVの3つの異なる管電圧に対する4つの異なるCTスキャナーの被ばく線量の傾向を検討した。またこれらのデータを管電圧ごとにひとつにまとめ、それぞれの管電圧での被ばく線量の統計学的な有意差検定を行った。検定はMicrosoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA)を使い、対応のあるstudent-t検定を行った。

### 3) 画質の評価

Soft modeの関数を用いたmaximum intensity projection (MIP)再構成画像で、濃度の異なる3つの模擬骨格、3つの管電圧



設定での画質の視認性を確認した。CTDIvolを7段階 (20, 15, 8, 6, 4, 3, 2mGy) に設定し、線量低下に伴う高吸収物質の視認性低下をALARA(as low as reasonably achievable)の観点から評価しCTDIvolの下限を求めた。また3つの管電圧での擬似骨格 (700HU : 5.37mol/L) 内部のCT値を計測し、画質と同様に、対象となった三角錐のCT値がCTDIvolの8段階 (20, 15, 10, 8, 6, 4, 3, 2mGy) でどのように変化し、またどこまでが維持可能であるかの下限について検討した。

(倫理面への配慮)

研究者の施設の倫理委員会による審査を受け IRB を取得した

### C. 研究結果

#### 1) 撮影時のCTDIvolとファントムの吸収線量測定値との比率

4台のCTにおける体表から中心へ向けた深度の異なる4つの計測点(4cm, 7cm, 10cm, 中心)につき、3つの異なる管電圧 (120 kV, 100kV, 80kV) における被ばく線量を計測した。その計測結果を Table 1 に示す

	120kV												80kV																																																															
	CTDI vol				center				10cm				7cm				CTDI vol				center				10cm				7cm				4cm																																											
Definition AS University Hospital A	5	5.61	5.93	6.35	7.62	5	5.21	5.59	6.43	7.38	5	4.77	5.14	6.15	7.20	5	4.51	4.75	5.42	6.12	4	4.17	4.44	5.14	5.86	4	3.80	4.10	4.88	5.75	3	3.38	3.55	4.07	4.57	3	3.13	3.32	3.86	4.44	3	2.85	3.07	3.66	4.33	2	2.24	2.36	2.69	3.02	2	2.08	2.22	2.58	2.95	2	1.96	2.11	2.51	2.95	1	1.13	1.20	1.37	1.54	1	1.05	1.12	1.29	1.50	1	0.96	1.04	1.25	1.49	
	0.5	0.67	0.70	0.81	0.91	0.5	0.52	0.57	0.67	0.75	0.5	0.55	0.59	0.73	0.85	0.5	0.47	0.50	0.58	0.68	0.5	0.44	0.47	0.56	0.65	0.5	0.41	0.44	0.53	0.62	0.5	0.38	0.41	0.49	0.58	0.5	0.34	0.36	0.44	0.53	0.5	0.31	0.33	0.40	0.49	0.5	0.28	0.30	0.37	0.46																										
	Discovery 750HD Children's Hospital	5	4.37	5.41	6.50	7.16	5	3.76	4.71	6.55	8.03	5	3.25	4.28	5.26	7.62	4	3.52	4.33	5.76	6.60	4	3.09	3.82	5.06	6.80	4	2.59	3.33	4.16	6.35	3	2.52	3.23	3.93	4.74	3	2.33	2.83	3.94	3.77	3	1.91	2.57	3.42	4.45	2	1.77	2.10	2.73	3.18	2	1.53	1.94	2.53	3.11	2	1.52	1.78	2.38	2.52	1	0.88	1.00	1.42	1.61	1	0.74	0.92	1.27	1.51	1	0.67	0.89	1.07	1.33
	Aquilion ONE University Hospital B	5	3.16	3.33	3.99	4.99	5	2.89	3.23	3.92	4.87	5	2.72	2.95	3.59	5.06	4	2.49	2.66	3.19	3.86	4	2.39	2.55	3.03	3.92	4	2.25	2.39	2.99	3.94	3	1.83	1.96	2.34	2.96	3	1.80	1.92	2.28	3.04	3	1.63	1.78	2.17	2.83	2	1.35	1.43	1.68	2.14	2	1.19	1.28	1.54	2.09	2	1.13	1.22	1.49	2.02	1	0.69	0.72	0.85	1.05	1	0.61	0.65	0.77	1.01	1	0.58	0.61	0.74	1.01
	Brilliance iCT University Hospital B	5	3.51	3.65	4.65	5.20	5	3.30	3.58	4.48	5.29	5	3.51	3.65	4.65	5.20	4	2.85	2.92	3.91	4.08	4	2.65	2.85	3.82	4.19	4	2.53	2.92	3.81	4.08	3	2.20	2.23	3.16	3.17	3	2.02	2.15	2.74	3.21	3	2.20	2.23	3.16	3.17	2	1.44	1.49	2.00	2.11	2	1.37	1.46	1.83	2.17	2	1.44	1.49	2.00	2.11	1	0.72	0.73	0.85	1.04	1	0.67	0.72	1.10	1.07	1	0.72	0.73	0.95	1.04

CTDIvol の線量の多少にかかわらず胎児の被ばく線量とCTDIvol が等しい部位は体表より 8.2 cm の深さであった (Fig. 3 赤線お

よび赤丸プロットで示す)。

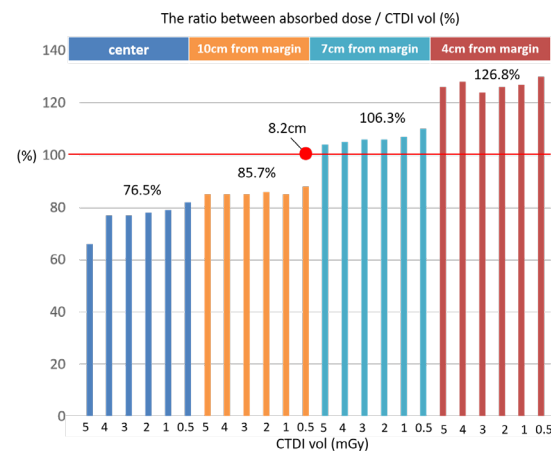


Fig. 3 撮影時CTDIvolとファントムの吸収線量測定値との比率

#### 2) 異なる管電圧と被ばく線量の関係

CT機種の結果をまとめ120、100、80kVの各々に群を比較すると80kVは120kVに対し (P < 0.01 (0.00025))、100kVに対し (p < 0.05 (0.038))、また100kVは120kVに対し (P < 0.05 (0.008)) 統計学的に有意差をもって低い結果となった (Fig. 4)。

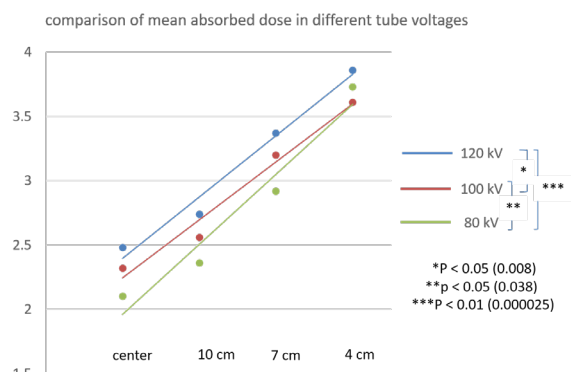


Fig. 4 Relationship between CTDIvol and measurement points under the different tube voltage (120, 100, 80kV),

1) 画質と被ばく線量の関係について  
胎児の擬似骨格のCT値の評価ではCTDIvolの7段階のうち、20から8 mGyまでは各管電圧ともに横ばいを示し変化がないが、120kVでは6mGyからCT値の低下がみられ始めた。100kVと80kVでは20mGyから4mGyまでは横ばいで4mGyから下行が始まった。3つの管電圧のCT値は4mGyで一致し、3mGyから急激に下向が見られた (Fig. 5)。以上の画質の視認とCT値の計測からALARAに立脚した線量最適化の下限は3mGyと考えられた。

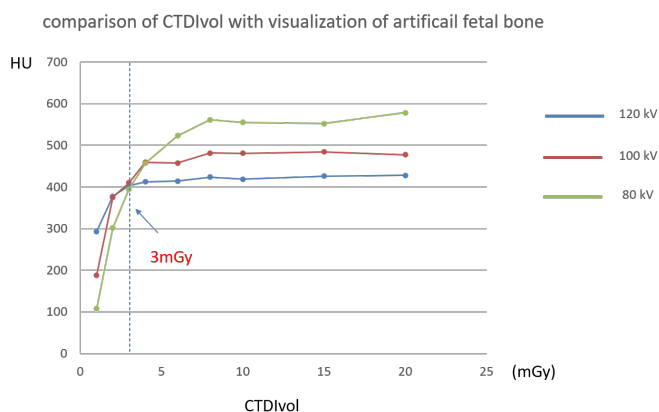


Fig. 5 画質と被ばく線量の関係

3つの異なる管電流を用い、CTDIvolを下げた場合、5mGyレベルまではCT値の変動はほぼ見られないが、3mGyレベルを境に線量低下により著明な画質の低下が出現した。

#### D. 考察

今回の調査結果から、撮影時に設定したCTDIvolの被ばく量と等しいのは、体表から8cm、中心から5cmの位置であった。また線量の幅は中心が77%、辺縁が127%であり、CTDIvolの-23%から+27%であった。この比率はCTDIvol多寡の影響を受けず安定していた。以上の結果より、胎児CTの個々の胎児の被ばく量が推測したければ、CTの元画

像の水平断から胎児の位置を確認し、中央と辺縁で被ばく量を増減して推測ができる。現実的には胎児CTを行う時期を3rd trimesterを推奨する予定でもあり、胎児のサイズは妊娠後期のため大きく、中央に限局することはなく、中央から辺縁にかけ位置していると思われる。そう考えると撮影時のCTDIvolは胎児の線量の概算値としてはほぼ等しいと考えてよさそうである。

今回の調査でのAD値3mGyは、逐次近似法 (Iterative reconstruction, IR) を使用することが前提である。これは前回全国調査でIRの使用率が70%であったためであり、2015年の調査から現在5年経過しており更なるIRの普及率が高いと思われる。また施設によっては通常のIRではなく高機能であるMBIR(model based iterative reconstruction)を用いている場合もある。著者の施設の胎児CTはMBIRを使用した ultra-low-dose fetal CT (ULDFCT)を実践しておりCTDIvolはわずか0.5mGyである。これはAD値の17%程度と非常に少量である。現在すでにAI (artificial intelligence) を用いた逐次近似法が開発されており、今後更なる最適化が行われることが実現可能である。

ALARAの原則で撮影条件を最適化する場合、画質の維持は最も優先されるべき項目である。今回のリサーチ結果からIR使用下で画質の維持できる下限の線量はやはりCTDIvolが3mGyであり推奨を目指すAD値と等しかった。この結果は今回の研究結果として非常に貴重なデータと思われる。また低被ばくを追求し3mGy以下で行うと画質が損なわれる危険性がある。[Adler-Levy Y](#)らも低線量胎児CTの報告をしており管電

圧が80–120kV、CTDI は2～10mGyで実効線量は0.7 to 10 mSvであったと報告している。彼らの報告からは我々の撮影条件とほぼ等しいことから、3mGyが妥当であることが示唆される。MBIRのないCTが数多く普及していると思われ、ULDFCTの超低線量を推奨するわけにはゆかず、ALARAの観点からは画質の担保された3mGyが妥当と考えられた。

#### E. 結論

妊婦を模した疑似ファントムの研究で胎児の被ばく程度もCTDIvolの値から位置により±20%程度（中心から5cm程度）と推測でき、画質もALARAの概念より3mGyが下限と判明した。このことより国レベルのガイドライン（DRL 2015）としては妥当であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

宮崎 治、第56回日本小児放射線学会学術集会“新時代の小児診療，360度の評価をめざして”より 胎児と新生児の骨疾患：診断の決め手となる key finding の指摘.  
日本小児放射線学会誌、37, 25–33, 2021

##### 2. 書籍 なし

##### 3. 学会発表

1) Osamu Miyazaki. Title: Dose reduction of pediatric patients; Current situation in Japan and national children's medical center. (Oral presentation, Web

congress) 2020 11 April 2020, Yokohama  
2) 宮崎 治 日本産婦人科遺伝診療学会シンポジウム 胎児骨系統疾患についてみんなで考えてみよう。「胎児骨系統疾患の診断に有用な胎児 CT」2020年12月14日金沢（オンライン配信）

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

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

低ホスファターゼ症の適切な診断の実施と医療水準および

QOLの向上をめざした研究

研究分担者 道上 敏美 大阪母子医療センター部長

研究要旨

低ホスファターゼ症 (HPP) は *ALPL* 遺伝子の機能喪失変異に基づき、骨石灰化障害や乳歯早期脱落など、多彩な症状を呈する遺伝性骨疾患である。2015 年から酵素補充薬が導入され、生命予後不良な重症例が救命可能となった。また、2016 年からは確定診断のための遺伝子検査が保険適用となった。診療環境の変化に伴い、研究分担者らはエビデンスに基づく HPP 診療ガイドラインを策定し、2019 年に公開した。今年度は、HPP に対する医療水準の全国的な向上のために、本疾患の病態や診断、治療、診療ガイドラインなどに関する最新かつ詳細な医療情報の提供と実臨床への活用を目的として、医療従事者を対象とした HPP 医療情報 Web サイト (<http://hpp-keihatsu.jp/>) を作成、公開した。また、疾患認知度の上昇により、これまで診断に至っていなかった成人型 HPP の症例も確定診断されるようになってきており、常染色体優性(顕性)遺伝と考えられた成人型症例で同定された新規の片アレル性ヘテロ変異(p. Gly82Arg)について機能解析を行い、ドミナントネガティブ作用を有することを示した。さらに、HPP が疑われた人工中絶胎児の *ALPL* 遺伝子解析を施行し、変異を同定した。

A. 研究目的

低ホスファターゼ症(Hypophosphatasia; HPP)は組織非特異型アルカリホスファターゼ (tissue-nonspecific alkaline phosphatase; TNSALP) をコードする

*ALPL* 遺伝子の機能喪失変異に基づく稀な骨系統疾患である。骨石灰化障害やけいれん、乳歯の早期脱落などの多彩な症状を示し、通常、周産期重症型(致死型)、周産期良性型、乳児型、小児型、成人型、歯限局型の6病型に分類される。本邦においては

周産期重症型の症例が半数近くを占め、次いで周産期良性型が2番目に高い頻度で認められるという特徴があり、日本人特有の変異である p.Leu520ArgfsX86 (c.1559delT) 変異と p.Phe327Leu (c.979T>C) の頻度が高いことがそれぞれ周産期重症型、周産期良性型症例が多い原因になっている。2015年から、ALP 酵素補充薬（アスホターゼアルファ）が使用可能となり、生命予後不良な周産期重症型や乳児型症例が救命可能となった。また、2016年からは HPP 診断のための ALPL 遺伝子検査が保険適用となっている。こうした診療環境の変化を鑑み、HPP の診療に携わる医師や歯科医師の臨床決断を支援することを目的として、2019年には HPP 診療ガイドラインが策定され、日本小児内分泌学会ウェブサイトで公開された。Minds 診療ガイドラインライブラリにも収載されている。しかしながら、HPP に対する診療の質を全国的に向上させるためには、本疾患の病態や診断、治療、診療ガイドラインなどに関する最新かつ詳細な医療情報を医療従事者に広く提供し、実臨床への活用を推進する必要がある。そこで、本研究においては本疾患の診療に関わる医療従事者を対象として医療情報 Web サイトを作成することとした。また、新規 ALPL 変異については、その病的意義を明確にするため、機能解析を行った。HPP が疑われた人工中絶胎児の ALPL 遺伝子解析も施行した。

## B. 研究方法

### ① HPP 医療情報 Web サイトの作成と公開

HPP は稀な疾患であり、本疾患の診療に当たる医師・歯科医師のほとんどにおいて

は HPP の診療経験に乏しいのが現状である。また、HPP の病型分類や診療はここ10年ほどの間に大きく変化したため、教科書や古い文献の記載は不正確であり、診療医が本疾患に関する医療情報を収集する上で困難が生じている。そこで、HPP の診療を担当する医療従事者には本疾患に関する最新かつ正確な医療情報を提供することを目的として、HPP に関する医療情報 Web サイトを作成した。

### ② HPP 診断のための新規 ALPL 変異の病的意義に関する検討

成人型や歯限局型などの軽症型 HPP には常染色体劣性(潜性)遺伝家系と常染色体優性(顕性)遺伝家系が存在する。成人型(成人期発症) HPP の症状は骨折や骨痛、筋力低下などであり、他の病型に比べて疾患特異性が低い。このような症例で ALPL 遺伝子検査を行なった場合、片アレルにのみ変異が同定されることが少なくなく、常染色体優性(顕性)HPP の罹患者であるのか、常染色体劣性(潜性)HPP の保因者であるのかを鑑別する必要がある。今回、北海道大学の成人型 HPP 症例について、かずさ遺伝子検査室で ALPL 遺伝子検査を行なったところ新規の片アレル性ヘテロ変異 p.Gly82Arg が同定されたが、本変異が片アレルのみの変異で HPP を発症しうる優性(顕性)変異であるのかを明らかにするために、本変異を導入した発現プラスミドを作製し、培養細胞に遺伝子導入することにより機能解析を行なった。

### ③ HPP が疑われた人工中絶胎児の ALPL 遺伝子検査

HPP が疑われた人工中絶胎児について、

代諾者(親)の同意のもとで、サンガー法による *ALPL* 遺伝子解析を施行した。

(倫理面への配慮)

*ALPL* 遺伝子検査および変異体の機能解析研究については、研究分担者の所属機関における倫理審査委員会の承認のもとで行った。

## C. 研究結果

### ① HPP 医療情報 Web サイトの作成と公開

HPP 医療情報 Web サイト (<https://hpp-keihatsu.jp/>) を作成し、2020年11月10日に公開した。各コンテンツページには、疾患概要と病型分類、病態、診断、治療、診療ガイドラインについて記載した。以下に、各項目において留意したポイントについて述べる。

#### (A) 疾患概要と病型分類

疾患概要に関しては、2015年からALP酵素補充治療が導入され、重症例も救命可能となったこと、HPPを確定診断するための *ALPL* 遺伝子検査が保険適用となっていること、さらにHPPが小児慢性特定疾病や指定難病に指定されていることを記載した。

また、病型分類については、特に乳児型が周産期良性型よりも重症度が高いことについて明確化した。以前は、周産期発症例はほぼ全例が予後不良な転帰をとると考えられていたため、周産期発症例を二分せずに「周産期型」もしくは「周産期致死型」と呼ぶ5病型分類が用いられていた。しかしながら、近年、周産期発症であっても生命予後良好な症例が少なからず存在することが明らかになっ

たことから、周産期型を周産期重症型と周産期良性型に区別した6病型分類が用いられるようになってきた。周産期良性型は乳児型よりも生命予後が良好であるところから、周産期軽症型ではなく周産期良性型という用語が使用されている。これらの病型分類改訂の経緯についてWebサイトに掲載した。

古い文献では周産期良性型の記載がなく、周産期型=致死型と書かれていたため、担当医が古い文献のみを参考に行っている場合には、周産期良性型に対しても予後不良と誤解して過剰な治療が施行される可能性や、逆に乳児型症例の重症度を過小評価して診断が遅れる危険性がある。今回、本疾患の重症度について、「周産期重症型 > 乳児型 > 小児型、周産期良性型 > 成人型 > 歯限局型」と記載した。

また、周産期重症型と乳児型など、各臨床病型の間は連続的で、検査値にもオーバーラップを認めること、歯限局型に分類されていた症例が途中から骨症状を生じるなど経過中に病型が変化する場合もあることについて記載した。さらに、日本人HPPにおいては周産期発症例が7割近くにのぼり、また海外ではまれな周産期良性型の頻度が高いこと、一方、成人型HPPについては診断に至っていない症例が少なからず存在する可能性があることについて言及した。

#### (B) 病態

病態の項では、HPPの原因が組織非特異型ALP (Tissue non-specific ALP; TNSALP)をコードする *ALPL* 遺伝子の機能喪失に基づくこと、TNSALPは肝

臓・腎臓・骨組織に高く発現し、組織特異的な糖鎖付加による翻訳後修飾を受けて肝臓型・腎臓型・骨型になることについて述べた。

さらに、HPPの主たる症状である骨石灰化障害のメカニズムを図解し、TNSALPの活性低下により基質である石灰化阻害物質ピロリン酸が分解されずに蓄積して骨石灰化を障害すること、骨局所のリン濃度の減少も骨石灰化の障害をもたらすと考えられることを説明した。骨石灰化障害に伴い、カルシウムが骨に蓄積せずに血中にとどまるため、しばしば高カルシウム血症/尿症を引き起こすことも記載した。また周産期重症型や乳児型で認められるビタミン B6 依存性けいれんの発症メカニズムについても図解し、活性型のビタミン B6 ピリドキサル-5'-リン酸 (pyridoxal 5'-phosphate; PLP) が脳血液関門を越えるためにはピリドキサル (pyridoxal; PL) への脱リン酸化される必要があること、HPP においては TNSALP の活性低下により PLP から PL への脱リン酸化が障害されるため、血中 PLP 値が上昇して血中 PL 値は低下し、脳内 PLP の欠乏をきたしてけいれん発作を引き起こすことを説明した。さらに、HPP における乳歯早期脱落がセメント質の形成不全に伴う歯と顎骨との接着障害に基づくことを記載した。

### (C) 診断

診断の項では、診断のポイントとして HPP の診断基準を示し、*ALPL* 遺伝子検査が保険適用になっていることを記載した。

さらに、HPP における放射線学的所見

について、年齢や重症度により、さまざまな程度の骨石灰化障害・くる病様骨変化・骨変形・骨折・偽骨折などの所見を認めること、周産期重症型では全身骨の著明な石灰化障害・膜様頭蓋・小さな胸郭などが認められ、周産期良性型では骨石灰化障害はあまり明らかなではないが長管骨の彎曲が特徴的で腓骨や尺骨に spur と呼ばれる骨棘を認める場合もあること、乳児型ではくる病様骨変化・骨幹端の舌様透亮像 (tongue of radiolucency) などを示すこと、小児型もくる病様骨変化を示し、頭蓋骨縫合早期癒合を来した症例では頭部単純 X 線検査で銅箔状頭蓋を呈する場合があること、成人期の HPP 患者においては骨折・治癒不良な中足骨の疲労骨折・偽骨折 (Looser's zone) ・非定型大腿骨骨折などの所見が認められることを説明した。また、関節周囲などにピロリン酸カルシウムの蓄積 (calcium pyrophosphate deposition; CPPD) による異所性石灰化を認める場合もあることや、DXA や MRI、早期診断のための胎児画像検査の有用性について言及した。

血液尿検査所見の特徴についてもまとめ、特に血清 ALP 値の評価を行う上で留意すべき点について述べた。血清 ALP 活性値は年齢により変動し、性別によっても異なるため、測定値の評価の際にはそのことを念頭に置く必要がある。また、血清 ALP 値の低下は、HPP 以外にもさまざまな原因で認められ、たとえば、甲状腺機能低下症や栄養不良、亜鉛欠乏症やマグネシウム欠乏症、ステロイド投与などは血清 ALP 値の低下を伴う場合がある。また、EDTA やクエン酸、シュウ

酸などを含む検体では亜鉛やマグネシウムなどがキレートされるために ALP 活性の測定値が本来の値よりも低くなってしまふ。これらのことを記載し、HPP を疑う際には、ALP の測定は複数回行い、また、ALP 活性に影響を及ぼす様々な要因の有無を調べる必要があることを述べた。また、我が国ではこれまで、血清 ALP 値の測定に日本臨床化学会勧告法 (JSCC 法) が用いられてきたが、臨床的有用性と国際標準化を図るため、2020 年 4 月から 1 年をかけて、国際臨床化学連合勧告法 (IFCC 法) に変更されることを記載した。IFCC 法による ALP 測定値は JSCC 法による測定値の約 1/3 となるが、IFCC 法による測定値は、小腸型 ALP を多く含む検体ではより低値となり、胎盤型 ALP を多く含む妊娠中の検体ではより高値となるので注意を要することも述べた。

ALPL 遺伝子検査については、かずさ遺伝子検査室などで行われた遺伝子検査の結果の理解の助けとするため、以下のような内容を記載した。

HPP は、典型例であれば臨床像と X 線所見、生化学検査所見から診断可能であるが、血清 ALP 値の低下は HPP 以外にもさまざまな病態に伴うため、確定診断と再発リスク予測、遺伝カウンセリングのために、ALPL 遺伝子検査が推奨される。我が国においては、HPP 診断のための ALPL 遺伝子検査は保険適用になっており、かずさ遺伝子検査室などで検査が行われている。周産期重症型や乳児型などの重症型 HPP は通常、常染色体劣性(潜性)遺伝形式を示し、両アレルに病的

変異 (pathogenic variant) を有するホモ接合体もしくは複合ヘテロ接合体である。一方、周産期良性型、小児型、成人型、歯限局型などの軽症型 HPP においては、常染色体劣性(潜性)遺伝形式を示す家系に加え、片アレルにのみ病的変異を有する常染色体優性(顕性)遺伝形式を示す家系も存在する。HPP では新生変異はほとんど無く、常染色体劣性(潜性)遺伝家系であれば両親は一方のアレルにヘテロ変異を有する保因者(carrier)である。保因者は通常、無症状だが、血清 ALP 値低下などの生化学的異常はしばしば認められ、中には軽微な症状を認める場合もある。一方、常染色体優性(顕性)遺伝家系で同定される片アレル性ヘテロ変異は、多くの場合 dominant negative 作用を有し、野生型 (正常) ALP の機能を阻害することにより HPP を発症する。ALPL 遺伝子の病的変異の保有者には無症状の保因者も含まれるため、ALPL に病的変異が検出されただけでは HPP とは診断されない。”疾患概要・病型分類”の項などに記載した HPP に起因する症状を有している場合に、ALPL 遺伝子の病的変異が検出されれば HPP と確定診断される。これまで、400 を超える ALPL 遺伝子変異が HPP の原因として同定されており、これらの変異はフランスの Dr. Ethienne Mornet によって運営されている ALPL 変異データベースに集積されている。2020 年 5 月末までにこのデータベースに集積された 410 の病的変異については、ミスセンス変異が 71.2%、小さな欠失が 11.0%、スプライシング変異が 4.9%、ナンセンス変異が 4.6%、小さな挿入が



3.4%、大きな欠失/重複が 2.9%、挿入/欠失が 1.5%、制御領域の変異が 0.5%となっており、変異のうち 95%はシーケンス解析で検出可能である。日本人の HPP においては、c.1559delT (p.Leu520ArgfsX86) と c.979T>C (p.Phe327Leu)の 2 つの変異が高頻度に検出される (Michigami, et al. *Eur J Pediatr*, 2005; Michigami, et al. *Calcif Tissue Int*, 2020)。これらの変異は海外では報告がなく、日本人に特有の変異と考えられる。日本人で最も頻度が高い c.1559delT (p.Leu520ArgfsX86)変異は、劣性(潜性)遺伝家系で同定される変異で、活性をほぼ完全に喪失している。日本人の一般集団において、一方のアレルにこの変異を有する保因者は 1/480 人と比較的高い頻度で存在することが報告されている (Watanabe, et al. *J Hum Genet*, 2011)。HPP の日本人症例 98 名を対象とした私達の解析では、頻度が高い c.1559delT 変異はさまざまな病型で検出されたが、c.1559delT 変異のホモ接合体 18 名は全例、周産期重症型に分類された。この解析では、周産期重症型は 45 名で、そのうち 18 名(40%)が c.1559delT 変異のホモ接合体であり、22 名(48.9%)が c.1559delT 変異と他の変異の複合ヘテロ接合体であった (Michigami, et al. *Calcif Tissue Int*, 2020)。活性をほぼ完全に喪失している c.1559delT 変異の頻度が高いことが、日本人の HPP において周産期重症型が多い理由であると考えられる。日本人の HPP で 2 番目に高い頻度で検出される p.Phe327Leu 変異は、周産期良性型と強く関連している。前述の日本人症例 98

名を対象とした解析では、周産期良性型 22 名のうち 20 名 (90.9%) が p.Phe327Leu と他の変異の複合ヘテロ接合体であった。歯限局型の中にも、p.Phe327Leu と他の変異の複合ヘテロ接合体である症例が同定された。p.Phe327Leu 変異体は高い残存活性を有し、このことがこの変異を有する症例の良好な生命予後に寄与していると推察される。また、p.Phe327Leu 変異の頻度が高いことが、日本人 HPP において、海外ではまれな周産期良性型が多い原因になっていると考えられる。ただし、同じ変異の組み合わせを有する症例においても、症状の強さには若干のばらつきが認められる。また、ALPL 遺伝子には多型がいくつか知られている。蛋白質コード領域の多型としては、p.Ser110Ser (c.330C>T)、p.Arg152His (c.455G>A)、p.Asn170Asn (c.510C>T)、p.Tyr263His (c.787T>C)、p.Pro292Pro (c.876A>G)、p.Lys422Lys (c.1266G>A)、p.Ala514Ala (c.1542T>G)、p.Val522Ala (c.1565T>C) などが知られており、アミノ酸が変化するものもある。これらは無害な benign variant であり、HPP の直接の原因にはならない。ALPL 遺伝子検査結果の報告書を解釈する際には、検出されている variant が病的変異 (pathogenic variant) であるのか、それとも多型などの無害な benign variant なのか、確認する必要がある。また、片アレルにのみ病的変異が検出されている場合には、その変異が優性(顕性)変異であれば HPP の罹患者である可能性があるが、劣性(潜性)変異であれば保因者であると考えられる。

#### (D) 治療

治療に関する項目では、2015年から導入された酵素補充療法について解説した。従来から行われてきた対症療法(周産期重症型や乳児型症例に対する呼吸管理、低カルシウム乳などを用いた高カルシウム血症/尿症の是正、けいれんに対するビタミンB6投与、骨変形や脚長差などに対する整形外科的治療、頭蓋骨縫合早期癒合症に対する外科的治療、歯科的管理など)は現在においてもやはり重要であるが、対症的治療のみでは重症例の生命予後は極めて不良であること、また、以前、乳児型 HPP に対する骨髄移植や成人型 HPP に対する PTH 投与が試みられたが効果は限定的であったことを記載した。さらに、ALP 酵素補充薬 アスホターゼアルファがヒドロキシアパタイトへの親和性が高く、アスホターゼアルファは骨局所で高い ALP 酵素活性を維持することができること、アスホターゼアルファを用いた酵素補充療法の導入により周産期重症型や乳児型の生命予後は大きく改善し、また小児患者を対象とした臨床試験ではアスホターゼアルファの投与は骨石灰化の改善に加えて、6分間歩行検査における歩行距離や CHAQ (小児健康評価質問票)を用いた機能障害度を改善したことなどを説明した。

また、HPP の歯科的管理についても記載し、乳歯の動揺や早期脱落を来すために小児歯科による管理が必要になること、口腔衛生指導と歯周治療により永久歯に交換される時期まで動揺乳歯を可及的に温存すること、乳歯早期脱落に対しては審美性の回復・発音機能の獲得・残存乳

歯への咬合圧の低下などを目的として小児義歯の装着が行われること、我が国では HPP に対する小児義歯の使用は保険適用となっていることを説明した。

#### (E) 診療ガイドライン

この項目では、分担者らが策定し2019年に日本小児内分泌学会の Web サイト上で公開した HPP 診療ガイドラインについて概説した。本診療ガイドライン作成の目的と経過について記載し、21項目のクリニカルクエスション(CQ)と推奨文を掲載した。診療ガイドラインの全文については、日本小児内分泌学会の Web サイトおよび Minds 資料ガイドラインライブラリにリンクを作成した。

#### ② HPP 診断のための新規 ALPL 変異の病的意義に関する検討

成人型 HPP が疑われた症例で同定された新規変異の機能解析を行った。症例は29歳女性、レイノー現象と紫斑を認め、皮膚生検により皮膚型結節性多発動脈炎と診断されたが、複数回の血液検査にて血清 ALP 値が 52~59 IU/L (JSCC 法)と低下しており、骨折歴や歯科症状の既往はなかったが尿中ホスホエタノールアミンの上昇も認めため、HPP が疑われた。かずさ遺伝子検査室で行われた ALPL 遺伝子検査の結果、新規の p.Gly82Arg 片アレル性ヘテロ変異が同定された。SIFT、Polyphen-2、CADD を用いた *in silico* 解析では p.Gly82Arg は **damaging** と判定されたが、それだけでは常染色体優性(顕性)遺伝性 HPP の罹患患者であるのか常染色体劣性(潜性)遺伝性 HPP の保因者であるのかが明らかではない。そこで分担者らは p.Gly82Arg 変異型

TNSALP 発現プラスミドを構築し、COS-7 細胞に遺伝子導入することにより、本変異体の機能評価を行なった。ウェスタンブロットおよび免疫染色の結果から p.Gly82Arg 変異型 TNSALP の蛋白質発現および形質膜への分布が確認されたが、活性はほぼ完全に失われていた。また、p.Gly82Arg 変異型 TNSALP と野生型 TNSALP の共発現実験の結果から、p.Gly82Arg 変異型 TNSALP はドミナントネガティブ作用を有することが明らかになり、本患者は常染色体優性(顕性)遺伝性 HPP の罹患者であると診断された。これらの結果は論文として発表した (Kato M, Michigami T, et al. J Bone Miner Metab 2021 Apr 5. doi: 10.1007/s00774-021-01219-0. Online ahead of print.)。

### ③ HPP が疑われた人工中絶胎児の *ALPL* 遺伝子検査

HPP が疑われた人工中絶胎児 2 例について *ALPL* 遺伝子解析を行なった。1 例については p.Phe327Leu 変異と p.Ser368del 変異の複合ヘテロ接合体であることが判明した。前述したように、p.Phe327Leu 変異は高い残存活性を有し、周産期良性型や歯限局型など生命予後良好な病型と関連している。また、もう 1 例については c.1559delT 片アレル性ヘテロ変異のみが同定された。

### D. 考察

HPP は希少疾患であり、また、酵素補充療法が導入されるまでは周産期重症型の全例と乳児型の約半数が早期に死亡していたため、診療経験を有する医師や歯科医師

は少ないのが現状である。また、病型により症状や重症度に幅があるため、HPP の診断や治療、管理においてはそのことを念頭に置く必要がある。酵素補充療法の導入に伴う診療環境の変化を鑑み、研究分担者らはエビデンスに基づく HPP 診療ガイドラインを策定し、2019 年に公開した。このガイドラインの中では、本疾患の概要や病態についても記載し、症状と診断に関する CQ 7 項目、治療と管理に関する CQ14 項目について推奨文と解説、エビデンスとして用いた文献のリストを掲載している。診療担当医に本診療ガイドラインを十分に活用していただくためには HPP に関してより詳細な医療情報を提供する必要があるが、本疾患の病型分類や診断・治療がここ 10 年ほどの間に大きく変化したため、教科書や古い文献のみを参照された場合には混乱を生じることが危惧される。また、製薬会社などが作成する患者向け疾患啓発サイトは、わかりやすさを重視するために情報量が削減されており、必ずしも正確とは言えない。今回、研究分担者らは HPP 医療情報 Web サイトを作成するにあたり、診療担当医が自ら教科書や文献を探して情報収集するよりも効率的かつ効果的な手段として、特に日本人の HPP に特徴的な情報も含め本疾患の概要と病型分類、病態、診断、治療、診療ガイドラインに関し詳細かつ包括的に解説することをめざした。この医療情報 Web サイトは診療ガイドラインの記載内容を補完し、HPP の診療の質の向上に寄与すると考えている。特に、乳児型が周産期良性型よりも重症であること、血清 ALP 値の評価の際に注意すべき点、遺伝子診断結果の解釈などについて詳細に解説した。遺伝

子診断結果の解釈については、片アレル性ヘテロ変異が同定された場合にその変異が優性(顕性)変異であれば HPP の罹患者である可能性があるが、劣性(潜性)変異であれば保因者であると考えられることを記載した。また、*ALPL*には多くの多型 (benign variant) が存在するため、そのリストも記載した。これらの情報は、HPP 罹患者ではない症例が HPP と誤診され、不必要な治療が行われることを防ぐのに役立つと考えられる。

また、HPP 疾患認知度の向上に伴い、成人期発症と考えられる症例が診断されるようになってきた。未診断の HPP 症例を確実に診断することは重要であるが、片アレル性ヘテロ変異のみが同定された場合、前述したように劣性(潜性)HPP の保因者である可能性もある。したがって、*ALPL* 遺伝子の変異保有者が全て HPP 罹患者ではなく、*ALPL* 遺伝子変異に HPP に合致する症状を伴う場合に HPP 罹患者と診断されることを周知する必要がある。成人期発症 HPP の症状は特異性に乏しいため、発現プラスミドを用いてドミナントネガティブ作用の有無を検討することは有用な情報となりうる。

今回、HPP を含めた骨系統疾患疑いにて人工中絶となった胎児に対して *ALPL* 遺伝子解析を行い、1 例については p.Phe327Leu 変異と p.Ser368del 変異の複合ヘテロ接合体であることを明らかにした。p.Phe327Leu には高い残存活性があることから、本児は生命予後良好であった可能性がある。死亡胎児に対する *ALPL* 遺伝子検査は現在のところ保険適用になっていないが、次子の発症リスクを含めた遺伝カウンセリングに役立つと考えられる。

## E. 結論

HPP の病態や診断、治療、診療ガイドラインなどに関する最新かつ詳細な医療情報の提供を目的として、本疾患の診療に携わる医師・歯科医師を対象とした HPP 医療情報 Web サイト(<http://hpp-keihatsu.jp/>)を作成、公開した。本 Web サイトを診療ガイドラインとともに活用することにより、HPP に対する医療水準の全国的な向上が期待できる。また、血清 ALP 値の低下を示した成人症例において *ALPL* 遺伝子に片アレル性ヘテロ変異が同定された場合には、優性(顕性) HPP の罹患者であるのか劣性(潜性)HPP の保因者であるのかを慎重に判断する必要がある。さらに、HPP の可能性がある死亡胎児の *ALPL* 遺伝子解析は、遺伝カウンセリングに有益な情報となる。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Kato M, Michigami T, Tachikawa K, Kato M, Yabe I, Shimizu T, Asaka T, Kitagawa Y, Atsumi T. Novel mutation in the *ALPL* gene with a dominant negative effect in a Japanese family. *J Bone Miner Metab*, 2021, Apr 5. doi: 10.1007/s00774-021-01219-0. Online ahead of print.

### 2. 書籍

該当なし

### 3. 学会発表

1) 道上敏美. 見逃してはいけない小児の骨疾患. 第 123 回日本小児科学会学術集会. 2020.8.21-8.23. Web 開催, 教育セミナー.

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

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

指定難病に該当する胎児・新生児骨系統疾患の遺伝子診断の  
実施体制調査及び整備

研究分担者 山田 崇弘 京都大学特定准教授

研究要旨

本分担研究者は本研究において継続的に骨系統疾患の遺伝子診断に関する情報収集とその整備を行ってきた。

骨系統疾患は非常に数が多くその遺伝子診断の情報を整理すること自体が困難である。また、近年多くの難病の原因遺伝子の遺伝学的検査 (D006-4) が保険収載されたこともあり、少しずつ商業ベースの遺伝学的検査項目が増えてきた。しかしながら骨系統疾患の原因遺伝子は非常に多岐に渡ることもあり、依然として実施不可能あるいは研究ベースで実施している研究室のボランティアに依存していることが多い。特に競争的外部資金と流動的な人材に依存する研究室の人的経済的基盤は非常に脆弱である上、研究費を使用するにあたっては当然その意義づけなども重要となる。そこで分担研究者は本研究当初より臨床情報画像情報を確認した上でコーディネートしてきたが、特に代表的な疾患 (軟骨無形成症、2型コラーゲン異常症、短肋骨骨異形成症グループ、点状軟骨異形成症、骨形成不全症、低ホスファターゼ症など) についての検査体制を重視して整えてきた。

本年度は2019年の骨系統疾患の国際分類に合わせて整理データベースに、近年の遺伝学的検査の保険収載の増加に合わせて大幅に増えた商業ベースで可能な遺伝子診断項目を加えて利便性を高めた。また、遺伝子診断に加えて画像診断も含めたコーディネートと診断支援も継続的に行ってきた。

ディネートと診断支援体制を確立する。

A. 研究目的

骨系統疾患の遺伝子診断リストのアップデートと実施体制の整備を継続すると同時に遺伝子診断に加えて画像診断を含めたコ

B. 研究方法

これまでに作成した骨系統疾患の遺伝学的検査のデータベースに収載されている研

究ベースのラボへ情報の再確認を行うと同時に本年度新たに開始された商業ベース（有料の大学／病院ラボなどを含む）で実施可能な遺伝学的検査の情報を収集して合わせて情報のアップデートを行う。本年度は COVID-19 パンデミックのために国際学会への出席と情報収集が困難であったために文献と各種 Web 上のデータベースの検索によって情報収集を行った。

指定難病が疑われる疾患の照会に対してその遺伝学的検査に関する情報を用いて適切なコンサルトが可能な体制を構築する。また、遺伝学的検査だけでなく画像診断も含めたコーディネートと診断支援体制も確立することも合わせて行う。

（倫理面への配慮）

個人情報などを直接扱うわけではないため患者・クライアントに関する特別な配慮は必要ではないが、それぞれの研究室の情報は照会者に直接伝えることはせず診断的妥当性、研究的意義を評価したのちに照会者、解析ラボの同意を得てコンサルト可能な情報を伝える。

### C. 研究結果

2019年の新分類をもとにデータベースを整理した。

42疾患群についてデータベースを整理した。対象は461疾患のうち責任遺伝子が確認されている425疾患の437遺伝子とした(2020年4月の時点で保険収載は10疾患)。特に代表的な疾患である軟骨無形成症、2型コラーゲン異常症、短肋骨骨異形成症グループを含む骨異常を伴うシリオパチー、点状軟骨異形成症、骨形成不全症、低ホスファ

ターゼ症を含む Abnormal mineralization group, については以下のような体制を構築した。

**疾患群：1. FGFR3 group** (Thanatophoric dysplasia type 1 (TD1), Thanatophoric dysplasia type 2 (TD2), Severe achondroplasia with developmental delay and acanthosis nigricans (SADDAN), Achondroplasia, Hypochondroplasia, Camptodactyly, tall stature and hearing loss syndrome (CATSHL))

遺伝子：FGFR3

商業ベース：2施設

研究ベース：4研究室

**疾患群：2. Type 2 collagen Group and similar disorders** (Achondrogenesis type 2 (ACG2; Langer-Saldino), Hypochondrogenesis, Platyspondylic dysplasia Torrance type, Spondyloepiphyseal dysplasia congenital (SEDC), Spondyloepimetaphyseal dysplasia (SEMD) Strudwick type, Kniest dysplasia, Spondyloperipheral dysplasia, SED with metatarsal shortening (formerly Czech dysplasia), Stickler syndrome type 1, Dysplasia of the proximal femoral epiphyses など)

遺伝子：COL2A1

商業ベース：2施設

研究ベース：1研究室

**疾患群：9. Ciliopathies with major skeletal involvement**

■ Chondroectodermal dysplasia

(Ellis-van Creveld)

遺伝子：EVC, EVC2

商業ベース：1施設

研究ベース：1研究室

遺伝子：WDR35, DYNC2LI1

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ SRP type 1/3

(Saldino-Noonan/Verma-Naumoff)

遺伝子：DYNC2H1, IFT80, WDR34,

WDR60, DYNC2LI1

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Asphyxiating thoracic dysplasia (ATD; Jeune)

遺伝子：

DYNC2H1, DYNC2LI1, WDR34, TCTEX1

D2, WDR60, WDR19, IFT140, IFT80, IFT1

72, IFT81, IFT52, TRAF3IP1, CFAP410, KI

AA0753

商業ベース：なし

研究ベース：なし

TTC21B, CEP120, KIAA0586

商業ベース：1施設

研究ベース：なし

■ SRP type 2 (Majewski)

遺伝子：

DYNC2H1, NEK1, IFT81, TRAF3IP1

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ SRP type 4 (Beemer)

遺伝子：IFT122, IFT80

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ SRP type 5

遺伝子：WDR35

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ SRPS unclassified

遺伝子：ICK, INTU, FUZ, IFT43, WDR35

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Orofaciodigital syndrome type 4

(Mohr-Majewski)

遺伝子：TCTN3

商業ベース：1施設

研究ベース：なし

■ Orofaciodigital syndrome type 2 (Mohr syndrome)

遺伝子：NEK1

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Cranioectodermal dysplasia

(Levin-Sensenbrenner) type 1,2

遺伝子：

IFT122, WDR35, WDR19, IFT43, IFT52

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Mainzer-Saldino syndrome

遺伝子：IFT140, IFT172

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Axial spondylometaphyseal dysplasia

遺伝子：CFAP410, NEK1

■ Thoracolaryngopelvic dysplasia

(Barnes)

遺伝子：不明

疾患群：21. Chondrodysplasia punctata (CDP) Group

■ CDP, X-linked dominant, Conradi-Hünemann type (CDPX2)



遺伝子：EBP

商業ベース：2 施設

研究ベース：なし

■ CDP, X-linked recessive, brachytelephalangi type (CDPX1)

遺伝子：ARSE

商業ベース：2 施設

研究ベース：なし

■ CHILD (congenital hemidysplasia, ichthyosis, limb defects)

遺伝子：NSDHL

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Keutel Syndrome

遺伝子：MGP

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Greenberg dysplasia

遺伝子：LBR

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Rhizomelic CDP type 1

遺伝子：PEX7

商業ベース：2 施設

研究ベース：なし

**疾患群：25. Osteogenesis Imperfecta and decreased bone density group**

■ Osteogenesis imperfecta, nondeforming with persistently blue sclerae (OI type 1)

遺伝子：COL1A1, COL1A2

商業ベース：2 施設

研究ベース：4 施設

■ Osteogenesis imperfecta, perinatal lethal form (OI type 2)

遺伝子：COL1A1, COL1A2

商業ベース：2 施設

研究ベース：4 施設

遺伝子：CRTAP,LEPRE1,PPIB

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

■ Osteogenesis imperfecta, progressively deforming type (OI type 3)

遺伝子：COL1A1, COL1A2

商業ベース：2 施設

研究ベース：4 施設

遺 伝 子 : IFITM5,CRTAP,LEPRE1,PPIB,SERPIN H1,FKBP10,TMEM38B,BMP1,WNT1,CR EB3L1

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

遺伝子：SERPINF1, SPARC,TENT5A

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

■ Osteogenesis imperfecta, moderate form (OI type 4) (Note: In adults always, normal sclerae)

遺伝子：COL1A1, COL1A2

商業ベース：2 施設

研究ベース：4 施設

遺 伝 子 : WNT1,IFITM5,CRTAP,PPIB,FKBP10,SP 7

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

■ Osteogenesis imperfecta with calcification of the interosseous

遺伝子：IFITM5

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

■ Osteoporosis—X-linked form

遺伝子：PLS3

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

遺伝子：MBTPS2

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Osteoporosis—AD form

遺伝子：WNT1

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

遺伝子：LRP5

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Osteogenesis imperfecta, other types

遺伝子：CRTAP, FKBP10, LEPRE1, PPIB

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

■ Bruck syndrome type 1 (BS1)

遺伝子：FKBP10

商業ベース：1 施設

研究ベース：2 施設

■ Bruck syndrome type 2 (BS2)

遺伝子：PROD2

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Osteoporosis-pseudoglioma syndrome

遺伝子：LRP5

商業ベース：なし

研究ベース：1 施設

■ Calvarial doughnut lesions with bone fragility

遺伝子：SGMS2

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Cole-Carpenter dysplasia (bone fragility with craniosynostosis)

遺伝子：P4HB

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Cole-Carpenter like dysplasia

遺伝子：SEC24D

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Spondylo-ocular dysplasia

遺伝子：XYLT2

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Gnathodiaphyseal dysplasia

遺伝子：ANO5

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Ehlers-Danlos syndrome, spondylodysplastic type

遺伝子：B4GALT7

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Geroderma osteodysplasticum

遺伝子：GORAB

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Cutis laxa, autosomal recessive form, type 2B (ARCL2B)

遺伝子：PYCR1

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Cutis laxa, autosomal recessive form, type 2A (ARCL2A) (Wrinkly skin syndrome)

遺伝子：ATP6VOA2

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Wiedemann-Rautenstrauch syndrome

遺伝子：POLR3A

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Singleton–Merten dysplasia type 1

遺伝子：IFIH1

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Singleton–Merten dysplasia type 2

遺伝子：DDX58

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Short stature, optic nerve atrophy and Pelger–Huet anomaly (SOPH syndrome)

遺伝子：NBAS

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

**疾患群：26. Abnormal mineralization group**

■ Hypophosphatasia, perinatal lethal, infantile and juvenile forms

遺伝子：ALPL(TNSALP)

商業ベース：3 施設

研究ベース：1 施設

■ Hypophosphatasia, juvenile and adult form

遺伝子：ALPL(TNSALP)

商業ベース：3 施設

研究ベース：1 施設

■ Hypophosphatemic rickets, X-linked

遺伝子：PHEX

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Hypophosphatemic rickets, autosomal dominant

遺伝子：FGF23

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Hypophosphatemic rickets, autosomal recessive, type 1 (ARHR1)

遺伝子：DMP1

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Hypophosphatemic rickets, autosomal recessive, type 2 (ARHR2)

遺伝子：ENPP1

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Hypophosphatemic rickets with hypercalciuria, X-linked recessive

遺伝子：CICN5

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Hypophosphatemic rickets with hypercalciuria, autosomal recessive (HHRH)

遺伝子：SLC34A2

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Vitamin D-dependent rickets, type 1A

遺伝子：CYP27B1

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Vitamin D-dependent rickets, type 1B

遺伝子：CYP2R1

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Vitamin D-dependent rickets, type 2A

遺伝子：VDR

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Vitamin D-dependent rickets, type 2B

遺伝子：不明

■ Familial hyperparathyroidism, types 1-4

遺伝子：CDC73, GCM2

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

■ Neonatal hyperparathyroidism, severe form

遺伝子：CASR

商業ベース：1 施設

研究ベース：1 施設

■ Neonatal hyperparathyroidism, transient form

遺伝子：TRPV6

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Familial hypocalciuric hypercalcemia with transient neonatal hyperparathyroidism

遺伝子：CASR

商業ベース：1 施設

研究ベース：1 施設

■ Calcium pyrophosphate deposition disease (familial chondrocalcinosis) type 2

遺伝子：ANKH

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Cutaneous skeletal hypophosphatemia syndrome

遺伝子：HRAS, NRAS

商業ベース：1 施設

研究ベース：なし

疾患群：33. Craniosynostosis syndromes

■ Pfeiffer syndrome

遺伝子：FGFR1

商業ベース：1 施設

研究ベース：1 施設

遺伝子：FGFR2

商業ベース：3 施設

研究ベース：2 施設

■ Apert syndrome

遺伝子：FGFR2

商業ベース：3 施設

研究ベース：2 施設

■ Craniosynostosis with cutis gyrate (Beare-Stevenson)

遺伝子：FGFR2

商業ベース：3 施設

研究ベース：2 施設

■ Crouzon syndrome

遺伝子：FGFR2

商業ベース：3 施設

研究ベース：2 施設

■ Crouzon-like craniosynostosis with acanthosis nigricans (Crouzonodermoskeletal syndrome)

遺伝子：FGFR3

商業ベース：2 施設

研究ベース：4 研究室

■ Craniosynostosis, Muenke type

遺伝子：FGFR3

商業ベース：2 施設

研究ベース：4 研究室

■ Antley-Bixler syndrome

遺伝子：POR

商業ベース：1 施設

研究ベース：3 施設

■ Craniosynostosis Boston type

遺伝子：MSX2

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Saethre-Chotzen syndrome

遺伝子：TWIST1

商業ベース：1施設

研究ベース：なし

■ Shprintzen-Goldberg syndrome

遺伝子：SKI

商業ベース：1施設

研究ベース：なし

■ Baller-Gerold syndrome

遺伝子：RECQL4

商業ベース：1施設

研究ベース：1施設

■ Carpenter 症候群

遺伝子：RAB23, MEGF8

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Coronal craniosynostosis

遺伝子：TCF12

商業ベース：なし

研究ベース：なし

■ Complex craniosynostosis

遺伝子：ERF

商業ベース：なし

研究ベース：なし

原因遺伝子が明らかな骨系統疾患の遺伝学的検査は商業ベースで 295 項目、研究のみで可能な場合が 14 項目であり、合計 309 項目が可能である。

令和 2 年度の遺伝学的検査だけでなく画像診断も含めたコーディネートと診断支援の実績：合計 103 件

D. 考察

指定難病や小児慢性特定疾病に該当するあるいは今後の候補である胎児・新生児骨系統疾患の診断において遺伝学的検査による診断は非常に重要である。しかし、骨系統疾患は非常に数が多くその遺伝子診断の情報の整理は非常に困難である。しかし、臨床検査としては平成 30 年 12 月から施行された改正医療法に基づいて適切に精度管理された衛生検査所あるいは医療機関の検査室において行われる遺伝学的検査が必要とされている。しかしながら、本邦では遺伝子診断を商業ベースで行なっている施設が非常に限られている上に対応可能な遺伝子も非常に少ない。そこで実際は研究ベースで実施している研究室に依存している現実がある（当然ながら臨床検査として精度管理されていないためあくまで臨床においては参考としての扱いになる）。しかし、現実的に他に選択肢は限られている上、研究室においてはボランティアであるため人的経済的基盤は非常に脆弱である。さらには、研究である以上その意義づけなども重要となる。そこで国内国外の遺伝子解析に関わる情報収集を網羅的に行うことで遺伝子解析体制の現状を把握するとともにその整備を行ってきた。平成 30 年度に保険点数の見直し、令和元年度に項目の大幅拡充が実施され、令和 2 年春の診療報酬改定では保険収載された遺伝学的検査は D006-4 全部で 140 疾患あり、骨異系統疾患の遺伝学的検査はそのうち 10 疾患と商業ベースで実施可能な項目が増えた。また、保険だけでなく自費診療としての遺伝学的検査も増える傾向にある。特に今年度は商業ベースの遺伝学的検査可能となった項目が非常に多くなり、昨年度の 194 項目から 295 項目と非

常に充実した。しかし、その一方研究ベースで可能であった項目の中止など研究ベースの脆弱さを実感する場面もあった。全ての項目が精度管理された臨床検査として可能となるのが理想であり、引き続き実施体制の充実を目指してゆくことが重要と考える。

本年度は昨年度に引き続き遺伝学的検査だけでなく画像診断も含めたコーディネーターと診断支援体制も確立すべくコーディネーターを積極的に行った。

#### E. 結論

指定難病や小児慢性特定疾病に該当するあるいは今後候補になってくる胎児・新生児骨系統疾患の遺伝子診断のために代表的な疾患についての情報を収集し構築した検査体制データベースをアップデートし、活用した。また、診断支援体制の確立を目指し実施した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. Io S, Watanabe A, Yamada S, Mandai M, Yamada T. Perinatal benign hypophosphatasia antenatally diagnosed through measurements of parental serum alkaline phosphatase and ultrasonography. *Congenit Anom (Kyoto)* 2020 May 11. doi: 10.1111/cga.12374. Epub 2020 Jun 16. PMID: 32390219.
2. Kawasaki H, Yamada T\*, Wada T, Kosugi S. Current status and legal/ethical problems in the research use of the tissues of aborted human fetuses in Japan. *Congenit Anom (Kyoto)*. 60:166-174,2020
3. Tsuchiya M, Yamada T\*, Akaishi R, Hamanoue H, Hirasawa A, Hyodo M, Imoto I, Kosho T, Kurosawa K, Murakami H, Nakatani K, Nomura F, Sasaki A, Shimizu K, Tamai M, Umemura H, Watanabe A, Yoshida A, Yoshihashi H, Yotsumoto J, Kosugi S. Attitudes toward and current status of disclosure of secondary findings from next-generation sequencing: A nation-wide survey of clinical genetics professionals in Japan. *J Hum Genet.* 65:1045-1053,2020
4. Kawasaki H, Yamada T\*, Takahashi Y, Nakayama T, Wada T, Kosugi S. Epidemiology of birth defects in very low birth weight infants in Japan. *J Pediatr.* 2020 Jul 4:S0022-3476(20)30855-6. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.07.012. Online ahead of print. PMID: 32634406
5. Hayashi H, Tanishima S, Fujii K, Mori R, Okada C, Yanagita E, Shibata Y, Matsuoka R, Amano T, Yamada T, Yabe I, Kinoshita I, Komatsu Y, Akita H, Nishihara H. Clinical impact of a cancer genomic profiling test using an in-house comprehensive targeted sequencing

- system. *Cancer Sci.* 2020 Aug 8. doi: 10.1111/cas.14608. Epub ahead of print. PMID: 32772458
6. Kawasaki H, Yamada T\*, Takahashi Y, Nakayama T, Wada T, Kosugi S, The Neonatal Research Network of Japan. The short-term mortality and morbidity of very low birth weight infants with trisomy 18 or trisomy 13 in Japan. *J Hum Genet.* 66:273-285,2020. PMID: 32943740
7. Kondo T, Matsubara J, Pham Nguyen, Quy PN, Fukuyama K, Nomura M, Funakoshi T, Doi K, Sakamori Y, Yoshioka M, Yokoyama A, Tamaoki M, Kou T, Hirohashi K, Yamada A, Yamamoto Y, Minamiguchi S, Nishigaki M, Yamada T, Kanai M, Matsumoto S, Muto M. Comprehensive genomic profiling for patients with chemotherapy-naïve advanced cancer. *Cancer Sci.* 2020 Oct 2. doi: 10.1111/cas.14674. Epub ahead of print. PMID: 33007138.
8. Suzumori N, Sekizawa A, Takeda E, Samura O, Sasaki A, Akaishi R, Wada S, Hamanoue H, Hirahara F, Sawai H, Nakamura H, Yamada T, Miura K, Masuzaki H, Nakayama S, Kamei Y, Namba A, Murotsuki J, Yamaguchi M, Tairaku S, Maeda K, Kaji T, Okamoto Y, Endo M, Ogawa M, Kasai Y, Ichizuka K, Yamada N, Ida A, Miharuru N, Kawaguchi S, Hasuo Y, Okazaki T, Ichikawa M, Izumi S, Kuno N, Yotsumoto J, Nishiyama M, Shirato N, Hirose T, Sago H. Retrospective details of false-positive and false-negative results in noninvasive prenatal testing for fetal trisomy 21, 18 and 13. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020 Oct 27;256:75-81. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.10.050. Epub ahead of print. PMID: 33171421.
9. Umazume T, Yamada T, Furuta I, Iwano H, Morikawa M, Watari H, Minakami H. Morphofunctional Cardiac Changes in Singleton and Twin Pregnancies: A Longitudinal Cohort Study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2020 in press
10. 佐々木佑菜, 山田崇弘, 小杉眞司. ビスホスホネート製剤導入が骨形成不全症罹患児の両親に与えた影響の調査：質的研究の統合. *周産期医学.* 2020 in press
2. 書籍  
なし
3. 学会発表  
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし



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

## 骨形成不全症における成人期心血管合併症の研究

研究分担者 澤井 英明 兵庫医科大学教授

研究協力者 兒玉 祥彦 福岡市立こども病院医師

### 研究要旨

骨形成不全症は、1-2 万人に 1 出生に発生する先天性の骨系統疾患である。I 型コラーゲン遺伝子異常が主な原因であり、骨折が主な問題であることから、従来、その多くが整形外科や小児科領域で診療されており、内科的問題に関してはほとんど関心が払われてこなかった。しかし本疾患はコラーゲン遺伝子異常が本態であるため、特に成人期に血管脆弱性や心臓弁膜症が問題となり、文献的には大動脈拡張や弁膜症、脳動脈瘤、くも膜下出血についての症例報告が散見される。本研究は、心血管合併症の有病率について調査するものである。

### A. 研究目的

成人期の骨形成不全症患者における心血管合併症の頻度について明らかにし、患者の QOL 向上に貢献すること。

### B. 研究方法

医療機関において骨形成不全症と診断された 30 歳から 79 歳の患者を対象に、画像検査専門医療機関である医療法人豊智会 AIC 八重洲クリニックにて、心血管系の検査(心エコー、頭部 MRI および MRA)を実施することとした。患者会である「骨形成不全症友の会」に協力を依頼し、首都圏在住の患

者を中心にリクルートした。また東京大学附属病院内分泌内科にも協力を依頼し、同科通院中の骨形成不全症の患者にも広報して頂いた。なお、これまでに心血管系の疾患で加療された患者は除外した。

### (倫理面への配慮)

本研究は、特定非営利活動法人治験ネットワーク福岡の倫理審査委員会での承認に基づいて実施した。被験者として適切と思われる、研究参加を希望する者に対し、本研究について、倫理委員会で承認された説明文書を用いて十分な説明を行った。説明に際しては、質問する機会と研究に参加するか

否かを判断するための十分な時間を与えた。参加の有無により被験者の診断や治療について利益又は不利益になるようなことはなく、また、一旦同意した後に、同意を取り消すことも可能であり、同意を取り消したことにより、被験者に不利益になることもない旨、被験者に十分説明した上で、同意を取得した。取得した検査データは、氏名、住所、電話番号等の個人情報を消去し、代替する登録番号にて匿名化し、解析に用いた。

### C. 研究結果

2020年4月から患者の受付を開始した。これまで10数名から問い合わせを頂いたが、コロナウイルス感染拡大による受診控え等のため、実際に検査に至ったのは8名であった。男性2名(25%)、女性6名(75%)であり、年齢は中央値47.5歳(33—61歳)であった。重症度の内訳は、軽症(Sillance分類I型相当)2名(25%)、中等症—重症(Sillance分類III—IV型相当)6名(75%)であった。本研究で実施した心エコーで、異常所見のあった患者は0名(0%)であった。頭部MRIで異常所見のあった患者は3名(37.5%)であり、全例が頭蓋底陥入症であった。頭部MRAで異常所見のあった患者は1名(12.5%)であり、内頸動脈瘤であった。なお患者登録段階で、定期的なフォロー医療機関のある患者は6名(75%)であったが、内科的なフォローを受けていたのは3名(37.5%)にとどまった。

### D. 考察

骨形成不全症患者を対象とした心エコーの報告としては、単施設で99名の成人患者

を対象としたものが最大である<sup>(1)</sup>。この研究では平均43.9歳の患者を対象に検査を行い、大動脈弁輪径、Valsalva洞径、STJ径、上行大動脈径はいずれも正常対照群より有意に大きく、弁膜症も多く、この傾向は、特に骨形成不全症の重症度の高い例で顕著であった。今回の研究では、コロナウイルス感染拡大の影響もあり十分な患者数を確保することができておらず、明らかな傾向は見出だせていないが、症例数を蓄積することで、同様の傾向が明らかになる可能性があると考えている。また脳動脈瘤に関して、これまでに横断的研究の報告はないが、過去に症例報告7例のまとめ<sup>(2)</sup>をはじめとして、症例報告は散見されている。上述の通り骨形成不全症患者での脳動脈瘤の罹患率は高いと予想しているが、今回の8例では、1例に内頸動脈瘤を認めるのみであった。この点に関しても、今後十分な症例数を蓄積することで、有病率を明らかにしていきたいと考えている。また、今回は研究対象としていなかったが、頭部MRIにて頭蓋底陥入症を3例に認め、全例で、これまでに指摘を受けていなかった。3名とも無症状であったが、専門施設での継続的な経過観察を依頼した。骨形成不全症の患者における頭蓋底陥入症は、すでに広く知られた合併症であるが、この結果からは、骨形成不全症患者において、骨折以外の合併症に対して十分なフォローが受けにくい現状も明らかとなったと考えている。

1) Am Heart J 2011;161:523-9

2) Neurochirurgie. 2016;62:317-320

### E. 結論

骨形成不全症の患者は、成人期に心血管系

合併症を有する頻度が高い可能性がある。 なし  
引き続き研究の継続が必要である。

F. 健康危険情報  
なし

3. その他  
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Systemic-to-Pulmonary Collateral Flow Correlates with Clinical Condition Late After the Fontan Procedure. Kodama Y, Ishikawa Y, Kuraoka A et al. Pediatr Cardiol. 2020 Dec;41(8):1800-1806.
- Exertional Angina in a Child With Single Right Coronary Artery and Septal Course of the Left Anterior Descending Artery - A Rare Cause of Angina. Kodama Y, Ezaki H, Ishikawa Y et al. Circ J. 2020 Oct 23;84(11):2034.

2. 書籍  
なし

3. 学会発表 主なもの最大で10演題まで

- 「心外導管法を用いた Fontan 手術における中遠隔期合併症」第 56 回日本小児循環器学会 2020.11

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録