

平成30年度海外留学補助金交付対象研究に関する経過・成果報告書

研究テーマ「低ホスファターゼ症（HPP）における腎石灰化の病態の検討」

Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute

木下 祐加

目的

低ホスファターゼ症（HPP）は、組織非特異的アルカリホスファターゼ（TNAP）をコードする ALPL 遺伝子の機能喪失変異を原因とし、骨石灰化障害によるくる病や骨軟化症、歯牙形成異常を呈する疾患である（Proc Natl Acad Sci USA, 1988）。TNAP 遺伝子の変異の種類によって重症度は異なり、胸郭形成不全のために生直後から人工呼吸管理を必要とする重症例、くる病や成長障害を呈する小児期発症例、繰り返す骨折を契機に診断に至る成人例など臨床像は様々である。近年、骨標的酵素補充療法である Asfotase alfa による治療が可能となり、小児発症 HPP 症例の生存率および骨合併症の著明な改善が報告されている（N Engl J Med, 2012）。一方で、小児期から Asfotase alfa 治療を受けている患者の長期予後、成人例に対する Asfotase alfa の有効性については、今後の検討が必要である。

TNAP はヒトでは骨、肝臓、腎臓に多く発現し、骨では石灰化抑制因子であるピロリン酸（PPi）を分解することによって骨石灰化を促進すると考えられている（Calcif Tissue Int, 2015）。一方で、腎臓に発現する TNAP の局所的作用および全身への影響については明らかではない。また、一部の HPP 患者において、骨以外の合併症として腎石灰化が認められることが報告されている（Lancet Diabetes Endocrinol, 2019）。本検討では、腎臓に発現する TNAP の作用、HPP 患者の腎合併症の病態、TNAP と軟部組織の石灰化の関連を明らかにすることを目的に、マウスモデルを用いた検討を行った。

研究経過

1. 腎尿細管特異的 TNAP ノックアウトおよび過剰発現モデルの解析

TNAP は腎臓では主に近位尿細管に発現することから、Cre-loxP システムを用いて尿細管特異的 TNAP ノックアウト（cKO）及び TNAP 過剰発現（cOE）マウスを作成した。その結果、cKO マウスで尿中ピロリン酸（PPi）濃度の上昇、cOE マウスで尿中 PPi 濃度の低下を認め、腎尿細管において TNAP が PPi 代謝に関与していることを確認した。また、cKO マウスで血中 ALP 活性の低下、cOE マウスで血

中 ALP 活性の上昇を認めた。現在、液体クロマトグラフ (HPLC) を用いた血中 ALP アイソフォーム分析および骨表現型の解析を行っている。

2. TNAP ノックアウトマウスの腎合併症の検討

TNAP ノックアウトマウスは小児発症 HPP モデルマウスであり、無治療ではほぼ全例が生後 2 週間以内にビタミン B6 欠乏性けいれんを発症し死亡する (Developmental Dynamics 1997)。そこで、酵素補充療法 (Asfotase alfa) あるいは骨標的 TNAP 発現ウイルスベクターを投与した TNAP ノックアウトマウスを用いて、腎合併症の有無を検討した。酵素補充療法あるいはウイルスベクター投与により TNAP ノックアウトマウスの生存率及び骨表現型は改善したが、尿中 PPI 濃度は治療後も変わらず高値であった。腎臓の組織学的検査、ミネラルおよび PPI 代謝に関する遺伝子発現解析を行っている。

考察および今後の展望

腎臓における PPI 代謝が全身に及ぼす影響についてさらに検討をすすめる。また、全身の TNAP をノックアウトした後に腎尿細管にのみ TNAP を過剰発現させたマウスを作成し、生存率および骨格形成が TNAP ノックアウトマウスと比較して改善するかどうかを検討する。