

## 最近のトピックス

低ホスファターゼ症あれこれ  
(Hypophosphatasia)新潟大学歯学部口腔生化学  
織田公光, 伊藤将広Department of Oral Biochemistry,  
Niigata University, School Of Dentistry  
Kimimitsu Oda and Masahiro Ito

昨今、骨や結合組織疾患の原因遺伝子のクローニングラッシュという状況が続いている<sup>1</sup>。疾患原因遺伝子の同定により、遺伝子診断、出生前診断が可能になるばかりか、臨床像を分子レベルで理解する事が可能になることで治療面でもその意義は大きい。また、発症のメカニズムを明らかにすることは、骨や結合組織の形成、維持に関する我々の知識をさらに精密なものとするのに役立つことが期待される。低ホスファターゼ症は1948年にRothbunによりはじめて報告された常染色体遺伝疾患で、骨や歯などの硬組織に症状があらわれ、血液や組織でのアルカリホスファターゼ活性の低下をとまなう。臨床的には、周産期型 (perinatal), 幼児期型 (infantile), 小児期型 (childhood), 成人期型 (adult), そして歯牙のみに障害がでる odonto 型に分類されるが、また、臨床症状は低ホスファターゼ症に類似するが、血清の活性は正常値を示す pseudo 型も報告されている。1988年に初めて組織非特異型アルカリホスファターゼ遺伝子 (tissue-nonspecific alkaline phosphatase, TNSALP) の変異が幼児期型低ホスファターゼ症患者で報告され (患者は生後3カ月で死亡), 低ホスファターゼ症の原因遺伝子が確定した<sup>2</sup>。この患者はホモ型 (両親から受け継いだ一对の TNSALP 遺伝子に同一の変異を持つ) で、cDNA の711番目のグアノシンがアデノシンに突然変異した結果、162番目のアラニンがスレオニンに置換されていた (Ala162 → Thr)。口腔生化学講座で変異型 TNSALP の研究を開始した当時は10数例に過ぎなかったが、その後日本においても新規の遺伝子変異が次々に報告され1998年現在で40以上に達している<sup>3-8</sup>。これまでに知られた変異は点突然変異によるアミノ酸の置換が最も多いが、プロモーター領域やスプライスに関係した塩基の変異も報告されている。ホモ型は3例のみで、他は両親からそれぞれ異なる変異をもつ TNSALP 遺伝子を受け継いだ複合ヘテロ接合体である。低ホスファターゼ症は早期に発症するものほどその重症度は高く治療は困難である。周産期型、幼時期型はくる病様の症状を呈し致死性であるこ

とが多く、このような重症患者は産科や小児科などで見つかることがほとんどと思われる。一方、軽症型の小児期型、成人期型、odonto 型の患者の場合には、その症状は乳歯や永久歯の早期脱落や偽骨折であり、歯科や整形外科を受診することも多いと思われる。ところが歯科では一般に血液検査は行わないので、TNSALP の変異による歯の疾患はこれまで見過ごされている場合があるのではなからうか。低ホスファターゼ症は多くは劣性遺伝病であるため、キャリアーである両親は健常人と変わらなくても (両親の1対の遺伝子のうち、片方が正常であればもう一方が全く機能しなくても障害はでない), その子供は4分の1の確率でホモ型または複合ヘテロ接合体の重症例となる可能性がある。我々が病院を受診すると多くの場合生化学検査のために採血されるが、GPT や GOT とならんでアルカリホスファターゼ活性の測定は日常行われているので、考えてみると、これは毎日全国規模で低ホスファターゼ症患者のスクリーニングを実施していることと同じである。低ホスファターゼ症に対する医師、歯科医師を含めた社会の認識が高まれば、今後さらに潜在的な患者は多く見つかるであろうし、PCR, SSCP などの遺伝子疾患の診断に関係する技術の発達、簡便化にとまない新しい変異例の報告が増えるであろう。

さて、遺伝疾患の原因遺伝子が突き止められたとしても、患者の症状を分子病理学的に説明できるかというとは実は困難な場合が多い。低ホスファターゼ症もそうである。TNSALP 遺伝子の変異がどのような機序で重症の場合には骨格の石灰化不全として表現され、軽症の場合には歯の脱落や偽骨折として症状が現れるのだろうか。特定遺伝子の機能を研究する上で、当該遺伝子を破壊した影響を個体レベルで観察できるノックアウトマウスを用いた研究は遺伝病の解明に多くの寄与をしていることは周知の通りである。TNSALP 遺伝子に関しても海外の二つのグループによりノックアウトマウスが作出されたが、ヒトの重症例に対応するような骨格異常は認められなかった<sup>9,10</sup>。マウスでは別の酵素が石灰化における組織非特異型アルカリホスファターゼの機能の少なくとも一部を代償しており、進化の段階でこの代償作用がヒトでは失われたのかも知れない。ラットやマウスではアスコルビン酸 (ビタミンC) を生合成できるが、ヒトでは進化の途上で関与している酵素が欠損したために壊血病を発症することは良く知られている。いずれにしても低ホスファターゼ症の疾患モデル動物が手に入らないことが、この病気の発症メカニズムの研究をより難しくしている。口腔生化学講座では最終的には低ホスファターゼ症

の解明を視野におきながらも、まず遺伝子の変異が TNSALP の酵素蛋白質にどのような影響を及ぼすかというごく基礎的な研究を進めている。重症例で報告されたミスセンス突然変異（アミノ酸置換, Ala162→ Thr, Gly317→ Asp）2例について検討を終えているが、予期したとおり変異酵素の触媒活性は失われているか、あるいは著しく低下しており、従って、本酵素の触媒活性の低下が低ホスファターゼ症の発症に関係していることは間違いのないことだと考えられる<sup>11,12</sup>。しかし、野生型酵素と同じく細胞表面に局在するという予想に反して、変異酵素のほとんどは合成後小胞体で急速に分解されていることが判明し、現在、軽症例で見つかった変異酵素を含めて様々な症例で報告された変異酵素の検討をさらに続けている。変異酵素をコードする cDNA を哺乳動物の細胞に遺伝子導入し、その後に発現した変異酵素を分子細胞生物学的に解析する今のアプローチは変異酵素の性格づけはできるものの、どこまで低ホスファターゼ症の解明に迫れるのか、また石灰化における本酵素の役割を分子レベルで明らかにすることができるか否かいささか心許ない。問題解決には新たな観点から取り組む必要がありそうである。

- 1) 松井好人, 木村友厚, 安井夏生: 解明された骨系統疾患と原因遺伝子の対応。細胞工学 vol17, No3: 363-371, 1998
- 2) Weiss, M. J., Cole, D. E. C. et al: A missense mutation in the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene causing a lethal form of hypophosphatasia. Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 7666-7669, 1988
- 3) Orimo, H., Hayashi, z., et al.: Novel missense and frameshift mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene in a Japanese patient with hypophosphatasia. Hum. Mol. Genet. 3: 1683-1684, 1994
- 4) Ozono, K., Yamagata, M., et al.: Identification of novel missense mutations (Phe310Leu and Gly 439 Arg) in a neonatal case of hypophosphatasia. J. Clin. Endocrinol. Metab. 81: 4458-4461, 1996
- 5) Orimo, H., Goseki-Sone, M., et al.: Detection of deletion 1154-1156 hypophosphatasia mutation using TNSALP exon amplification. Genomics, 42, 364-366, 1997
- 6) Goseki-Sone, M., Orimo, H. et al.: Hypophosphatasia: Identification of five novel missense mutations (G507A, G705A, A748G, T1155C, G1320 A) in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene among Japanese patients. Hum. Mutat. Suppl 1: S263-267, 1998
- 7) Sugimoto, N., Iwamoto, S., et al.: A novel missense mutation of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene detected in a patient with hypophosphatasia. J. Hum. Genet. 43: 160-164, 1998
- 8) Mornet, E., Taillandier, A., et al.: Identification of fifteen novel mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP) gene in European patients with severe hypophosphatasia. Eur. J. Hum. Genet. 6: 308-314, 1998
- 9) Waymire, K. G., Mahuren, J. D. et al.: Mice lacking tissue non-specific alkaline phosphatase die from seizures due to defective metabolism of vitamin B-6. Nat. Genet. 11: 45-51, 1995
- 10) Narisawa, S., Frohlander, N., and Millan, J. L.: Inactivation of two mouse alkaline phosphatase genes and establishment of a model of infantile hypophosphatasia. Dev. Dyn. 208: 432-446. 1997
- 11) Shibata, H., Fukushi, M., et al.: Defective intracellular transport of tissue-nonspecific alkaline phosphatase with an Ala162-Thr mutation associated with lethal hypophosphatasia. J. Biochem. 123: 968-977, 1998
- 12) Fukushi, M., Amizuka, N., et al.: Intracellular retention and degradation of tissue-nonspecific alkaline phosphatase with a Gly317-Asp substitution associated with lethal hypophosphatasia. Biochem. Biophys. Res. Commun. 246, 613-618, 1998