

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591489

研究課題名(和文) ビタミンD欠乏症の発症リスクに関する網羅的遺伝子解析

研究課題名(英文) Association of vitamin D-related gene polymorphism with vitamin D deficiency.

研究代表者

北中 幸子 (Kitanaka, Sachiko)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：30431638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：小児期にビタミンDが不足すると、乳児けいれん、O脚、低身長、運動発達障害などを呈するビタミンD欠乏症を発症する。環境因子の変化により近年患者数が増加しているが、環境因子だけで説明できない例も多く、遺伝性素因の検討を行った。その結果、ビタミンD受容体、ビタミンD結合蛋白、NAD合成酵素の多型に対照群と有意差がみられた。さらに特定のハプロタイプの関与が強く認められた。さらに、臨床的にビタミンD欠乏症の経過を呈する症例に遺伝性くる病が明らかとなり、遺伝子解析の有用性が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Vitamin D deficiency resulting in hypocalcemic seizures or rickets in children is increasing due to an insufficient intake of vitamin D and a lack of sunshine exposure. The prevalence of vitamin D deficiency is low compared to the large number of breastfed children with low serum levels of 25 OH D. In this study, we analyzed the genetic predisposition for the onset of vitamin D deficiency. We analyzed polymorphisms in vitamin D related genes in patients with vitamin D deficiency and controls in Japan. We found differences in the polymorphisms or haplotype of VDR, GC, and NADSYN1 genes, suggesting that genetic factors may predispose to vitamin D deficiency to some extent. We further detected congenital rickets in some patients clinically presenting as vitamin D deficiency. Gene analysis may be very useful in the diagnosis of rickets.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 小児科学

キーワード：ビタミンD欠乏症 くる病 疾患感受性遺伝子 遺伝子多型

## 1. 研究開始当初の背景

ビタミンDは生体に欠かすことができない因子である。小児期にビタミンDが不足すると、血中のカルシウムレベルを維持できなくなり、低カルシウム血症や骨の石灰化障害によりくる病となる。くる病の症状は、O脚や関節部膨大などの骨の変形、低身長、運動発達遅延である。乳児期には、低カルシウム血症により突然の全身性けいれんという非特異的症候で発症するため、診断や治療が適切に行われにくいこともある。近年、世界的にビタミンD欠乏症が増加している。その原因として、母乳栄養の推進、紫外線の害が強調されるための紫外線不足、アレルギーなどによる食事制限が三大環境要因である。我が国でもビタミンD欠乏症は増加しており、全国的に報告が相次いでいる。また一方で、ビタミンD不足と関連する疾患が近年次々と明らかになっている。それには骨粗鬆症を始め、大腸癌・乳癌・前立腺癌などの悪性腫瘍、糖尿病や多発性硬化症などの自己免疫疾患、結核などの感染症、精神疾患など多くの疾患がある。そのため、生涯をとおしてビタミンD不足をなくすことが、くる病だけでなく多くの疾患発症の予防さらには死亡率の低下に寄与すると考えられている。紫外線の害の情報が普及した現在、ビタミンD欠乏は、世界的に、そして全年齢を通して重要な課題であり、ビタミンD欠乏症の発症の機序や予防法がわかれば、多くの疾患の発症予防につながる可能性がある

## 2. 研究の目的

我々はこれまでに、遺伝性くる病の原因遺伝子を同定し、多数のくる病の遺伝子解析を行ってきた。それにより、国内外から多くのくる病症例についての相談がよせら

れ、かなりの割合が、ビタミンD欠乏性くる病であることを診断してきた。しかし病歴を詳細に検討してみると、多くの症例では何らかの環境要因を有している一方で、ビタミンD欠乏となる環境要因がはっきりしない症例もあることに気づいた。また、同様の環境要因の中であっても実際にくる病を発症する例は限られていることへの疑問がわいてきた。成人の骨疾患である骨粗鬆症も環境要因によると考えられていたが、実は骨密度の半分以上は遺伝的要因によって規定されることがわかってきた。骨粗鬆症では多くの遺伝子多型との関連解析やゲノムワイド関連解析が多数行われ、疾患感受性遺伝子が同定されてきた。骨粗鬆症以外にも、環境要因によると考えられていた多くの疾患において、遺伝因子の関与が明らかとなってきている。

このように、ビタミンD欠乏症には、臨床的に環境要因だけでは説明できないところがあること、多くの環境要因に起因する疾患で疾患感受性遺伝子が明らかになっていることから、ビタミンD欠乏症にも遺伝性素因が関与するのではないかと考え、ビタミンD欠乏症の疾患感受性遺伝子を同定することを着想した。そこで、本研究では、ビタミンD欠乏症の発症リスクに関連する遺伝子を同定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

全国よりビタミンD欠乏症の症例と正常対照を集積する。その臨床情報から、ビタミンD欠乏症の診断を確認し、遺伝性くる病や二次性くる病の可能性を検討する。遺伝性が疑われた際は、疾患原因遺伝子の全長の解析を行う。さらに未知のビタミンD代謝作用経路の異常によるものを考え、関連遺伝子の全遺伝子配列の解析を行う。疾患群と対照群においてSNP解析を行い、発症に関わる遺伝子の解析を行う。有意差

のある遺伝子多型が同定できた場合は、その遺伝子多型の有無と臨床所見の関連性を検討する。

#### 4 . 研究成果

ビタミン D 欠乏症群と対照群とを比較して解析した結果、ビタミン D 受容体、ビタミン D 結合蛋白、NAD 合成酵素の多型に有意差がみられた。ビタミン D 受容体については、有意差のあった多型が隣接しており、ハプロタイプ解析を行った。その結果、4 つの多型のハプロタイプを用いると、特定のハプロタイプには、オッズ比 5.6 (95%信頼限界 1.92-16.40) のリスクがあることがわかった。さらに、これらの多型の有無と臨床症状の関連性を検討した。発症年齢、環境要因の数、血中カルシウム濃度、血中 25(OH)D 濃度、血中 1,25-dihydroxyvitamin D 濃度について検討を行ったが、いずれも有意差は認められなかった。一方、ビタミン D 欠乏蛋白と NAD 合成酵素は、血中ビタミン D 濃度と関連することがわかっている多型である。これらの結果から、ビタミン D 欠乏症の発症には、遺伝因子の関与があると考えられた。つまり、ビタミン D 結合蛋白と NAD 合成酵素による血中ビタミン D 濃度の低下に加え、ビタミン D 受容体の多型によって、欠乏によるビタミン D 作用の影響を受けやすい体質を生じていることが推察された。また、臨床的にビタミン D 欠乏症と同様の症状経過を呈する複数の症例において、遺伝性くる病であることが判明し、くる病における遺伝子解析の有用性が明らかとなった。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

1. Makita N, Isojima T, Kitanaka S, et al.

Painful thyroiditis and subsequent atrophic hypothyroidism after cord blood transfusion. *Thyroid* 10: 1157-8, 2011.

2. Nakagama Y, Isojima T, Kitanaka S, et al. Growth hormone deficiency: A possible complication of glucose transporter 1 deficiency? *Acta Paediatrica* 101: e259-262, 2012.

3. Kitanaka S, Isojima T, Takaki M, Numakura C, Hayasaka K, Igarashi T. Association of vitamin D-related gene polymorphisms with manifestation of vitamin D deficiency in children. *Endocr J* 59: 1007-1014, 2012.

4. Miyake N, Kitanaka S, et al. MLL2 and KDM6A Mutations in Patient with Kabuki Syndrome. *American Journal of Medical Genetics Am J Med Genet A*. 2013 ;161:2234-43.

5. Takeuchi M, Kitanaka S et al. Cephalhematoma and petechial rashes associated with acute parvovirus B19 infection: a case report. *BMC Infect Dis*. 2013;13:465.

6. Kim KS, Kitanaka S, et al. Endothelin Regulates Neural Crest Deployment and Fate to Form Great Vessels through Dlx5/Dlx6- independent Mechanisms. *Mech Dev*. 2013;130:553-66.

7. Kitanaka S. Updates on Rickets and Osteomalacia. Vitamin D dependency. *Clin Calcium*. 2013;23:1437-1443.

8. Isojima T, Kitanaka S et al. LMX1B Mutation with Residual Transcriptional Activity as a Cause of Isolated Glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29:81-8.

9. Isojima T, Kitanaka S et al. A recurrent de novo FAM111A mutation causes Kenny-Caffey syndrome type 2. *J*

Bone Miner Res. 2013 Aug 31.

10. Shiraishi M, Kitanaka S, et al. Validity of a self-administered diet history questionnaire for estimating vitamin D intakes of Japanese pregnant women. *Matern Child Nutr.* 2013 Oct 1.
11. 北中幸子 骨を丈夫にするためには～骨を丈夫にする運動はあるのか～ *チャイルドヘルス* 14: 1034-1037, 2011
12. 北中幸子 乳幼児のビタミン D 欠乏診断の指針・治療の指針 *総合臨床* 60: 306-307, 2011
13. 北中幸子 クローズアップ内分泌疾患くる病の診断と治療 *小児内科* 44: 583-587, 2012.
14. 北中幸子 くる病 *小児科学レクチャー* 3: 484-489, 2013
15. 北中幸子 ビタミン D 欠乏症 *小児内科* 45:1658-1661, 2013
16. 北中幸子 VDR 異常症(ビタミン D 依存性くる病 2 型) *ホルモンと臨床* 60: 571-576, 2012.

〔学会発表〕(計 40 件)

1. Hiwatari M, Isojima T, Kitanaka S, et al. Thyrotoxicosis After Unrelated Stem Cell Transplantation in a Patient with Acute Myelogenous Leukemia *ASPR* 2011.
2. 北中幸子、磯島豪、五十嵐隆 ビタミン D 欠乏症と関連する遺伝子多型の解析 第 84 回日本内分泌学会学術集会 2011.4.21-23, 神戸
3. 北中幸子、高木美奈子、磯島豪、五十嵐隆 ビタミン D 欠乏症の発症に関連する遺伝子の解析 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011.8.12-14、東京
4. 磯島豪、北中幸子、他 新規複合型ヘテロ接合性変異を認めた先天性無痛無汗症の 1 例 第 114 回日本小児科学会学術集会

2011.8.12-14、東京

5. 安田祐希、北中幸子、他 成長障害・運動発達の退行を主訴に受診したビタミン D 依存性くる病 I 型(第 2 報) 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011.8.12-14、東京
6. 齋藤祐、磯島豪、北中幸子、五十嵐隆 FGF23 関連遺伝性低リン血症性くる病の病因の検討 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011.8.12-14、東京
7. 北中幸子、磯島豪、他 日本人小児の血中ビタミン D 濃度に関する研究 第一報 第 45 回小児内分泌学会 2011.10.6-8 埼玉
8. 磯島豪、北中幸子、他 ビタミン D 依存性くる病 2 型に認められ転写活性化能を解析したビタミン D 受容体の新規複合ヘテロ接合体変異 第 45 回小児内分泌学会 2011.10.6-8 埼玉
9. 藤野修平、磯島豪、北中幸子、他 乳児期に糖尿病性ケトアシドーシスで発症した自己免疫性 1 型糖尿病の同胞例 第 45 回小児内分泌学会 2011.10.6-8 埼玉
10. 磯島豪、北中幸子、他 極低出生体重児における高 ALP 血症と身長予後について 第 9 回新生児未熟児学会シンポジウム 2011.11.13-15, 東京
11. 吉田賢弘、磯島豪、北中幸子、他 乳糜胸水を伴った Gorham-Stout Syndrome の 1 例 第 29 回小児代謝性骨疾患研究会 東京 2011.12.3
13. 野木森宣嗣、磯島豪、北中幸子、他 アトピー性皮膚炎に合併した恥骨・坐骨骨髄炎の 1 例 第 590 回日本小児科学会東京都地方会講話会 2012.3.10 東京
14. Isojima T, Kitanaka S, et al. LMX1B mutation with residual transcriptional activity as a cause of Nail-Patella-like renal disease. *ASPR* 2012
15. 磯島豪、北中幸子、他 ヘテロ接合体変異による優性阻害効果により発症したと考えられたビタミン D 依存性くる病 2 型の

- 1 家系 第 85 回日本内分泌学会学術集会  
2012.4.19-21, 名古屋
16. 北中幸子 21 世紀のビタミン D 不足  
- 子どもから大人まで - 第 84 回日本内  
分泌学会学術集会ランチョンセミナー  
2011.4.21-23, 神戸
17. 北中幸子 ワークショップ GHD のト  
ランジションをめぐる問題 実際 Forum  
on Growth Hormone Research 2011  
2011.10.15. 東京
18. 北中幸子 ビタミン D 関連遺伝子とく  
る病 ビタミン D 依存性くる病からビタミ  
ン D 欠乏症まで 第 85 回日本内分泌学会学  
術集会クリニカルアワー 2012.4.19-21,  
名古屋
19. 野木森宣嗣、磯島豪、北中幸子、他 ア  
トピー性皮膚炎に合併した恥骨・坐骨骨髄  
炎の 1 例 第 590 回日本小児科学会東京都  
地方会講話会 2012.3.10 東京
20. Isojima T, Kitanaka S, et al. LMX1B  
mutation with residual transcriptional  
activity as a cause of Nail-Patella-like  
renal disease. Congress of Asian Society  
for Pediatric Research 2012
21. 磯島豪、北中幸子、他 ヘテロ接合体変  
異による優性阻害効果により発症したと考  
えられたビタミン D 依存性くる病 2 型の 1  
家系 第 85 回日本内分泌学会学術集会  
2012.4.19-21, 名古屋
22. 磯島豪、北中幸子、他 組織学的に  
nail-patella 症候群腎症を呈し、外表所見  
のない nail-patella-like renal disease  
に認められた LMX1B 機能低下型新規変異  
第 47 回日本小児腎臓病学会学術集会  
2012.6.29
23. 北中幸子、磯島豪、他 FGF23 遺伝子変  
異を同定した常染色体優性遺伝低リン血症  
性くる病の本邦初家系 第 30 回日本骨代  
謝学会 2012.7.19-21、東京 口演
24. 磯島豪、北中幸子、他 極低出生体重  
児における新生児期のカルシウム・リン代  
謝と身長予後についての検討 第 46 回小  
児内分泌学会 2012.9.27-20. 大阪
25. 高木美奈子、磯島豪、北中幸子、他  
FGF23 遺伝子変異による常染色体優性低リ  
ン血症性くる病の本邦初報告家系 - 血中  
FGF23 値と無症状例について - 第 46 回小  
児内分泌学会 2012.9.27-20. 大阪
26. 沼倉周彦、北中幸子、他 経時的にコル  
チゾール分泌能が低下した POR 異常症の一  
例 第 46 回小児内分泌学会 2012.9.27-20.  
大阪
27. 高橋千恵、磯島豪、北中幸子、他 日本  
人小児の血中ビタミン D 濃度に関する研究  
第二報 第 46 回小児内分泌学会  
2012.9.27-20. 大阪
28. 北中幸子 Gowers 徴候を呈したビタミ  
ン D 欠乏性くる病 第 598 回日本小児科学  
会東京都地方会講話会 2013.2.9 指定発  
言
29. 田中裕之、磯島豪、北中幸子、他 社会  
的性の決定に 6 か月を要した左心低形成症  
候群を合併した 46,XY 性分化疾患の 1 例  
第 116 回日本小児科学会学術集会、広島  
2013.4/19-21
30. 北中幸子、磯島豪、他 非典型的遺伝型  
式を示したビタミン D 依存性くる病 2 型  
極めて稀な 12 番染色体片親性ダイソミー  
の可能性 第 86 回日本内分泌学会学術集  
会 2013/4/25 - 27 仙台
31. Tsuyoshi Isojima, Sachiko Kitanaka et  
al. Hereditary vitamin D-resistant  
rickets inherited as a dominant trait  
caused by a novel vitamin D receptor  
mutation with dominant negative effect.  
Joint Meeting of Pediatric Endocrinology  
Milano. 2013.9.19 - 22
32. Mayuko Tamura, Tsuyoshi Isojima,  
Sachiko Kitanaka et al. Hereditary  
1,25-dihydroxyvitamin D-resistant

rickets with homozygous VDR mutation - an extremely rare case of maternal uniparental disomy of chromosome 12 detected by genome-wide SNP array. Joint Meeting of Pediatric Endocrinology Milano. 2013.9. 19 - 22

33. 磯島豪、北中幸子、他 次世代シーケンサーを用いた Kenny-Caffey 症候群 (KCS)2 型の原因遺伝子の同定 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013.10.10-12 東京

34. 田村 麻由子、磯島豪、北中幸子、他 12 番染色体片親性ダイソミーによって発症したビタミン D 依存性くる病 2 型 SNP アレイ解析の有用性 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013.10.10-12 東京

35. 田村 麻由子 磯島豪、北中幸子、他 先天性心疾患を合併する骨形成不全症に対するパミドロネート治療の経験 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013.10.10-12

36. 藤澤佑介、磯島豪、北中幸子、他 特発性若年性骨粗鬆症の 1 例 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013.10.10-12

37. 北中 幸子、田村 麻由子、磯島 豪、他 SNP アレイ解析が病因の解明に有用であった 12 番染色体片親性ダイソミーによるビタミン D 依存性くる病 2 型 第 58 回日本人類遺伝学会学術集会 仙台 2013.11.20-23

38. 磯島豪、北中幸子、他 次世代シーケンサーを用いた Kenny-Caffey 症候群 (KCS)2 型の原因遺伝子の同定 第 58 回日本人類遺伝学会学術集会 仙台 2013.11.20-23

39. 磯島豪、北中幸子、他 優性遺伝形式を示したビタミン D 依存性くる病 2 型 (HVDRR) の分子メカニズムの解明 第 31 回小児代謝性骨疾患研究会 2013.12.7 東京

40. 北中幸子 日光とくる病 シンポジウ

ム 小児内分泌疾患と環境因子 第 117 回日本小児科学会学術集会 2014.4.11 13 名古屋

〔図書〕(計 3 件)

1. 北中幸子 成長障害と内分泌疾患 小児科学 第 10 版 (五十嵐隆編集) pp.429-462 文光堂、東京、2011

2. 北中幸子 爪膝蓋骨症候群 (nail-patella 症候群) 別冊日本臨床 腎臓症候群 (第 2 版) 上 332-336 (2012.1.20) 日本臨床社

3. 北中幸子 思春期早発症 小児科診療ガイドライン 総合医学社 373-379, 2011.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

北中幸子 (KITANAKA SACHIKO)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：30431638

### (2) 研究分担者

磯島豪 (ISOJIMA TSUYOSHI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00568260