

低ALP血症 vs 低ホスファターゼ症

Hypophosphatasemia・Hypophosphatasia

渡邊 淳 Atsushi WATANABE

金沢大学附属病院 遺伝診療部/遺伝医療支援センター 特任教授
Division of Clinical Genetics, Support Center for Genetic Medicine, Kanazawa University Hospital (Professor)

キーワード ... 血清ALP、アイソザイム、JSCC法、IFCC法、低ALP血症、低ホスファターゼ症

01 はじめに

臨床検査項目の1つである血清ALP(アルカリホスファターゼ)は、AST、ALT、LD、CKとともに逸脱酵素の一つである。日本において血清ALPは、2020年にALP測定試薬が JSCC(日本臨床化学会)法からIFCC(国際臨床化学連合)標準測定法に準拠した測定法への変更が進められ、基準範囲が変更された¹⁾。これまで、血清ALPは高値(高ALP血症)に注目されることが多かった。本稿では、血清ALPとともに、血清ALP低値(低ALP血症)の臨床的意義と低ホスファターゼ症について紹介する。

02 様々な側面を持つ血清ALP

ALPに関連する検査法として、血清ALP検査の他にALPアイソザイム、骨型ALP等が知られている。また、血清ALP検査値は、病的だけでなく生理的にも変動する。血清ALP検査値を評価・解釈する際には、これら様々な側面を有するALPの特性についても理解しておく必要がある。

血清ALPは、タンパク質の由来となる遺伝子が1つではない。血清ALPは複数の遺伝子産物(タンパク質)の集合体である(表1)。ヒトのALPをコードする遺伝子には、1)組織非特異型

表1 血清ALPタンパク質を構成する遺伝子群

遺伝子	アイソザイム		血清ALP高値	
	名称	由来	生理	病態
ALPL	ALP1	高分子ALP (肝胆管細胞膜と結合)	小児期	閉塞性黄疸(胆汁うっ滞)
	ALP2	肝型 (成人の主体)		転移性肝癌
	ALP3	骨型 骨芽細胞 (小児の主体)		細胆管炎 薬剤性肝障害 悪性腫瘍の骨転移 骨肉腫 骨折回復期 甲状腺機能亢進症 副甲状腺機能亢進症 整形外科手術
ALPP	ALP4	胎盤型	妊婦	肺癌・卵巣癌など
ALPI	ALP5	小腸型	食事:血液型B, Oの Lewis分泌型の食後	肝硬変
ALPG				

(遺伝子名:ALPL)、2)小腸型(遺伝子名:ALPI)、3)胎盤型(遺伝子名:ALPP)、4)生殖細胞型(類胎盤型、遺伝子名:ALPG)の4種が知られている。ALPL遺伝子(組織非特異型)は常染色体1番染色体の短腕(1p36.12)に位置するのに対し、他の3種の組織特異型酵素遺伝子はいずれも2番染色体の長腕(2q37.1)に近接して存在する。ALPL遺伝子産物である組織非特異型ALP(タンパク名:TNSALP)は別名、肝臓/骨/腎臓型とも呼ばれ、これらの臓器に強く発現し、体内にも広く発現しているが、他の3種の遺伝子は組織特異的に発現する。いずれのALPも約500残基のアミノ酸からなる糖タンパク質である。それぞれの遺伝子におけるアミノ酸レベルでのホモロジーは、組織非特異型ALP間では87~97%であり、組織非特異型ALPと胎盤型ALPでは74%となる。

糖蛋白であるALP分子は、異なる遺伝子由来の蛋白構造や翻訳後の糖鎖修飾の違いから、異なる臓器に由来するALPアイソザイムが存在する。アイソザイム間には電気泳動易動度、耐熱性、各種アミノ酸による阻害度、免疫交差反応などにかかなりの相違がみられ、相互の分別に利用されている。血清ALPを電気泳動すると、6種の分画に分離できる。正常血清では、ALPL由来のALP2型とALP3型の2種類のみ存在する。ALPアイソザイムのパターンの変化から障害臓器の推定、病態解析が可能となる。ALP3型に該当する骨型ALP(BAP)は、ALPアイソザイムとは別の手法である特異的なモノクローナル抗体による免疫学的方法(CLEIA(化学発光酵素免疫測定法))で測定される骨形成マーカーでもあり、骨粗鬆症の病態の把握に有用である骨代謝マーカーの1つである。

血清ALP値は個人の年齢や性、ライフステージにより生理的

変動をきたす検査項目として知られている。それぞれの状況により、該当する遺伝子の発現量が増え、血清ALP値が変動する。成長期には骨のALPL遺伝子発現量、すなわちアイソザイムALP3型が増加し、血清ALPの下限値は成人の3~5倍の値を示す。小児期において、血清ALPが異常値かどうかの判定は、成人基準値では対応できず、性別、年齢別の基準範囲の提案もある(図1)。また、血液型がB型やO型の人は食後に小腸でALPI遺伝子が発現し、食後血清でALPアイソザイムを分析するとALP5型を認め、血清ALP値が上昇する。妊娠中には胎盤がつくるALPP遺伝子発現量、すなわちアイソザイムALP4型が増え、時期によっては成人基準値の2~3倍になる。

03 日本における血清ALP測定方法 —JSCC法からIFCC法へ

血清ALPは、2019年までは日本固有の方法(JSCC法)で測定されていた。JSCC法とIFCC法の違いは、各測定法で使用する緩衝液(アミノアルコール)が異なることによる。血清ALPを構成するタンパクのうち小腸型ALPはJSCC法では検出されやすい性状を有する。また前述のとおり、生理的変動の影響をうけることで血清ALP値は病態に関係なく高値(偽陽性)となり、基準範囲を上回る異常値を示す場合がある。この状況は臨床医にとっても、患者や健診受診者にとっても好ましくない。これらの問題を解決するため、2020年4月国際標準法である国際臨床化学連合(IFCC)法への切り替えが実施された^{1,2)}。今回の変更は、国際標

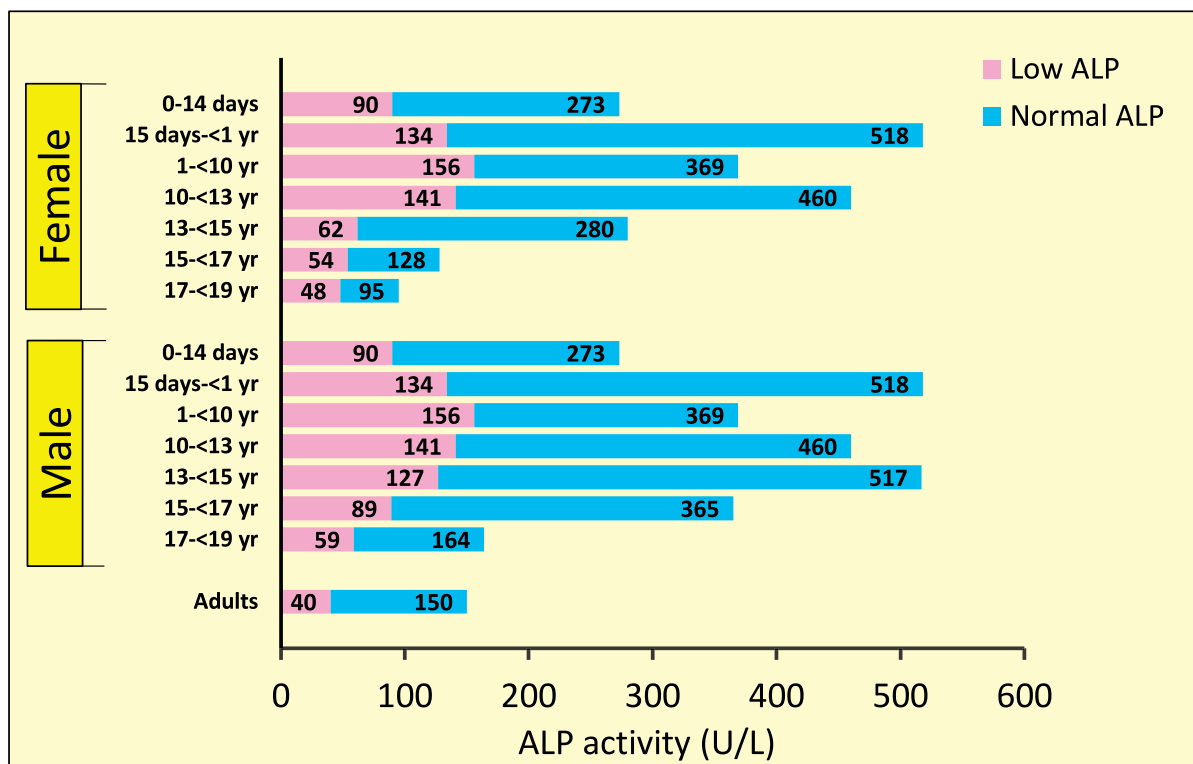


図1 年齢別血清ALP基準範囲 例 (IFCC法)

準法に準拠する形式となり、国際治験や論文発表において日常検査結果をそのまま使用でき、研究成果の国際的発表の後押しにつながる事が期待される。

IFCC法による血清ALPの基準範囲(38~113 U/L)は、JSCC法による基準範囲(106~322 U/L)の約3分の1(換算:0.35倍)となり、経時的に測定し評価する場合にはどちらの方法で測定しているかの確認が必要となる。血清ALPの構成がほぼ肝型と骨型と仮定した検体でのIFCC法・JSCC法間の換算係数、換算式が示されている。小腸型ALP、胎盤型ALPについては、IFCC法とJSCC法の反応性が異なる。小腸型ALPの感度は、IFCC法ではJSCC法に比べて低いため、食事による偽陽性率が低くなり、肝型・骨型ALPの判別には有利になる。一方、胎盤型ALPは小腸型とは逆にIFCC法はJSCC法に比べて感度が高いという特徴がある。妊婦では胎盤型ALPが増加することにより、IFCC法で測定するとJSCC法による値の換算値よりも高めに測定される。小腸型ALPや胎盤型ALPの増加が想定される検体では、それぞれの測定法による実測値は換算値から乖離する傾向がある。

04 低ALP血症・低ホスファターゼ血症

血清ALP値は、高値についての病態が示されることが多い。血清ALPの基準範囲下限より低値を示す低ALP血症・低ホスファターゼ血症(hypophosphatasemia)はこれまであまり注目されていなかった。低ALP血症は、後述する血清ALPを構成する遺伝子の1つであるALPL遺伝子に病的変異を有する低ホスファターゼ症以外の疾患においても、様々な病態を反映している³⁾(表2)。ALPは亜鉛酵素であり、血清ALPは亜鉛欠乏の指標として有用である。血清ALPは、亜鉛欠乏症により生じる症状の1つである皮疹の出現に先立ち早期から低下する。血清ALPの測定は、亜鉛欠乏症の診断および治療効果判定に有効であると報告されている⁴⁾。低ALP血症は、疾患以外にも副腎皮質ステロイドや化学療法といった薬剤の影響を受け、重度の栄養不良などでも続発

表2 低ALP血症(低ホスファターゼ血症)を示す病態

疾患	薬剤	その他
低ホスファターゼ症	副腎皮質ステロイド	ビタミンD中毒
壊血病	化学療法	不適切な採血法(EDTA, シュウ酸塩)
マグネシウム欠乏症	クロフィブラート	大量輸血
亜鉛欠乏症		
多発性骨髄腫		
セリアック病		
悪性貧血または重度貧血		
ウィルソン病		
甲状腺機能低下症		
重度の栄養不良		

性に低下する。

低ALP血症を呈した際には、臨床症状等ほかの所見を踏まえて、血清ALPを経時的に複数回測定し低値が一過性でないことを確認し、原因を検索、鑑別することが必要である。ALP活性の測定には、不可欠金属としてZnが必要であるため、検体として通常血清で測定する。抗凝固剤としてEDTAが入った採血管を用いた血漿でALPを測定すると、見かけ上異常低値となる。症状がなくALPが低値であった場合には、採血管の種別を確認し、再採血も考慮する。小児期、妊娠中や骨折、肝疾患、整形外科手術では一過性にALP活性が上昇するため、本来の病態でALP活性が低下していてもマスクされる可能性がある。

05 低ホスファターゼ症(HPP)―日本に多い遺伝性疾患―血清ALP値低下に気づく第一歩

低ホスファターゼ症(hypophosphatasia:HPP)は、血清ALPを構成する遺伝子の1つであるALPL遺伝子に病的変異を来し、血清ALP活性が低下することにより発症する先天性代謝異常疾患、骨系統疾患に属する単一遺伝子病である。HPPは、無機ピロリン酸(Inorganic pyrophosphate, PPI)及びピリドキサル-5'-リン酸(Pyridoxal phosphate, PLP)等の生体内基質が蓄積し、全身の骨や歯の形成不全(骨の低石灰化、くる病様変化や歯の早期脱落など)、呼吸不全及び痙攣発作等の症状を呈する(図2)⁵⁻⁷⁾。HPPは、1948年にカナダ人医師のJ.C. Rathbunによって初めて報告された。

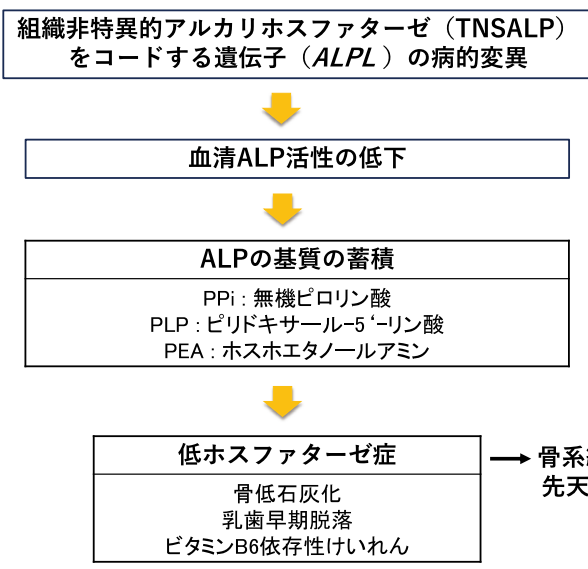


図2 低ホスファターゼ症

表3 低ホスファターゼ症の病型

病型		発症時期	遺伝形式
周産期 (Perinatal)	重症型	子宮内および出生時	AR
	良性型		AR or AD
乳児型 (Infantile)		生後6か月未満	AR
小児型 (Childhood/Juvenile)		生後6か月以上18歳未満	AR or AD
成人型 (Adulthood)		18歳以上	AR or AD?
歯限局型 (Odontohypophosphatasia)		あらゆる年齢	AR or AD
		臨床的異常は歯牙のみ	

AR 常染色体劣性遺伝 (ホモ接合体、コンパウンドヘテロ接合体)

AD 常染色体優性遺伝 (ヘテロ接合体)

HPPは、原因遺伝子は1つの遺伝子 (*ALPL*) だが、重症度や発症年齢に個人差があり、発症時期による病型が提唱されている。発症時期により、周産期重症型 (perinatal severe form または perinatal lethal form)、周産期良性型 (prenatal benign form、または perinatal benign form と呼ばれる)、乳児型 (infantile form)、小児型 (childhood form)、成人型 (adulthood form)、歯限局型 (odontohypophosphatasia) の6病型に分類される (表3)。国により病型の患者頻度が異なり、日本では周産期重症型が多く、HPPは胎児期に発見される骨系統疾患の鑑別疾患の1つに挙げられている。以前は周産期型を二分しない5病型分類が用いられていた。無治療であれば、周産期重症型はほぼ全例が、乳児型は約半数が死亡するとされていた。近年、周産期 (胎児期) 発症であっても出生後生命予後良好な周産期良性型の存在が明確になり、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。骨形成はライフステージで成長に関連することから、HPPにおける骨形成不全の症状は病型 (年齢) により特徴的かつ多彩である (表4)。乳歯の脱落は早期 (4歳未満) に生じるだけでなく、本症に特徴的な形態 (脱落した乳歯の歯根が残っている) を呈する。

低ALP血症は、HPPが疑われ診断する第一歩である。骨系統に症状を呈し基準範囲下限以下の血清ALP値が続く場合には、HPPを鑑別疾患に加えることが重要である。臨床的に低ホスファターゼ症が疑われた際には、まず低ALP血症があるかを確認するために、血清ALPの測定を行う。HPPの症状は血清ALP値が低いほど重く、また早期に発症する。HPPの中で最も重症な病型である周産期重症型HPPでは、血清ALP値はほとんどが10 U/L未満 (JSCC法、IFCC法) と非常に低くなるため、臨床症状を有していれば診断が可能である。HPP患者の血清ALP値は通常、基準範囲下限を下回るが、年齢・性別ごとに基準範囲は異なる (図1)。HPPの臨床症状は、より一般的な他の骨系統疾患 (例えば骨形成不全症) と類似しているため、血清ALP値から疑われないと見過ごされ、診断が遅れるケースがある。すなわち、小児期発症する小児型、歯限局型では、血清ALP値は100 U/L (JSCC法) 以上とある程度の値を有し、小児基準範囲下限より低い成人基準範囲内 (106~322 U/L) であることが多い。血清ALP値のアラート値の基準を成人基準範囲で設定すると、小児基準範囲下限より低くてもアラートが出ず診断の遅れにつながりうるため、注意が必要である。小児期においては血清ALPの年齢別基準範囲 (図1) の設定もあるが、年齢幅等の枠組みは様々である。血清ALPの基準範囲の設定は年齢別で難しくとも、指定難病におけるHPPの診断基準にある「成長期の小児の血清ALP値が300 U/L未満 (JSCC法) である場合は、本症を疑う必要がある」ようにカットオフ値を設けることも有用である⁸⁾。同様に米国では血清ALP値100 U/L未満 (IFCC法) をカットオフ値として提示している⁹⁾。

表4 HPP病型により異なる臨床像

病型	臨床像	歯病変	予後
周産期重症型	重度の骨石灰化障害、膜様頭蓋、呼吸障害、ビタミンB6依存性けいれん	N/A	治療が行われなければ、早期に死亡
周産期良性型	長管骨彎曲	+/-	良好
乳児型	くる病様骨変化、頭蓋骨縫合早期癒合症、発育障害、高カルシウム尿症・血症	乳歯の早期脱落	治療が行われなければ、約50%は早期に死亡
小児型	低身長、くる病様骨変化、歩容異常、骨痛、骨折	乳歯の早期脱落	良好
成人型	骨折、偽骨折、骨軟化症、骨密度低下、筋力低下、筋肉痛、関節痛、頭痛、偽痛風	+ ?	良好
歯限局型	症状は歯のみにとどまる	乳歯の早期脱落	良好

HPPでは、血清ALP低値以外に、尿中ホスホエタノールアミン (PEA) (尿中アミノ酸分析の項目にあり)、血中PPi、血中PLPが増加することが知られている。

胎児期に骨系統疾患が疑われHPPを鑑別する際、胎児のALP活性測定は難しいことから、保因者と推定される両親の血清ALP値の測定を行うことがある。HPP保因者(c.1559delTヘテロ変異)の中には、血清ALP値、ALPの基質である尿中PEAが成人基準範囲内を満たしている人もいる¹⁰⁾。両親の血清ALP値が基準範囲内であっても患児がHPPでないと断定することはできない。また、妊娠中は妊婦の血清ALPは生理的に上昇を来すため、妊婦がHPP保因者かどうかのスクリーニング法も検討されている¹¹⁾。

HPPの病型でみられる表現型(phenotype)の個人差は、患者で同定されたALPL遺伝子の病的変異の位置や組み合わせ(genotype)による酵素残存活性に関連すると考えられている。HPPの遺伝形式は、重症型では両アレル(ホモ接合体あるいはコンパウンドヘテロ接合体)に病的変異を有する常染色体劣性遺伝形式をとり、軽症型は劣性または優性の傾向がある。ALPL遺伝子の病的変異のうち日本人特有であるc.1559delTは酵素残存活性がほとんどなく、c.1559delTホモ接合体は周産期重症型と関連が強い。c.1559delT変異は他国での報告はなく、日本人の創始者効果であると考えられる。c.1559delT変異のヘテロ接合体(保因者)は日本人一般集団の480分の1の頻度で見られ、ホモ接合体となって周産期型HPPとして発症する割合は約100万分の1と推算される¹⁰⁾。これはc.1559delT変異ホモを有する周産期重症型HPPの患児が近親婚でない両親からも毎年生まれる根拠であり、日本人で胎児期にHPPが多い原因でもある。HPPの確定診断としては、病的変異の検出のため原因遺伝子であるALPL遺伝子の遺伝学的検査がある。HPPは、2015年1月から「小児慢性特定疾病」、さらに7月から難病法の対象となる「指定難病」の対象となり、医療費助成が受けられることになった。指定難病の申請には遺伝学的検査による確定診断が求められている。

HPPの根本的な原因であるALPの欠損を補い、骨を標的として欠乏したALPを補充する酵素補充療法として、アスホターゼ アルファが開発された。2015年7月、アスホターゼ アルファは日本において、「低ホスファターゼ症」を適応症として、世界に先駆けて認可、保険収載された^{12,13)}。アスホターゼ アルファは、TNSALPタンパクC末に、ヒト免疫グロブリンFcドメインと骨を標的にしたデカ(10個の)アスパラギン酸ペプチドを融合した、遺伝子組換えタンパク質製剤である。周産期重症型HPPにおいては、出生当日(day 0)からアスホターゼ アルファを週3回皮下注射することにより、骨症状の著明な改善がみられている¹⁴⁾。

HPPの酵素補充療法実施にあたっては、他の臨床検査値への影響が知られている。ALPは、臨床検査の酵素免疫測定法の二次抗体に標識する代表的な酵素として使用されている。HPP患者において酵素補充療法の治療中に採取した検体を用いて、ALPで標識した抗体が含まれる酵素免疫測定法を基盤とした臨床検査を実施すると、測定値に影響を与えることがある^{15,16)}。酵素補充療法を実施しているHPP患者において、臨床症状と乖離

する検査結果を認めた場合には、ALPを使用しない原理による測定法で再検査を行い、真の異常値か確認が必要となる。

06 おわりに

血清ALPの測定法がIFCC法に変更された機会を通して、低ALP血症ならびに低ホスファターゼ症について概説した。今回変更されたIFCC法により、血清ALP値は海外と同一の測定法となることから世界的に情報共有が可能となる。一方、継続して測定しているケースでは、これまでのJSCC法による検査値よりも約1/3となる等の特徴も反映した評価が必要である。本稿を通して、低ALP血症ならびに低ホスファターゼ症を知っていただくことで、診断の向上に繋がると幸いである。

参考文献

- 1) 日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会 ALP プロジェクト・LD プロジェクト . ALP・LD 測定法変更について — 医療従事者向け —, <http://jscc-jp.gr.jp/file/2019/alpld2.pdf> (参照 2021- 4-10).
- 2) 宮本 博康, ALP 測定試薬の JSCC 法から IFCC 法への切り替え—理解しておきたい特徴と変更に伴う注意点, *検査と技術* **48**(7), 674-678 (2020).
- 3) F. E. McKiernan, L. K. Shrestha, R. L. Berg, J. Fuehrer, Acute hypophosphatasemia, *Osteoporos. Int.* **25**(2), 519-523 (2014).
- 4) 児玉浩子, 板倉弘重, 大森啓充, 佐々木雅也, 山東勤弥, 篁 俊成, 布施養善, 細井孝之, 吉田 博, 亜鉛欠乏症の診療指針 2018, 日本臨床栄養学会 雑誌 **40**(2), 120 – 167, (2018). <http://jscn.gr.jp/pdf/aen2018.pdf> (参照 2021- 4-10).
- 5) 渡邊 淳, 低ホスファターゼ症, 遺伝カウンセリングマニュアル改訂第 3 版, 福嶋義光監修 (南江堂, 東京, 2016) pp. 212-216.
- 6) E. Mornet, M. E. Nunes (渡邊淳 訳) 低ホスファターゼ症, *GENEReviews* 日本語版, <http://grj.umin.jp/grj/hops.htm> (参照 2021- 4-10).
- 7) 日本小児内分泌学会, 低ホスファターゼ症診療ガイドライン (最終版の公開日: 2019 年 1 月 11 日) https://minds.jcqh.or.jp/docs/gl_pdf/G0001124/4/Hypophosphatasia_Clinical_practice_guidelines.pdf (参照 2021- 4-10).
- 8) 難病情報センター診断・治療指針 (医療従事者向け), 低ホスファターゼ症 (指定難病 172) <https://www.nanbyou.or.jp/entry/4565> (参照 2021- 4-10).
- 9) V. Saraff, V. K. Narayanan, A. J. Lawson, N. J. Shaw, M. A. Preece, W. Högl, A Diagnostic Algorithm for Children with Low Alkaline Phosphatase Activities: Lessons Learned from Laboratory Screening for Hypophosphatasia, *Pediatrics*, **172**, 181-186. e1, (2016).
- 10) A. Watanabe, T. Karasugi, H. Sawai, B. T. Naing, S. Ikegawa, H. Orimo, T. Shimada, Prevalence of c.1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasia in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers, *J. Hum. Genet.* **56**, 166-168, (2011).
- 11) Y. Takahashi, H. Sawai, J. Murotsuki, S. Satoh, T. Yamada, H. Hayakawa, Y. Kouduma, M. Sase, A. Watanabe, O. Miyazaki, G. Nihimura, Parental serum alkaline phosphatase activity as an auxiliary tool for prenatal diagnosis of hypophosphatasia, *Prenat. Diagn.* **37**(5), 491-496, (2017).
- 12) T. Kitaoka, T. Tajima, K. Nagasaki, T. Kikuchi, K. Yamamoto, T. Michigami, S. Okada, I. Fujiwara, M. Kokaji, H. Mochizuki, T. Ogata, K. Takebayashi, A. Watanabe, S. Yatsuga, T. Kubota, K. Ozono, Safety and efficacy of treatment with asfotase alfa in patients with hypophosphatasia: Results from a Japanese clinical trial, *Clin. Endocrinol.* **87**(1), 10-19 (2017).
- 13) P. S. Kishnani, E. T. Rush, P. Arundel, N. Bishop, K. Dahir, W. Fraser, P. Harmatz, A. Linglart, C. F. Munns, M. E. Nunes, H. M. Saal, L. Seefried, K. Ozono, Monitoring guidance for patients with hypophosphatasia treated with asfotase alfa, *Mol. Genet. Metab.* **122**(1-2), 4-17 (2017).
- 14) Y. Okazaki, H. Kitajima, N. Mochizuki, T. Kitaoka, T. Michigami, K. Ozono, Lethal hypophosphatasia successfully treated with enzyme replacement from day 1 after birth, *Eur. J. Pediatr.* **175**(3), 433-437, (2016).
- 15) A. G. Sofronescu, M. Ross, E. Rush, W. Goldner, Spurious testosterone laboratory results in a patient taking synthetic alkaline phosphatase (asfotase alfa), *Clin. Biochem.* **58**, 118-121 (2018).
- 16) I. D. Picc, B. Tompkins, W. D. Fraser, Interference of Asfotase Alfa in Immunoassays Employing Alkaline Phosphatase Technology, *J. Appl. Lab. Med.* **5**(2), 290-299 (2020).