



## Investigation of bone mineral density and the changes by enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease

能瀬, 勇馬

---

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2024-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8759号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100489984>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

## 学位論文の内容要旨

### Investigation of bone mineral density and the changes by enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease

ファブリー病患者における骨密度と酵素補充療法によるその変化についての検討

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

腎臓・免疫内科学分野 腎臓内科学部門

(指導教員：小川 渉教授)

能瀬 勇馬

## 【背景と目的】

ファブリー病は、四肢痛、皮膚病変、多汗症、心肥大などの心機能障害、蛋白尿や腎機能障害、脳血管病変を呈するX連鎖性の遺伝性疾患である。ファブリー病の有病率は新生児7,000人あたり約1例であるとされている。

$\alpha$ -ガラクトシダーゼの遺伝子変異がファブリー病の原因であることが知られており、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼの基質であるグロボトリニアオシルセラミド(globotriaosylceramide:Gb3)が全身臓器に蓄積することで、臓器障害が認められる。心筋細胞、血管内皮、糸球体の足細胞、尿細管細胞、汗腺の細胞、神経細胞はすべてGb3を蓄積する。近年、Gb3の誘導体であるグロボトリオシルスフィンゴシン(globotriaosylsphingosine:lyso-Gb3)がファブリー病の特異的バイオマーカーであり、症状を呈するファブリー病患者で有意に上昇することが報告された。酵素補充療法、シャペロン療法、遺伝子治療などの治療により、血漿中Lyso-Gb3濃度を低下させることができることが多くの研究で明らかにされている。

ファブリー病患者における臓器病変の報告は数多くあるが、ファブリー病患者における骨病変を報告した研究は少ない。また、骨密度とlyso-Gb3の関係や、骨密度に対するファブリー病の治療効果を評価した研究はなかった。

そこで本研究では、ファブリー病患者における骨密度とlyso-Gb3との関係、および骨密度に対する酵素補充療法の効果を検討することを目的とした。

## 【方法】

### 研究デザインと対象者

本研究は、2008年1月から2021年6月までに当科を受診した連続した24名の日本人ファブリー病患者(男性10人、女性14人)を対象とした後ろ向き観察研究である。全患者で $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性の低下を認め、ファブリー病と診断するために $\alpha$ -ガラクトシダーゼ遺伝子変異の遺伝子解析を行った。骨密度検査を施行していなかった5名の患者と、機能的多型であるE66Q変異を有する4名の患者は除外した。酵素補充療法の効果を分析するために、酵素補充療法開始前の骨密度のデータを持つ患者において2年後の骨密度の変化を評価した。

### 骨密度測定

標準プロトコルを用いて、L2-L4の平均値を腰椎骨密度として、全股関節の平均値を大腿骨骨密度として評価した。本研究では、若年患者の骨密度評価に使用することが提案されているZスコアを解析に使用した。測定は、ベースライン時と酵素補充療法開始2年後に実施した。

### $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性および血漿中lyso-Gb3濃度の測定

白血球中の $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性は、4-メチルウンベリフェリル- $\alpha$ -D-ガラクトシド、

N-アセチル-D-ガラクトサミンを用いた蛍光法で評価した。血漿中の lyso-Gb3 濃度は液体クロマトグラフ・タンデム質量分析法で測定した。

## 【結果】

### 患者背景

15名(男性7名、女性8名)のファブリー病患者について検討した。糖尿病の患者はいなかつた。女性は男性より有意に高齢で、糸球体濾過量は男性より有意に低かつた。男性は女性より  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性が有意に低く、血漿中の lyso-Gb3 濃度が有意に高かつた。15名の患者のうち、2名はすでに酵素補充療法を開始されていた。酵素補充療法を受けたことのない患者については、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ(アガルシダーゼ  $\alpha$  またはアガルシダーゼ  $\beta$ )を、それぞれ6名と7名に2週間ごとに静脈内投与した(投与量はそれぞれ 1mg/kg, 0.2mg/kg)。

### 男性患者と女性患者の骨密度の比較

男性は女性よりも腰椎および大腿骨の骨密度 Z スコアが有意に低かつた(腰椎 Z スコア:  $-1.9 \pm 2.0$  versus  $0.8 \pm 0.8$ ,  $P < 0.05$ ; 大腿骨 Z スコア:  $-1.0 \pm 1.4$  versus  $0.6 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ )。さらに、男性の骨密度は同年齢の平均骨密度より低かつたが、女性の骨密度は同年齢の平均骨密度より高かつた。

### 血漿中 lyso-Gb3 濃度と骨密度との相関

血漿中 lyso-Gb3 濃度は、腰椎および大腿骨の骨密度 Z スコアと負の相関を示した(腰椎,  $r = -0.85$ ,  $P < 0.01$ ; 大腿骨,  $r = -0.83$ ,  $P < 0.01$ )。さらに、男女別に血漿中 lyso-Gb3 濃度と腰椎および大腿骨骨密度 Z スコアとの関連を評価した。男性患者では、血漿中 lyso-Gb3 濃度は腰椎および大腿骨骨密度 Z スコアと有意な逆相関を示したが(腰椎:  $r = -0.92$ ,  $P < 0.01$ , 大腿骨:  $r = -0.91$ ,  $P < 0.01$ )、女性患者では相関が認められなかった。

### 酵素補充療法開始前後の血漿中 lyso-Gb3 濃度と骨密度の変化

酵素補充療法開始後、血漿中 lyso-Gb3 濃度は全例で有意に低下し、男性の方が女性よりも低下幅が大きかつた。15人の患者のうち、酵素補充療法を受けていた2人、骨粗鬆症治療薬を服用していた2人、および治療2年後の骨密度データがなかった1人は、骨密度変化の解析から除外した。酵素補充療法開始後の腰椎の骨密度 Z スコア( $\Delta Z$  スコア)の変化は、男性の方が女性よりも大きかつた。男性は女性よりも大腿骨の  $\Delta Z$  スコアが大きかつたが、有意差は認めなかつた。さらに、 $\Delta lyso\text{-}Gb3$  と大腿骨の  $\Delta Z$ -score の間には、男性において有意な相関が認められた。

## 【考察】

これまでに多くの研究がファブリー病患者の心臓、腎臓、脳血管の病変について報告しているが、骨病変について報告した研究はわずかである。過去のいくつかの報告では、ファブリー病男性患者の大部分は骨密度が低下していたが、閉経前の女性患者は骨密度の低下が認められなかつたと報告されている。これらの研究では、ファブリー病に関連するバイオマーカーと骨病変との関係は検討されていない。

ファブリー病における骨密度低下の病態機序はいくつか提唱されている。そのひとつが抗てんかん薬の使用であり、カルバマゼピンなどは、副甲状腺ホルモン、エストロゲン、カルシトニンなどのホルモンに悪影響を及ぼすだけでなく、ビタミンDの吸収と利用を低下させることが報告されている。男性ファブリー病患者の大半は強い疼痛のためそれらの薬剤を服用している。しかし、われわれの研究では、カルバマゼピンを服用していた男性患者は1名だけであった。したがって、骨代謝への影響は除外できると考えられた。また、尿毒症性毒素の蓄積、骨ミネラル代謝障害、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系や交感神経系の活性化など、腎機能障害に関連する因子が骨代謝異常に寄与することはよく知られている。これまでの研究では腎機能障害を有する患者を対象としていたため、腎機能低下に関連する因子が骨密度の低下に影響している可能性があった。しかし、我々の研究では高度腎機能障害を有する患者は除外した。さらに、ファブリー病患者は、強い痛みや低汗症のため、家に閉じこもり、日光に当たることを避ける傾向が強い。これらの因子は、骨密度の低下とビタミンD欠乏の一因となる可能性がある。ビタミンD欠乏症は、我々の研究においては、データは示していないが男女両方の患者に認められた。基礎研究においては、ファブリー病モデルマウスではビタミンD欠乏は認められず、尿細管障害による二次性副甲状腺機能亢進症により骨吸収が促進され、高リン尿症や高カルシウム尿症による骨軟化症が起こり、骨密度が低下するという報告がある。Gb3はファブリー病患者の様々な臓器に蓄積し、臓器障害を引き起すが、ある研究において、ファブリー病患者の大腿骨頭検体で質量分析を行い、Gb3が存在したと示された。さらに、免疫組織学的分析の結果、Gb3が血管内皮細胞、骨細胞、軟骨細胞に主に蓄積していることも報告された。したがって、骨組織におけるGb3の蓄積、および血管内皮細胞におけるGb3の蓄積による骨組織への微小循環障害が、骨病変の進行に寄与している可能性がある。我々の研究では、血漿中lyso-Gb3濃度は男性ファブリー病患者の骨密度と有意な相関があった。一般に、男性ファブリー病患者の血漿中lyso-Gb3濃度は女性ファブリー病患者よりも有意に高く、骨組織へのGb3の有意な蓄積を示唆している。これらのことから、ファブリー病における骨異常の発生には様々な要因が関与していると考えられるが、Gb3の蓄積が骨密度の低下に寄与している可能性があると考えられる。

いくつかの先行研究で、酵素補充療法が血漿中のlyso-Gb3濃度を低下させ、臓器や組織中のGb3を部分的に除去することが見出されている。したがって、酵素補充療法は骨組織におけるGb3の蓄積も減少させることができると考えられる。

### 【結論】

男性ファブリー病患者では腰椎骨密度と大腿骨骨密度が低下していた。骨組織への lyso-Gb3 蓄積に起因していること、酵素補充療法が男性ファブリー病患者の骨密度を改善する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 3330 号	氏名	能瀬 勇馬
論文題目 Title of Dissertation	<p>Investigation of bone mineral density and the changes by enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease</p> <p>ファブリー病患者における骨密度と酵素補充療法によるその変化についての検討</p>		
審査委員 Examiner	<p>主査 Chief Examiner</p> <p>副査 Vice-examiner</p> <p>副査 Vice-examiner</p>	<p>鈴津 寛人 千田 康一 黒田 良祐</p>	

(要旨は1,000字～2,000字程度)

**【背景と目的】**ファブリー病は、四肢痛、皮膚病変、多汗症、心肥大などの心機能障害、蛋白尿や腎機能障害、脳血管病変を呈するX連鎖性の遺伝性疾患である。ファブリー病の有病率は新生児7,000人あたり約1例であるとされている。ファブリー病患者における臓器病変の報告は数多くあるが、ファブリー病患者における骨病変を報告した研究は少ない。また、骨密度とlyso-Gb3の関係や、骨密度に対するファブリー病の治療効果を評価した研究はなかった。そこで本研究では、ファブリー病患者における骨密度とlyso-Gb3との関係、および骨密度に対する酵素補充療法の効果を検討することを目的とした。

**【方法】**本研究は、2008年1月から2021年6月までに当科を受診した連続した24名の日本人ファブリー病患者（男性10人、女性14人）を対象とした後ろ向き観察研究である。全患者で $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性の低下を認め、ファブリー病と診断するために $\alpha$ -ガラクトシダーゼ遺伝子変異の遺伝子解析を行った。酵素補充療法の効果を分析するために、酵素補充療法開始前の骨密度のデータを持つ患者において2年後の骨密度の変化を評価した。

**【結果】**15名（男性7名、女性8名）のファブリー病患者について検討した。糖尿病の患者はいなかった。女性は男性より有意に高齢で、糸球体濾過量は男性より有意に低かった。男性は女性より $\alpha$ -ガラクトシダーゼ活性が有意に低く、血漿中のlyso-Gb3濃度が有意に高かった。15名の患者のうち、2名はすでに酵素補充療法を開始されていた。酵素補充療法を受けたことのない患者については、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ（アガルシダーゼ $\alpha$ またはアガルシダーゼ $\beta$ ）を、それぞれ6名と7名に2週間ごとに静脈内投与した（投与量はそれぞれ1mg/kg、0.2mg/kg）。男性は女性よりも腰椎および大腿骨の骨密度\_Zスコアが有意に低かった（腰椎Zスコア： $-1.9 \pm 2.0$  versus  $0.8 \pm 0.8$ ,  $P < 0.05$ ；大腿骨Zスコア： $-1.0 \pm 1.4$  versus  $0.6 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ ）。さらに、男性の骨密度は同年齢の平均骨密度より低かったが、女性の骨密度は同年齢の平均骨密度より高かった。血漿中lyso-Gb3濃度は、腰椎および大腿骨の骨密度\_Zスコアと負の相関を示した（腰椎,  $r = -0.85$ ,  $P < 0.01$ ；大腿骨,  $r = -0.83$ ,  $P < 0.01$ ）。さらに、男女別に血漿中lyso-Gb3濃度と腰椎および大腿骨骨密度\_Zスコアとの関連を評価した。男性患者では、血漿中lyso-Gb3濃度は腰椎および大腿骨骨密度\_Zスコアと有意な逆相関を示したが（腰椎: $r = -0.92$ ,  $P < 0.01$ ；大腿骨: $r = -0.91$ ,  $P < 0.01$ ），女性患者では相関が認められなかった。酵素補充療法開始後、血漿中lyso-Gb3濃度は全例で有意に低下し、男性の方が女性よりも低下幅が大きかった。酵素補充療法開始後の腰椎の骨密度\_Zスコア（ $\Delta Z$ スコア）の変化は、男性の方が女性よりも大きかった。男性は女性よりも大腿骨の $\Delta Z$ スコアが大きかったが、有意差は認めなかった。さらに、 $\Delta$ lyso-Gb3と大腿骨の $\Delta Z$ -scoreの間には、男性において有意な相関が認められた。

**【考察】**これまで多くの研究がファブリー病患者の心臓、腎臓、脳血管の病変について報告しているが、骨病変について報告した研究はわずかである。基礎研究においては、ファブリー病モデルマウスではビタミンD欠乏は認められず、尿細管障害による二次性副甲状腺機能亢進症により骨吸収が促進され、高リン尿症や高カルシウム尿症による骨軟化症が起り、骨密度が低下するという報告がある。Gb3はファブリー病患者の様々な臓器に蓄積し、臓器障害を引き起こすが、ある研究において、ファブリー病患者の大腸骨頭検体で質量分析を行い、Gb3が存在したと示された。さらに、免疫組織学的分析の結果、\_Gb3が血管内皮細胞、骨細胞、軟骨細胞に主に蓄積していることも報告された。したがって、骨組織におけるGb3の蓄積、および血管内皮細胞におけるGb3の蓄積による骨組織への微小循環障害が、骨病変の進行に寄与している可能性がある。我々の研究では、血漿中lyso-Gb3濃度は男性ファブリー病患者の骨密度と有意な相関があ

った。一般に、男性ファブリー病患者の血漿中lys-Gb3濃度は女性ファブリー病患者よりも有意に高く、骨組織へのGb3の有意な蓄積を示唆している。これらのことから、ファブリー病における骨異常の発生には様々な要因が関与していると考えられるが、Gb3の蓄積が骨密度の低下に寄与している可能性があると考えられる。いくつかの先行研究で、酵素補充療法が血漿中のlys-Gb3濃度を低下させ、臓器や組織中のGb3を部分的に除去することが見出されている。したがって、酵素補充療法は骨組織におけるGb3の蓄積も減少させることができると考えられる。

**【結論】** 男性ファブリー病患者では腰椎骨密度と大腿骨骨密度が低下していた。骨組織へのlys-Gb3蓄積に起因していること、酵素補充療法が男性ファブリー病患者の骨密度を改善する可能性が世界で初めて示唆された。これまでにない意義深い知見を見出した研究であり、本研究者自身も本病態に精通し、研究内容の重要性を理解している。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。