

和歌山県立医科大学  
先端医学研究所  
分子医学研究部

## 慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常症の病態解明

### —今後の新規治療法開発に向けて—

#### 要旨

和歌山県立医科大学先端医学研究所分子医学研究部の坂口和成教授、河上和紀大学院生および武下愛特別研究員を中心とした共同研究グループは、慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常症において重要な働きをする二次性副甲状腺機能亢進症の発症機序に新たなメカニズムを発見した。

従来から、慢性腎臓病では、血中リン濃度の上昇、カルシウム濃度の低下、活性型ビタミン D 濃度の低下、二次性副甲状腺機能亢進症などをきたし、主に骨および心血管系に障害をもたらす骨ミネラル代謝異常が引き起こされることが良く知られている。これらの因子に加えて、最近では骨で産生される線維芽細胞増殖因子 23 (FGF23) が慢性腎臓病のごく初期から上昇することが分かってきた。FGF23 は腎臓・副甲状腺などで作用する。腎臓では、FGF23 はリン利尿を促すことにより体内でのリンの蓄積を阻害し、ビタミン D の活性化を阻害することは良く分かっている。しかし、副甲状腺に対する直接作用については議論のあるところであった。これまでの優勢な意見は副甲状腺ホルモンの分泌を抑制するというものであった。

今回、新規に作製および開発した、FGF23 の作用を副甲状腺特異的に阻害する遺伝子改変マウスおよび副甲状腺組織長期培養系を利用して、徹底的に FGF23 の副甲状腺に対する作用を検討した。その結果、慢性腎臓病の初期から上昇する FGF23 は副甲状腺細胞増殖を介してホルモン分泌を促進する、つまり二次性副甲状腺機能亢進症を悪化させることが判明した。これは通説とは異なるものであった。この結果は、慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝を改善するために、その初期から FGF23 をターゲットにした治療法が有効であることを示唆するものである。

本研究の成果は英国のオンライン科学雑誌「*Scientific Reports*」(2017 年 1 月 17 日付け)に掲載される。

## 背景

慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常は腎障害により引き起こされる血中リン濃度の上昇、カルシウム濃度の低下、活性型ビタミン D 産生の低下、副甲状腺ホルモン分泌の上昇、FGF23 産生の上昇などが複雑に絡み合って発症するものである。種々の因子が関与するため、単一の指標の是正だけでは病態を完全にコントロールすることはできない。また、一つの因子の値を変化させることによりその他の因子が変化するというフィードバック機構が存在するため、病態を完全に把握することは難しい。

この度は、慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常において重要な役割を果たしている二次性副甲状腺機能亢進症に FGF23 がどのような働きをしているのかに焦点を当てた。二次性副甲状腺機能亢進症という病態が低カルシウム血症、高リン血症や血中活性型ビタミン D の低下により引き起こされることはよく知られている。しかし、これらの因子の作用機序はほとんどの場合副甲状腺機能に対する抑制の解除という形で行われるため、腎臓病のごく初期からこの内分泌腺に積極的に作用する機能亢進症の原因は不明であった。

ホルモンの分泌亢進は、一細胞当たりの分泌が増加することでも、内分泌腺の細胞数が増えることでも起こりうる。一細胞当たりの分泌増加は分単位や時間単位の出来事であるが、細胞数増加を伴う分泌増加は日単位の出来事である。これらの事柄を分別した副甲状腺に関する研究が重要である。

2007 年にはラットの短期間副甲状腺組織培養系を用いて、FGF23 は副甲状腺ホルモン分泌を抑制するということが発表され、種々の矛盾があるにも関わらず世界中でこれが真実であると信じられてきた。私達は、FGF23 の作用に必要な受容体を遺伝子操作により副甲状腺特異的に欠損させること (PTcKO)、および副甲状腺組織の長期培養実験系を樹立すること、の二つの戦略を用いてこの結果の検証を計画した。

## 研究手法と成果

動物実験系では慢性腎臓病モデルマウスを作製し、腎摘出無しで通常食にて飼育した正常マウスと比較した。これらのそれぞれのマウス群にて PTcKO の有無 (PTcKO無しをPTnon-cKOと記す) による比較も実施した。比較項目は骨ミネラル代謝に関与するものを網羅し、遺伝子発現解析、生化学検査、組織学検査等により解析した。培養実験系では、PTcKO 群および PTnon-cKO 群から副甲状腺を単離し、コラーゲンゲル内に包埋して培養した。16時間の前培養後、MEM 培養液中で FGF23 添加有無の条件下にて培養液を24時間おきに交換しながら4日間培養した。時間単位および日単位の副甲状腺ホルモン分泌量を調べるとともに、4日間の組織培養直後の細胞増殖状態も解析した。

慢性腎臓病モデルマウスを用いた実験では、血中のカルシウム、リン、FGF23、及び 活性型ビタミンD 濃度は PTcKO の有無で有意差は認められなかった。しかし、正常マウスと比較して顕著に上昇した血中副甲状腺ホルモン濃度は PTcKO により有意に抑制された。副甲状腺細胞の増殖も PTcKO により抑制された。組織培養系では、FGF23 は時間単位の短期間では副甲状腺ホルモン分泌の抑制に働くが、日単位の長期間での作用は副甲状腺細胞の増殖をと副甲状腺ホルモン分泌促進であることが明らかとなった。PTnon-cKO マウス由来の副甲状腺において FGF23 添加培養4日目の副甲状腺ホルモン分泌は無添加コントロールと比べて著明に上昇したが、この上昇は PTcKO によりほぼ完全に抑制された。培養副甲状腺の増殖も PTcKO により抑制された。この長期培養系での結果は、慢性腎臓病モデルマウスにおける結果を支持するものである。これらの結果から、慢性腎臓病に伴う二次性副甲状腺機能亢進症の発症機序として FGF23 が副甲状腺細胞の増殖誘導を介して深く関わっていることが判明した。

#### 今後の期待

現在行われている慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常の治療は、リン摂取制限、リン吸着薬によるリン吸収の制限、活性型ビタミンDの補充、および副甲状腺のカルシウムに対する感受性を高める副甲状腺ホルモン分泌抑制薬の投与などである。これらに加えて FGF23 の分泌抑制薬ないしは FGF23 拮抗薬は今後の新治療法の一つとなりうる。ただし、この治療法は血中リンが高値となりうるため、これを補正する治療も併用する必要がある。

#### 論文情報

Kazuki Kawakami, Ai Takeshita, Kenryo Furushima, Masayasu Miyajima, Ikuji Hatamura, Makoto Kuro-o, Yasuhide Furuta & Kazushige Sakaguchi. Persistent fibroblast growth factor 23 signalling in the parathyroid glands for secondary hyperparathyroidism in mice with chronic kidney disease. *Sci. Rep.* 7, 40534; doi: 10.1038/srep40534 (2017)

## 共同研究者

和歌山県立医科大学 先端医学研究所 分子医学研究部

河上和紀、武下愛、古島謙亮、坂口和成

和歌山県立医科大学動物実験施設

宮島正康

関西医療大学 保健医療学部

畑村育次

自治医科大学 分子病態治療研究センター 抗加齢医学研究部

黒尾 誠

理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター

古田 泰秀

## 補足説明

### 副甲状腺

人では甲状腺の後方に4腺存在し、血中のカルシウムを調節するために必要なホルモンを分泌する。腎臓や骨に直接働いて瞬時にカルシウム濃度の調節をするのみではなく、腎臓での活性型ビタミンDの産生を高めて腸からのカルシウムの吸収を亢進させることにより長期的に血中カルシウム濃度を調節する。

### 二次性副甲状腺機能亢進症

副甲状腺ホルモンの分泌が、低カルシウム血症、高リン血症、活性化ビタミンD値の低下等により高まった状態である。慢性腎臓病ではこの状態が持続性であり、主として骨および心血管系に障害をもたらす。

### FGF23

23番目に見つかった線維芽細胞増殖因子群に属すホルモンであり、骨細胞から分泌される。腎においてリン利尿作用やビタミンD活性化阻害作用がある。