

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 248 号	氏名	生田かよ
題 目	Effect of Npt2b deletion on intestinal and renal inorganic phosphate (Pi) handling (腸管および腎臓でのリン代謝におけるNpt2b欠損の影響)		
<p>生体内リン (Pi)は、小腸、腎臓、骨を主要臓器とし、あらゆるホルモンの調節により恒常性が維持されている。Pi代謝調節機構の破綻による高Pi血症は、異所性石灰化や二次性副甲状腺機能亢進症などを招き、心血管疾患死亡のリスクファクターとして問題視されている。高Pi血症の治療において腸管からのPi吸収がターゲットとされ、中でも小腸に高発現しているナトリウム依存性PiトランスポーターNpt2bの機能抑制が高Pi血症の治療として有効である可能性が示唆されている。腸管でのPi吸収は、細胞間隙輸送とナトリウム依存性PiトランスポーターであるNpt2bが関与する経細胞輸送により担われていると考えられているが、その詳細な輸送メカニズムは未だ解明されていない。本研究では、タモキシフェン誘導性Npt2b conditional knockout mice (Npt2b CKO) マウスを作製し、腸管Pi吸収および全身性Pi代謝調節機構へのNpt2bの役割と影響を検討した。</p> <p>Npt2b CKOマウスは、Cre-loxPシステムを用いて作製し、タモキシフェン混餌投与によりクレリコンビナーゼ発現を誘導し、時期特異的にNpt2bを欠損させた。タモキシフェン投与群小腸下部においてNpt2bのタンパク質発現の消失が確認され、Npt2bタンパク質発現減少に伴い、小腸下部でのリン輸送活性も著しい低下がみられた。このことから、タモキシフェン投与によりCre-loxPシステムが活性化され、Npt2bが時期特異的に破壊されたことが確認できた。生化学的解析において、タモキシフェン投与群で血中Pi濃度の低下、イオン化カルシウムの増加、活性型ビタミンDの有意な増加がみられたが、腎近位尿細管NaPiトランスポーターNpt2aおよびNpt2cのタンパク質発現、およびPi輸送活性は、タモキシフェン投与の有無による変化はみられなかった。腸管管腔内Pi濃度を検討したところ、小腸上部では約1.5-2.0 mMのPiが存在し、小腸下部では0.5 mMである事が明らかとなった。また小腸上皮細胞付近のPi濃度は、食後3時間で40 mMと最も高く、小腸上皮細胞は常に高濃度のPiに曝露されていることが示された。次に、高濃度条件下でのPi輸送活性を反転小腸法により、検討したところ、タモキシフェン投与群小腸下部においてNpt2bCKOによるPi輸送活性への影響はみられなかった。細胞間隙輸送に関与すると考えられているClaudin familyの発現を検討したところ、タモキシフェン投与群小腸下部においてclaudin-2, 12, 15のタンパク質発現が有意に減少していることが明らかとなった。以上より、Npt2b欠損は食後の高濃度Pi環境下ではPi吸収に影響しない可能性が示唆された。</p> <p>本研究により、腸管に発現するPiトランスポーターNpt2bは低濃度Pi環境下での腸管Pi吸収に重要な分子であること、またNpt2bの欠損によるPi代謝異常がClaudinのようなタイトジャンクション分子の発現を制御している可能性が示唆された。</p>			

報告番号	甲 栄 第 248 号	氏名	生田 かよ
審査委員	主査 竹谷 豊 副査 河合 慶親 副査 原田 永勝		
題目	Effect of Npt2b deletion on intestinal and renal inorganic phosphate (Pi) handling (腸管および腎臓でのリン代謝におけるNpt2b欠損の影響)		
著者	Kayo Ikuta, Hiroko Segawa, Shohei Sasaki, Ai Hanazaki, Toru Fujii, Aoi Kushi, Yuka Kawabata, Ruri Kirino, Sumire Sasaki, Miwa Noguchi, Ichiro Kaneko, Sawako Tatsumi, Otoya Ueda, Naoko A. Wada, Hiromi Tateishi, Mami Kakefuda, Yosuke Kawase, Shuichi Ohtomo, Yasuhiro Ichida, Akira Maeda, Kou-ichi Jishage, Naoshi Horiba, Ken-ichi Miyamoto		
	平成29年10月13日 Clinical and Experimental Nephrology 受理済		
要旨	<p>生体内リン (Pi) は、小腸、腎臓、骨を主要臓器とし、様々なホルモンの調節により恒常性が維持されている。Pi 代謝調節機構の破綻による高 Pi 血症は、異所性石灰化や二次性副甲状腺機能亢進症などを招き心血管疾患死亡のリスクファクターとして問題視されている。高 Pi 血症の治療において腸管からの Pi 吸収がターゲットとされ、中でも小腸に高発現しているナトリウム依存性 Pi トランスポーターNpt2b の機能抑制が高 Pi 血症の治療として有効である可能性が示唆されている。腸管での Pi 吸収は、細胞間隙輸送と Npt2b が関与する経細胞輸送により担われていると考えられているが、その詳細な輸送メカニズムは未だ解明されていない。本研究ではタモキシフェン誘導性 Npt2b conditional knockout mice (Npt2b-CKO マウス) を作製し、腸管および腎臓での Pi 代謝における Npt2b の役割と影響を検討した。</p> <p>Npt2b-CKO マウスは、Cre-loxP システムを用いて作製し、タモキシフェン混餌投与により Cre-recombinase 発現を誘導し、時期特異的に Npt2b を欠損させた。タモキシフェン投与群の小腸下部において Npt2b のタンパク質発現の消失が確認され、Npt2b タンパク質発現減少に伴い、小腸下部での Pi 輸送活性も著しい低下がみられた。このことから、タモキシフェン投与により Cre-loxP システムが活性化され、Npt2b が時期特異的に破壊されたことが確認できた。生化学的解析において、タモキシフェン投与群で血中 Pi 濃度の低下やイオン化カルシウムの増加、活性型ビタミンDの有意な増加がみられたが、腎近位尿管ナトリウム依存性 Pi トランスポーターNpt2a および Npt2c のタンパク質発現と Pi 輸送活性は、タモキシフェン投与の有無による変化はみられなかった。腸管管腔内 Pi 濃度を検討したところ、小腸上部では 1.5-2.0 mM の Pi が存在し、小腸下部では 0.5 mM であることが明らかとなった。また小腸上皮細胞付近の Pi 濃度は、食後 3 時間で 40 mM と最も高く、小腸上皮細胞は常に高濃度の Pi に曝露されていることが示された。次に、高濃度条件下での Pi 輸送活性を反転小腸法により、検討したところ、タモキシフェン投与群小腸下部において Npt2b-CKO による Pi 輸送活性への影響はみられなかった。細胞間隙輸送に関与すると考えられている claudin family の発現を検討したところ、タモキシフェン投与群小腸下部において claudin-2、-12、-15 のタンパク質発現が有意に減少していることが明らかとなった。以上より、腸管に発現する Npt2b は高濃度 Pi 環境下では Pi 吸収に影響せず、低濃度 Pi 環境下での腸管 Pi 吸収に重要な分子であること、また Npt2b の欠損による Pi 代謝異常が claudin のようなタイトジャンクション分子の発現を制御している可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、腸管 Pi 吸収のメカニズムの一端を明らかにしたものであり、高 Pi 血症に対する新しい標的分子の探索に役立つことが期待されたことから、博士 (栄養学) に値すると判定した。</p>		