

論文内容要旨

報告番号	甲 栄 第 249 号	氏名	藤井 理
題 目	Effect of Osteocyte-Ablation on Inorganic Phosphate Metabolism: Analysis of Bone-Kidney-Gut Axis (骨細胞除去による無機リン代謝における影響：骨・腎臓・腸管連関の解析)		
<p>血中無機リン酸（以下リン）濃度は、腸管リン吸収、腎臓リン排泄および骨形成、骨吸収、細胞内移行により厳密に調節されている。副甲状腺ホルモン（PTH）や骨細胞から分泌される fibroblast growth factor 23 (FGF23)などのリン調節因子により、腎臓からのリン再吸収を抑制する。また、血中活性型ビタミンD (1, 25(OH)₂D) はFGF23の合成を促進させる。FGF23によるリン排泄亢進の機序には、腎臓に発現する α-Klotho (Klotho)とFGFレセプターの複合体が必要であり、FGF23がこの複合体に結合しシグナルを伝達する。そしてFGF23-Klothoシグナルは、腎臓に発現するリン再吸収を担うナトリウム依存性リン酸トランスポーターNpt2a及びNpt2cの発現量を減少させリン利尿を促進する。</p> <p>近年の報告から、骨細胞の代謝は慢性腎臓病の非常に早期から変化すると示唆されている。特に、腎臓機能の低下と呼応して骨細胞はFGF23の分泌を増加させ、ミネラル代謝を制御するが、その機序は不明である。そこで我々は、ミネラル恒常性維持における骨細胞と骨細管ネットワークの役割の解明を目的として、以下の実験を実施した。1) 骨細胞除去マウス (osteocyte-less マウス；OCLマウス) はTRECK (Toxin Receptor-Mediated Cell Knockout) 法を用いて作成されたトランスジェニックマウスにジフテリア毒素を投与することで任意の時期に骨細胞のみを死滅させたマウスである。本OCLマウスにおけるカルシウム・リン代謝の解析。2) granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)投与により骨細管ネットワークを破断させたマウスの解析。3) 食餌性のリンシグナルに対する骨細胞除去の影響。4) 骨細胞除去マウス及び高リン食による腸管および肝臓の遺伝子発現解析等を実施した。</p> <p>OCLマウスでは血清FGF23や血漿PTH濃度の上昇より前に、速やかに腎臓からのリン排泄が促進することを見出した。またリン排泄の促進と同時に腎臓Klotho発現の著しい低下が認められ、腎臓Npt2a及びNpt2cタンパク質の発現低下が見られた。骨細管ネットワーク破断マウスにおいてもリン排泄促進、Npt2aの発現抑制は認められた。一方リン吸収において、OCLマウスでは著しい腸管Npt2bの発現上昇、ナトリウム依存性リン輸送活性の上昇が認められた。さらにOCLマウスでは糞中のリン排泄の著しい抑制が見られた。また、OCLマウスではカルシウム吸収の著しい抑制が認められた。一方、OCLマウスでは、1, 25(OH)₂D濃度は正常であるが、1, 25(OH)₂Dの腸管カルシウムを上昇させる機能に異常がある可能性が示唆された。また、OCLマウスは、高リン負荷に応答したリン排泄のさらなる亢進や、Npt2a及びNpt2cの発現抑制が認められなかった。そのため骨細胞はリン負荷に応答し腸管や腎臓にシグナルを伝達する可能性が示唆された。さらに、OCLマウスと高リン負荷マウスにおいて、fibroblast growth factor 15/胆汁酸代謝に影響を及ぼすことでNpt2b発現を制御することが明らかとなった。</p> <p>以上の結果から、OCLマウスは腸管リン吸収を増加させることで腎臓リン排泄を増加させる可能性が示唆された。また、腸管吸収の顕著な増加は、骨細胞除去によるFGF23-Klotho系の破壊、胆汁酸およびビタミンD代謝に影響する可能性が予想された。このように、骨細胞は、骨-腎臓-腸管におけるミネラル代謝の司令塔として機能すると考えられた。</p>			

報告番号	甲 栄 第 249 号	氏名	藤井 理
審査委員	主査 二川 健 副査 阪上 浩 副査 河合 慶親		
<p>題目 Effect of Osteocyte-Ablation on Inorganic Phosphate Metabolism: Analysis of Bone-Kidney-Gut Axis (骨細胞除去による無機リン代謝における影響：骨-腎臓-腸管連関の解析)</p> <p>著者 Osamu Fujii, Sawako Tatsumi, Mao Ogata, Tomohiro Arakaki, Haruna Sakaguchi, Kengo Nomura, Atsumi Miyagawa, Kayo Ikuta, Ai Hanazaki, Ichiro Kaneko, Hiroko Segawa and Ken-ichi Miyamoto</p> <p>平成 29 年 12 月 11 日 Frontiers in Endocrinology に受理済み</p> <p>要旨 慢性腎臓病 (CKD) におけるリン代謝異常は、心血管障害を惹起し患者の生命予後に影響する重要な事項である。近年の報告から、CKD におけるミネラル代謝異常は、骨細胞や骨細管ネットワークの機能変化に起因する可能性が示唆されているが、骨細胞のミネラル代謝における役割は明らかにされていない。 本研究は、ミネラル恒常性維持における骨細胞及び骨細管ネットワークの役割の解明を目的として、以下の実験を実施した。1) 骨細胞除去マウス (osteocyte-less マウス ; OCL マウス) を、Toxin Receptor-Mediated Cell Knockout (TRECK) 法を用いて作成し、OCL マウスのミネラル代謝を解析した。2) Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) 投与により骨細管ネットワークを破断させたマウスを作成し、ミネラル代謝の解析を行った。3) 体内リンプールの縮小を検討するために食餌性リンシグナルに対する骨細胞除去の影響を調べた。4) OCL マウス及び高リン食による腸管および肝臓の遺伝子発現解析等を検討した。 OCL マウスでは、血清 fibroblast growth factor 23 (FGF23) 及び副甲状腺ホルモン濃度の上昇より前に、腎臓からのリン排泄が促進することを見出した。またリン排泄の促進と同時に、腎臓 Klotho 発現の著しい低下が認められ、腎臓Ⅱ型ナトリウム依存性リントランスポーター (Npt2a 及び Npt2c) タンパク質の発現低下が観察された。さらに、骨細管ネットワーク破断マウスにおいてもリン排泄促進、Npt2a の発現抑制が認められた。また、OCL マウスでは、腸管リン吸収において Npt2b の発現上昇、ナトリウム依存性リン輸送活性の増大、糞中へのリン排泄抑制、及びカルシウム吸収の著しい低下が確認された。さらに、OCL マウスでは、活性型ビタミン D 濃度は正常であるが、活性がビタミン D 依存性の腸管カルシウム輸送に関連する分子群の発現に異常が観察された。一方、OCL マウスは、高リン負荷に応答したリン排泄のさらなる亢進や、Npt2a 及び Npt2c の発現抑制が認められなかった。さらに OCL マウスと高リン負荷マウスにおいて、FGF15/胆汁酸代謝が影響を受けることで腸管 Npt2b 発現が制御されている可能性が示唆された。 以上より、OCL マウスでは、腸管リン吸収の顕著な増加が、腎リン排泄を亢進させ、FGF23-Klotho 系シグナルの破綻、胆汁酸およびビタミン D 代謝に影響する可能性が考えられた。これらの結果は、骨細胞が、体内リンプールの維持、及び腸管におけるミネラル吸収調節機構に寄与しており、CKD における骨細管ネットワーク異常は、リンプール縮小やリン代謝異常の原因になると予想された。 本研究は、骨細胞が、生体におけるミネラル代謝の司令塔として機能する可能性を提示するものであるため、博士 (栄養学) の授与に値すると判定した。</p>			