

報告番号	甲栄第 269 号	氏名	花崎 愛
題目	Role of sodium-dependent Pi transporter/Npt2c on Pi homeostasis in klotho knockout mice different properties between juvenile and adult stages (Na 依存性 Pi トランスポーターNpt2c は、Klotho ノックアウトマウス Pi 恒常性において成長期と成熟期では異なる作用を有する)		
<p>血中リン(Pi)濃度を正常に維持する機序は、極めて重要な意味を持っている。腎臓は通常、迅速に Pi 排泄を亢進させ、血中 Pi 濃度を正常範囲に是正するが、生体内 Pi 代謝調節機能の破綻による高 Pi 血症は、動脈硬化病変や生命予後を規定する重要なリスクファクターであると考えられている。現在、FGF (Fibroblast growth factor)23 が、Pi 代謝の中心的な調節経路であるとされており、Klotho はその共役因子として必須である。FGF23/Klotho 調節系は、腎で活性型ビタミン D 合成の抑制および、ナトリウム(Na)依存性 Pi トランスポーターNpt2a および Npt2c の機能発現を抑制し Pi 利尿を促進する。Klotho 変異(kl/kl)マウスは高ビタミン D 血症や高 Pi 血症等のミネラル代謝異常、様々な早期老化症状が見られ短命である。しかし kl/kl マウスと同様の表現型を示す Klotho knockout (KLKO)マウスは、体内の Pi を低下させることで様々な症状の改善がみられ、寿命が延長される。Npt2c は、腎近位尿細管において Pi 再吸収を担うトランスポーターである。ヒトにおいて Hereditary Hypophosphatemic Rickets with Hypercalciuria(HHRH)の原因遺伝子であるが、Npt2cKO マウスでは低 Pi 血症が認められず、Pi 代謝における Npt2c の重要性については不明な点も多い。本研究では、Klotho と Npt2c を double deletion することで Pi 恒常性における Npt2c の役割を検討することを目的とし、KL2c double KO(KL2cDKO)マウスを作製し解析を行った。</p> <p>KLKO マウスは kl/kl マウスと同様、平均寿命 10 週程度と短命であり、血中 Pi、FGF23、ビタミン D の高値を示した。腎臓における Na 依存性 Pi 輸送活性を検討したところ、KLKO マウスは wild-type(WT)マウスと比較して Pi 輸送活性の増加が確認された。腎臓における Npt2a 発現は、KLKO マウスにおいて WT マウスと同様もしくは減少傾向を示したが、Npt2c 発現は顕著に増加した。KL2cDKO マウスは、KLKO マウスと同様に血中 Pi、ビタミン D および FGF23 の高値を維持しつつも、KLKO マウスと比較して腎臓、大動脈における石灰化の緩和、寿命延長が認められた。また成長期における表現型を確認したところ、KLKO マウスと比較し KL2cDKO マウスでは血中 Pi 濃度の有意な低下、腎臓における炎症マーカー mRNA 発現の有意な低下が認められた。この KL2cDKO マウスの成長期における血中 Pi 濃度の低下が腎傷害の悪化を軽減する一因であると考えられた。しかしながら KL2cDKO マウスにおける骨病変は KLKO マウスと比較して大きな改善は見られなかった。さらに KL2cDKO マウスの寿命改善機構を探索する目的で、KLKO, KL2cDKO および Npt2cKO マウスにおける腸管 Pi 吸収能について検討した。24 時間糞中 Pi 排泄を測定したところ、8 週齢 KLKO マウスは、WT と比較して有為な Pi 排泄の低下、つまり腸管 Pi 吸収の促進が認められたが、KL2cDKO マウスでは、観察されなかった。さらに、経口 ³²P 投与による Pi 吸収率を測定したところ同様の結果が得られた。このように、KLKO マウスより Npt2c を除去することにより、KLKO マウスにおける腸管 Pi 吸収促進が正常化された。よって腸管における Npt2cmRNA 発現を検討したところ、KLKO マウス腸管において Npt2c mRNA 発現の有為な増加が認められた。さらに、他の Pi トランスポーターである PiT1 および PiT2 mRNA の発現の有為な増加も認められた。最後に、Npt2cKO マウスの生後発達における血中 Pi 濃度の変動を検討した。Npt2cKO マウスでは WT マウスと比較し、成長期である 15-21 日齢付近における血中 Pi 濃度の有意な低下が確認された。以上をまとめると、KLKO マウスで見られる高 Pi 血症は腎臓における Pi 再吸収、腸管 Pi 吸収の促進によるものであり、腎臓、腸管における Npt2c 発現が互いに大きく寄与しているものと考えられる。</p> <p>本研究より、Npt2c が FGF23/Klotho リン代謝調節システムを介して特に成長期における血中 Pi 濃度を制御しており、体内 Pi 蓄積に影響している可能性が示唆された。</p>			

報告番号	甲 栄 第 269 号	氏名	花崎 愛
審査委員	主査 竹谷 豊 副査 二川 健 副査 酒井 徹		
題目	Role of sodium-dependent Pi transporter/Npt2c on Pi homeostasis in klotho knockout mice different properties between juvenile and adult stages (Na 依存性 Pi トランスポーターNpt2c は、Klotho ノックアウトマウス Pi 恒常性において成長期と成熟期では異なる作用を有する)		
著者	Ai Hanazaki, Kayo Ikuṭa, Shohei Sasaki, Sumire Sasaki, Megumi Koike, Kazuya Tanifuji, Yuki Arima, Ichiro Kaneko, Yuji Shiozaki, Sawako Tatsumi, Tomoka Hasegawa, Norio Amizuka, Ken-ichi Miyamoto, Hiroko Segawa 令和1年11月15日 Physiological Reports に受理済		
要旨	<p>SLC34A3/NPT2c/NaPi-2c/Npt2c は、成長に重要なナトリウム依存性リントランスポーターである。ヒト NPT2c は、高カルシウム尿を伴う低リン血症性くる病 (Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria) の原因遺伝子であるが、過去の著者らの解析では Npt2c^{-/-} (Npt2cKO) マウスは、リン代謝異常を示さない。このようにヒトとマウスにおいて NaPi-2c の重要性が異なる。本研究は、リン代謝における Npt2c の役割を明らかにする目的で、早期老化モデルである α-klotho^{-/-} (KLKO) マウスを Npt2cKO マウスと交配することでその表現型の回復を指標に解析した。</p> <p>KLKO マウスは平均寿命 10 週程度と短命であり、血中リン、活性型ビタミン D および Fibroblast growth factor (FGF)23 濃度は高値を示した。腎臓におけるナトリウム依存性リン輸送活性を検討したところ、KLKO マウスは wild-type (WT) マウスと比較して有意な増加が確認された。また腎臓における Npt2c タンパク質発現量は有意に増加していた。α-klotho^{-/-}/Npt2c^{-/-} (KL2cDKO) マウスは、KLKO マウスと同様に血中リン、活性型ビタミン D および FGF23 濃度の高値を維持しつつも、KLKO マウスと比較して腎臓および大動脈における石灰化の緩和と寿命延長が認められた。しかし成長期においては、KLKO マウスと比較し KL2cDKO マウスは血中リン濃度の有意な低下が認められた。一方、KL2cDKO マウスの骨病変は KLKO マウスと比較して改善は見られなかった。8 週齢 KLKO マウス糞中リン排泄量を検討したところ WT マウスと比較して有意な糞中リン排泄の抑制が観察されたが、KL2cDKO マウスにおいては有意な糞中リン排泄の抑制は観察されなかった。そこで腸管リン吸収における Npt2c の役割を検討した。8 週齢 KLKO マウスは、Npt2c mRNA 発現増加とともに III 型ナトリウム依存性リントランスポーター PiT1/2 mRNA 発現の有意な増加を示した。最後に Npt2cKO マウスの生後発達における血中リン濃度の変動を検討した。その結果 Npt2cKO マウスは WT マウスと比較し、生後 15-21 日齢における血中リン濃度の有意な低下が確認された。以上、Npt2c の役割は、FGF23 調節系が破綻している KLKO マウスにおいて成長期では血中リン濃度の維持、また成熟期においては、腸管のリン吸収および全身の石灰化に寄与している可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、Npt2c の生理学的役割を明らかにしたものであり、リン代謝異常症の病態解明に貢献できることから、博士 (栄養学) に値すると判定した。</p>		