

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 303 号	氏名	小池 萌
題目	Involvement of α -klotho in growth hormone (GH) signaling (成長ホルモンシグナルにおける α -klothoの関与)		
<p>早期老化症状を示す α-klotho変異マウス (kl/klマウス) で同定された α-klothoは、分子量130kDaの一回膜貫通型タンパク質であり膜型、分泌型として存在する。膜型は主に腎臓遠位尿細管に発現しカルシウム (Ca) と無機リン酸 (Pi) の恒常性維持に関わる。分泌型は血中、尿中、脳脊髄液中で全身に作用する循環ホルモンとして働き、イオンチャネル、トランスポーター、インスリン/インスリン成長因子1 (IGF1) シグナル伝達を制御し、抗酸化作用を示す。 α-klotho欠損マウスやkl/klマウスは、生後約3週間までは正常な発育を示すが、その後は成長遅延と重度の老化表現型を示し、平均寿命は約60日である。kl/klマウスは成長ホルモン(GH)産生細胞数が減少し、GH抵抗性を示し、GHを投与しても体重・身長は増加しない。GHは下垂体前葉から分泌されるペプチドで、視床下部ホルモンによって調節されている。分泌されたGHは主に肝臓で産生されるIGF1を介して直接的または間接的に様々な代謝機能を発揮する。GH欠乏症 (GHD) は、下垂体および視床下部の疾患に伴う合併症であり、GHDの小児では分泌型 α-klothoの血中濃度が低下し、GH治療により血中濃度が上昇することが報告されている。さらに、この血中分泌はIGF1によって媒介されると報告されている。GH産生腫瘍の患者では、循環分泌型 α-klothoの有意な増加がみられ、GH産生腫瘍の摘出後 α-klothoは急速に減少する。このように、 α-klothoとGH/IGF1軸との間には密接な関連があることが報告されているが詳細は不明である。また、小児における慢性腎臓病 (CKD) とその合併症は、GHシグナルの障害やGH抵抗性状態に伴う成長遅延など、GH/IGF1軸の変化と関連している。腎臓は α-klotho発現が最も高い臓器であり、腎臓 α-klotho発現および血中 α-klotho濃度はCKDの進行とともに減少する。したがって、 α-klothoの減少がCKD患者におけるGH抵抗性に関与している可能性が推測される。本研究では、GHの作用と抗老化ホルモン α-klothoとの関係に注目し、CKDにおけるGH抵抗性が α-klotho欠損と関連していると仮説をたてて検討した。</p> <p>4週齢C57BL/6Jマウスの α-klothoの組織分布と局在を検討したところ、 α-klotho mRNA発現は、腎臓、精巣、大腿骨、顎下腺、精巣、脳、下垂体で観察された。またマウス下垂体では、 α-klotho陽性染色はソマトスタチン陽性細胞およびGH陽性細胞で観察された。4週齢C57BL/6JマウスにGHを投与すると、下垂体、肝臓、心臓、腎臓、骨におけるIGF1 mRNA発現が増加したが、 α-klotho mRNA発現は下垂体、腎臓、骨でのみ増加した。 α-klothoタンパク質レベルの増加は腎臓で観察されたが、下垂体では観察されなかった。また、GHはマウス腎臓においてa disintegrin and metalloproteinase (ADAM) 10およびADAM17の発現を誘導し、血中 α-klotho発現を増加した。次に、小児腎臓病モデルにおけるGH、IGF1、 α-klothoの反応を検討するために、3週齢のWTマウスにアデニンを投与し、腎臓病マウスを作成後、GHを投与した。GHはコントロール群の腎臓において、下流シグナルであるjanus kinase 2 (JAK2) mRNA、GH receptor (GHR) mRNA、およびIGF1 mRNAの発現を有意に増加させたが、アデニン投与群の腎臓では発現の増加は認められなかった。また、アデニン投与群ではGHによる α-klotho mRNA発現の誘導は観察されず、GH抵抗性を示した。最後に、Human Embryonic Kidney cells (HEK) 293細胞を用いてGHと α-klothoの関係を検討した。GHRを強制発現したHEK293細胞にGHと α-klothoを添加すると、GHのみを添加した場合に比べて、JAK2 mRNAの発現が増加した。</p> <p>以上の結果より、1) 腎臓が分泌 α-klothoの主な供給源であり、GHの下流作用によって血中で検出されること、2) GHによる α-klotho誘導は腎臓病では抵抗性であること、3) α-klothoはGHシグナル伝達の増強制御因子である可能性を示唆した。</p>			

報告番号	甲 栄 第 303 号	氏名	小池 萌
審査委員	主査 二川 健 副査 酒井 徹 副査 竹谷 豊		
<p>題目 Involvement of α-klotho in growth hormone (GH) signaling (成長ホルモンシグナルにおける α-klotho の関与)</p> <p>著者 <u>Megumi Koike</u>, Tetsuhiko Sato, Yuji Shiozaki, Aoi Komiya, Mizuki Miura, Ayami Higashi, Akane Ishikawa, Kaori Takayanagi, Minoru Uga, Ken-ichi Miyamoto, Hiroko Segawa</p> <p>令和6年1月10日 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition に受理済</p> <p>要旨</p> <p>成長ホルモン (GH) は、さまざまな臓器に直接、あるいはその主要なメディエーターであるインスリン様成長因子 1 (IGF1) を介して多様な作用を及ぼす。また、抗老化因子 α-klotho と GH/IGF1 軸の間には密接な関連があることが報告されているが、すべてが明らかになっていない。さらに、小児における慢性腎臓病 (CKD) とその合併症は、GH シグナルの障害や慢性炎症による GH 抵抗性状態に伴う成長遅延など、GH/IGF1 軸の変化と関連している。慢性腎臓病の進行とともに腎臓の α-klotho 発現および血中 α-klotho が減少することから α-klotho の減少が慢性腎臓病における GH 抵抗性に関与している可能性が推測される。本研究では、慢性腎臓病における GH 抵抗性が α-klotho 欠損に関与している可能性を明らかにするため、GH 作用と α-klotho の関係に注目した。</p> <p>野生型 (WT) マウスにおいて α-klotho の組織分布と局在を検討したところ、α-klotho mRNA 発現は、腎臓、大腿骨、顎下腺、精巣、脳、下垂体で観察された。免疫蛍光染色より α-klotho タンパク質は、腎遠位尿細管と下垂体において、GH 陽性細胞およびソマトスタチン陽性細胞で観察された。次に、4 週齢の WT マウスに GH を投与すると、下垂体、肝臓、心臓、腎臓、骨における IGF1 mRNA 発現が増加したが、α-klotho mRNA 発現は下垂体、腎臓、骨でのみ増加した。α-klotho タンパク質の増加は腎臓で観察されたが、下垂体では観察されなかった。また、GH はマウス腎臓において a disintegrin and metalloproteinase (ADAM)10 および ADAM17 の発現を誘導し、血中で KL1 部位を含む α-klotho 断片が増加した。小児腎臓病モデルマウスでは GH による IGF1 および α-klotho mRNA 発現の誘導は観察されず、GH 抵抗性を示した。さらに、GH 受容体を強制発現させたヒト胎児腎細胞 293 細胞に GH と α-klotho を添加すると、GH のみを添加した場合に比べて、GH の下流シグナルである Janus kinase 2 mRNA の発現が増加した。</p> <p>以上より、GH は分泌型 α-klotho タンパク質の腎臓における発現を促進すること、腎臓病では GH による α-klotho 誘導に抵抗性が見られること、および α-klotho は GH シグナル伝達の増強制御因子であることが示唆された。本研究の成果は、α-klotho の発現低下が腎疾患における GH 抵抗性の病態解明に寄与することから、博士(栄養学)の学位授与に値すると判定した。</p>			