

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 3月 31日現在

機関番号：16101
 研究種目：若手研究（A）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22680053
 研究課題名（和文）健康長寿の基盤となる新たな栄養センシング機構の解明と疾患予防法の開発
 研究課題名（英文）The novel nutrient sensing mechanism and development of disease prophylaxis

研究代表者 山本 浩範（YAMOMOTO HIRONORI）
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教
 研究者番号：60314861

研究成果の概要（和文）：本研究では、新たな栄養センサーの発見と疾患予防法の開発に取り組んだ。その結果、ビタミンD代謝酵素 CYP27B1 遺伝子の転写調節に対し、甲状腺ホルモン受容体およびステロール調節性結合タンパク質 SREBP が重要な鍵を握っていること。また、リン代謝異常を有する早期老化モデルマウスでの異所性石灰化の発症には、スタニオカルシン2が防御的因子として寄与する可能性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In this study, we worked on the development of disease prevention methods and the discovery of novel nutrition sensor. As a result, thyroid hormone receptors and sterol regulatory binding proteins SREBPs play an important role as the transcription factor for the transcriptional regulation of CYP27B1 gene which is vitamin D metabolism enzyme. Further, the development of ectopic calcification in the premature aging mouse models having a phosphorus metabolic abnormalities, revealed the possibility of stanniocalcin 2 contributes as a defense factor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
総計	12,800,000	3,840,000	16,640,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：健康と食生活

1. 研究開始当初の背景

高リン血症は腎不全透析患者で高頻度に見られ、腎での活性型ビタミンD産生低下や二次性副甲状腺機能亢進に伴う腎性骨異常栄養症と深く関与するだけでなく、異所性石灰化を主とする心血管疾患発症および死亡リスク増大の独立因子であることが知られている。このため、腎疾患における食事性リン制限による高リン血症の改善が病態改善および進展予防に最も重要とされている。しかしながら、リンは生体の腎臓、骨、腸管や肝

臓、血管、脳など様々な臓器で複雑に応答しているため、生体におけるリンの相互作用の統合的理解が新しい疾患治療法の確立に必要な不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では、新たな栄養センサーの発見と生活習慣病予防・治療法の開発を目的とし、動物およびヒトにおいて臓器特異的なリン感受性遺伝子群および代謝産物を同定し、その遺伝子改変マウスおよび siRNA 法を用いて

生理的機能と役割を解明する。さらに、生体リン臓器間ネットワークの統合データベースを構築することでリン感受性遺伝子を分子標的とした腎不全をはじめメタボリックシンドロームなど生活習慣病の発症・進展を予防する臓器特異的な新しいオミックス医療の開発と確立をめざす。

3. 研究の方法

(1) マウス骨、脳およびヒト白血球における新規リン感受性遺伝子の同定を行うために、高リン食または低リン食を摂取したマウス臓器、特に骨と脳 RNA を用いて DNA マイクロアレイ解析を行い、各臓器におけるリン感受性遺伝子群を同定する。また、ヒトにおけるリン制限食または高リン負荷試験を行い、末梢血より白血球を分離し同様にリン感受性遺伝子群を同定する。

(2) 生体リンセンシング機構の解明として同定したリン感受性遺伝子の調節因子であるリンセンサーの同定を行い、それら遺伝子欠損マウスを用い生理的役割を *in vivo* 解析により行う。強制発現系細胞または siRNA 法によるノックダウン細胞を用いて細胞内リンセンシング機構を *in vitro* 解析により行う。

(3) リンセンサー分子群を標的とした生活習慣病の発症・進展の予防法の開発として腎不全や糖尿病、動脈硬化、ミネラル代謝異常モデル動物を用い複数臓器におけるリン感受性遺伝子の発現変動を解析すると共に、リン管理による疾病治療効果を検証する。また、Nrf2 や Clock シグナル経路の活性化剤や阻害剤との併用効果について検討する。

4. 研究成果

(1) 甲状腺ホルモンによるビタミン D 代謝調節の分子機構には、CYP27B1 遺伝子の転写調節に対し、核内受容体およびステロイド調節性結合タンパク質 SREBP が重要な鍵を握っていることを報告した。

(2) リン、カルシウム、ビタミン D 代謝異常を有する早期老化モデルマウス (klotho 変異マウス) を用いて、腎、心筋および大動脈での異所性石灰化発症に、カルシウム・リン調節ホルモンのスタニオカルシン 2 が防御的因子として寄与する可能性を明らかにした。さらに、リン摂取過剰は、異所石灰化抑制因子であるフェチュイン A の発現にも影響を与えることを見出した。

(3) リン摂取バランスは、炎症性腸疾患や敗血症の病態重症度に影響を与えることを見出しただけでなく、サーカディアンリズムを制御する時計遺伝子群の発現パターンに影響することを明らかにした。

(4) リン摂取不足は、時計遺伝子 (Clock, BMAL1, Per2) の肝臓および腸管での発現を

変化させた。つまり、ミネラル摂取バランスは、時計遺伝子の変動パターンを変化させることから、リンセンサーの一つには時計遺伝子が機能している可能性が考えられた。

(5) 以上のことから、リン摂取バランスを考慮した生活習慣病予防・治療法を確立する上で、リンやビタミン D 代謝の日内リズムを考慮することが重要であると考えられた。本研究成果は、時間栄養学を考慮した新たな疾患予防法の開発の基盤研究として意義があり、リン摂取バランスと疾患発症、体内時計との関係を明らかにすることは、詳細な栄養素シグナル経路および生体リン臓器間ネットワークの解明そして疾患予防法の開発が可能と考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

① Yamada F, Horie D, Nakamura A, Tanimura A, Yamamoto H, Segawa H, Ito M, Miyamoto K, Taketani Y, Takeda E. Role of serine 249 of ezrin in the regulation of sodium-dependent phosphate transporter NaPi-IIa activity in renal proximal tubular cells. *J Med Invest.* 60(1-2):27-34. 2013 査読有 <http://dx.doi.org/10.2152/jmi.60.27>

② Kozai M, Yamamoto H, Ishiguro M, Harada N, Masuda M, Kagawa T, Takei Y, Otani A, Nakahashi O, Ikeda S, Taketani Y, Takeyama K, Kato S, Takeda E. Thyroid hormones decrease plasma 1 α ,25-dihydroxyvitamin D levels through transcriptional repression of the renal 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene (CYP27B1). *Endocrinology.* 154(2):609-622. 2013 査読有 DOI: 10.1210/en.2012-1647.

③ Hung NT, Yamamoto H, Takei Y, Masuda M, Otani A, Kozai M, Ikeda S, Nakahashi O, Tanaka S, Taketani Y, Takeda E. Up-regulation of stanniocalcin 1 expression by 1,25-dihydroxy vitamin D(3) and parathyroid hormone in renal proximal tubular cells. *J Clin Biochem Nutr.* 50(3):227-233. 2012 査読有 DOI: 10.3164/jcfn.11-99.

④ Takei Y, Yamamoto H, Sato T, Otani A, Kozai M, Masuda M, Taketani Y, Muto-Sato K, Lanske B, Takeda E. Stanniocalcin 2 is associated with ectopic calcification in α -klotho mutant mice and inhibits

hyperphosphatemia-induced calcification in aortic vascular smooth muscle cells. *Bone*. 50(4):998-1005. 2012 査読有 DOI: 10.1016/j.bone.2012.01.006.

⑤ Taniguchi-Fukatsu A, Yamanaka-Okumura H, Naniwa-Kuroki Y, Nishida Y, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E. Natto and viscous vegetables in a Japanese-style breakfast improved insulin sensitivity, lipid metabolism and oxidative stress in overweight subjects with impaired glucose tolerance. *Br J Nutr*. 107(8):1184-1191. 2012 査読有 DOI: 10.1017/S0007114511004156.

⑦ Uebanso T, Taketani Y, Yamamoto H, Amo K, Tanaka S, Arai H, Takei Y, Masuda M, Yamanaka-Okumura H, Takeda E. Liver X receptor negatively regulates fibroblast growth factor 21 in the fatty liver induced by cholesterol-enriched diet. *J Nutr Biochem*. 23(7):785-790. 2012 査読有

⑧ Shiota A, Taketani Y, Maekawa Y, Yasutomo K, Sata M, Sakai T, Mizuno R, Isshiki M, Yamamoto H, Takeda E. High phosphate diet reduces atherosclerosis formation in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Biochem Nutr*. 49(2):109-114. 2011 査読有 DOI: 10.3164/jcfn.10-150.

Uebanso T, Taketani Y, Yamamoto H, Amo K, Ominami H, Arai H, Takei Y, Masuda M, Tanimura A, Harada N, Yamanaka-Okumura H, Takeda E. Paradoxical regulation of human FGF21 by both fasting and feeding signals: is FGF21 a nutritional adaptation factor? *PLoS One*. 6(8):e22976. 2011 査読有 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.03.023.

⑨ Amo K, Arai H, Uebanso T, Fukaya M, Koganei M, Sasaki H, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E. Effects of xylitol on metabolic parameters and visceral fat accumulation. *J Clin Biochem Nutr*. 49(1):1-7. 2011 査読有 DOI: 10.3164/jcfn.10-111.

⑩ Mukai R, Nakao R, Yamamoto H, Nikawa T, Takeda E, Terao J. Quercetin Prevents Unloading-Derived Disused Muscle Atrophy by Attenuating the Induction of Ubiquitin Ligases in Tail-Suspension Mice. *J Nat Prod*. 73(10):1708-1710 2010 査読有 DOI: 10.1021/np100240y

⑪ Masuda M, Yamamoto H, Kozai M, Tanaka S, Ishiguro M, Takei Y, Nakahashi O, Ikeda S, Uebanso T, Taketani Y, Segawa H, Miyamoto K, Takeda E. Regulation of renal sodium-dependent phosphate co-transporter genes (Npt2a and Npt2c) by all-trans-retinoic acid and its receptors. *Biochem J*. 429(3):583-592. 2010 査読有 DOI: 10.1042/BJ20100484.

[学会発表] (計 8 件)

① Yamamoto H, Otani A, Yokoyama N, Onishi R, Yakei Y, Taketani Y, Miyamoto K, Takeda E. Regional Up-regulation of 25-hydroxyvitamin D 1 alpha-hydroxylase (CYP27B1) Gene Is Associated with the Pathogenesis of Ectopic Calcification in the Alpha Klotho Mutant Mice. 34th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2012年10月12-15日 Minneapolis convention center, (Minnesota, USA)

② Ikeda S, Yamamoto H, Nakahashi O, Kozai M, Taketani Y, Takeda E. Induction of the Intact and C-terminal FGF23 Levels and Its Gene Expression in Lipopolysaccharide-Induced Acute Inflammation. 34th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2012年10月12-15日 Minneapolis convention center, (Minnesota, USA)

③ Nakahashi O, Yamamoto H, Tanaka S, Kozai M, Taketani Y, Miyamoto K-I, Kato S, Takeda E. Dietary Phosphorus Restriction Up-regulates the Ileal Fibroblast Growth Factor 15 Gene Expression through the Vitamin D Receptor Activation. 34th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2012年10月12-15日 Minneapolis convention center, (Minnesota, USA)

④ 山本浩範: リン・カルシウムバランスが肝臓時計遺伝子および脂質代謝の日内リズムに与える影響、第19回日本時間生物学会学術大会、2012年9月15-16日、北海道大学、(北海道)

⑤ 山本浩範、向原理恵、中橋乙起、池田翔子、香西美奈、竹谷豊、武田英二 生体リン・ビタミンD代謝の概日リズムの分子機構の解明、第30回日本骨代謝学会学術集会、2012年7月19-21日、京王プラザホテル、(東京都)

⑥ 山本浩範、大谷彩子、横山望、香西美奈、池田翔子、竹谷豊、武田英二 α Klotho-Fgf23 シグナル異常による 25-ヒドロキシビタミン D3-1 α 水酸化酵素 (CYP27B1) 発現亢進と異所性石灰化発症の分子機構の解明、第 30 回日本骨代謝学会学術集会、2012 年 7 月 19-21 日、京王プラザホテル、(東京都)

⑦ 向原理恵、山本浩範、中橋乙起、池田翔子、香西美奈、竹谷豊、武田英二 リン・ビタミン D 代謝の概日リズムの解析、日本ビタミン学会第 64 回大会、2012 年 6 月 22-23 日、長良川国際会議場、(岐阜県)

⑧ 山本浩範、増田真志、田中更沙、香西美奈、竹谷豊、宮本賢一、武田英二 レチノイン酸は IIb 型リン酸トランスポーター Npt2b 発現を抑制し小腸リン吸収を低下させる、第 66 回日本栄養・食糧学会大会、2012 年 5 月 18-20 日、東北大学、(宮城県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 浩範 (YAMAMOTO HIRONORI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教
研究者番号：60314861

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：