

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06442

研究課題名(和文)慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常の成因となる甲状腺ホルモン初期分泌機構の解明

研究課題名(英文)The roll of rapid-phase parathyroid hormone secretion in chronic kidney disease-mineral and bone disorder

研究代表者

増田 真志 (MASUDA, Masashi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・助教

研究者番号：50754488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：交感神経遮断群および副交感神経遮断群ともに、リン酸投与後5分で血中副甲状腺ホルモン(PTH)濃度、血中リン濃度ともに有意な上昇を認めたが遮断薬による影響は見られなかった。次に、腸管でのリン吸収を阻害した結果、リン酸水溶液の胃内投与によるPTH初期分泌は消失した。さらに、リン酸投与によりリン酸再吸収を担うリン酸トランスポーターNpt2aタンパク質発現量が低下するが、迷走神経求心路遮断によりその低下が消失した。

以上より、PTH初期分泌は腸管でリンを感知して迷走神経求心路を介して中枢神経へシグナル伝達、さらに中枢神経からの副甲状腺支配により腎臓のNpt2aタンパク質発現量に影響すると考えられた。

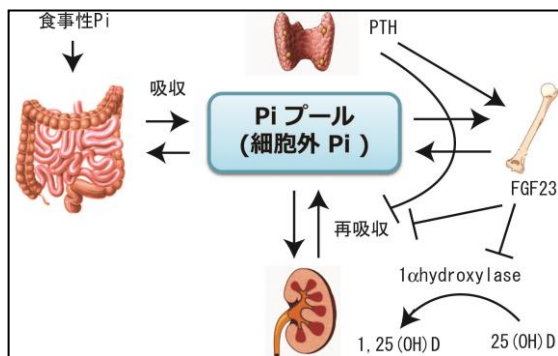
研究成果の概要(英文)：Although plasma parathyroid hormone (PTH) and phosphorus levels were significantly increased by the administration of phosphate (40 mg) into the stomach, sympathetic and parasympathetic cannot inhibit rapid-phase PTH secretion. Next, the rapid-phase PTH secretion-induced by the administration of phosphate into the stomach was abolished by phosphonoformic acid (PFA) which suppresses the absorption of phosphate in small intestine. Although the administration of phosphate into the stomach decreased the protein expression of the type II sodium-dependent phosphate co-transporter Npt2a, capsaicin treatment which inhibits vagal afferent specific blocked the effect. Together, these results suggest that the rapid-phase PTH secretion affects signaling in the central nervous system through vagal afferent such as the phosphate sensing in small intestine, resulting in the expression of Npt2a protein in kidney.

研究分野：臨床栄養

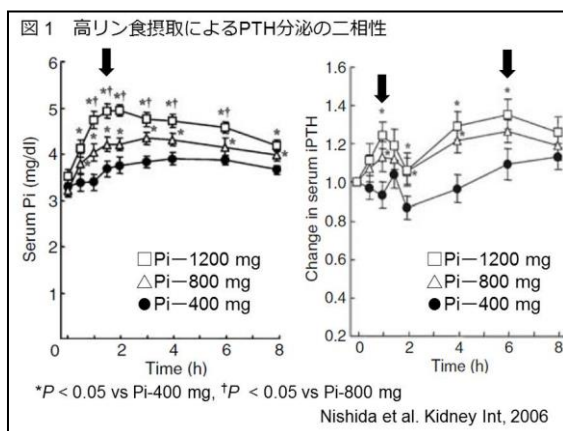
キーワード：慢性腎臓病

1. 研究開始当初の背景

(1) リンは骨形成やエネルギー代謝など生体機能維持に必須の栄養素である。腸管における食事由来のリン吸収活性の大半を担っているのがナトリウム依存性リン酸トランスポーターNpt2bである。一方、血中のリンは腎臓での再吸収および尿中への排泄によりその恒常性は保たれる。その腎臓からのリン排泄を促進する最も重要なホルモンが副甲状腺ホルモン(PTH)である。しかし慢性腎臓病のように正常な腎機能が損なわれると、腎臓でのリン調節機構が破綻し高リン血症を呈する。長期の高リン血症状態は、二次性副甲状腺機能亢進症による骨からのリン放出の増大による血管石灰化を引き起こし、心筋梗塞や脳梗塞の危険性が高まる。つまり長期の血中高リン状態の回避が腎不全を含む慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常のリスクマネジメントを考える上で非常に重要な課題である。



(2) これまでに、成人男性にリン濃度の異なる食事(400, 800, 1200 mg)を摂取させ経時的な血液生化学データを得た結果、PTH分泌には二相性があることを見出した。高濃度のリンを摂取すると血中リン濃度がピークを迎えた後で第二相が確認された(図1)(Nishida et al. Kidney Int, 2006)。



また、Calvoらはリン摂取によるPTH分泌の二相性は観察されなかったが、血中リン濃度の上昇に先行してPTH分泌が起こることを報告している(Calvo et al. Am J Clin Nutr, 1988)。このPTHの初期分泌は、血中リン濃

度の過度な上昇を抑制するためにPTHを分泌させるというリン過剰に対する防御機構として機能すると考えられる。興味深いことに、このようなホルモン分泌の二相性はインスリンでも観察されており、2型糖尿病はインスリン初期分泌相の低下が原因である事が報告されている(Curry et al. Endocrinology, 1968)。これらのことから申請者は、PTHの初期分泌能の低下がCKD-MBD発症の原因もしくは症状の悪化に寄与していると考え、本研究に着手している。

2. 研究の目的

本研究は、リン摂取による副甲状腺ホルモン(PTH)初期分泌調節機構およびその慢性腎不全に伴う骨ミネラル代謝異常(CKD-MBD)発症における意義を解明し、臨床現場におけるリンを中心とした新しい栄養管理法の確立を目指すものである。

(1) ラットへの大腿静脈にカテーテルを留置し、そこからリン酸水溶液を投与することによりPTH分泌の二相性が確認できるかを検討する。

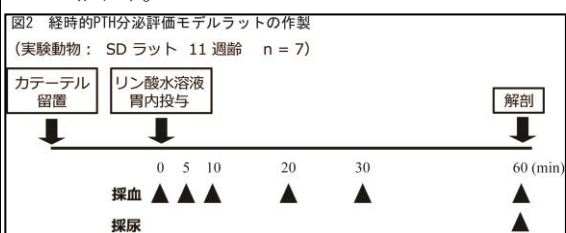
(2) リン酸水溶液投与によるPTH初期分泌に対する腸管におけるリン吸収自体の影響を検討する。

(3) リン酸水溶液投与によるPTH初期分泌に対して、リン吸収が行われる腸管のどの部位が重要なのかを検討する。

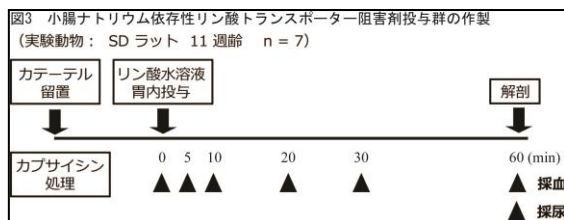
(4) リン酸水溶液投与によるPTH初期分泌に対する迷走神経求心路の影響を検討する。

3. 研究の方法

(1) 経時的PTH分泌評価モデルラットの作製のため、11週齢雄性Sprague-Dawley(SDラット)を実験動物用固形飼料MF(オリエンタル酵母)と超純水を用いて自由摂取にて飼育した。実験当日に経時的な採血をするために、SDラットに対してペントバルビタールナトリウムを腹腔内に0.12 mg/kg投与し完全に麻酔が作用したことを確認し、右大腿静脈にカテーテルを留置して経時的な採血を可能にした。この経時的PTH分泌評価モデルラットにリン酸水溶液を胃内投与してPTH初期分泌が見られるかどうかを検討するために、濃度の異なるリン酸水溶液を胃内投与後に採血し、血中リン濃度およびPTH濃度を測定した(図2)。

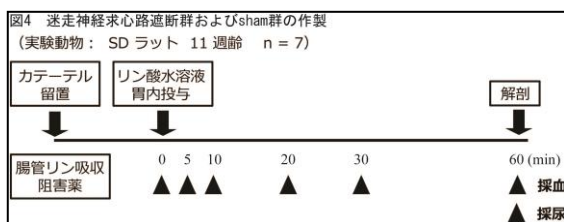


(2) 腸管におけるリン吸収による PTH 初期分泌への影響を検討するために、ナトリウム依存性リン酸トランスポーターの阻害剤である Phosphonoformic acid (PFA) を用いて腸管のリン吸収を阻害した。経時的 PTH 分泌評価モデルラットにリン酸水溶液と同時に PFA を投与し、PTH 初期分泌への影響を検討した (図 3)。



(3) 経時的 PTH 分泌評価モデルラットに対し、小腸上部投与群は胃内に投与物を投与し、下部投与群は縫合糸で縛った位置直下の管腔内にリン酸を投与した。これらの方法で PTH 初期分泌に対してリン吸収が行われる腸管 (小腸) の上部と下部の違いを検討した。

(4) PTH 分泌の二相性が見られる原因が迷走神経であるかどうかを検討するために、胃噴門部上部をカプサイシン処理による迷走神経求心路遮断でリン酸水溶液投与による PTH 初期分泌を検討した。カプサイシン処理は、経時的 PTH 分泌評価モデルラットにカプサイシン溶液 (カプサイシン 1 mg (Sigma-Aldrich) を溶媒に溶解) を適当な長さの無菌ガーゼに浸して腹部食道周囲に優しく巻きつけ 30 分処置した。sham 群は、カプサイシンを含まない溶媒を使用して同様の手順で処置した。更に、この PTH 初期分泌による腎臓のリン再吸収を担うトランスポーター Npt2a タンパク質発現量への影響を検討した (図 4)。



4. 研究成果

(1) 血中リン濃度および intact-PTH 濃度はともに高濃度のリン酸水溶液を投与した群では対照群と比して有意に上昇することが明らかとなった。

(2) PFA により腸管でのリン吸収を阻害すると、リン酸水溶液投与による PTH 初期分泌が消失することを見出した。

(3) 小腸上部または下部に分けてリン酸を投与した際、小腸下部への投与でのみ、投与前と比較して血漿リン濃度および

intact-PTH 濃度の有意な上昇を認めた。

(4) カプサイシン処理により迷走神経求心路を遮断すると、リン酸水溶液投与による PTH 初期分泌が見られなかった。更に、リン酸水溶液投与による Npt2a タンパク質発現の抑制効果は、迷走神経求心路を遮断すると消失することを明らかにした。

5. 主な発表文等

(研究代表、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 7 件)

(1) 川本桂祐、佐久間理英、田中更沙、増田真志、中尾真理、新井田裕樹、伊藤美紀子、竹谷豊、新井英一 食餌中の糖・脂肪の組成比率が腸管のリン吸収に及ぼす影響、第 20 回日本病態栄養学会年次学術集会、2017 年 1 月 13-15 日、国立京都国際会館 (京都府・京都市)

(2) 杉原康平、増田真志、中尾真理、Maerjianghan Abuduli、織田奈央子、山本浩範、武田英二、竹谷豊 高リン食はマクロファージを活性化させ大腸炎を悪化させる、第 20 回日本病態栄養学会年次学術集会、2017 年 1 月 13-15 日、国立京都国際会館 (京都府・京都市)

(3) 新井田祐樹、増田真志、吉澤和香、奥村仙示、竹谷豊 慢性腎臓病に伴う脂質代謝異常が Protein Energy Wasting に与える影響、第 49 回日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会、2016 年 11 月 12 日-13 日、徳島大学蔵本キャンパス (徳島県・徳島市)

(4) 増田真志、宮崎淳 飽和脂肪酸と血管石灰化、日本脂質栄養学会第 25 回大会、2016 年 9 月 16 日-17 日、秋田市にぎわい交流館 AU (秋田県・秋田市)

(5) Yukiko Imi, Masashi Masuda, Maerjianghan Abuduli, Norie Yabiki, Hisami Yamanaka-Okumura, Makoto Miyazaki, Yutaka Taketani. High phosphorus induces the lipolysis through endoplasmic reticulum stress. Kern Lipid Conference 2016, August 8-10, 2016, Vail, CO, USA

(6) 矢引紀江、伊美友紀子、Maerjianghan Abuduli、増田真志、奥村仙示、山本浩範、武田英二、竹谷豊 高脂肪食が高リン食摂取時のミネラル代謝調節機構に及ぼす影響、日本ビタミン学会第 68 回大会、

2016年6月17-18日、富山国際会議場(富山県・富山市)

- (7) Shiori Fukuda, Hironori Yamamoto, Masashi Masuda, Mari Nakao, Yutaka Taketani. Regulation of a-klotho Expression by Dietary Phosphate During Growth Periods. American Society Nephrology Kidney Week, November 3-8, 2015, San Diego, CA, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増田 真志 (MASUDA, Masashi)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教
研究者番号：50754488