

平成 21 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18390274  
 研究課題名（和文） 骨・ミネラル代謝、およびその破綻による疾患における線維芽細胞増殖因子 23 の関与  
 研究課題名（英文） Involvement of fibroblast growth factor 23 in bone and mineral metabolism and its disorders  
 研究代表者  
 福本 誠二(FUKUMOTO SEIJI)  
 東京大学・医学部附属病院・講師  
 研究者番号 30202287

研究成果の概要：血中リン濃度の異常は、くる病/骨軟化症や異所性石灰化の原因となる。従って生体には、リン濃度を一定の範囲に維持する機構が備わっているものと考えられる。線維芽細胞増殖因子 23(FGF23)は、血中リン濃度を低下させるように作用する液性因子である。本研究では、FGF23 の作用に Klotho が必要であること、FGF23 作用障害により高リン血症性疾患が惹起されることなどから、FGF23 が血中リン濃度を調節するホルモンであることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	6,500,000	1,950,000	8,450,000
2007 年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2008 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：骨軟化症、ホルモン、低リン血症、高リン血症、FGF

## 1. 研究開始当初の背景

くる病/骨軟化症は、骨基質の石灰化障害を特徴とする疾患である。このうち X 染色体優性低リン血症性くる病/骨軟化症

(X-linked hypophosphatemic rickets/osteomalacia: XLH)と腫瘍性くる病/骨軟化症(tumor-induced rickets/osteomalacia: TIO)は、いずれも腎近位尿細管リン再吸収障害による低リン血症を特徴とし、非常に類似した病態を呈する疾患である。このうち TIO は腫瘍随伴症候群の一つであり、原因腫瘍の摘除により完治する。また XLH においても、

液性因子により病態が惹起されることが示されていた。従ってこれらの疾患は、未同定のミネラル代謝調節因子、phosphatonin の作用により惹起される可能性が考えられてきた。我々は、TIO 惹起腫瘍に高発現する遺伝子の作用を解析するという方法により、TIO 惹起因子として線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor: FGF)23 を同定した。また我々は、FGF23 測定系を開発すると共に、TIO や XLH を含む複数の低リン血症性疾患、逆に高リン血症性疾患の発症における FGF23 の関与を報告してきた。さらに FGF23

ノックアウトマウスの検討により、FGF23 は生理的なリンやビタミン D 代謝の維持にも必須の液性因子と考えられた。また一部の FGF23 蛋白は、サブチリシン様プロテアーゼにより <sup>179</sup>Arg と <sup>180</sup>Ser の間でプロセッシングを受け、不活性なフラグメントに分解されることも知られていた。一方この時点では、FGF23 の受容体や細胞内情報伝達系などの作用機序や FGF23 産生調節機構、各種リン代謝異常症の発症における FGF23 の関与の詳細など、多くの不明な点も残されていた。

## 2. 研究の目的

本研究では、血中リン濃度の異常を伴う疾患が、FGF23 作用調節機構のどのような破綻により惹起されるのかを明らかにすることに主眼をおき、FGF23 の作用機序、産生調節機構を含め FGF23 作用調節系の詳細を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) FGF23 作用機序の検討

FGF23 は骨で産生され、腎臓で作用する因子である。従って腎臓には、FGF23 に対する特異的受容機構が備わっていると考えられる。そこで腎臓で FGF23 に結合する蛋白を同定し、その FGF23 結合蛋白と FGF23 との関連につき、さらに in vitro、in vivo での解析を進めた。

### (2) FGF23 作用障害による疾患の発症機序の検討

既に FGF23 ノックアウトマウスが、腎尿細管リン再吸収亢進を伴う高リン血症を呈することが知られていた。この FGF23 ノックアウトマウスと同様の病態を示す疾患が、家族性高リン血症性腫瘍状石灰沈着症である。本症の原因遺伝子として、*GALNT3*、*FGF23* 遺伝子が知られていた。このうち *GALNT3* 遺伝子産物は、蛋白翻訳後修飾の中で最も頻度の高い、ムチン型 O 型糖鎖付加に関連する酵素である。そこで *GALNT3* 遺伝子変異による腫瘍状石灰沈着症患者の血中 FGF23 蛋白の解析、*GALNT3* 遺伝子産物が FGF23 蛋白に及ぼす効果の検討などにより、*GALNT3* 遺伝子異常による腫瘍状石灰沈着症の発症機序を明らかにした。

### (3) FGF23 蛋白への糖鎖付加に関する検討

FGF23 蛋白の <sup>179</sup>Arg と <sup>180</sup>Ser の間でプロセッシングは <sup>178</sup>Thr の O 型糖化により阻害されること、また FGF23 蛋白には 3 種類の O 型糖鎖が付着していることが知られていた。そこ

で FGF23 蛋白の正確な糖鎖付着部位、糖鎖の意義を明らかにするために、各種変異 FGF23 蛋白を発現させ、Western blot による解析などを行った。

## 4. 研究成果

### (1) FGF23 作用機序の検討

腎臓での FGF23 結合蛋白として、膜 1 回貫通領域を有する Klotho が同定された。Klotho は、老化促進モデルマウス *Klotho* において著明に発現が低下していることにより同定された蛋白である。既に *Klotho* マウスは、*FGF23* ノックアウトマウスと同様に、高リン血症を示すことが報告されていた。また *Klotho* マウスの血中 FGF23 濃度は、著明な高値であることが明らかとなった。これらの結果は、FGF23 と Klotho が同一のシグナル伝達系に作用することを示唆している。一方 Klotho の細胞内領域は非常に短く、Klotho が単独で細胞内にシグナルを伝達することはできないものと予想された。そこで FGF 受容体の関与が検討され、FGF23 はある種の FGF 受容体と Klotho の複合体に結合することにより、その作用を発揮することが明らかとなった。Klotho は、腎臓など特定の組織に発現が認められる。従って Klotho は、FGF23 作用の臓器特異性を規定しているものと考えられた。

### (2) FGF23 作用障害による疾患の発症機序の検討

*GALNT3* 遺伝子変異による腫瘍状石灰沈着症患者血中には、プロセッシングを受けていない全長 FGF23 は殆ど存在しないにも拘わらず、プロセッシングを受けた後のフラグメントは大量に存在することが明らかとなった。このことは、本症患者では FGF23 蛋白のプロセッシングが亢進し、全長 FGF23 蛋白の減少から FGF23 作用障害が惹起されること、FGF23 作用障害による高リン血症、あるいは他の合併する代謝異常により FGF23 の産生は亢進していることを示している。実際 FGF23 を発現する細胞の *GALNT3* 遺伝子発現を抑制することにより、FGF23 蛋白のプロセッシングが亢進することも明らかとなった。

### (3) FGF23 蛋白への糖鎖付加に関する検討

各種変異 FGF23 蛋白の検討により、FGF23 は <sup>171</sup>Thr、<sup>178</sup>Thr、および <sup>200</sup>Thr の三ヶ所にムチン型 O 型糖鎖付加を受けること、<sup>171</sup>Thr への糖鎖付加は <sup>178</sup>Thr が糖化されるために必須であること、<sup>200</sup>Thr への糖鎖付加はサブチリシン様プロテアーゼ以外のプロテアーゼに

対する抵抗性をもたらすことが明らかとなった。

#### 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12件)すべて査読有り

1. Fukumoto S, Martin TJ. Bone as an endocrine organ. Trends Endocrinol Metab in press
2. Fukumoto S. The role of bone in phosphate metabolism. Mol Cell Endocrinol in press
3. Yamazaki Y, Tamada T, Kasai N, Urakawa I, Aono Y, Hasegawa H, Fujita T, Kuroki R, Yamashita T, Fukumoto S, Shimada T. Anti-FGF23 neutralizing antibodies demonstrate the physiological role and structural features of FGF23. J Bone Miner Res 2008; 23: 1509-1518.
4. Fukumoto S. Physiological regulation and disorders of phosphate metabolism Pivotal role of fibroblast growth factor 23 -. Intern Med 2008; 47: 337-343.
5. Fukumoto S. Actions and mode of actions of FGF19 subfamily members. Endocr J 2008; 55: 23-31.
6. Endo I, Fukumoto S, Ozono K, Namba N, Tanaka H, Inoue D, Minagawa M, Sugimoto T, Yamauchi M, Michigami T, Matsumoto T. Clinical usefulness of measurement of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in hypophosphatemic patients - Proposal of diagnostic criteria using FGF23 measurement -. Bone 2008; 42: 1235-1239.
7. Yamashita H, Yamazaki Y, Hasegawa H, Yamashita T, Fukumoto S, Shigematsu T, Kazama JJ, Fukagawa M, Noguchi S. Fibroblast growth factor -23 (FGF23) in patients with transient hypoparathyroidism: Its important role in serum phosphate regulation. Endocr J 2007; 54: 465-470.
8. Ito N, Fukumoto S, Takeuchi Y, Takeda S, Suzuki H, Yamashita T, Fujita T. Effect of acute changes of serum phosphate on fibroblast growth factor (FGF)23 levels in human. J Bone Miner Metab 2007; 25: 419-422.

9. Ito N, Fukumoto S, Taguchi M, Takeshita A, Takeuchi Y, Yamada S, Fujita T. Fibroblast growth factor (FGF)23 in patients with acromegaly. Endocr J 2007; 54: 481-484.
10. Fukumoto S, Yamashita T. FGF23 is a hormone regulating phosphate metabolism Unique biological characteristics of FGF23 -. Bone 2007; 40: 1190-1195.
11. Frishberg Y, Ito N, Rinat C, Yamazaki Y, Feinstein S, Urakawa I, Navon-Elkan P, Becker-Cohen R, Yamashita T, Araya K, Igarashi T, Fujita T, Fukumoto S. Hyperostosis - hyperphosphatemia syndrome: A congenital disorder of O-glycosylation associated with augmented processing of fibroblast growth factor 23. J Bone Miner Res 2007; 27: 235-242.
12. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, Fujita T, Fukumoto S, Yamashita T. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. Nature 2006; 444: 770-774.

[学会発表](計10件)

1. Saito T, Suzuki H, Ito N, Igarashi T, Fukumoto S, Fujita T. Rare cases of X-linked hypophosphatemic rickets/osteomalacia mimicking autosomal recessive hypophosphatemic rickets/osteomalacia. Thirtieth Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2008年9月12日、Montreal
2. Suzuki H, Fukumoto S, Ito N, Fujita T. Analysis and importance of glycosylation status in FGF23 protein. Twenty-Ninth Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2007年9月19日、Honolulu
3. Ito N, Fukumoto S, Yamashita T, Frishberg Y, Fujita T. O-Linked Glycosylation by ppGalTase -3 Prevents Processing of Fibroblast Growth Factor (FGF)23. Twenty-Eighth Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2006年9月16日、Philadelphia

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

福本 誠二 (FUKUMOTO SEIJI)  
東京大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 30202287

(2)研究分担者

(3)連携研究者