

平成21年5月28日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19790585
 研究課題名（和文） リンセンサーの異常を呈するノックインマウスの作製
 研究課題名（英文） Generation of phosphate sensor knock in mice
 研究代表者
 瀬川 博子（SEGAWA HIROKO）
 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：70325257

研究成果の概要：

NPT2c の変異により引き起こされるクル病のメカニズムを明らかにすることを目的とし変異を有するノックインマウスの作製を行った。機能異常または、局在異常が認められた。最も症状の強い変異を用いてノックインマウス作製に入った。複数のラインを確認したが、変異リン・カルシウム代謝に大きな異常は見られていなかった。Npt2c 変異はドミナントネガティブ作用を示さないことが示唆された。マウスにおいては他の分子が中心となっている可能性があることが、理由と考えられる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：腎臓内科学

キーワード：腎臓、リン、センサー、HHRH、

1. 研究開始当初の背景

リンは骨の重要な構成要素であるだけでなく、細胞内で ATP などの高エネルギーリン化合物の構成成分としてエネルギー代謝の維持に必須の役割を演じている。また細胞

膜のリン脂質を構成し、細胞膜機能の維持のうえでも重要な役割を果たしている。多くの生理機能を担うリンの生体濃度は厳密にコントロールされており、この恒常性の破綻は生命の危険をも招く。一方では、小児、つま

り成長が著しい時期に生体内でのリンが不足する疾患として遺伝性低リン血症性くる病/骨軟化症が知られている。X染色体連鎖性低リン血症性くる病(XLH), 常染色体優性低リン血症性くる病(ADHR)及び高カルシウム尿を伴う低リン血症性くる病(HHRH) が挙げられる。XLH 及び ADHR の責任遺伝子は phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases on the X-chromosome(PHEX), 及び fibroblast growth factor-23 (FGF-23)が責任遺伝子であり、リン代謝調節因子の変異により結果的に低リン血症性くる病がひきおこされる。HHRH については長い間責任遺伝子が明らかではなかったが、昨年、近位尿細管に存在するナトリウム依存性リン酸トランスポーター(SLC34a3)であることが明らかとなった。SLC34a3 は我々が同定した成長期に重要であると考えられるリン酸トランスポーター(type IIc リンセンシングトランスポーター(以下 type IIc Na/Pi ST)である。本分子は既に報告されているリン酸トランスポーターとは異なる調節機構が示唆された。本分子は腎におけるリン再吸収の役割つまりトランスポーター以外にリン濃度を感知しその情報を他に伝えるリンセンサーとしての役割を担っている可能性を考えられる。我々はこれまで type IIc Na/Pi ST に関して様々な解析を行ってきた。日本人 HHRH 患者解析も行っており、type IIc Na/Pi ST 上に変異を検出している。本分子は、他の遺伝性低リン血症性くる病(XLH, 及び ADHR)のターゲット遺伝子であり、くる病発症に非常に関与していることが示唆されている

2. 研究の目的

type IIc Na/Pi ST の生理学的重要性を明らかにする。

3. 研究の方法

患者における type IIc Na/Pi ST 変異をアフリカツメガエル卵母細胞を用いた機能解析、及び袋ねずみ由来腎細胞(OK cells)を用いて局在の検討。機能異常または、局在異常が認められた。変異の中で、最も症状の強い変異を用いてベクターを構築、ES 細胞(E14)にエレクトロポレーション法で導入する。

4. 研究成果

複数のラインを確認したが、変異 Npt2c を有するマウスにおいてリン・カルシウム代謝に大きな異常は見られていない。つまり、Npt2c 変異はドミナントネガティブ作用を示さないことが示唆された。

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 5 件)

- (1) Segawa H. et al Type IIc sodium-dependent phosphate transporter regulates calcium metabolism. J Am Soc Nephrol. 査読 有、20 巻、2009, 104-113
- (2) Kusano K. Segawa H. et al. Role of low protein and low phosphorus diet in the progression of chronic kidney disease in uremic rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 査読 有、54 巻、2008, 237-243
- (3) Ohnishi R, Segawa H. et al. Control of phosphate appetite in young rats. J Med Invest, 査読 有、54 巻、2007、366-369

(4) Miyamoto K, Ito M, Kuwahata M, Segawa H. New aspect of renal phosphate reabsorption: the type IIc sodium-dependent phosphate transporter. *Am J Nephrol*. 査読 有 27 卷、2007, 503-515

(5) Yamamoto T, Michigami T, Aranami F, Segawa H. et al. Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria: a study for the phosphate transporter gene type IIc and osteoblastic function. *J Bone Mineral Metab*. 査読 有、25 卷、2007, 407-413

[学会発表] (計 9 件)

(1) Tomoe Y, Segawa H. et al. Effect of Fibroblast Growth Factor (FGF)23 on *Npt2a*^{-/-}, *Npt2c*^{-/-} Double-Knockout (DKO) Mice. The American Society of Nephrology Renal Week (2008), 11/8/2008, San Francisco, CA, USA.

(2) Ito M. et al. Mutation of Type IIc Na⁺-Dependent Phosphate Cotransporter (NaPi-IIc) and Hereditary Hypophosphatemic Rickets with Hypercalciuria (HHRH), The American Society of Nephrology Renal Week (2008), 11/7/2008, San Francisco, CA, USA.

(3) Segawa H. et al The Synergistic Role of *Npt2a* and *Npt2c* in Inorganic Phosphate Metabolism of Mice. ASBMR30th Annual Meeting (2008), 9/12/08, 9/15/08, Montreal, Quebec, Canada

(4) Taketani Y. et al. Role of Ezrin in the Regulation of Membrane Localization of

Type IIa Sodium-Dependent Phosphate Transporter (NaPi-IIa). The American Society of Nephrology Renal Week (2007), 11/5/07, San Francisco, California, USA.

(5) Yamamoto H. et al. Thyroid Hormones Regulate the Phosphate Homeostasis through the Transcriptional Control of the Renal Type IIa Sodium-Dependent Phosphate Cotransporter (NaPi-IIa) Gene. The American Society of Nephrology Renal Week (2007), 11/5/07, San Francisco, California, USA.

(6) Segawa H. et al. *Npt2a* and *Npt2c* in Mice Play Distinct and Synergistic Roles in Inorganic Phosphate Metabolism and Skeletal Development. The American Society of Nephrology Renal Week (2007), 11/3/07, San Francisco, California, USA.

(7) Furutani J, Segawa H. et al. The Molecular Mechanisms for the Alteration of *PepT1* Expression in 3/4 Nephrectomized Rats. The American Society of Nephrology Renal Week (2007), 11/3/07, San Francisco, California, USA.

(8) Segawa H. et al. The Role of the Type IIc Sodium-dependent Phosphate Transporter (*Npt2c*), which Is Involved in Hereditary Hypophosphatemic Rickets with Hypercalciuria (HHRH), ASBMR29th Annual Meeting (2007), 9/17/2007, Honolulu, Hawaii, USA

(9) Tomoe Y, Segawa H. et al. Sodium-dependent Phosphate Transporter (*Npt2c*), which Is Involved in Hereditary Hypophosphatemic Rickets with Hypercalciuria (HHRH), ASBMR29th

Annual Meeting (2007),
9/17/07, Honolulu, Hawaii, USA

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀬川 博子 (SEGAWA HIROKO)

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：70325257