

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08598

研究課題名(和文)尿毒症環境下の心血管組織におけるVD-VDR活性化調節機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of Regulatory Mechanism of Vitamin D- Vitamin D Receptor System in Cardiovascular Tissues in Uremic Milieu

研究代表者

緒方 浩顕 (OGATA, HIROAKI)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：30296959

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病ではビタミンD(VD)活性化障害によるVD-VDR受容体(VDR)系の異常が心血管疾患の高い罹患率に関与していると想定されている。しかしながら、外因性VD製剤投与に対して抵抗性がみられることが知られており、その原因は不明であった。本研究では、心血管障害モデルマウスにおいてFGF-23は心筋傷害が悪化するが、calcitriolはその傷害を緩和した。興味深いことに、心筋線維化は心筋細胞のCyp27/Cyp24発現と関連しており、局所でのVD活性化調節が心筋傷害の進展に重要であることが明らかになった。FGF-23負荷とVD活性化のバランスが心血管保護に重要である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VD-VDR系活性化障害が関与する心血管組織傷害において、外因性VD製剤投与に対する治療抵抗性の存在が示唆されてきた。本研究によってその抵抗性の機序の一端に外因性VD投与によりFGF-23発現が誘導され、局所のVD活性化障害、VD代謝が亢進し、VD-VDR系活性化が抑制されることが明らかになった。今後、VD-VDR系活性化障害が関与している心腎連関に対する新規治療法の開発に有用な知見である。

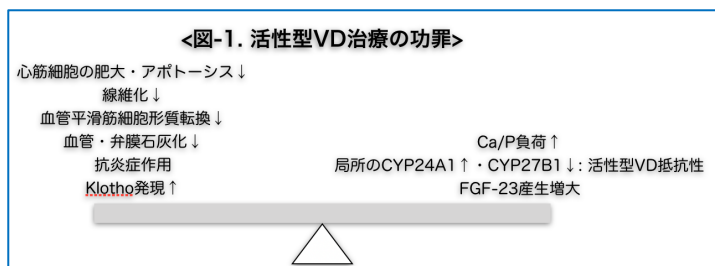
研究成果の概要(英文)：In CKD, disturbed the vitamin D (VD)-VD receptor (VDR) system due to impaired VD activation is involved in the high incidence of cardiovascular disease. However, resistance to exogenous vitamin D administration is clinically observed, and the mechanism remains unknown. In this study, FGF-23 exacerbated myocardial injury in a mouse model of cardiovascular injury, but calcitriol alleviated the injury. Interestingly, myocardial fibrosis was associated with Cyp27/Cyp24 expression in cardiomyocytes. These results suggest that local regulation of VD activation is important for the progression of myocardial injury. The balance between FGF-23 loading and VD activation may be important for cardiovascular protection by activated VD treatment.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：ビタミンD ビタミンD受容体 尿毒勝 CKD-MBD

### 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)では、腎機能低下による腎不全だけでなく、心血管疾患リスクも非常に高く(心腎連関)、CKD 診療においては腎保護だけでなく、心血管保護も極めて重要である。CKDでは、動脈硬化や左心室肥大が、非 CKD に比して極めて早く、高度に進展することが、動物モデルや臨床研究から判明していたが、その原因については不明な点が多いが、リン(P)の蓄積、ビタミン D (VD)の活性化障害、fibroblast growth factor (FGF)-23 の過剰産生などの慢性腎臓病に伴う骨・ミネラル代謝異常が重要な役割を演じている可能性が数多く報告されている。VD は、カルシウム(Ca)代謝の重要な調節ホルモンだけでなく、免疫や心血管系においても重要な働きをしていることが想定されている。事実、活性型 VD 欠乏状態では、免疫系の異常や心筋肥大、動脈硬化の進行などがみられる。このため、活性型 VD 製剤の CKD 患者に対する臨床的効果を検証した様々な研究が行われてきたが、活性型 VD 製剤治療の臨床的ベネフィットを証明したものはほとんどない。基礎的研究や臨床研究で観察された VD 活性化障害の臨床的問題と活性化 VD 製剤投与の効果の欠如の矛盾について、不明な点が多い。活性型 VD 投与は、VD 受容体(VDR)活性化を介して、心筋細胞の肥大・アポトーシスや線維化を抑制、血管平滑筋の形質転換抑制(石灰化、動脈硬化の抑制)、抗炎症作用を發揮する反面、VDR 活性化は同時に腸管での Ca/P 吸収の増加からこれらの過大負荷、FGF-23 産生亢進を惹起する可能性がある。また、VDR 活性化が autocrine/paracrine に local の VD 活性化障害や VD 異化亢進を引き起こし、結果として VDR 活性に negative feedback が掛かり、十分な活性型 VD 投与の効果が得られない可能性が指摘されている。

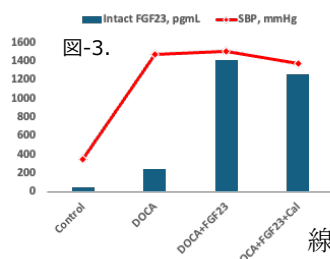
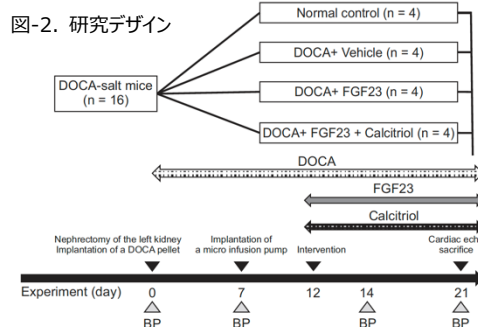


### 2. 研究の目的

CKD 病態下における活性化 VD 製剤治療への抵抗性の機序を解明する。  
 主たる作業仮説：FGF-23 による心筋傷害を活性型 VD 治療は抑制する。

### 3. 研究の方法

心血管障害モデルとして、deoxycorticosterone acetate (DOCA) -salt 負荷マウスを用いて検討した(図-2)。8週齢の C57 BL/6 マウスを図-2 の様に4群に分け、FGF-23 投与(80µg/kg/day)、活性型 VD 型 VD である calcitriol 投与(0.4mg/kg x 3/week)の心臓に対する影響を検討した。検討項目は、収縮期血圧(尾動脈)、血中 intact FGF-23 (iFGF23)濃度、心臓超音波所見及び心筋組織所見である。その結果、DOCA-salt 負荷により、血圧は上昇し、左心室重量(体重比)は増大し、心拡張能の指標である E/A は control 群に比較して有意に低下した(図-3, 4)。DOCA-salt+FGF-23 投与群では、血中 iFGF23 濃度は control 及び DOCA-salt 群に比較して大きく上昇しており、血圧の上昇に加えて、control 群に比較して、LVEF、E/A が低下しており、収縮能、拡張能も減少していることが示された。DOCA-salt+FGF23+calcitriol 群では、血圧上昇、左心室重量は、DOCA-salt 群、DOCA-salt+FGF23 群と差はなかったが、この2群に比較して、E/A の低下は抑制され、control 群とほぼ同等であった。LVEF についても control 群とは差はなかった。



次に各群の心筋細胞のサイズと心筋線維化を検討したところ、線維化エリアは DOCA-salt+FGF23 群 > DOCA-salt 群 > DOCA-salt+FGF23+Calcitriol 群 ≈ Control 群であった(図-5)。また、DOCA-salt 負荷により腫大した心筋細胞サイズは、Calcitriol 投与により抑制されていた。更に興味深いことに、VD 活性酵素である Cyp27b1 発現と心筋線維化は負の相関関係を、活性型 VD 代謝酵素で

ある Cyp24a1 とは正の相関関係が観察された (図-6)。

Western blotting による検討では、DOCA-salt 負荷や DOCA-salt+FGF23 で誘導された TGF- $\beta$  /Smad 系の活性化が、calcitriol 投与によりほぼ Control 群程度まで抑制されていた。

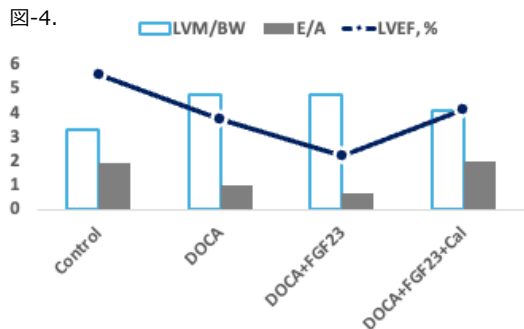


図-6.

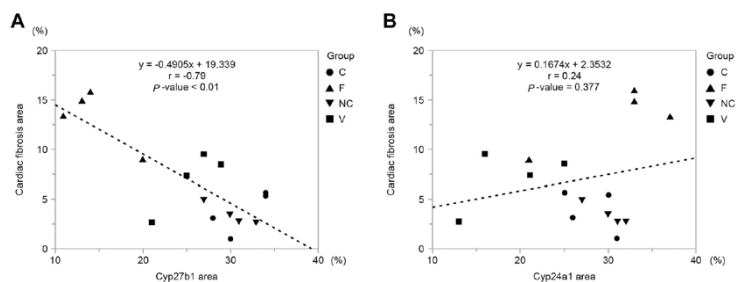
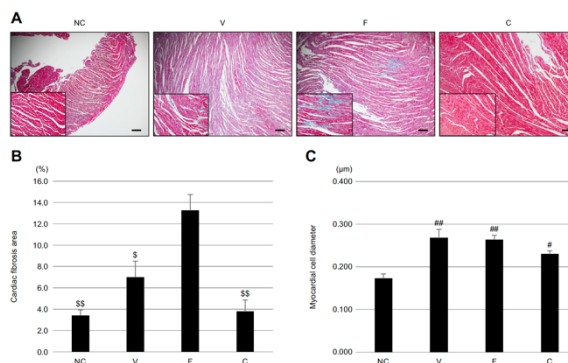


図-5.



#### 4. 研究成果

本研究の結果をまとめると、

- ◆ DOCA-salt 負荷により誘導された心筋細胞の肥大、左心室肥大や線維化は FGF-23 投与により増悪した。
- ◆ Calcitriol 投与は、血圧や左心室重量には影響を与えなかったが、DOCA-salt 負荷や DOCA-salt+FGF23 による心筋細胞の腫大を軽減し、心筋線維化についてはほぼ正常化させた。
- ◆ 心筋線維化は局所の Cyp27b1 発現減少、Cyp24a1 発現増加に関連していた。

通常、calcitriol 投与により血中 Ca、P 濃度が上昇し、FGF-23 産生が増大し、血中 FGF-23 濃度が上昇するが、本研究では Calcitriol 投与による FGF-23 濃度の増加は観察されなかった。これは、calcitriol 投与量が少量であったことと、腎機能障害がほぼないモデルでの検討であったためと考えられる。現在、慢性腎臓病モデルで同様の検討を進め、解析を行っている。

本研究で判明したことは、

- 過剰な FGF-23 は血圧上昇と独立して心筋細胞の腫大、左心室肥大や心線維化を TGF- $\beta$  /Smad 系などの活性化を介して増悪させ、心収縮能や拡張能を低下させる
- Calcitriol 投与は心筋細胞の腫大を抑制し、TGF- $\beta$  /Smad 系活性化抑制を介して、線維化を抑制した
- 局所の VD 活性化酵素、同代謝酵素の活性化状態が心筋線維化に関連していた

既報では、FGF-23 が VD 活性化酵素である Cyp27b1 活性化を抑制し、同代謝酵素の Cyp24a1 活性を増加させることが報告されている。本研究結果を考え合わせると、活性型 VD 投与 (VDR 活性化) は、血中 Ca/P 濃度を上昇させず、FGF-23 産生を招来しない程度であれば、心保護に有用である可能性がある。一方、大量活性型 VD 投与 (過剰は VDR 活性化) は FGF-23 濃度増大とともに局所の Cyp27b1 抑制/Cyp24a1 活性化を介して、心線維化を促進する可能性がある。本課題の臨床的検討として実施した日本人血液透析患者を対象としたランダム化比較研究。LANDMARK trial の post-hoc 解析においては、活性型 VD 製剤使用と心血管イベント、総死亡の間には有意な関連がみられなかった (*Ther Apher Dial* 2023;27:523)。基礎的検討及び臨床研究の結果を考え合わせると、活性型 VD 投与は VDR 過剰活性化を介した悪影響の可能性もあり、そのベネフィットを引き出すためには、投与量等を含めた工夫が必要である可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 T Saito, M Mizobuchi, T Kato, H Ogata, F Koiwa, H Honda	4. 巻 103
2. 論文標題 Fibroblast Growth Factor 23 Exacerbates Cardiac Fibrosis in Deoxycorticosterone Acetate-Salt Mice With Hypertension	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lab Invest	6. 最初と最後の頁 100003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.labinv.2022.100003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K Yoshida, T Mizukami, M Fukagawa, T Akizawa, H Morohoshi, T Sambe, A Takeshima, H Ito, H Ogata, N Uchida	4. 巻 27
2. 論文標題 Effect of vitamin D receptor activators on cardiovascular events in patients on hemodialysis-A post hoc analysis of the LANDMARK study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ther Apher Dial	6. 最初と最後の頁 523-529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1744-9987.13954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H Ogata, A Takeshima, H Ito	4. 巻 21
2. 論文標題 An update on phosphate binders for the treatment of hyperphosphatemia in chronic kidney disease patients on dialysis: a review of safety profiles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Expert Opin Drug Saf	6. 最初と最後の頁 947-955
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14740338.2022.2044472	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H Ogata, H Sugawara, M Yamamoto, H Ito	4. 巻 31
2. 論文標題 Phosphate and Coronary Artery Disease in Patients with Chronic Kidney Disease	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.RV22012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田輝龍、緒方浩顕
2. 発表標題 血液透析(HD)患者における活性化ビタミンD製剤(VDRA)使用と心血管イベント(CVE)の関連 LANDMARK研究より
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	溝渕 正英  (Mizobuchi Masahide)  (90465203)	昭和大学・医学部・准教授    (32622)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------