

令和 5 年 10 月 26 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08618

研究課題名(和文)急性腎障害が惹起する骨ミネラル代謝異常：疾患概念の確立と病態解明

研究課題名(英文)Acute kidney injury-induced mineral and bone disorder: concept and characterization

研究代表者

駒場 大峰 (Komaba, Hirotaka)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：60437481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：急性腎障害(AKI)はミネラル代謝に影響を及ぼすことが知られているが、その詳細は未だ明らかではない。われわれはラット腎虚血再灌流障害モデルを用いて、急性腎障害後にミネラル代謝の変化とともに類骨形成が一過性に著しく促進されること、さらにこの変化がAKI後のPTH上昇によって説明できることを見出した。また、AKI後の骨ミネラル代謝の変化はリン負荷によって顕著となり、尿細管腔内の石灰化を助長することにより腎障害の回復遅延につながることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討結果より、急性腎障害(AKI)がミネラル代謝の変化のみならず、骨病変や腎障害の回復過程に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。実臨床ではAKI発症後に腎機能が改善せずそのまま腎不全に至る場合が多く、合併症により死亡することも稀ではない。本研究結果は、骨ミネラル代謝への介入がAKI発症後の予後改善につながる可能性を示すものであり、新たな治療薬の開発につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Acute kidney injury (AKI) is known to induce alterations in mineral metabolism, but the detailed mechanisms remain to be determined. To address this, we used a rat model of renal ischemia-reperfusion injury and demonstrated that AKI induces a transient but marked increase of osteoid formation in association with alterations in mineral metabolism, which could be explained by increased levels of PTH after AKI. We also found that high phosphate diet exacerbates alterations in mineral metabolism after AKI and delays the recovery of renal function through induction of mineralization in the tubular lumen.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：急性腎障害 骨ミネラル代謝異常

1. 研究開始当初の背景

腎臓は生体のミネラルバランスを保つために重要な役割を担っている。このため、慢性腎臓病 (CKD) を有する患者では、骨ミネラル代謝の恒常性維持に破綻が生じ、骨折リスクの増大のみならず、血管石灰化を介して生命予後に深刻な影響を及ぼす。このような病態は慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常 (CKD-MBD) と総称され、診療ガイドラインに基づいた管理が行われている。

近年、この CKD-MBD の病態に FGF23 が深く関与していることが明らかになっている。FGF23 は骨細胞によって産生される液性因子で、近位尿細管におけるリン再吸収を抑制するとともに、腎臓での活性型ビタミン D (1,25D) 産生を抑制する。FGF23 がこのような生理作用を発揮するためには、FGF 受容体とともに膜蛋白 Klotho が共受容体として必要となる。CKD 患者では高リン血症を防ぐため、リン利尿作用を有する FGF23 分泌が早期の段階から亢進しており、この FGF23 の作用により腎臓における 1,25D 産生が抑制され、副甲状腺ホルモン (PTH) 分泌が持続的に亢進する二次性副甲状腺機能亢進症に至る。

一方、急性腎障害 (AKI) が骨ミネラル代謝異常に及ぼす影響は未だ明らかではない。申請者はこれまで、ラット腎虚血再灌流障害モデルを用いた検討により、AKI 後に FGF23 が著しく上昇し、高リン血症が一過性に留まる一方、1,25D は著明に低下することを示してきた。さらにこの過程で類骨の形成が亢進することを見出した。しかし、これらの骨ミネラル代謝の変化の詳細は明らかではない。そこで本研究では、ラット腎虚血再灌流障害モデルを用いた検討をさらに詳細に行い、以下の 2 点を検証することを目的とした。

2. 研究の目的

- (1) AKI 後の類骨増加の長期的影響と機序を検討する
- (2) リン負荷が AKI 後の腎障害とミネラル代謝の変化に及ぼす影響を検討する

3. 研究の方法

- (1) AKI 後の類骨増加の長期的影響と機序の検討

6 週齢雄 SD ラットに両側 35 分腎動脈虚血再灌流 (または sham 手術) を行い、3 日後と 4 週間後の骨組織を骨形態計測により評価した。また、骨組織より抽出した RNA を用いて遺伝子発現を比較した。これらの検討の結果、AKI 後の類骨増加に PTH が関与している可能性が示唆されたため、副甲状腺摘出術 (PTx) 後 (または sham 手術) に両側 35 分腎動脈虚血再灌流を行う実験を追加した。PTx を行ったラットは、その後、浸透圧ポンプを用いて 1-34PTH 製剤であるテリパラチドを生理量 (0.022 μg/100 g/h) で持続投与した。

- (2) リン負荷が AKI 後の腎障害とミネラル代謝の変化に及ぼす影響の検討

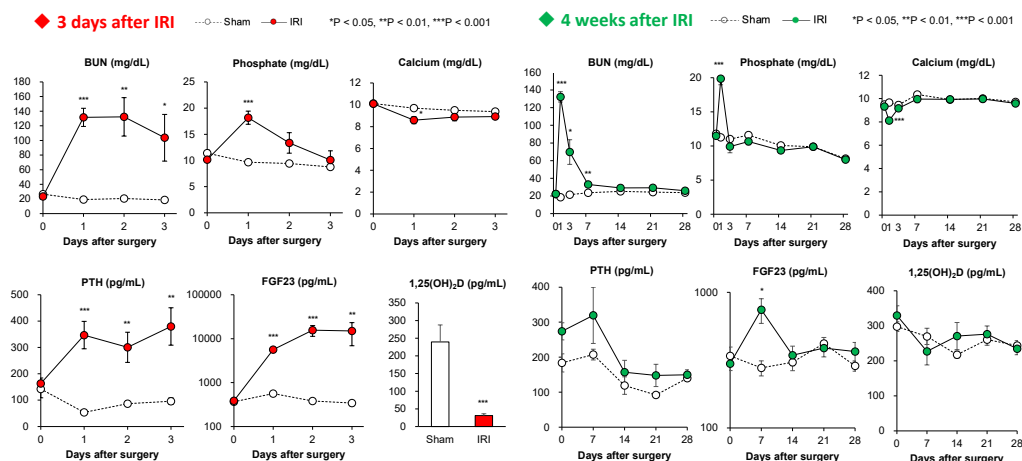
5 週齢雄 SD ラットに標準食 (リン含量 0.8%) または高リン食 (リン含量 1.2%) を 1 週間投与した上で、35 分間の両側腎動脈虚血再灌流 (または sham 手術) を行った。術後はすべて標準食に切り替え、3 日間の腎機能の推移やミネラル代謝の変化を評価した。

4. 研究成果

- (1) AKI 後の類骨増加の長期的影響と機序の検討

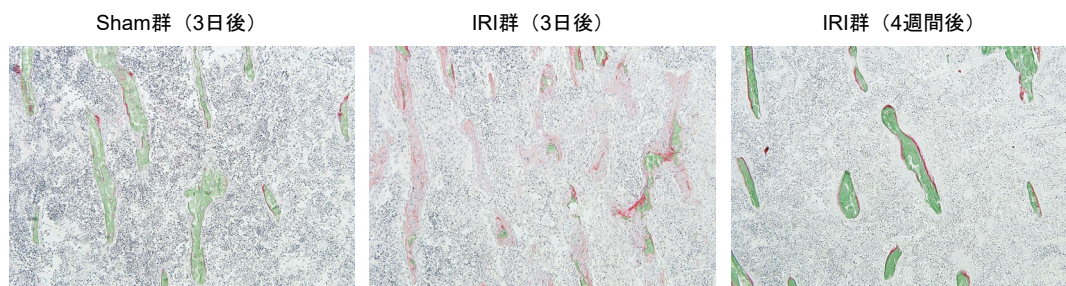
両側腎虚血再灌流障害 (IRI) を誘導したラットでは、sham 群と比較し、手術翌日に著明な BUN 上昇を示すとともに、血清リン値、PTH 値、FGF23 値の著しい上昇、1,25D 値の低下を認めた。これらの変化は、術後 2~3 日目において改善傾向を示した (図 1)。

図1. 両側腎虚血再灌流後のミネラル代謝の変化



IRI 誘導の 3 日後に骨形態計測を行うと、sham 群と比較し、類骨量、類骨面、類骨幅、骨芽細胞面の著明な上昇を認めた。石灰化骨量や浸食石灰化骨面、石灰化骨線あたりの破骨細胞数については sham 群と同等であった。IRI 誘導の 3 日後以降、腎機能の回復に伴ってミネラル代謝の変化は徐々に改善し、IRI 誘導の 4 週間にはほぼ正常化した (図 1)。この時点での骨形態計測パラメーターは、IRI 群と sham 群で同等であった (図 2)。

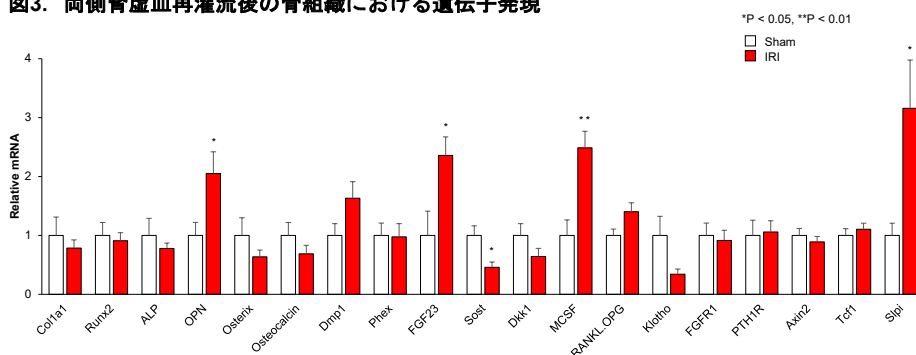
図2. 両側腎虚血再灌流後の骨組織



以上の結果より、ラット IRI モデルにおいて、著しい類骨形成促進を特徴とする急激な骨形態の変化が出現することが明らかとなった。しかしその変化は一時的であり、石灰化骨の増加には至らなかった。

次いで IRI 後に一過性に類骨が増加する機序を検討するため、IRI 誘導の 3 日後の骨組織より抽出した RNA を用いて遺伝子発現を比較したところ、sham 群と比較し、PTH 受容体の下流シグナルである *Slpi* の発現が上昇していることが明らかとなった (図 3)。

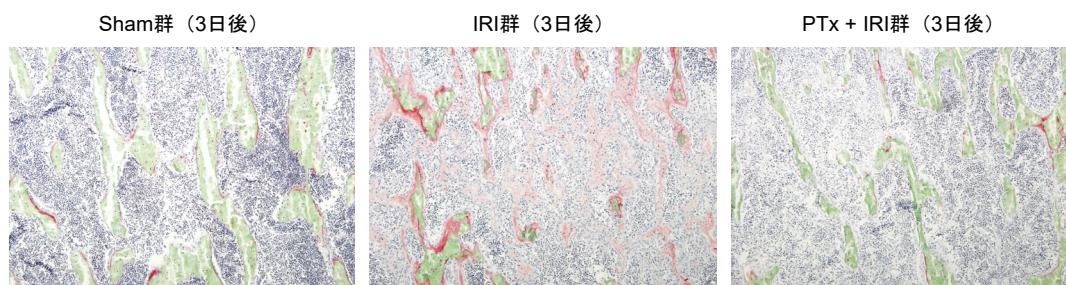
図3. 両側腎虚血再灌流後の骨組織における遺伝子発現



IRI 後には血中の PTH 値が著しく上昇していたことから、これが類骨形成促進に関与している可能性が示唆された。この可能性をさらに検証するため、PTx 後に IRI を誘導し、骨代謝に及ぼす影響を検討した。

その結果、PTx 後に IRI を誘導した場合、類骨増加がほぼ完全にキャンセルされることが明らかとなった (図 4)。以上の結果より、IRI 後の一過性の PTH 上昇が類骨増加を誘導することが明らかとなった。

図4. 両側腎虚血再灌流後の骨組織



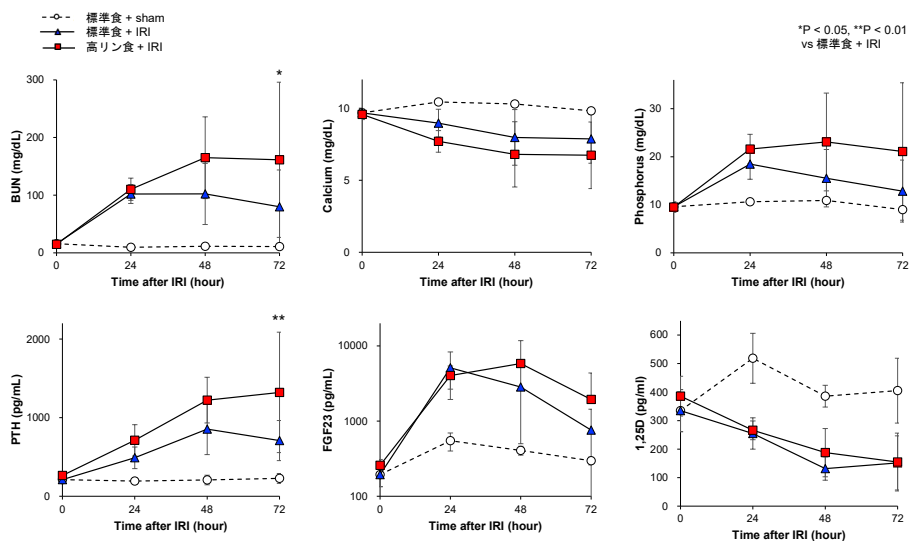
(2) リン負荷が AKI 後の腎障害とミネラル代謝の変化に及ぼす影響の検討

高リン食を 1 週間給餌したラットは尿中リン排泄の著明な上昇を示したが、腎機能やミネラル代謝に変化を認めなかった。

1 週間の標準食後に IRI を行った群では、sham 群と比較し、手術翌日に著明な BUN 上昇を示すとともに、血清リン値、PTH 値、FGF23 値の上昇、1,25D 値の低下を認めた。これらの変化は、術後 2~3 日目において改善傾向を示した。高リン食を 1 週間給餌した後に IRI を行ったラットでは、標準食後に IRI を行った群と比較し、手術翌日の BUN 上昇やミネラル代謝の変化

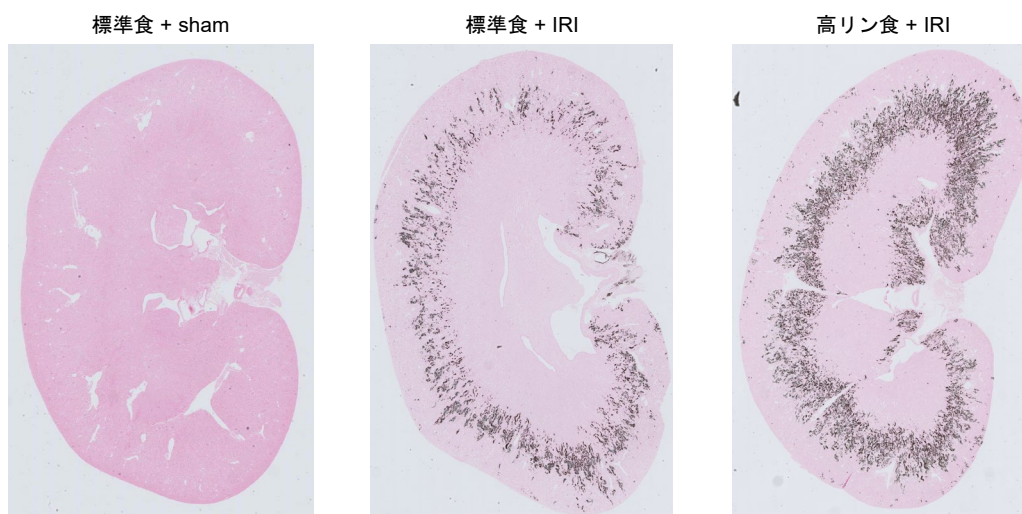
は同等であったが、2日目以降も改善せず増悪傾向を示した（図5）。

図5. リン負荷が腎虚血再灌流後のミネラル代謝に及ぼす影響



IRI 誘導の 3 日後の腎組織で von Kossa 染色を行うと、高リン食後に IRI を行った群では標準食後に IRI を行った群と比較し、髓質を中心により高度な尿細管腔内の石灰沈着を認めた（図6）。以上の結果より、ラット IRI モデルにおいて、ベースのリン負荷が急性腎障害発症時のダメージを重症化させることが明らかとなった。

図6. リン負荷が腎虚血再灌流後の腎石灰化に及ぼす影響



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中川洋佑, 駒場大峰, 濱野直人, 大和英之, 和田健彦, 中村道郎, 深川雅史
2. 発表標題 ラットにおける急性腎障害後の急激な骨形態の変化
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nakagawa Y, Komaba H, Hamano N, Sawada K, Wada T, Nakamura M, Fukagawa M
2. 発表標題 AKI Promotes Osteoid Formation Through Increased PTH Secretion in Rats
3. 学会等名 ASN Kidney Week 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中川洋佑, 駒場大峰, 濱野直人, 和田健彦, 中村道郎, 深川 雅史
2. 発表標題 リン負荷はラットの急性腎障害を悪化させる
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020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
研究協力者	中川 洋佑 (Nakagawa Yosuke) (10824394)	東海大学・医学部・助教 (32644)	

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
---------	---------