

機関番号：84408

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791028

研究課題名 (和文) リン酸利尿因子 FGF23 の血中分泌メカニズムの解析

研究課題名 (英文) Mechanism for the secretion of phosphaturic hormone FGF23 to blood

研究代表者

山崎 美和 (若林美和) (YAMAZAKI MIWA)

地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター(研究所)・環境影響部門・流動研究員

研究者番号：50455549

研究成果の概要 (和文) : FGF23 は骨で産生され、標的臓器である腎臓に作用してリン酸排泄量を増加させるリン酸利尿ホルモンであるが、その血中レベルの制御機構については現在のところあまり解析がなされていない。骨形成不全症などの骨疾患患者において、骨吸収阻害剤ビスフォスフォネートの投与が血中 FGF23 値の上昇を伴うことが観察されている。そこで、骨細胞により産生された FGF23 がいったん骨基質中に蓄積され、破骨細胞性骨吸収に伴って血中に分泌される可能性について動物実験により検証を試みた。マウスへの骨吸収促進因子の投与は、血中 FGF23 値の上昇をもたらし、FGF23 の血中分泌に破骨細胞性骨吸収が関与していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文) : FGF23 is a phosphaturic hormone which is produced by bone and exerts its effects in kidney by increasing the urinary phosphate excretion. Although FGF23 is considered as a hormone, the mechanism for the regulation of its blood levels remains unclear. It is reported that treatment with a bisphosphonate, an inhibitor of bone resorption, is associated with increased levels of FGF23 in patients with osteogenesis imperfecta. Therefore, in the current study, we have tested the hypothesis by animal experiments that FGF23 produced by osteocytes is stored in bone matrix, and released to circulation in association with osteoclastic bone resorption. Administration of factors which stimulate bone resorption to mice resulted in the increased levels of serum FGF23, suggesting that osteoclastic bone resorption is involved in the secretion of FGF23 to blood.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：小児科学

科研費の分科・細目：7212

キーワード：FGF23、骨吸収、血中分泌

1. 研究開始当初の背景

FGF23 はリン恒常性において中心的な役割を担うリン酸利尿因子であるが、FGF23 の血

中濃度の制御機構については不明な点が多い。FGF23 は骨で産生され、標的臓器である腎臓に到達してその作用を発揮することか

ら、ホルモンとして位置づけられる。ホルモンとしての位置づけを考慮すると、FGF23 の血中濃度は何らかのフィードバック機構により制御を受けることが推察される。しかしながら、現在のところ、FGF23 の血中濃度の制御機構については不明な点が多く、また、血中 FGF23 濃度と血清リン値とは必ずしも相関しない。

骨形成不全症は骨の脆弱性を主徴とする遺伝性骨疾患であり、骨吸収阻害剤であるビスフォスフォネートが投与される。北岡らは、骨形成不全症小児におけるビスフォスフォネート投与の前後で血清 FGF23 値の測定を行い、投与後に FGF23 値が低下することを報告している (Kitaoka T, et al. *J Bone Miner Metab*, 2011)。また、骨代謝回転が FGF23 の血中分泌に関与することを示唆する報告もなされている (Samadfam R, et al. *Endocrinol*, 2009)。これらの知見から筆者らは、骨芽細胞、骨細胞により産生された FGF23 は、いったん骨基質中に蓄積された後に、破骨細胞性骨吸収に伴って血中へと分泌されるのではないかと考え、この仮説を検証するために本研究を計画した。

2. 研究の目的

動物モデルを用いて、FGF23 の血中分泌における破骨細胞性骨吸収の関与の可能性について、実験的に検討することを目的とした。

3. 研究の方法

Boyce らの方法に準じて、破骨細胞性骨吸収促進マウスを作製した。5 週齢の C57BL 雄性マウスの頭部皮下に破骨細胞形成促進因子である IL-1 β (5 μ g/dose)、PTH (100 μ g/dose) を一日 1 回、4 日間投与することにより、骨吸収を誘導した。対照群には同容量の生理食塩水を投与した。本法は頭蓋冠に骨吸収を誘導することが確立されている。最後の投与から 24 時間後に採血を行い、血清カルシウム値、リン値及び FGF23 値の測定を行った。血清 FGF23 値の測定には、Kainos 社の ELISA kit を使用した。

また、X 連鎖性遺伝性低リン血症性くる病 (X-linked hypophosphatemic rickets; XLH) のモデルで、*Phex* 遺伝子の 3' 側に欠失を有する *Hyp* マウスの長管骨より骨細胞を単離し、real-time PCR により *Fgf23* の発現を解析し、血中 FGF23 レベルとの相関性について検討した。

4. 研究成果

頭部皮下に IL-1 β を投与したマウスにおいては、対照群と比較して、血清カルシウム値及び血清リン値がともに高値を示し、骨吸収が亢進していることが確認された。また、血清 FGF23 値も対照群と比較して上昇しており、

IL-1 β 投与による骨吸収が血清 FGF23 値の上昇をもたらしたことが推察された。一方、PTH を投与したマウスにおいては、骨吸収の亢進は確認されたが、FGF23 値の上昇は認められず、PTH の腎臓におけるリン酸利尿作用などの影響が考えられた。

XLH のモデルである *Hyp* マウスの 20 週齢雌性ヘテロ個体を用いて、血清 FGF23 値の測定を行ったところ、野性型マウスと比較して、血清 FGF23 値は 20 倍程度に著明に上昇していた。一方、*Hyp* マウスの長管骨を微細化し、コラゲナーゼによる消化と EGTA による脱灰を反復することにより単離した骨細胞を用いて、real-time PCR により *Fgf23* mRNA の発現を解析したところ、*Hyp* マウス由来骨細胞における *Fgf23* mRNA の発現は野性型マウス由来骨細胞と比較して増加していたが、その増加の程度は血清 FGF23 値の上昇率に比較すると比較的軽度にとどまった。このことから、FGF23 の血中濃度は、mRNA レベルでの制御に加え、翻訳から細胞外への分泌、血中への分泌に至るさまざまな段階で制御を受ける可能性が示唆された。今回の検討で、マウス骨からの初代骨細胞の単離方法が確立できたので、今後、上述の IL-1 β 投与による骨吸収促進モデルにおいて認められた血中 FGF23 値の上昇が、骨細胞への IL-1 β の直接作用であった可能性についても検討していく予定である。

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 2 件)

- ① Yamazaki M, Ozono K, Okada T, Tachikawa K, Kondou H, Ohata Y, Michigami T. Both FGF23 and extracellular phosphate activate Raf/MEK/ERK pathway via FGF receptors in HEK293 cells. *J Cell Biochem*, 111:1210-1221, 2010, 査読有
- ② Kimata M, Michigami T, Tachikawa K, Okada T, Koshimizu T, Yamazaki M, Kogo M, Ozono K. Signaling of extracellular inorganic phosphate up-regulates cyclin D1 expression in proliferating chondrocytes via the Na⁺/Pi cotransporter Pit-1 and Raf/MEK/ERK pathway. *Bone*, 47:938-947, 2010, 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① Yamazaki M, Ozono K, Okada T, Ohata Y, Tachikawa K, Kondou H, Michigami T. Signal transduction triggered by

extracellular inorganic phosphate involves FGF receptor and influences the FGF23 signaling. 14th International Congress of Endocrinology. 2010年3月29日、京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 美和(若林美和) (YAMAZAKI MIWA)
地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪
府立母子保健総合医療センター (研究
所)・環境影響部門・流動研究員
研究者番号：50455549

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし