

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：84503

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2010～2014

課題番号：22229003

研究課題名(和文) クロトーフファミリーの分子機能解明を基盤とした代謝の臓器相関に関する研究

研究課題名(英文) Study of the metabolic regulation based on the elucidation of molecular function of Klotho family

研究代表者

鍋島 陽一 (Yo-ichi, Nabeshima)

公益財団法人先端医療振興財団・その他部局等・その他

研究者番号：60108024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 167,300,000円

研究成果の概要(和文)： $\beta$ -Klotho (KI)、 $\beta$ -KIの機構解明により以下の結果を得た。 $\beta$ -KI結合蛋白の糖鎖構造、 $\beta$ -KIの構造解析、MDシミュレーションにより $\beta$ -KIは3S-GlcA、HNK-1に結合する新規レクチンであることを発見した。蛋白間相互作用、FGF23シグナル伝達における糖鎖の新たな機能を解明した。更に、コレステロール代謝のバストネス、胆汁がと体重調節に関連しないこと、脂肪組織がアミノ酸代謝制御に関わること、カルパイン1阻害剤投与により多様な老化類似症状が改善すること、ヒト血中 $\beta$ -KIは加齢に伴って減少し、FGF23濃度と逆相関すること等を明らかにした。全体として恒常性維持機構の理解に貢献した。

研究成果の概要(英文)：We studied molecular mechanisms of newly established homeostasis regulation system by analyzing the molecular functions of  $\beta$ -KI,  $\beta$ -KI and circulating FGF subfamily. The followings were clarified. 1) Crystal structure analysis of  $\beta$ -KI and its MD simulation study revealed  $\beta$ -KI acts as a novel lectin that recognizes 3S-GlcA/HNK-1 sugars. 2) We found novel functions of glycans in protein-protein interaction and in FGF23 signal trasduction. By analyzing the functions of  $\beta$ -KI we discovered that 3) Robustness of cholesterol metabolism, 4) Decreased body weight in  $\beta$ -KI KO is not depend on the increased bile acids synthesis, and 5)  $\beta$ -KI is involved in the regulation of amino acid metabolism. We also found that 6) Calpain1 inhibitor administration improves the aging related phenotypes of  $\beta$ -KI KO mice, and that 7)  $\beta$ -KI gradually decreases during aging and reversely correlates with FGF23 levels. Taken together, animal homeostasis regulation mechanisms are intensively clarified.

研究分野：分子病態学

キーワード：恒常性 レクチン 結晶構造解析 クロトー コレステロール代謝 HNK-1糖鎖

## 1. 研究開始当初の背景

動物個体は内外の変化に適確に応答することによって恒常性を維持し、健康な生命活動を営む。一方、この生体応答能の破綻は恒常性維持機能の低下、生理機能の減退をもたらし、様々な加齢変化、加齢疾患の要因となっている。 $\alpha$ -Klotho、 $\beta$ -Klotho、FGF19 サブファミリーの発見は代謝制御を統合的に担う新たなシステムを浮き彫りにした。この新規システムは電解質代謝、脂質代謝、糖代謝、エネルギー代謝の制御に及んでおり、まさに動物個体の生存と機能維持を統合的に担うものであり、その解明は老化の解明、加齢関連疾患の病態解析、治療法の開発に資すると期待され、急速な展開、広がりを見せていた。

本研究代表者は *klotho* 変異マウスを発見し、その機能解析を進め、 $\alpha$ -Klotho は発現細胞 (副甲状腺、腎遠位尿細管、脈絡膜) のゴルジ体、分泌小胞において Na, K-ATPase と結合しており、細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の低下に素早く応答して Na, K-ATPase が細胞表面へ誘導され、作り出された  $\text{Na}^+$  の濃度勾配、膜電位の変化に応答して腎臓での  $\text{Ca}^{2+}$  の再吸収、脈絡膜を介した  $\text{Ca}^{2+}$  の脳脊髄液への輸送、副甲状腺での PTH の分泌が制御されていることを明らかにした。また、 $\alpha$ -Klotho K0 マウスと FGF23 K0 マウスの変異表現型が酷似していたことを手がかりとして FGF23 のシグナル伝達には  $\alpha$ -Klotho が必須であることが明らかになり、Cyp27b1 (ビタミン D 合成の律速酵素) の発現を負に制御することを見いだした。更に  $\alpha$ -Klotho の機能亢進患者を見いだし、機能低下患者の報告と併せて  $\alpha$ -Klotho はヒトにおいても  $\text{Ca}^{2+}$ 、リン代謝の制御因子であることを示した。

$\alpha$ -Klotho のホモログとして  $\beta$ -Klotho を同定した。 $\beta$ -Klotho K0 マウスでは胆汁酸合成の律速酵素、Cyp7A1、Cyp8B1 の顕著な合成亢進が観察されたが、Fxr/Shp を介した既知の制御経路は機能しており、Cyp7A1、Cyp8B1 の発現を抑える第 2 の経路が存在し、第 2 の経路に  $\beta$ -Klotho が関わると推定した。この第 2 の経路は Fgf15 K0 マウス、FGFR4 K0 マウスでも観察されないことが報告され、 $\beta$ -Klotho が FGF15/FGFR4 と複合体を形成して Cyp7A1、Cyp8B1 の発現を負に制御するのではとの仮説が浮かび上がった。そこで  $\alpha$ -Klotho、 $\beta$ -Klotho と FGF23、FGF15 及び FGFR1、FGFR4 による複合体形成、シグナル伝達、ターゲット遺伝子の発現等を解析した。その結果、 $\beta$ -Klotho、FGF15、FGFR4、胆汁酸からなる胆汁酸/コレステロール代謝の全体像、並びに  $\alpha$ -Klotho、FGF23、FGFR1、1,25(OH) $_2$ D からなるビタミン D 合成制御の全体像が明らかとなった。更に、血中を循環する第 3 の因子

である FGF21 については、当初、脂肪細胞において  $\beta$ -Klotho、FGFR1 と複合体を形成して、シグナルを伝えると報告されたが、 $\beta$ -Klotho K0 マウスと FGF21 K0 マウスの変異表現型が一致せず、第 3 の因子の可能性を含めて明確な機構の解明が求められていた。

## 2. 研究の目的

本研究では  $\alpha$ -Klotho、 $\beta$ -Klotho、FGF19 subfamily 等、関連分子間の特異的認識機構を解明し、分子機能、生理機能解明の分子基盤とすることをめざした。当初 4 課題の推進を目指したが研究の進展により第 5 の課題を加えた。

**課題 1** : 腎臓では  $\alpha$ -Klotho/FGF23/FGFR1 複合体が、肝臓では  $\beta$ -Klotho/FGF15/FGFR4 複合体が形成される。 $\alpha$ -Klotho、 $\beta$ -Klotho は  $\beta$ -glycosidase family の一員であるが、その活性中心に変異があり、糖鎖結合分子として機能する可能性が示唆された。そこで、結合分子の糖鎖構造を解析し、 $\alpha$ -Klotho、 $\beta$ -Klotho がそれぞれ特異的な複合体を形成する機構の解明を目指した。

**課題 2** :  $\alpha$ -Klotho は  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase と結合しており、その細胞膜へのリクルートは細胞外カルシウム濃度の変化に応答しており、この制御における  $\alpha$ -Klotho の役割解明、また、 $\alpha$ -Klotho/ $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase 複合体形成機構の解明を目指した。

**課題 3** :  $\beta$ -Klotho は FGF19 シグナルを介して胆汁酸合成を制御すると共に、特定の分子と結合して脂質代謝、コレステロール代謝の臓器相関に関与していると推定されていた。そこで、脂質代謝、コレステロール代謝制御における  $\beta$ -Klotho の機能の解明を目指した。

**課題 4** : FGF21 の組織特異的シグナル伝達を制御する機構は多くの疑問が残されており、新規因子の関与を含めて複合体形成の分子機構の解明と代謝制御に於ける FGF21 の役割の解明を目指した。

**課題 5** :  $\alpha$ -Klotho 変異マウスでは顕著なカルパイン 1 の活性化が起こっており、その阻害剤投与により変異表現型の改善を試み、組織破壊をもたらす経路の解析を試みた。

## 3. 研究の方法

**課題 1** : FGF23、FGF19 の糖鎖修飾が、それぞれ  $\alpha$ -Klotho、 $\beta$ -Klotho と特異的に複合体を形成ことに寄与していると推定し、FGF23、FGF19 の糖鎖修飾部に変異を導入して、その可能性を確認し、重要性が認められた糖鎖の構造を決定した。FGF23 の糖鎖配列、他の  $\alpha$ -Klotho 結合タンパク質、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase、FGFR1 の糖鎖の構造上の特徴を解析した。更に  $\alpha$ -Klotho の立体構造の決定、MD シミュレーション、糖鎖とのドッキングシミュレーションを行い、糖鎖認識機構の解明を進めた。 $\alpha$ -Klotho と結合している蛋白質についている糖鎖の複合体形成にお

ける役割を解析した。

**課題2:**  $\alpha$ -Klotho は細胞外カルシウム濃度の変化に応答して  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  の細胞膜へのリクルートの制御に関わっている。各種の変異を導入した  $\alpha$ -Klotho と  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  を発現する HeLa 細胞を樹立し、細胞膜への移動を誘導し、リクルートに必要な  $\alpha$ -Klotho の機能領域を解析した。細胞外カルシウムの変化を感知し、 $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  のリクルートへとシグナルを伝える機構の解明を目指して腎臓、副甲状腺、脈絡膜に共通に発現する分子を探索し、その特徴から解析対象を絞り、その細胞生物学的性質を解析した。

**課題3:** 肝臓、膵臓、脂肪組織において  $\beta$ -Klotho と結合している分子を網羅的に解析し、重要な分子を選び、その機能解析、また、結合因子のノックアウトマウス、高発現マウスなどを作成し、解析を進めた。肝臓で特異的に  $\beta$ -Klotho を発現する Tg マウスを作成、ノックアウトと掛け合わせ、脂質代謝、コレステロール代謝、アミノ酸代謝における肝臓の  $\beta$ -Klotho の役割を解明した。

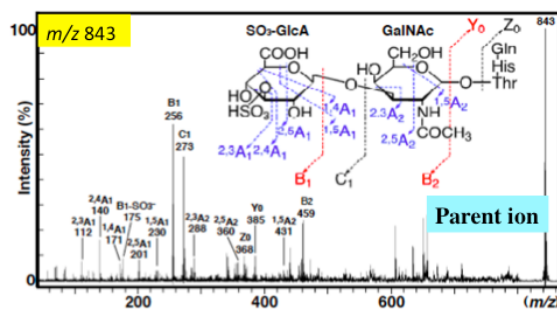
**課題4:** 生理的活性の高い FGF21 の調整を目的として肝臓で FGF21 を高発現するマウスを樹立した。次いで脂肪、膵臓、肝臓から FGF21 を含む複合体を免疫沈降し、構成要素を解析した。解明された FGF21 複合体構成分子を培養細胞で発現させ、それぞれの要素間の結合、複合体形成機構を解析し、FGF21 システムの特徴を調べた。

**課題5:**  $\alpha$ -Klotho 変異マウスの変異症状は生後3週目より始まることから、3週目より連日、カルパイン1阻害剤を投与し、6週目に組織学的解析、骨の  $\mu\text{CT}$  解析、血中電解質関連分子の測定等を行い、効果を解析した。

#### 4. 研究成果

##### (1) FGF23 の O 型糖鎖の構造と機能

FGF23 には3個の O 型糖鎖配列が推定され、それぞれに変異を導入し、その機能を解析した結果、178番目のスレオニンに結合する糖鎖 (O-Glycan<sup>T178</sup>) が FGF23 のシグナル伝達制御を担っていることを突き止め、O-Glycan<sup>T17</sup> 糖鎖構造を決定した (下図)。また、O-Glycan<sup>T17</sup> は FGF23 の腎臓への集積、



FGF23 と  $\alpha$ -Klotho の結合の促進、生理的濃度でのシグナル伝達を担っていることを確認した。その機構として O-Glycan<sup>T17</sup> 糖鎖が  $\alpha$ -Klotho に結合し、 $\alpha$ -Klotho を FGF23 と結合しやすい状態へとシフトさせることにより FGF23 と  $\alpha$ -Klotho の結合を促進、安定化さ

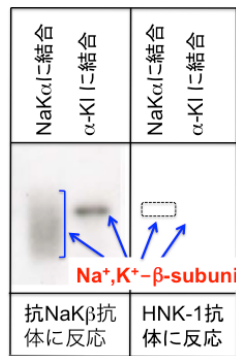
せることを発見し、「タンパク間相互作用における糖鎖の新たな機能」を提唱した (投稿中)。

##### (2) $\alpha$ -Klotho は硫酸化グルクロン酸、HNK-1 認識レクチン

$\alpha$ -Klotho はグリコシダーゼの一員であり、極めて弱いグルクロニダーゼ活性を示すことからグルクロン酸認識モチーフをもつことが示された。また、 $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$ 、FGFR1、メブリン  $\alpha/\beta$ 、CD13 など、同定した全ての  $\alpha$ -Klotho 結合タンパク質の N 型糖鎖は抗 HNK-1 抗体 (糖鎖 (3S-GlcA-Gal-GalNAc-O---配列を認識する) と共通に反応することを発見した。HNK-1 糖鎖は NK 細胞で発見された糖鎖であり、同様の糖鎖を持つ蛋白質が特に脳、腎臓で発現していることが知られていたが、これらの HNK-1 を認識する蛋白質は知られておらず、本研究により HNK-1 認識レクチンが発見された。また、FGF23 の特殊な O 型糖鎖も  $\alpha$ -Klotho のグルクロン酸認識モチーフに直接結合することを発見、「 $\alpha$ -Klotho は  $\beta$ -glycosidase から進化した硫酸化グルクロン酸、HNK-1 糖鎖を認識する新規のレクチンである」と結論した (投稿中)。

##### (3) 糖鎖修飾による複合体形成の制御

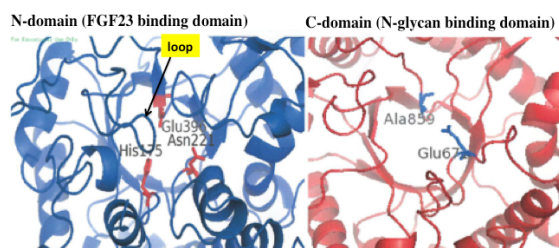
$\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$   $\beta$ -subunit、FGFR には HNK-1 糖鎖修飾を受けたものと受けていないものがあり、修飾されたもののみが選択的に  $\alpha$ -Klotho に結合すること (左図)、HNK-1 糖鎖修飾を制御する酵素の発現誘導により HNK-1 糖鎖を持つ  $\beta$ subunit や FGFR1 が増え、 $\alpha$ -Klotho と結合する分子が増えることが



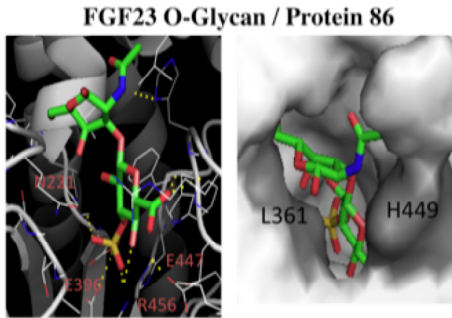
明らかと、HNK-1 糖鎖修飾がシグナル伝達の制御に関わる可能性が示唆された (投稿中)。

##### (4) $\alpha$ -Klotho の結晶構造解析

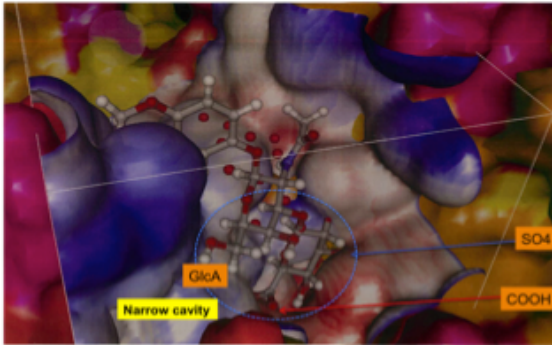
$\alpha$ -Klotho の結晶構造解析により上記の結果の分子基盤を解明した。 $\alpha$ -Klotho は N、C ドメインよりなり、2つのドメインの立体構造はよく保存されている。N ドメインの糖鎖認識構造は狭く、2つのループ構造が蓋をしており、糖鎖がアクセスできない構造をとっていたことから、分子動力的解析により、分子の運動を解析し、ループが開いた構造と閉じた構造をとることを明らかにした。一方、C ドメインの糖鎖認識構造は広く臼状の構造をとっていた (下図)。次いで、糖鎖と糖鎖



認識構造のドッキングシミュレーションを行い、N-ドメインのループが開いたポーズに FGF23 の O-glycan<sup>T178</sup> が結合すること(下図)、



糖鎖が結合することにより N ドメインの構造変換が誘導され、FGF23 が結合し易い状態へとシフトすることが示唆された。また C ドメインの糖鎖結合ポケットには多様な結合タンパクの HNK-1 糖鎖が結合する(下図)。(投稿中)

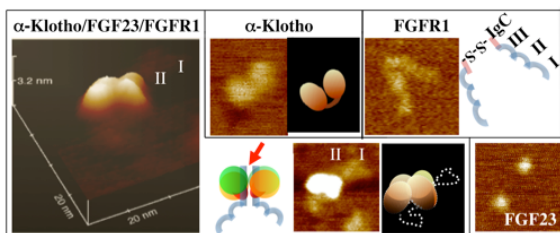


#### (5) 機能を保持した高発現系の開発

多コピーの外來遺伝子がクロマチンに組み込まれる動物培養細胞高発現系を開発し、機能を保持した対象蛋白質を大量に合成、精製することに成功した。この方法により FGFR1、 $\beta$ -Klotho、FGF23 の大量合成に成功し、 $\alpha$ -Klotho/FGF23/FGFR1 複合体、 $\beta$ -klotho の結晶構造解析を進めている。

#### (6) FGF23 シグナル伝達モデルの提案

FGF23 シグナル伝達の分子機構を示すモデルを構築した。FGF23 は $\alpha$ -Klotho に効率よくトラップされ、腎臓に集積し、FGFR1 と共に FGF23/ $\alpha$ -Klotho/FGFR1 複合体を形成する。2 個の $\alpha$ -Klotho/FGF23 複合体の 4 つのドメインがリングを作り、2 分子の FGFR1 を取り巻くことによって FGFR1 を活性化し、シグナルを伝えることが示唆された(下図)。



#### (7) $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$ のリクルート制御

$\alpha$ -Klotho は  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  と結合して細胞外カルシウム濃度の変化に応答する。この応答をミミックするために各種細胞に  $\alpha$ -Klotho の発現を誘導し、内在性の  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  との複合体を形成、カルシウムの低下に対する応答性を検討した。しかし、培養細胞には細胞外カルシウムに応答するシステムが備わっておらず、TRPV4 を共発現させ、そのリガンドで細胞を刺激することにより  $\alpha$ -Klotho/ $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  複合体を細胞膜にリクルートする系を開発した。 $\alpha$ -Klotho 配列に欠失を導入し、リクルート制御に必要な領域を解析したところ、直接結合する細胞外ドメインに加えて膜貫通ドメインも必要であるとの結果を得た。

細胞外カルシウムの変化を  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  のリクルートに変換する仕組みの解析を目的として腎臓、副甲状腺、脈絡膜に共通に存在するカルシウムセンサー機構を解析したところ、既知のカルシウム感知機構とは明らかに異なる仕組みが浮かび上がった。そこで、関与する分子の遺伝子ノックアウトを作成したところ、明らかに電解質代謝異常が観察され、詳細を解析中である。

#### (8) $\beta$ -klotho による脂肪代謝制御

$\beta$ -Klotho は肝臓において FGFR4、FGF15 と複合体を形成し、胆汁酸合成を抑える。 $\beta$ -Klotho KO ではコレステロールから胆汁酸が過剰に合成され、便に排泄される。にもかかわらず、血中コレステロール値は維持され、トリグリセリド値が低下していた。両者の合成酵素の発現、ラベルした共通の前駆体からの合成量を測定し、コレステロールが優先的に合成され、血中濃度が保持される仕組み(コレステロール代謝のロバストネス)が証明された(投稿中)。

#### (9) $\beta$ -Klotho KO の体重低下

胆汁酸はエネルギー代謝のキー分子であり、過剰合成は体重減少をもたらすと報告されている。KO マウスでは胆汁酸合成が亢進しており、体重減少の要因と推定された。肝臓特異的に  $\beta$ -Klotho を発現する Tg マウスを作成、KO と掛け合わせて、胆汁酸合成の亢進、コレステロールの過剰排泄をレスキューしたが、KO マウスの体重減少は改善せず、他の臓器、あるいは胚発生時の  $\beta$ -Klotho の機能による体重維持機構が示唆された(投稿中)。

#### (10) $\beta$ -Klotho 結合分子と代謝制御

$\beta$ -Klotho 結合分子の網羅的解析により、脂肪において Slc1a5、 $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  等を同定した。脂肪細胞における  $\text{Na}^+, \text{K}^+ \text{ATPase}$  の細胞膜へのリクルートに影響する分子を解析したところ、複数種のアミノ酸が浮かび上がった。また、KO マウスの血中アミノ酸レベルにも異常が見つかり、脂肪細胞によるアミノ酸代謝の新たな制御機構の研究へと進展している。

#### (11) FGF21 の機能解析

$\beta$ -Klotho の脂肪、膵臓での機能解明は遅れていたが、FGF21 が  $\beta$ -Klotho、FGFR1 と複合体を作りシグナルを伝達することを示唆され

た。しかし、FGF21、 $\beta$ -Klotho ノックアウトマウスの変異表現型には明確な類似点が見いだせず、幾つかの可能性を検討した。ヒト FGF21 を肝臓で発現する Tg マウスを作成し、ヒト FGF21 が効率良く膵臓、ついで脂肪に集積することを確認した。しかし、大腸菌で合成した FGF21 と比較して顕著に活性が高いことを示唆する結果はえられなかった。更に翻訳後修飾の寄与を確認する目的で FGF21 の糖鎖結合部位に変異を導入し、検討したがその意義は確認できなかった。一方、脂肪、膵臓における  $\beta$ -Klotho 複合体には、FGFR1、FGF21 に加えてパールカンが含まれていることが明らかになり、FGFR1、 $\beta$ -Klotho、パールカンを発現する培養細胞再構成系を作ってパールカンの意義を解析中である。また、パールカン遺伝子ノックアウトを解析し、FGF21 シグナル伝達系の特徴を解明しようとしている。

#### (12) カルパイン1 活性化の重要性

$\alpha$ -Klotho 変異マウスではカルパイン1 の顕著な活性化が変異症状の重要な要因と推定された。生後3週目より連日、カルパイン1 阻害剤を投与し、6週目に組織学的解析、骨の  $\mu$ CT 解析、血中電解質関連分子の測定等を行い、多様な症状が顕著に改善することを確認し、顕著な蛋白分解の亢進が  $\alpha$ -Klotho 変異マウスの多彩な老化類似症状をもたらす要因の一つであると結論した。動脈石灰化に伴い FGF23 の合成が誘導されること、血清 FGF23 濃度が石灰化の指標となることを示した。

#### (13) 血中 $\alpha$ -Klotho 測定キット開発

ヒト  $\alpha$ -Klotho 測定エライザキットを開発し、加齢に伴って減少すること、FGF23 濃度と逆相関することを明らかにした。

<引用文献>

#### 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 14 件)

1) Parthasarathy S, Inoue M, Xiao Y, Matsumura Y, Nabeshima YI, Hoshi M, Ishii Y. Structural Insight into an Alzheimer's Brain-Derived Spherical Assembly of Amyloid  $\beta$  by Solid-state NMR. **J Am Chem Soc.** May 4. PMID: 25938164 (2015)

2) Nabeshima Y., Washida M., Tamura M., Maeno A., Ohnishi M., Shiroishi T., Imura A., Razaque MS., Nabeshima Y. Calpain 1 inhibitor BDA-410 ameliorates  $\alpha$ -klotho-deficiency phenotypes resembling human aging-related syndromes. **Sci Rep.** Aug 1; 4: 5847. (2014)

3) Sakan H, Nakatani K, Asai O, Imura A, Tanaka T, Yoshimoto S, Iwamoto N, Kurumatani N, Iwano M, Nabeshima Y. Konishi N, Saito Y. Reduced Renal  $\alpha$ -Klotho Expression in CKD Patients and Its Effect on Renal Phosphate Handling and Vitamin D Metabolism. **PLoS One.** 9(1); e86301 (2014) PMID: 24466013

4) Maeda R, Imura A, Nabeshima Y Complex

regulation and diverse functions of alpha-klotho. **Contrib Nephrol.** 180: 25-46 (2013)

5) Park SJ, Shin EJ, Min SS, An J, Li Z, Hee Chung Y, Hoon Jeong J, Bach JH, Nah SY, Kim WK, Jang CG, Kim YS, Nabeshima YI. Nabeshima T, Kim HC. Inactivation of JAK2/STAT3 Signaling Axis and Down-regulation of M1 mAChR Cause Cognitive Impairment in klotho Mutant Mice, a Genetic Model of Aging. **Neuropsychopharmacology;** 38(8):1426-1437 (2013) PMID: 23389690

6) Asai O., Nakatani K., Tanaka T., Sakano H., Imura A., Yoshimoto S., Samejima K.I., Yamaguchi Y., Matsui M., Akai Y., Konishi N., Iwano M., Nabeshima Y. Saito Y. Decreased renal alpha-Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion. **Kidney Int.** 81(6): 539-547 (2012)

7) Siahianidou T, Garatzioti M, Lazaropoulou C, Kourlaba G, Papassotiriou I, Kino T, Imura A, Nabeshima Y. Chrousos G. Plasma soluble  $\alpha$ -klotho protein levels in premature and term neonates: correlations with growth and metabolic parameters. **Eur J Endocrinol.** 167(3): 433-40. (2012)

8) Yokoyama K., Imura A., Ohkido I., Maruyama Y., Yamazaki Y., Hasegawa H., Urae J., Sekino H., Nabeshima Y., Hosoya T. Serum soluble  $\alpha$ -Klotho in hemodialysis patients. **Clinical Nephrology** 77(5); 347-351 (2012)

9) Ohata Y., Arahori H., Namba N., Kitaoka T., Hirai H., Wada K., Nakayama M., Michigami T., Imura A., Nabeshima Y., Yamazaki Y., Ozono K. Circulating levels of soluble alpha-Klotho are markedly elevated in human umbilical cord blood. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 96(6); E943-7. Epub PMID 21411554 (2011)

10) Nakagawa T, Izumino K, Ishii Y, Oya T, Hamashima T, Jie S, Ishizawa S, Tomoda F, Fujimori T, Nabeshima YI. Inoue H, Sasahara M. Roles of PDGF receptor-beta in the structure and function of postnatal kidney glomerulus. **Nephrol Dial Transplant.**;26(2):458-468 (2011)

11) Baur JA, Chen D, Chini EN, Chua K, Cohen HY, de Cabo R, Deng C, Dimmeler S, Gius D, Guarente LP, Helfand SL, Imai S, Itoh H, Kadowaki T, Koya D, Leeuwenburgh C, McBurney M, Nabeshima Y. Neri C, Oberdoerffer P, Pestell RG, Rogina B, Sadoshima J, Sartorelli V, Serrano M, Sinclair DA, Steegborn C, Tatar M, Tissenbaum HA, Tong Q, Tsubota K, Vaquero A, Verdin E. Dietary restriction: standing up for sirtuins. **Science** 329 (5995); 1012-3 (2010)

12) Yamazaki Y, Imura A, Urakawa I, Shimada T, Murakami J, Aono Y, Hasegawa H, Yamashita T, Nakatani K, Saito Y, Okamoto N, Kurumatani N, Namba N, Kitaoka T, Ozono K, Sakai T, Hataya H, Ichikawa S, Imel EA, Econs

MJ, Nabeshima Y. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 398(3): 513-518 (2010)

13) Tomiyama K., Maeda R., Urakawa I., Yamazaki Y., Tanaka T., Ito S., Nabeshima Y., Tomita T., Odori S., Hosoda K., Nakao K., Imura A., Nabeshima Y. Relevant use of Klotho in FGF19 subfamily signaling system *in vivo*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 107(4): 1666-1671 (2010)

14) Ohkido I, Yokoyama K, Imura A, Utsunomiya Y, Hosoya T, Nabeshima Y. Persistent alpha-Klotho (a-Kl) expression in the parathyroid glands of patients with secondary hyperparathyroidism. **Nephrol Dial Transplant.** 25(3): 1007-1008 (2010)

[学会発表] (計 17 件)

1) 鍋島陽一  $\alpha$ -Klotho 研究の最近の進展 第 26 回モロシヌス研究会 2012 年 6 月 15、16 日 東京大学弥生講堂

2) 鍋島陽一 前田良太  $\alpha$ -Klotho/FGF23 複合体形成における糖鎖の役割 第 12 回日本蛋白質科学会年会ワークショップ蛋白質の機能拡張子としての糖鎖 2012 年 6 月 20 日 名古屋

3) Nabeshima Y.  $\alpha$ -Klotho in health and diseases New Frontiers of Metabolism Research in Biomedical Sciences Sep. 27, 2012 Tokyo

4) Nabeshima Y.  $\alpha$ -Klotho in health and diseases. IMPC international symposium in Tokyo Its activity and value for biomedical sciences. Sep. 28, 2012 Tokyo

5) 田中智洋、小林加奈子、鷺田美和、伊村明浩 鍋島陽一 3T3-L1 脂肪細胞の栄養分子応答性に関する検討 第 33 回日本肥満学会 京都 2012/10/12

6) Nabeshima Y. Washida M., Imura A.  $\alpha$ -Klotho in health and diseases Aging and Diseases of Aging Oct.22-27, 2012 Tokyo Japan

7) Nabeshima Y.  $\alpha$ -Klotho in health and diseases Asian Aging 2012 Korea-Japan Joint Conference on Aging, Metabolism and Neurobiology. Nov. 23-24 (2012) Seoul

8) 鍋島陽一 Klotho family の発見とその分子機能の解析を基盤とした生体恒常性維持機構の研究 日本内分泌学会マイスター賞受賞講演 第 86 回日本内分泌学会学術総会 2013 年 4 月 25 日～27 日 仙台

9) 鍋島陽一 クロトール: 生理機能、分子機能、病態 老年学会/基礎老化学会 特別講演 2013 年 6 月 6 日 大阪

10) Nabeshima Y. alpha-Klotho in health and diseases. IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics; Keynote lecture, June 24 to 28 2013 at Seoul

11) 鍋島陽一  $\alpha$ -Klotho ; 機能と病態 第 13

回日本抗加齢医学会総会シンポジウム「液性因子と加齢」 6 月 28 日、2013 年 パシフィコ横浜 会議センター

12) 鍋島陽一 多彩な加齢疾患に関わる Klotho の機能、病態、治療法開発 第 21 回日本消化器関連学会週間 (日本肝臓学会) 特別講演 2013 年 10 月 9～12 日 (東京)

13) 鍋島陽一 第 40 回日本神経内分泌学会学術集会 特別講演 2013 年 10 月 25 日から 26 日 宮崎市民プラザ

14) Nabeshima Y.  $\alpha$ - and  $\beta$ -Klothos in health and diseases. Asian-Aging Japan-Korea joint conference on aging and neurodegeneration Sep21-23 (2014) Jeju (Korea)

15) 鍋島陽一 Klotho によって紡がれた生命の糸を解きほぐす 第 7 回糖化ストレス研究会 2014 年 10 月 18 日 (東京)

16) 鍋島陽一 Klotho の構造機能連関——蛋白間相互作用における糖鎖の新たな機能—— 第 37 回東京成長ホルモン成長因子セミナー 2014 年 1 月 7 日 東京

17) Nabeshima Y.  $\alpha$ -Klotho in health and diseases. The 6<sup>th</sup> Nagasaki-Hallym Joint Meeting on Neurobiology and Brain Aging. March 16, 2015 Nagasaki Glover Garden

[図書] (計 7 件)

1) 鍋島陽一、伊村明浩、前田良太 Klotho、メタボリック FGF による代謝の統合制御 実験医学 30 巻 252-259 (2012)

2) 前田良太、伊村明浩、鍋島陽一 Klotho ファミリーによる内分泌性 FGF のシグナル制御 細胞工学 31:434-439 (2012)

3) 田中智洋、鍋島陽一 心腎連関解明の新しい分子標的  $\alpha$  Klotho; Cardiovascular Frontier Vol.3 No.1 : 30-37 (2012)

4) 鍋島陽一  $\alpha$ -Klotho と電解質代謝、骨代謝副甲状腺・骨代謝疾患診療マニュアル (2013)

5) 田中智洋、鍋島陽一  $\beta$ -Klotho による代謝恒常性制御 臓器円環による成体恒常性のダイナミクス、実験医学 31:689-694 (2013)

114) 鍋島陽一、前田良太、伊村明浩  $\alpha$ -Klotho の分子機能 実験医学

6) 田中智洋、鍋島陽一 老化関連疾患における  $\alpha$ -Klotho の病態的意義と診断・治療への展望 内分泌・糖尿病・代謝内科:137, 148-155 (2013)

7) 鍋島陽一  $\alpha$ -Klotho/FGF23 システム: 電解質代謝、老化関連疾患、腎不全を結ぶ新視点 CLINICAL CALCIUM 24(7) 37(1005)-43 (1011), 2014

[産業財産権] なし

[その他]

ホームページ

URL: <http://www.ibri-kobe.org>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鍋島陽一 (公益財団法人先端医療振興財団先端センター・センター長)

研究者番号: 60108024