

平成 30 年 8 月 23 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09295

研究課題名(和文) 病的副甲状腺のメガリン発現抑制機序の解明 - VDR、CaRによる調節機構の検討

研究課題名(英文) Megalin in parathyroid disease

研究代表者

稲葉 雅章 (INABA, Masaaki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：00176405

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：SHPT患者の副甲状腺においては、PTH分泌調節に関与しているVDR、CaRの発現低下が報告されている。メガリンの発現を、免疫染色により確認したところ、正常副甲状腺と比較し、発現が低下していた。また、原発性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺アデノーマについても併せて検討したところ、メガリン発現はアデノーマで軽度低下し、次いでSHPTにおけるびまん性過形成(diffuse)、そして結節性過形成(nodular)の順に低下を認めた。

研究成果の概要(英文)：The megalin expression in SHPT parathyroid glands decreased compared to normal parathyroid glands. The expression was also suppressed in parathyroid adenomas obtained from primary hyperparathyroidism.

研究分野：内分泌

キーワード：メガリン

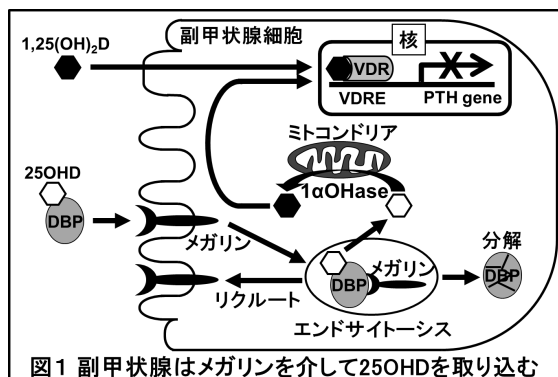
1. 研究開始当初の背景

我が国において維持透析患者数は既に30万人を超え、これら透析患者の予後改善は重要な医療上の課題である。多くのコホート研究により、透析患者の生命予後にカルシウム・リン代謝異常が大きく関与していることが示され、慢性腎臓病に伴う骨・ミネラル代謝異常(chronic kidney disease-mineral and bone disorder; CKD-MBD)の改善が重要である。CKD-MBDの改善のために、2次性副甲状腺機能亢進症(SHPT)の十分なコントロールが必要である。

副甲状腺細胞におけるビタミンD受容体(VDR)を標的としたビタミンD受容体アナログ(VDRA)、カルシウム感知受容体(CaR)に対するカルシメティクスが開発されたことで、PTH分泌の制御が可能となり、SHPT患者の生命予後も改善してきた。しかし、SHPT患者の副甲状腺VDRの発現低下により、VDRA治療に抵抗性を示す症例が多数存在する。副甲状腺CaRの発現低下を伴うことで血清カルシウム濃度が上昇し、VDRAの増量が困難な症例も多い。VDRAの効果が不十分、またはカルシメティクスに副作用を呈する症例も多く、新機序によるSHPT治療法の開発が待たれている。

副甲状腺細胞において、ビタミンD-1水酸化酵素(1 α OHase)活性の存在が示されており、副甲状腺細胞内で25OHDが1,25(OH) $_2$ Dへと活性化されることが示唆される。また、カルシメティクス等によるCaRの刺激により1 α OHase活性が上昇することも報告されており(Ritter CS J Steroid Biochem Mol Biol 2012)、副甲状腺細胞内で活性化される1,25(OH) $_2$ DによるPTH分泌抑制機構が想定される。

メガリンはLow Density Lipoprotein-Related Proteinファミリーに属し、1,25位水酸化ビタミンD(1,25(OH) $_2$ D)の前駆体である25OHDやreceptor-associated-protein(RAP)等の近位尿細管細胞内への取り込みに関与する。また、RAPはメガリンと共に細胞内に取り込まれることで細胞膜上のメガリン分布量を減らすことより、各種研究においてメガリン機能の抑制薬として使用されている。



作業仮説としては、ビタミンD結合タンパク(DBP)と結合した25OHDは、メガリンを介して副甲状腺細胞内に取込まれ、ミトコンドリアの1 α OHaseにより1,25(OH) $_2$ Dへと活性化されると考えられる。副甲状腺細胞内で活性化された1,25(OH) $_2$ Dは、腎で活性化されてから副甲状腺細胞内に取り込まれた1,25(OH) $_2$ Dとともに、PTH分泌抑制への寄与が想定される(図1)。

SHPT患者における副甲状腺メガリンの発現低下が生じていれば、病的副甲状腺では25OHDの副甲状腺細胞内への取込みが低下し、細胞内1,25(OH) $_2$ D濃度の低下が想定される。以上より、メガリン発現低下はVDRやCaR発現低下と共に、SHPTにおける内科的治療抵抗性の一因となる可能性がある。

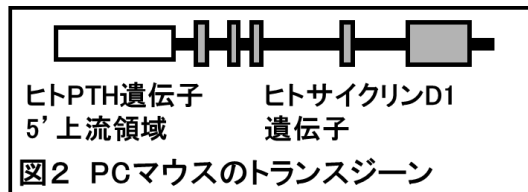
2. 研究の目的

副甲状腺機能亢進症の進展に伴うメガリン発現状態の変化と、VDR、CaRの発現とを比較することで、メガリンの副甲状腺機能亢進症における病的意義について検討を行う。さらに、VDR、CaRを介するメガリンの発現調節についても明らかにする。

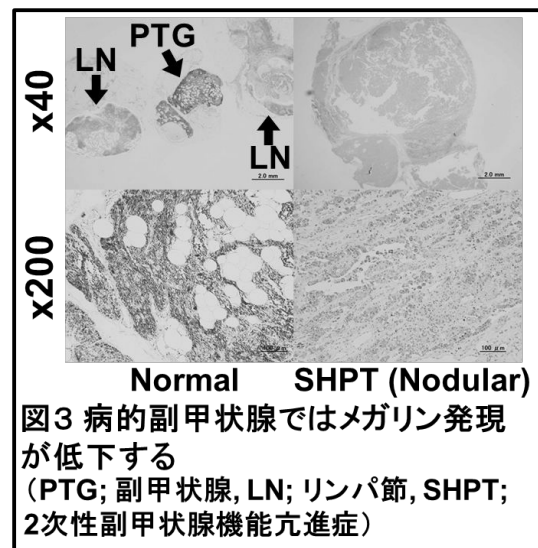
3. 研究の方法

SHPT患者の副甲状腺におけるVDR、CaR、メガリンの発現を、免疫染色により明らかにする。

原発性副甲状腺機能亢進モデルマウスは、SHPTにおける副甲状腺と同様に、VDR、CaRの発現低下が報告されている(図2)。本マウスにおけるメガリン発現についても検討を行う。



4. 研究成果



SHPT 患者の副甲状腺における VDR, CaR, メガリンの発現を、免疫染色により検討したところ、いずれも正常副甲状腺と比較し、発現が低下していた(図3)。

また、原発性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺アデノーマについても併せて検討したところ、メガリン発現はアデノーマで軽度低下し、次いでSHPTにおけるびまん性過形成(diffuse)、そして結節性過形成(nodular)の順に低下を認めた(図4)。

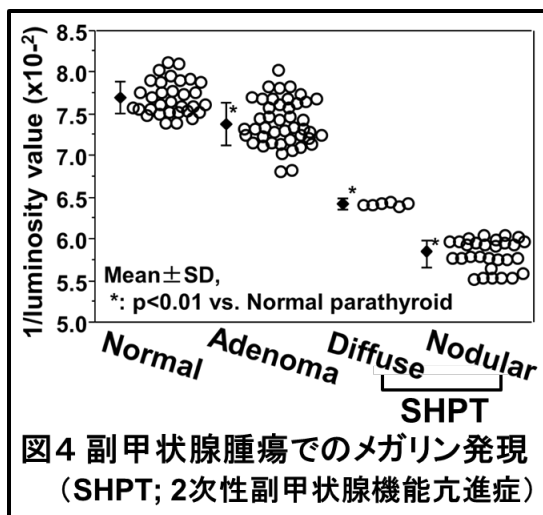


図4 副甲状腺腫瘍でのメガリン発現 (SHPT; 2次性副甲状腺機能亢進症)

原発性副甲状腺機能亢進症モデルマウスである PC マウスは、高カルシウム血症、高PTH血症、そして高代謝回転骨といった原発性副甲状腺機能亢進症における特徴を持つマウスであり、副甲状腺 VDR, CaR の発現が報告されている(Imanishi Y J Clin Invest 2001)。

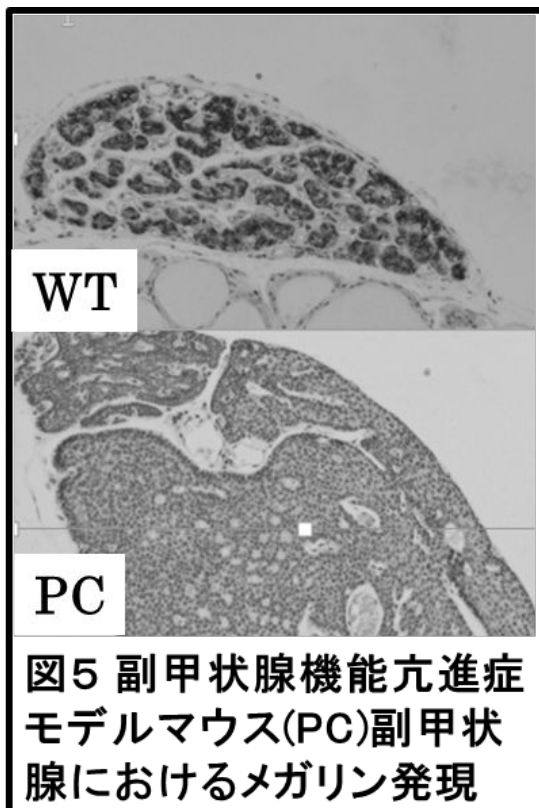


図5 副甲状腺機能亢進症モデルマウス(PC)副甲状腺におけるメガリン発現

本マウス副甲状腺におけるメガリン発

現を免疫染色によって検討したところ、原発性副甲状腺機能亢進症患者における副甲状腺組織と同様に、メガリンの発現低下が確認された。

以上より、原発性副甲状腺機能亢進症、2次性副甲状腺機能亢進症においては、副甲状腺におけるメガリン発現が低下していることが示された。副甲状腺におけるメガリン発現低下は、VDR や CaR と同様に、副甲状腺機構の亢進に寄与することが示唆された。

また、本研究の関連として、慢性腎臓病患者における尿中メガリンについて検討したところ、酸化ストレスとの関連が認められたので、併せて報告する。

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 1 件)

1. Nakatani S, Nakatani A, Ishimura E, Toi N, Tsuda A, Mori K, Emoto M, Hirayama Y, Saito A, Inaba M, Urinary Iron Excretion is Associated with Urinary Full-Length Megalin and Renal Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res.* 2018;43(2):458-470. 査読有
doi: 10.1159/000488470

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Nakatani S, Nakatani A, Ishimura E, Toi N, Tsuda A, Mori K, Emoto M, Hirayama Y, Saito A, Inaba M, Increased Urinary C-megalin Is Associated with Altered Vitamin D Metabolism in Patients with Chronic Kidney Disease. ENDO2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/interm2/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲葉 雅章 (INABA, Masaaki)
大阪市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：00176405

(2) 研究分担者

今西 康雄 (IMANISHI, Yasuo)
大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：50326253

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

山形 雅代 (YAMAGATA, Masayo)
大阪大谷大学・薬学部・講師

小林 郁江 (KOBAYASHI, Ikue)
大阪市立大学・医学研究科・後期研究医

小原 正也 (OHARA, Masaya)
大阪市立大学・医学研究科・大学院生

宮岡 大知 (MIYAOKA, Daichi)
大阪市立大学・医学研究科・大学院生

林 礼行 (HAYASHI, Noriyuki)
大阪市立大学・医学研究科・大学院生

前田 朋美 (MAEDA, Tomomi)
大阪市立大学・医学研究科・研究補助員