

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19487

研究課題名(和文) マグネシウムによるリン毒性制御機構の解明

研究課題名(英文) Protective role of magnesium in phosphate toxicity

研究代表者

坂口 悠介 (Sakaguchi, Yusuke)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号：80756817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病患者では腎機能の低下にともない体内にリンが蓄積する。蓄積したリンは生体に様々な毒性をもたらすため、リンの毒性を減弱させることは重要である。我々はこれまでに、高リンによる腎尿細管細胞の障害がマグネシウムにより軽減することを報告しており、マグネシウムがリン毒性の解除に有用である可能性がある。本研究では、片腎摘マウスに対する高リン食負荷により生じる腎障害が、食餌中マグネシウム量の増加により軽減することを見出した。特に、抗老化蛋白とされるklothoの発現がマグネシウムにより回復することを示した。

研究成果の概要(英文)：Excess phosphate aggravates renal injuries. We have previously reported that magnesium attenuates phosphate-induced tubular cell injuries. Here we studied in vivo effects of magnesium on kidney injuries induced by high-phosphate diet. We found that increasing dietary magnesium improved kidney injuries caused by high phosphate diet. In addition, downregulation of renal Klotho expression by high phosphate diet was restored by increasing dietary magnesium intake.

研究分野：マグネシウム

キーワード：マグネシウム リン 慢性腎臓病 klotho

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)患者の体内に蓄積するリンは血管石灰化や心血管イベントのリスクであるだけでなく、腎障害作用を有し、CKDの進行に関与することが報告されている。例えば、高リン食を負荷した5/6腎摘ラットの腎臓では尿細管障害や細胞浸潤が認められるが、これらの病変はリン吸着薬の投与により改善する(Cozzolino M. J Am Soc Nephrol 2002)。また、保存期CKD患者のコホート研究において、血中リン濃度高値群では末期腎不全への進行リスクが有意に上昇していることが報告されている(Schwarz S. Clin J Am Soc Nephrol 2006)。したがって、リン過剰に基づく病態、すなわちリン毒性を制御することは腎予後の改善に重要であると考えられる。従来、CKD患者のリン過剰を是正する策として蛋白制限食やリン吸着薬の投与が行われてきたが、アドヒアランスの維持が困難なことや薬剤の副作用のために、これらの治療のみではリン過剰を十分に是正できないのが現状である。リン毒性に対する有効で忍容性の高い新規の治療法を確立することはCKD患者の診療における喫緊の課題である。

これまで我々は近位尿細管細胞を用いたin vitroでの検討やCKD患者のコホート研究において、リンによる腎障害に対してマグネシウムが保護的に作用する可能性を報告した(Sakaguchi Y. Kidney Int 2015)。しかし、必ずしもリン、マグネシウム負荷量が血清リン、マグネシウム値に反映されるわけではないため、in vivoにおいてリン負荷によってもたらされる腎障害がマグネシウム負荷によって改善するか否かは不明である。また、リン代謝に対してマグネシウムがどのような影響を及ぼすかも不明である。

## 2. 研究の目的

高リン負荷で生じる腎障害が食餌中マグネシウム量を減少させることで増悪するかを検証し、その機序としてマグネシウムがリン代謝に及ぼす影響の詳細を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

7週齢雄性C57BL6マウスに片腎摘を施行し、高リン-正常マグネシウム食、高リン-低マグネシウム食、低リン-正常マグネシウム食、低リン-低マグネシウム食の4群に分け6週間飼育した。各群の腎障害の程度について、血中クレアチニン濃度および腎組織を評価した。

つぎに、マグネシウムがリン代謝に及ぼす影響を高リン食投与後1週間の時点で代謝ケージを用いて評価した。

## 4. 研究成果

食餌投与6週間後、血清クレアチニン濃度は高リン・低マグネシウム食群で有意に上昇していた。腎組織は、高リン・正常マグネシウム食群では軽度の尿細管拡張が認められたのみであったのに対し、高リン・低マグネ

シウム食群では尿細管障害・間質線維化が顕著に増悪しており、F4/80陽性細胞の高度な浸潤が認められた。さらに、高リン・正常マグネシウム食群のマウスは全て生存したのに対し、高リン・低マグネシウム食群のマウスの死亡率は73%と高率であった。

次に、高リン食負荷1週間後のリンの出納を評価した。この時点では、血清クレアチニン濃度と食事摂取量について2群間に有意差を認めなかった。しかし、低マグネシウム食群では尿中リン排泄量が低下しており、血中リン濃度が上昇していた。つまり、低マグネシウム食は尿中リン排泄を減少させ、生体内のリンを蓄積させることで、腎障害の増悪に寄与したと考えられた。

低マグネシウム食群における尿中リン排泄能の低下の原因を検索したところ、リン利尿ホルモンである線維芽細胞増殖因子(FGF)23の血中濃度の低下を認めた。しかし、活性型ビタミンD投与によりFGF23を上昇させてもリン排泄は回復しなかったことから、FGF23抵抗性の病態についてさらに検討を進めた。

FGF23共受容体であるklothoの腎臓における発現を評価したところ、低マグネシウム食群においてklotho発現は減少していた。したがって、低マグネシウム食投与はklotho発現を低下させ、FGF23抵抗性を誘導することでリン利尿不全を惹起したと考えられた。活性型ビタミンD投与は低マグネシウム食によるklotho発現低下を改善させなかった。低リン食投与下でも低マグネシウム食によるklotho発現低下が観察されたことから、リン蓄積とは独立して低Mgがklotho発現低下に関わっていることが示唆された。

## 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15件)

1. Sakaguchi Y, Hamano T, Wada A, Hoshino J, Masakane I. Magnesium and Risk of Hip Fracture among Patients Undergoing Hemodialysis. J Am Soc Nephrol. 2018; 29(3): 991-999.
2. Sakaguchi Y, Hamano T, Kubota K, Oka T, Yamaguchi S, Matsumoto A, Hashimoto N, Mori D, Obi Y, Matsui I, Isaka Y. Anion Gap as a Determinant of Ionized Fraction of Divalent Cations in Hemodialysis Patients. Clin J Am Soc Nephrol. 2018; 13(2): 274-281.
3. Sakaguchi Y, Hamano T, Isaka Y. Magnesium and Progression of Chronic Kidney Disease: Benefits beyond Cardiovascular Protection? Adv Chronic Kidney Dis. in acceptance. Review article
4. Sakaguchi Y, Hamano T, Isaka Y. Effects of Magnesium on the

- Phosphate Toxicity in Chronic Kidney Disease: Time for Intervention Studies. *Nutrients*. 2017; 9(2). pii: E112. Review article
5. Hamano T, Sakaguchi Y, Fujii N, Isaka Y. Clinical features of CKD-MBD in Japan: cohort studies and registry. *Clin Exp Nephrol*. 2017; 21(Suppl 1): 9-20. Review article
  6. Sakaguchi Y, Hamano T, Nakano C, Obi Y, Matsui I, Kusunoki Y, Mori D, Oka T, Hashimoto N, Takabatake Y, Takahashi A, Kaimori JY, Moriyama T, Yamamoto R, Horio M, Sugimoto K, Yamamoto K, Rakugi H, Isaka Y. Association between Density of Coronary Artery Calcification and Serum Magnesium Levels among Patients with Chronic Kidney Disease. *PLoS One*. 2016; 11(9): e0163673.
  7. Sakaguchi Y, Iwatani H, Hamano T, Tomida K, Kawabata H, Kusunoki Y, Shimomura A, Matsui I, Hayashi T, Tsubakihara Y, Isaka Y, Rakugi H. Magnesium modifies the association between serum phosphate and the risk of progression to end-stage kidney disease in patients with non-diabetic chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2015; 88(4): 833-42.
  8. Iwatani H, Kawabata H, Sakaguchi Y, Yamamoto R, Hamano T, Rakugi H, Isaka Y. Urine osmolarity predicts the body weight-reduction response to tolvaptan in chronic kidney disease patients: a retrospective, observational study. *Nephron*. 2015; 130(1):8-12.
  9. Sakaguchi Y, Fujii N, Shoji T, Hayashi T, Rakugi H, Iseki K, Tsubakihara Y, Isaka Y. Magnesium modifies the cardiovascular mortality risk associated with hyperphosphatemia in patients undergoing hemodialysis: a cohort study. *PLoS One*. 2014; 9(12): e116273.
  10. Sakaguchi Y, Fujii N, Shoji T, Hayashi T, Rakugi H, Isaka Y. Hypomagnesemia is a significant predictor of cardiovascular and non-cardiovascular mortality in patients undergoing hemodialysis. *Kidney Int*. 2014; 85(1): 174-81.
  11. Sakaguchi Y, Hatta T, Hayashi T, Shoji T, Suzuki A, Tomida K, Okada N, Rakugi H, Isaka Y, Tsubakihara Y. Association of nocturnal hypoxemia with progression of CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013; 8(9): 1502-7.
  12. Niihata K, Tomosugi N, Uehata T, Shoji T, Mitsumoto K, Shimizu M, Kawabata H, Sakaguchi Y, Suzuki A, Hayashi T, Okada N, Isaka Y, Rakugi H, Tsubakihara Y. Serum hepcidin-25 levels predict the progression of renal anemia in patients with non-dialysis chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2012; 27(12): 4378-85
  13. Sakaguchi Y, Shoji T, Hayashi T, Suzuki A, Shimizu M, Mitsumoto K, Kawabata H, Niihata K, Okada N, Isaka Y, Rakugi H, Tsubakihara Y. Hypomagnesemia in type 2 diabetic nephropathy: a novel predictor of end-stage renal disease. *Diabetes Care*. 2012; 35(7): 1591-7.
  14. Uehata T, Tomosugi N, Shoji T, Sakaguchi Y, Suzuki A, Kaneko T, Okada N, Yamamoto R, Nagasawa Y, Kato K, Isaka Y, Rakugi H, Tsubakihara Y. Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant*. 2012; 27(3): 1076-83.
  15. Sakaguchi Y, Shoji T, Kawabata H, Niihata K, Suzuki A, Kaneko T, Okada N, Isaka Y, Rakugi H, Tsubakihara Y. High prevalence of obstructive sleep apnea and its association with renal function among nondialysis chronic kidney disease patients in Japan: a cross-sectional study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011; 6(5): 995-1000.
- 〔学会発表〕(計 2 件)
1. Sakaguchi Y. Magnesium ameliorates high phosphate induced kidney injury. 55<sup>th</sup> ERA-EDTA Congress Joint meeting JSN and ERA-EDTA on CKD-MBD. May, 2018
  2. Sakaguchi Y. Magnesium as a suppressor of mineral stress in chronic kidney disease. CKD-MBD expert seminar. April, 2017
- 〔図書〕(計 2 件)
1. 坂口悠介 高マグネシウム・低マグネシウム. 医学書院 今日の治療指針 2018
  2. 坂口悠介 血清マグネシウム濃度とCKD 患者の予後. 透析フロンティア 2018
- 〔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

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

坂口悠介 (SAKAGUCHI, Yusuke)  
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講  
座助教  
研究者番号：80756817

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )