

令和元年5月21日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21384

研究課題名(和文)急性腎傷害に伴う骨ミネラル代謝異常の病態解明

研究課題名(英文)The pathophysiological role of FGF23 in disordered mineral metabolism after acute kidney injury

研究代表者

駒場 大峰 (KOMABA, Hirotaka)

東海大学・医学部・講師

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)：FGF23は急性腎障害後に急激に上昇するが、その役割は明らかではない。我々はラットに片腎摘出後、35分間の虚血後再灌流障害(IRI)を行い、ミネラル代謝の経時的変化を評価した。IRI後、急激な高リン血症、FGF23上昇とともに、1,25(OH)2Dの低下を認めた。腎機能の改善とともに、FGF23値は正常化し、低リン血症の出現とともに1,25(OH)2Dの上昇を認めた。FGF受容体阻害薬を投与したところ、腎機能の回復後も高リン血症が遷延した一方、1,25(OH)2Dは上昇した。急性腎障害後に急激に上昇するFGF23は、高リン血症に対する防御機構としてダイナミックに機能している可能性が示唆される。

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、慢性腎臓病のみならず、急性腎障害においても骨ミネラル代謝異常が出現することが示され、さらにこの病態においてFGF23が重要な役割を担っていることが明らかとなった。急性腎障害はさまざまな疾患を背景に発症し、予後に重大な影響を及ぼし、その対策は喫緊の課題である。急性腎障害に伴う骨ミネラル代謝異常は、急性腎障害後の予後悪化にも関与し得る病態であり、本研究成果は急性腎障害後の予後改善を図る上で重要な基盤的理解を提供するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：FGF23 levels increase rapidly after acute kidney injury (AKI), but the role of FGF23 is largely unknown. We investigated the longitudinal changes in mineral metabolism and FGF23 using a rat ischemia-reperfusion injury (IRI) model, which involved unilateral nephrectomy and 35-min contralateral IRI. Rats with IRI exhibited acute hyperphosphatemia and progressively increasing FGF23 levels, which was accompanied by decreased biosynthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D. During renal recovery, the elevated FGF23 levels declined progressively and finally normalized, with the occurrence of hypophosphatemia and increased 1,25-dihydroxyvitamin D levels. Administration of the pan-FGFR inhibitor (PD173074) led to persistent hyperphosphatemia and increased production of 1,25-dihydroxyvitamin D. These results suggest that elevated FGF23 after AKI represents a compensatory response to maintain neutral phosphate balance in a similar, but more rapid and dynamic, manner to that in chronic kidney disease.

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 FGF23

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

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、慢性腎臓病を有する患者では、二次性副甲状腺機能亢進症に代表される骨ミネラル代謝異常が出現し、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。近年、この病態に 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 (P) 再吸収を抑制するとともに、腎臓での 1,25-dihydroxyvitamin D 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。

慢性腎臓病の患者では高 P 血症を防ぐため、P 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 1,25-dihydroxyvitamin D 産生が抑制され、二次性副甲状腺機能亢進症に至る。一方、FGF23 は直接的にも副甲状腺に作用し PTH 分泌を抑制するが、腎不全患者では異常高値を示す FGF23 によっても PTH 分泌は抑制されない。申請者は二次性副甲状腺機能亢進症では FGF 受容体とともに Klotho の発現低下が低下していることを発見し、これによる FGF23 抵抗性のため、異常高値を示す FGF23 によっても PTH 分泌が抑制されないという病態を明らかにしてきた。

さらに近年、急激な腎機能低下が FGF23 の急激な上昇を引き起こすことなどが報告されているが、その病態生理学的意義は未だ明らかではない。慢性腎臓病の場合と同様に、急性腎障害に伴う骨ミネラル代謝異常においても FGF23 が重要な役割を担っている可能性が高いと考えられるが、これまで十分な検討がなされていない。急性腎障害に伴う骨ミネラル代謝異常に関して、急性腎障害から回復に至る過程における連続的な病態を解明することは、急性腎障害の患者管理の観点からも重要な課題であると考えられる。

そこで本研究では、急性腎障害における骨ミネラル代謝の病態、FGF23 の役割を解明することを目的にラット腎虚血再灌流障害モデルを用いた検討を行った。

2. 研究の目的

ラット腎虚血再灌流障害 (IRI) モデルを用いて、急性腎障害における骨ミネラル代謝の病態、FGF23 の役割を解明する。

3. 研究の方法

(1) 虚血時間に関する予備検討

本研究の目的に合致した虚血時間の設定のため、25 分、35 分、45 分の 3 条件で比較検討を行った。6 週齢の SD ラット (オス) に全身麻酔下で右腎摘出を行い、1 週間の回復期間を置いた後、再び全身麻酔下で左腎の虚血再灌流を行った。虚血は腎動静脈の血流をクリップで遮断することによって行い、一定時間の後、クリップを外して血流の再灌流を確認した上で切開部を縫合した。すべての実験は東海大学動物実験委員会の承認を得て行った。

(2) 腎虚血再灌流障害がミネラル代謝に及ぼす影響の検討

6 週齢の SD ラット (オス) を用いて、片腎摘出後、35 分間の虚血後再灌流による IRI を行い、IRI 後 7 日間における BUN、クレアチニン (Cr)、カルシウム (Ca)、P、intact PTH、FGF23、1,25-dihydroxyvitamin D、P 分画排泄率 (FEP) の経時的変化を評価した。さらに IRI の 1 日後、3 日後、7 日後に採取した大腿骨、及び腎臓より RNA を抽出し、リアルタイム PCR を行った。

(3) FGF 受容体阻害薬の効果の検討

IRI モデルに FGF 受容体阻害薬 (PD173074) 50 mg/kg を IRI の直後より 3 日間経口投与した場合のミネラル代謝の変化を評価した。

4. 研究成果

(1) 虚血時間に関する予備検討

最初に我々は適切な虚血時間

図 1. IRI後の腎機能とミネラル代謝の経時的推移

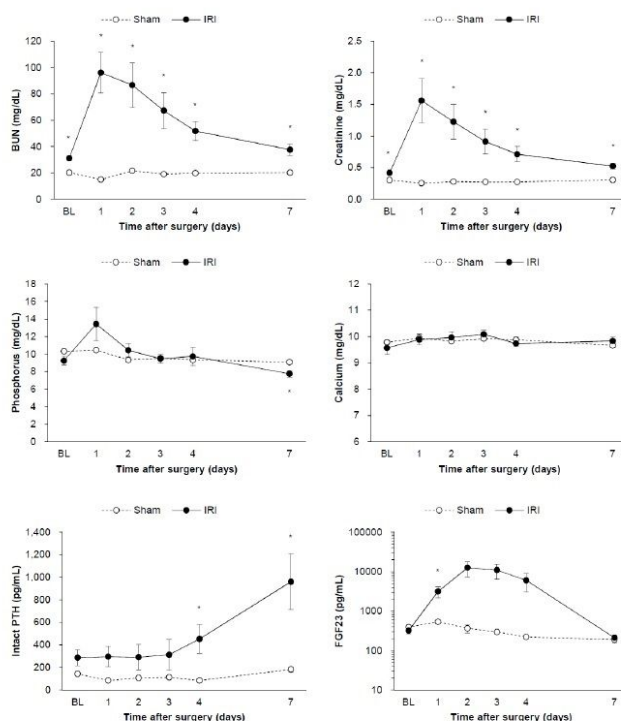


図2. IRI後の骨組織と腎臓におけるFGF23 mRNA発現の経時的推移

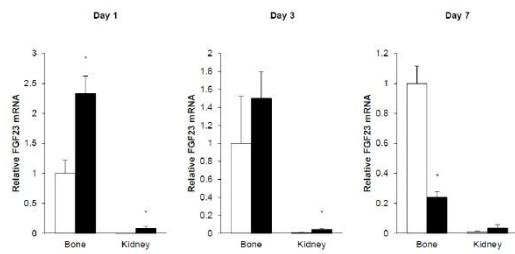


図3. IRI後のP分画排泄率と腎Napi2a mRNA発現の経時的推移

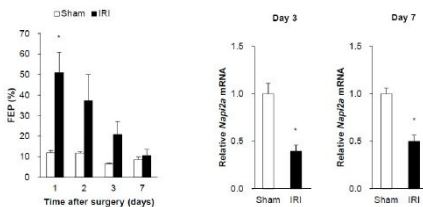


図4. IRI後の1,25-dihydroxyvitamin Dと腎Cyp27b1 mRNA, Cyp24a1 mRNA発現の経時的推移

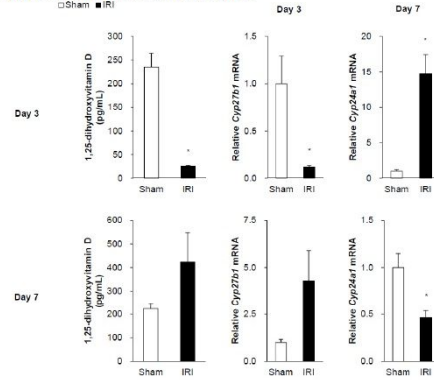
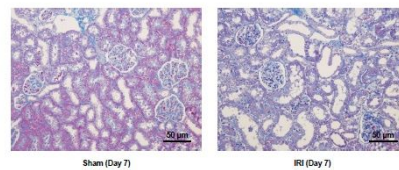


図5. IRIの7日後の腎組織 (Masson Trichrome染色)



の設定のため、片腎摘出後の腎虚血時間を 25 分、35 分、45 分の 3 条件で検討を行った。その結果、35 分の虚血時間が必要十分、かつ可逆性の腎障害、及び骨ミネラル代謝異常を惹起する上で最適の条件であることを確認した。

(2) 腎虚血再灌流障害がミネラル代謝に及ぼす影響の検討

次いで虚血時間 35 分の条件下で、腎虚血再灌流障害が骨ミネラル代謝に及ぼす影響を検討した。IRI 後、腎機能の悪化とともに高度の高 P 血症が出現したが、その後血清 P 値は低下傾向を示し 3 日後に正常化した (図 1)。IRI 後、骨組織の FGF23 mRNA 発現の上昇とともに FGF23 値も著明な上昇を示した (図 2)。腎臓での FGF23 mRNA 発現も IRI 後に上昇を認めしたが、骨組織の発現と比較するとごく軽度であった (図 2)。骨組織の FGF23 mRNA 発現の上昇は IRI の翌日にピークを認め、これに続いて IRI の 2~3 日後に FGF23 値の上昇はピークに達した (図 1)。

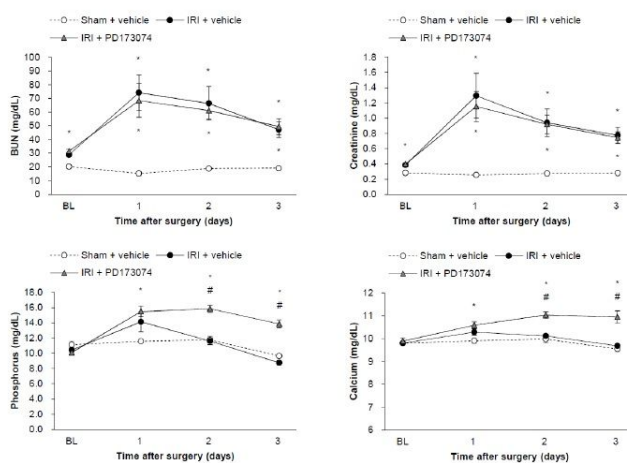
この時点において、一日 P 排泄量に変化がなかったが、FEP は大きく上昇しており (図 3)、ネフロンあたりの P 排泄亢進により、P 排泄が保たれているものと考えられた。腎臓における Napi2a mRNA 発現は抑制されており (図 3)、FGF23 に反応した P 排泄の促進が機能的に生じていると考えられた。1,25-dihydroxyvitamin D の濃度は大きく低下し、これに合致して腎臓における Cyp27b1 mRNA 発現は亢進、Cyp24a1 mRNA 発現は低下しており (図 4)、FGF23 作用により 1,25-dihydroxyvitamin D 産生が抑制されているものと考えられた。

IRI の 7 日後、組織学的に腎障害は残存していたが (図 5)、機能的には著明な改善が観察された (図 1)。腎機能の回復とともに FGF23 値は低下し (図 1)、1,25-dihydroxyvitamin D 値は上昇傾向を示す一方 (図 4)、血清 P 値は大きく低下し、高 P 血症から低 P 血症に転じた (図 1)。低 P 血症にも関わらず、腎 Napi2a mRNA 発現抑制は遷延しており (図 3)、FGF23 作用の遷延により低 P 血症が生じた可能性が考えられた。

(3) FGF 受容体阻害薬の効果の検討

次に我々は IRI モデルに FGF 受容体阻害薬 (PD173074) を投与し、FGF23 作用を阻害した状況におけるミネラル代謝の変化を検討した。IRI 後、PD173074 を 3 日間連続投与したところ、急性腎障害からの回復後も高リン血症が改善せず遷延した (図 6)。高 P 血症の遷延にも関わらず、PD173074 投与により腎 Napi2a mRNA 発現は相対的に亢進しており (図 7)、FGF23 作用の阻害により高 P 血症に対する代償機

図6. IRI後にPD173074を連続投与した場合の腎機能とミネラル代謝の経時的推移



構が破綻したものと考えられた。一方，PD173074 投与により急性腎障害後の *Cyp27b1* mRNA 発現は亢進し，1,25-dihydroxyvitamin D 値は上昇した（図8）。

以上の結果より，急性腎障害後に著しく上昇する FGF23 は，P 利尿を促進することにより高P血症に対する防御機構として機能する一方，急性腎障害後の1,25-dihydroxyvitamin D 低下の主たる要因であることが明らかとなった。これらの研究成果は，急性腎障害の病態における FGF23 の病態生理学的役割を初めて示したものであり，急性腎障害後のミネラル代謝に対する我々の理解を深めるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

駒場大峰，石田寛明，濱野直人，澤田佳

一郎，和田健彦，中村道郎，深川雅史．急性腎障害後のミネラル代謝異常における FGF23 の病態生理学的役割．第 36 回日本骨代謝学会学術総会（2018 年 7 月，長崎）

駒場大峰，石田寛明，濱野直人，澤田佳一郎，和田健彦，中村道郎，深川雅史．急性腎障害後のミネラル代謝異常における FGF23 の病態生理学的役割．第 61 回日本腎臓学会学術総会（2018 年 6 月，新潟）

Komaba H, Ishida H, Hamano N, Sawada K, Wada T, Nakamura M, Fukagawa M. FGF23 mitigates hyperphosphatemia and causes low 1,25-dihydroxyvitamin D levels after acute kidney injury in rats. 55th ERA-EDTA Congress, May 2018, Copenhagen, Denmark

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

特記事項なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

図7. IRI後にPD173074を連続投与した場合のP分画排泄率と腎*Napi2a* mRNA発現の経時的推移

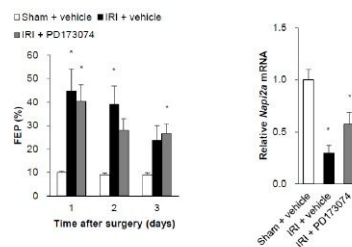


図8. IRI後にPD173074を連続投与した場合の1,25-dihydroxyvitamin Dと腎*Cyp27b1* mRNA, *Cyp24a1* mRNA発現の経時的推移

