

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08683

研究課題名(和文) 原発性副甲状腺機能亢進症における血清FGF23上昇メカニズムの解析

研究課題名(英文) The mechanism of increased FGF23 levels in primary hyperparathyroidism

研究代表者

今西 康雄 (Yasuo, Imanishi)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50326253

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)：原発性副甲状腺機能亢進症(PHPT)は、副甲状腺ホルモン(PTH)過剰によるリン利尿亢進のため、低リン血症を呈する。一方、リン利尿ホルモンである線維芽細胞増殖因子(FGF)23も上昇しており、さらなるリン利尿に寄与していると考えられる。FGF23は骨組織より分泌されるホルモンであり、PTHが直接骨組織におけるFGF23分泌を亢進することが想定されている。本研究において、骨組織におけるPTHによるFGF23上昇機序に、Dentin Matrix Protein 1 (DMP1)とスクレロスチン(SOST)の関与を、in vivo, in vitroの系を用いて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原発性副甲状腺機能亢進症(PHPT)における低リン血症の発症機序に、PTHとともにFGF23上昇が寄与しているが、このFGF23上昇機序に骨組織におけるDMP1とSOSTが関与することを示した。本研究によりFGF23分泌調節機構の少なくとも一部が解明された。持続的なリン負荷や高リン血症が、腎機能低下や血管石灰化に関与することが知られており、これらの状態は生命予後悪化の一因となることが知られてる。本研究はFGF23分泌調節機構の解明により、リン負荷や高リン血症の是正における基礎医学的な解決法を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：Fibroblast growth factor 23 (FGF23) secretion is facilitated by the PTH, particularly in hyperparathyroidism. The PTH also attenuates dentin matrix protein 1 (DMP1), which is produced by osteocytes to contribute to bone mineralization and suppress FGF23 expression. The continuous activation of PKA signaling in osteoblasts/osteocytes by sustained PTH can alter gene expression, increase FGF23 expression, and suppress DMP1 expression. In addition, we examined the relationship between FGF23 and sclerostin in PHPT using a mouse model of PHPT and UMR106 mature osteoblast cell line, and found that in PHPT the excessive secretion of PTH leads to increased FGF23 and decreased sclerostin expression in serum and calvaria.

研究分野：内分泌学

キーワード：FGF23 リン PTH SOST DMP1

1. 研究開始当初の背景

(1) 血清 FGF23 濃度は原発性副甲状腺機能亢進症(PHPT)患者およびその疾患モデルである PTH-cyclin D1 トランスジェニックマウスで増加し、特に頭蓋骨で FGF23 発現は上昇している<sup>1,2</sup>。Dentin matrix protein 1 (DMP1)は骨/骨芽細胞の成熟や骨ミネラル化に関与し、PTH によって cAMP/PKA 経路を介して抑制される<sup>3</sup>。DMP1 の機能喪失型変異は、FGF23 増加を引き起こし、常染色体劣性低リン血症性くる病の原因となる。同様に DMP1 ノックアウトマウスでも、血清 FGF23 濃度の著明な上昇に伴う低リン血症性くる病を発症する<sup>4,5</sup>。

(2) Sclerostin は、骨細胞から分泌され、Wnt シグナルを抑制し、骨芽細胞形成や機能を抑制する。PTH は PKA 経路および Wnt シグナルを介し、FGF23 を増加させるとともに Sclerostin 発現を低下させる<sup>6</sup>。マウスへの PTH 持続投与によって、骨組織における Sclerostin は有意に低下を認めた<sup>7</sup>。原発性副甲状腺機能亢進症における血清 Sclerostin 濃度は健常群と比較して有意に低下し、副甲状腺腫摘出術によって有意に上昇した<sup>8</sup>。現在のところ、原発性副甲状腺機能亢進症モデルにおいて、PTH を介した Sclerostin 発現調節および FGF23 発現への関与を詳細に検討した報告はない。

2. 研究の目的

(1) PTH による骨/骨芽細胞の FGF23 発現上昇機構における DMP1 の役割を検討する。

(2) PTH 過剰分泌状態における Sclerostin 発現の変化、およびカルシウム・リン代謝との関連を検討する。

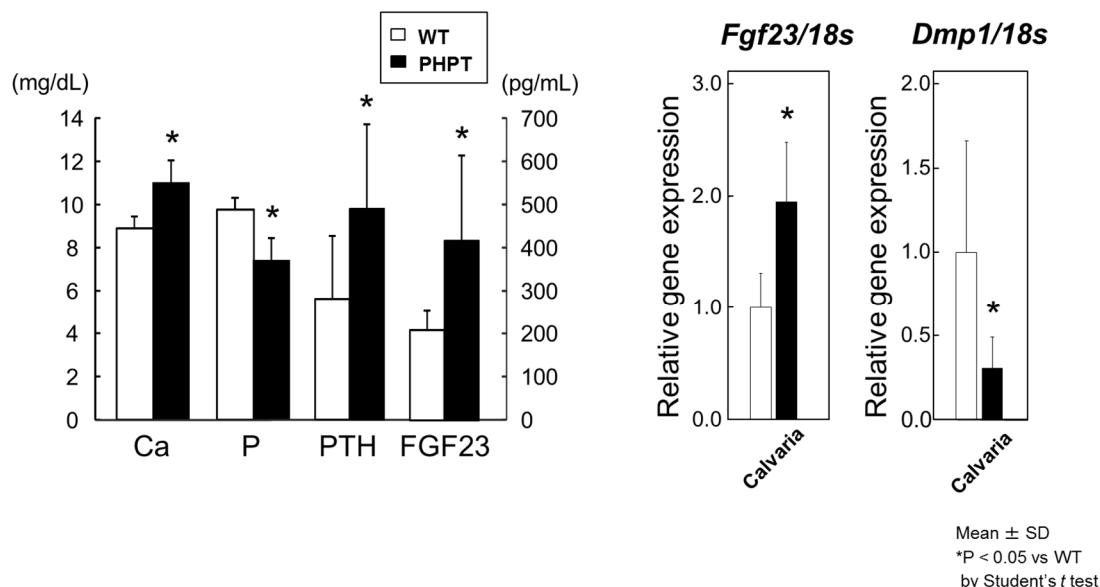
3. 研究の方法

(1) *in vivo* 系として、原発性副甲状腺機能亢進症(PHPT)の疾患モデルである PTH-cyclin D1 トランスジェニックマウス (PC マウス) を用いて検討を行う。

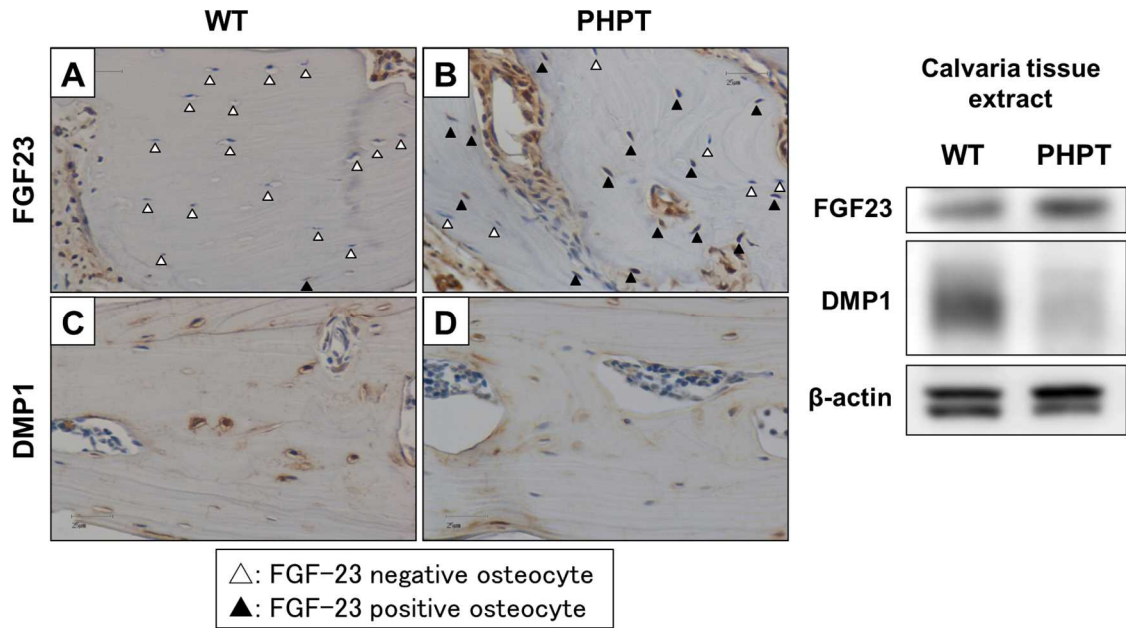
(2) *in vitro* 系として、マウス初代培養骨芽細胞、およびラット骨芽細胞様培養細胞 (UMR-106) を用いて検討を行う。

4. 研究成果

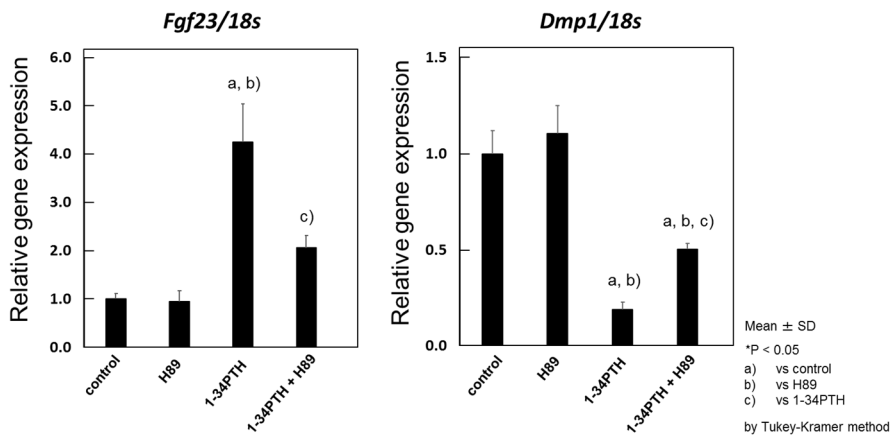
(1) PTH による骨/骨芽細胞の FGF23 発現上昇機構における DMP1 の検討



PHPT マウスは WT と比較して、血清 Ca 上昇・P 低下、血清 FGF-23 の有意な上昇を認めた。頭蓋冠から RNA および蛋白を抽出し、FGF-23 および DMP1 遺伝子発現量を比較検討したところ、FGF-23 の発現は有意に上昇していた。一方、DMP1 発現量は有意に低下していた。

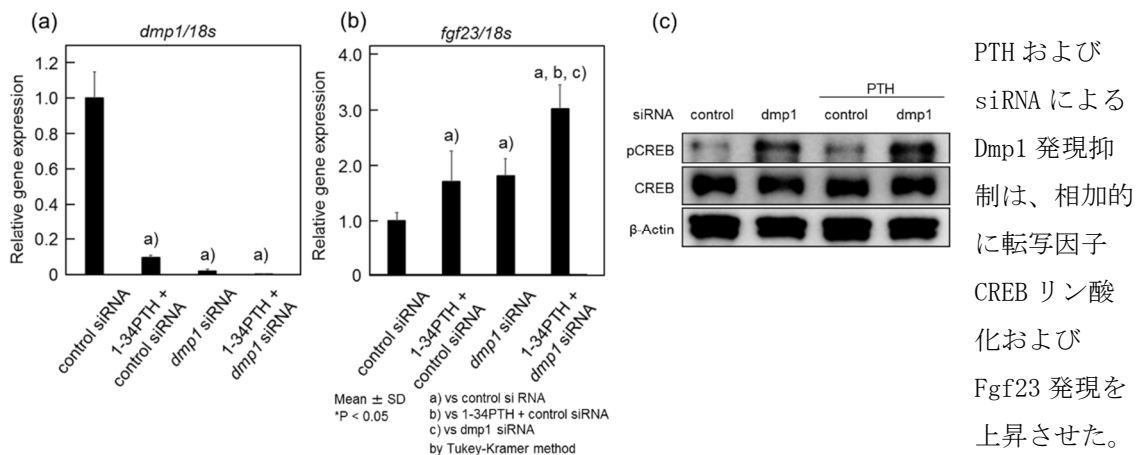


WT および PC2 マウスの頭蓋冠組織における FGF23、DMP1 発現を免疫組織化学染色法でも検討したところ、FGF23 発現は、WT と比較し、PC2 では発現陽性細胞の増加を認めた。また、DMP1 発現は、逆に WT と比較し、PC2 では減弱していた。



UMR106 細胞に、1-34PTH および PKA 阻害剤である H89 を添加したところ、1-34PTH によって上昇した *fgf23* 発現量は H89 添加によって有意に低下した。

また、1-34PTH によって低下した *dmp1* 発現量は、H89 添加によって有意に増加した。

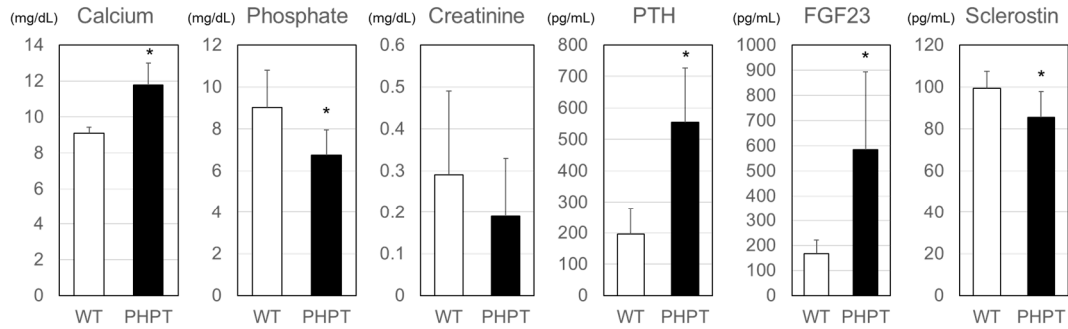


短期間の PTH 持続投与マウスにおいて、高 FGF23 血症は誘導される。また PTH 投与は DMP1 発現を低下させる。今回の検討でも、PHPT 骨組織にて、FGF23 発現上昇・DMP 発現低下が示された。DMP1 は骨組織内において、骨細胞に直接的に作用し、FGF23 産生を負に制御する。PTH に

よる直接的作用のみならず、DMP1 発現の低下によって FGF23 発現への抑制が解除されることで、FGF23 発現増加が促進されることが示唆された。

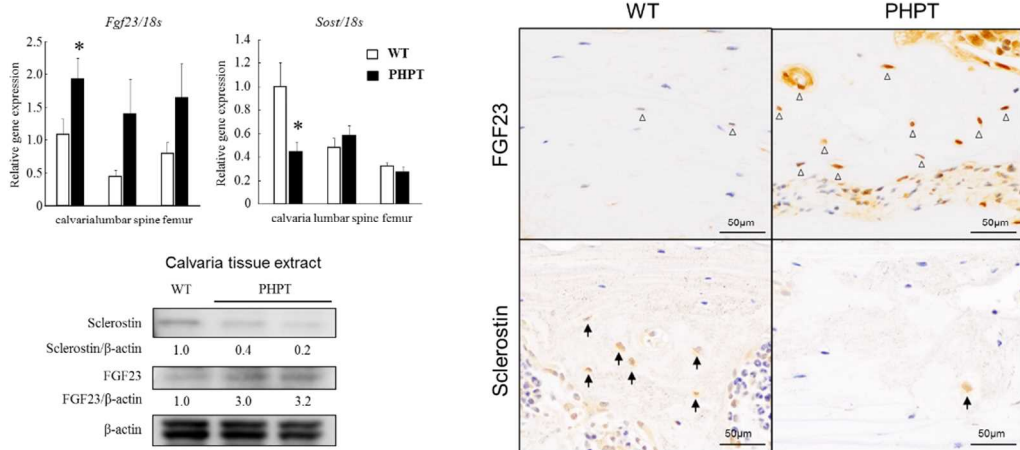
PHPT モデルの骨組織では過剰な PTH によって FGF23 は増加し、DMP1 は抑制される。PHPT における FGF23 増加の病態の一部として、骨組織での DMP1 発現抑制を介した FGF23 発現増加が示唆された。

## (2) PTH 過剰分泌状態における Sclerostin 発現の変化とカルシウム・リン代謝との関連

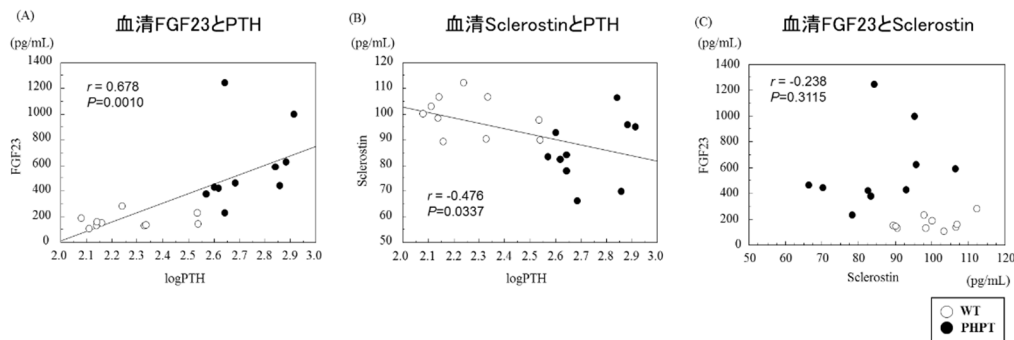


Abbreviations: PHPT, primary hyperparathyroidism; PTH, parathyroid hormone; FGF23, fibroblast growth factor 23.  
Data are the mean  $\pm$  SD  
\* $P < 0.05$  using Student's *t*-test

PHPT マウスは、WT マウスと比較し、高Ca血症、低P血症、および高 FGF23 血症および低 Sclerostin 血症を呈した。



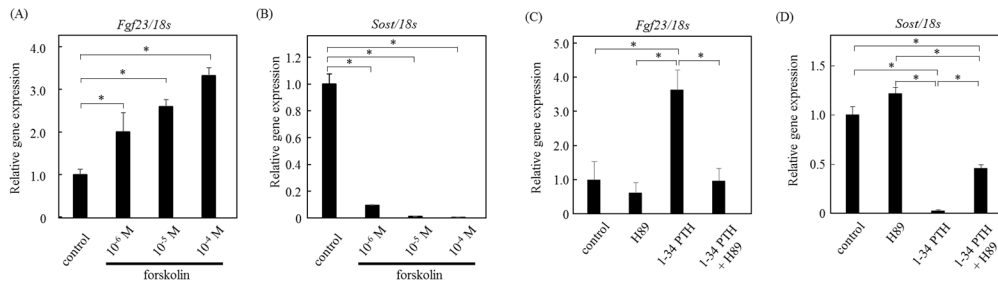
PHPT マウス頭蓋骨組織における遺伝子及びタンパク発現、免疫組織化学染色法で WT マウスと比較し、FGF23 は増加し、Sclerostin および *Sost* は低下した。



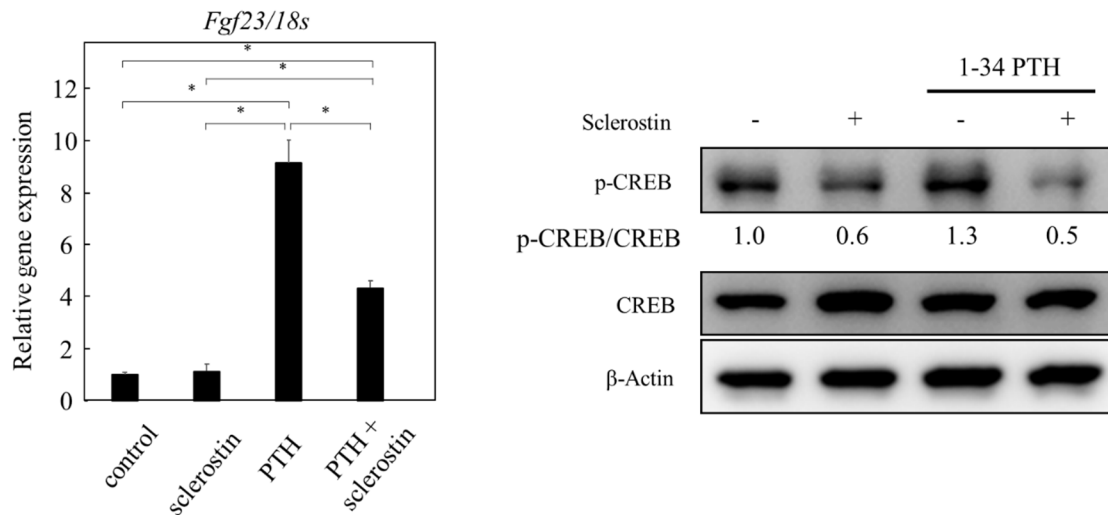
(A) FGF23 and PTH ( $r = 0.678$ ,  $P = 0.0010$ ), (B) Sclerostin and PTH ( $r = -0.476$ ,  $P = 0.0337$ ) and (C) FGF23 and Sclerostin ( $r = -0.238$ ,  $P = 0.3115$ ), analyzed by Pearson's correlation. PTH values were log-transformed for skewness. Open circles WT mice, closed circles PHPT mice.

PTH は濃度依存的に *Fgf23* 発現を上昇させ、*Sost* 発現を低下させた。また、PTH は持続的に *Fgf23* 発現を上昇させ、*Sost* 発現を低下させた。

PTH



PKA 作動薬である forskolin は、濃度依存的に *Fgf23* 発現を上昇させ、*Sost* 発現を低下させた。PTH により上昇した *Fgf23* 発現は、PKA 阻害剤である H89 により低下し、PTH により低下した *Sost* 発現は H89 により一部回復した。



Sclerostin 添加は *Fgf23* 発現を変化させなかったが、PTH と Sclerostin を同時に添加すると PTH による *Fgf23* 発現上昇を有意に抑制した。PTH で上昇した CREB リン酸化は Sclerostin によって低下した。

PTH は PKA 活性化だけでなく、Wnt シグナルの活性化や Wnt シグナルを阻害する Sclerostin を低下させることで骨芽細胞機能を制御することが知られている。今回の検討で、PHPT モデルマウスおよび *in vitro* で、PTH は FGF23 発現を増加させると同時に *Sost*/Sclerostin 発現を低下させることが示された。また、骨芽細胞/骨細胞が発現する DMP1 や PHEX 等のミネラル関連因子は FGF23 発現に関与し、PTH で調整されることが知られている。今回、*In vitro* では PTH による PKA シグナルが Sclerostin で抑制されたにも関わらず、*in vivo* では血清 FGF23 および Sclerostin に相関を認めなかった要因として、その他のミネラル関連因子による関与している可能性が考えられた。

#### <引用文献>

1. Kobayashi K, Imanishi Y, Miyauchi A, et. al. Regulation of plasma fibroblast growth factor 23 by calcium in primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol* 2006 154 93-99.
2. Kawata T, Imanishi Y, Kobayashi K, et. al. Parathyroid hormone regulates fibroblast growth factor-23 in a mouse model of primary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2007 18 2683-2688.
3. Toyosawa S, Shintani S, Fujiwara T, et. al. Dentin matrix protein 1 is predominantly expressed in chicken and rat osteocytes but not in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001 16 2017-2026.
4. Feng JQ, Ward LM, Liu S, et. al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat Genet* 2006 38 1310-1315.
5. Lorenz-Depiereux B, Bastepe M, Benet-Pages A, et. al. DMP1 mutations in autosomal recessive hypophosphatemia implicate a bone matrix protein in the regulation of phosphate homeostasis. *Nat Genet* 2006 38 1248-1250.
6. Lavi-Moshayoff V, Wasserman G, Meir T, et. al. PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010 299 F882-889.
7. Bellido T, Ali AA, Gubrij I, et. al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis. *Endocrinology* 2005 146 4577-4583.
8. Viapiana O, Fracassi E, Troplini S, et. al. Sclerostin and DKK1 in primary hyperparathyroidism. *Calcif Tissue Int* 2013 92 324-329.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Nagata Yuki, Imanishi Yasuo, Tateishi Tomomi, Miyaoka Daichi, Kurajoh Masafumi, Arnold Andrew, Emoto Masanori	4. 巻 6
2. 論文標題 Parathyroid Hormone Regulates Circulating Levels of Sclerostin and FGF23 in a Primary Hyperparathyroidism Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Endocrine Society	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/jendso/bvac027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Natsuki Yuka, Morioka Tomoaki, Fukumoto Shinya, Kakutani Yoshinori, Yamazaki Yuko, Ochi Akinobu, Kurajoh Masafumi, Mori Katsuhito, Shoji Tetsuo, Imanishi Yasuo, Inaba Masaaki, Emoto Masanori	4. 巻 69
2. 論文標題 Role of adiponectin in the relationship between visceral adiposity and fibroblast growth factor 23 in non-diabetic men with normal kidney function	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 121~129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ21-0185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Imanishi Yasuo, Ito Nobuaki, Rhee Yumie, Takeuchi Yasuhiro, Shin Chan Soo, Takahashi Yutaka, Onuma Hiroki, Kojima Masahiro, Kanematsu Masanori, Kanda Hironori, Seino Yoshiki, Fukumoto Seiji	4. 巻 36
2. 論文標題 Interim Analysis of a Phase 2 Open Label Trial Assessing Burosumab Efficacy and Safety in Patients With Tumor Induced Osteomalacia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 262~270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.4184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Briot Karine, Portale Anthony A, Brandi Maria Luisa, Carpenter Thomas O, Cheong Hae li, Cohen-Solal Martine, Crowley Rachel K, Eastell Richard, Imanishi Yasuo, et. al.	4. 巻 7
2. 論文標題 Burosumab treatment in adults with X-linked hypophosphataemia: 96-week patient-reported outcomes and ambulatory function from a randomised phase 3 trial and open-label extension	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RMD Open	6. 最初と最後の頁 e001714~e001714
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/rmdopen-2021-001714	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hayashi Noriyuki, Imanishi Yasuo, Hirakawa Tomoe, Kobayashi Ikue, Tateishi Tomomi, Miyaoka Daichi, Nagata Yuki, Mori Katsuhito, Morioka Tomoaki, Inoue Atsuto, Harada Kazutsune, Inaba Masaaki, Emoto Masanori	4. 巻 39
2. 論文標題 Etelcalcetide decreases the PTH?calcium setpoint without changing maximum and minimum PTH secretion in mice with primary hyperparathyroidism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 430 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-020-01169-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujioka Aiko, Imanishi Yasuo, Kobayashi Ikue, Hirakawa Tomoe, Inoue Atsuto, Harada Kazutsune, Taguchi Mikiyasu, Sugiura Yoshihiro, Yamada Hiroyuki, Miyaoka Daichi, Hayashi Noriyuki, Emoto Masanori, Inaba Masaaki	4. 巻 39
2. 論文標題 Effect of etelcalcetide on parathyroid hormone secretion by primary hyperparathyroidism patient-derived primary parathyroid cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 396 ~ 403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-020-01158-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurajoh Masafumi, Fukumoto Shinya, Murase Takayo, Nakamura Takashi, Nagata Yuki, Nakatani Shinya, Tsuda Akihiro, Yamada Shinsuke, Morioka Tomoaki, Mori Katsuhito, Imanishi Yasuo, Kawada Norifumi, Hirata Kazuto, Emoto Masanori	4. 巻 59
2. 論文標題 Plasma xanthine oxidoreductase activity change over 12 months independently associated with change in serum uric acid level: MedCity21 health examination registry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)	6. 最初と最後の頁 e137 ~ e140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/ccIm-2020-0563	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurajoh Masafumi, Fukumoto Shinya, Yoshida Shio, Akari Seigo, Murase Takayo, Nakamura Takashi, Ishii Haruka, Yoshida Hisako, Nagata Yuki, Morioka Tomoaki, Mori Katsuhito, Imanishi Yasuo, Hirata Kazuto, Emoto Masanori	4. 巻 11
2. 論文標題 Uric acid shown to contribute to increased oxidative stress level independent of xanthine oxidoreductase activity in MedCity21 health examination registry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-86962-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uedono Hideki, Mori Katsuhito, Ochi Akinobu, Nakatani Shinya, Miki Yuya, Tsuda Akihiro, Morioka Tomoaki, Nagata Yuki, Imanishi Yasuo, Shoji Tetsuo, Inaba Masaaki, Emoto Masanori	4. 巻 11
2. 論文標題 Effects of fetuin-A-containing calciprotein particles on posttranslational modifications of fetuin-A in HepG2 cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-86881-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yokoyama Ayako, Hasegawa Tomoka, Hiraga Toru, Yamada Tamaki, Yimin, Hongo Hiromi, Yamamoto Tomomaya, Abe Miki, Yoshida Taiji, Imanishi Yasuo, Kuroshima Shinichiro, Sasaki Muneteru, de Freitas Paulo Henrique Luiz, Li Minqi, Amizuka Norio, Yamazaki Yutaka	4. 巻 39
2. 論文標題 Altered immunolocalization of FGF23 in murine femora metastasized with human breast carcinoma MDA-MB-231 cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 810 ~ 823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-021-01220-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyaoaka Daichi, Imanishi Yasuo, Kato Eiko, Toi Norikazu, Nagata Yuki, Kurajoh Masafumi, Yamada Shinsuke, Inaba Masaaki, Emoto Masanori	4. 巻 69
2. 論文標題 Effects of denosumab as compared with parathyroidectomy regarding calcium, renal, and bone involvement in osteoporotic patients with primary hyperparathyroidism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine	6. 最初と最後の頁 642 ~ 649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12020-020-02401-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masaki Hideki, Imanishi Yasuo, Naka Hiroshi, Nagata Yuki, Kurajoh Masafumi, Mori Katsuhito, Emoto Masanori, Miki Takami, Inaba Masaaki	4. 巻 38
2. 論文標題 Bazedoxifene improves renal function and increases renal phosphate excretion in patients with postmenopausal osteoporosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 405 ~ 411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-019-01073-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Takeuchi Yasuhiro, Nishida Yuichi, Kondo Yuichiro, Imanishi Yasuo, Fukumoto Seiji	4. 巻 38
2. 論文標題 Evocalcet in patients with primary hyperparathyroidism: an open-label, single-arm, multicenter, 52-week, dose-titration phase III study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 687 ~ 694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-020-01097-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Portale Anthony A., Carpenter Thomas O., Brandi Maria Luisa, Briot Karine, Cheong Hae Il, Cohen-Solal Martine, Crowley Rachel, Jan De Beur Suzanne, Eastell Richard, Imanishi Yasuo, et. al.	4. 巻 105
2. 論文標題 Continued Beneficial Effects of Burosumab in Adults with X-Linked Hypophosphatemia: Results from a 24-Week Treatment Continuation Period After a 24-Week Double-Blind Placebo-Controlled Period	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Calcified Tissue International	6. 最初と最後の頁 271 ~ 284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00223-019-00568-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 今西康雄
2. 発表標題 低リン血症性くる病・骨軟化症の診断と治療 内科の立場から
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今西康雄
2. 発表標題 カルシウム感受受容体 (CaSR) と骨ミネラル代謝異常
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今西康雄
2. 発表標題 日本人にとってのPTH の最適値とその根拠は?
3. 学会等名 第65回日本透析医学会学術集会・総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今西康雄
2. 発表標題 Hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in CKD Patients
3. 学会等名 第65回日本透析医学会学術集会・総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 X染色ノックインモデル動物	発明者 今西康雄	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-212200	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 X染色体優性遺伝疾患におけるシグナル伝達解析法	発明者 今西康雄	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-053936	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------