

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860636

研究課題名(和文)心腎連関におけるFGF21とインスリン抵抗性を介する動脈硬化進展機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism contributing to atherosclerosis progression via FGF21 and insulin resistance in cardio-renal syndrome

研究代表者

北川 正史(Kitagawa, Masashi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：80644377

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)：FGF19/21- Klotho系は糖・脂質代謝、FGF23/ Klotho系はリン調節に密接に関連するが、CKD患者の特にFGF21/23に注目し、動脈硬化指標、心機能指標、腎予後との関連について検討した。CKD患者において血中FGF21は、糖尿病、脂質代謝異常と独立して、血管内皮機能、頸動脈プラーク、腹部大動脈石灰化など血管障害と関連することを示した。またFGF21は腎機能、蛋白尿と独立して腎予後を予測する有意な規定因子であり、血清FGF21は、腎予後を予測する有用なバイオマーカーであることが示唆された。さらに血中FGF21は拡張機能と、FGF23は収縮機能と関連することを報告した。

研究成果の概要(英文)：Fibroblast growth factor (FGF) 19/21/23 is an endocrine FGF. FGF23 regulates mineral metabolism and FGF21 is a metabolic hormone that is crucial in glucose and lipid homeostasis. We assessed the relationships between the serum FGF21/23 levels measured by ELISA and vascular parameters, renal outcomes and cardiac function in CKD patients. We showed that the serum FGF21 level is significantly associated with vascular disorders, including endothelial dysfunction and vascular calcification, independent of the glucose and lipid profiles. We demonstrated that the serum FGF21 level is significantly associated with the renal outcomes. In addition, the serum FGF21 and FGF23 concentrations were independently associated with the diastolic and systolic functions, respectively.

研究分野：腎臓病学

キーワード：心腎連関 慢性腎臓病 FGF21 FGF23 動脈硬化 拡張障害 収縮障害

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (CKD) は、末期腎不全だけでなく、心血管疾患 (CVD) の危険因子でもあり、心腎連関として広く認識されている。CKD 患者には、高血圧や糖尿病、脂質異常症、喫煙などの古典的な心血管疾患危険因子だけではなく非古典的危険因子、たとえば骨ミネラル代謝異常や炎症、酸化ストレス、インスリン抵抗性などが存在する。我々は、心腎連関だけではなく、心・腎・骨・血管連関の存在を想定して、心腎連関に寄与するバイオマーカーの探索を行ってきた。最初に CKD において心不全、特に拡張不全が多いことに着目し、高感度トロポニン T が拡張機能障害のバイオマーカーになることを報告した (Kitagawa Nephron Extra 2011)。

Endocrine FGFs には FGF19/21/23 があり、FGF19/21- Klotho 系は糖・脂質代謝、FGF23/

Klotho 系はリン調節に密接に関連する。血清リンは生命予後、血管石灰化と強く関連するが、リン調節因子として、FGF23- Klotho 系は極めて重要である。FGF23 は、腎機能障害、特に透析患者では著明に上昇する。FGF23 上昇は、腎障害の進展、左室肥大、心不全発症と関連することも報告されている。FGF23 の共受容体である Klotho は心肥大に保護的に作用する。その一つとして我々は CKD 患者における可溶性 Klotho 低下が、全身の動脈硬化指標である動脈ステイフネス上昇と関連があることを示した (Kitagawa PLoS ONE 2013)。

メタボリックシンドローム (MetS) は、内臓脂肪型肥満、インスリン抵抗性を基盤とした耐糖能異常、脂質代謝異常、高血圧などの CVD 危険因子が集積した病態であるが、MetS は、CKD の危険因子でもある。MetS による腎障害の主なものとして糖代謝異常、脂質代謝異常、レニン・アンジオテンシン系の亢進、交感神経の活性化、アディポカインの分泌異常、食塩・タンパク質などの過剰摂取などがある。非糖尿病の CKD 患者において、早期からすでにインスリン抵抗性がみられるとの報告もあり、腎性インスリン抵抗性症候群という概念も提唱されている。発症機序として活性型ビタミン D 欠乏、腎性貧血、尿毒素物質、TNF、IL-6、レプチンといったサイトカインの上昇などが報告されているが、詳細は不明である。

我々は、FGF23- Klotho 系を研究するなか、FGF19/21- Klotho 系に注目した。FGF19 は胆汁酸合成のホメオスタシスを制御する他、エネルギー代謝制御に関与する。FGF21 は、肝臓から分泌されて白色脂肪で糖・脂質代謝調節を行う。FGF21 の発現制御は主に PPAR による発現調節を受け、PPAR は絶食時のエネルギー代謝に重要な役割を果たす核内受容体であり、FGF21 は糖利用を抑制するとともに脂肪分解を促進する。

カロリー制限は寿命を延長させる。早老症

候群のモデルでは、成長ホルモン (GH)/インスリン様成長因子 (IGF)-1 シグナルが抑制されている。腎不全患者においては、GH に対する IGF-1 産生の低下 (GH 抵抗性) が示されており、このことは FGF21 を介していることが報告されており、FGF21 は抗老化ホルモンとしての機能をもつことも示唆されている。

インスリン抵抗性に関与するとされるアディポサイトカインのひとつであるアディポネクチンについて、我々のグループは以前に IgA 腎症でヒトメサンギウム細胞において、IgA 腎症の一因とされる異常糖鎖 IgA1 負荷によりアディポネクチン発現が低下することを報告した (Inoue PLoS ONE 2012)。CKD においてみられるインスリン抵抗性においては、アディポネクチンと FGF19/21 の関与が示唆される。事実、アディポネクチンと FGF21 は関連があることも報告されている。

FGF19 は胆汁酸合成のホメオスタシスを制御する他、エネルギー代謝制御に関与する。FGF21 は主に肝臓から分泌され白色脂肪で糖・脂質代謝調節を行う。

動物モデルにおいて、FGF21 投与は血糖低下、インスリン感受性改善や血中中性脂肪の低下、体重を低下させ、糖・脂質の改善作用をもつ。また直接的に膵臓・心保護効果も示されている。臨床的には、FGF21 は肥満、糖尿病、脂質異常症、非アルコール性脂肪性肝疾患など、様々な代謝性疾患において上昇する。保存期 CKD、透析、腎摘後患者など様々な腎疾患において、FGF21 は上昇することが知られている。また FGF21 高値が糖尿病の発症・進展と関連し、2 型糖尿病患者において FGF21 高値は腎疾患の進行を予測することが報告されている。さらには、肝・脂肪細胞だけでなく心筋にも発現し心保護作用を有することも報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、CKD 患者の循環血中の Endocrine FGFs、今回は FGF21/23 を測定し、動脈硬化病変、心機能指標との関連、また予後との関連を検討し、さらに作用機序を明らかにすることにより、心腎連関の新たな機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) CKD 患者 116 名において、ELISA 法にて血中 FGF21 を測定 (Bio Vendor Laboratory Medicine, Inc.) し、血管指標は以下の 4 つの臨床で、使用されている血管指標で評価した。血管内皮機能は上腕動脈血流依存性血管拡張反応 (FMD)、動脈ステイフネスの指標として脈波伝播速度 (baPWV)、頸動脈プラークとして頸動脈超音波による総頸動脈内中膜複合体肥厚度 (IMT)、石灰化指標として腹

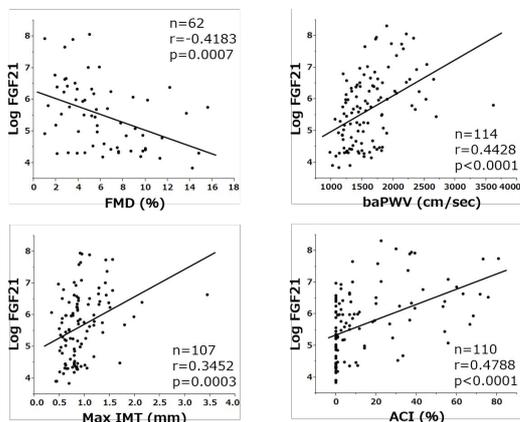
部単純 CT にて半定量的に腹部大動脈石灰化 (ACI)を評価し、それらの関係性を検討した。統計ソフトは統計解析：JMP 10 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を使用した。

(2) 2年間追跡可能であったCKD患者120名において、ELISA法にて血中FGF21を測定し、腎予後(Crの1.5倍化、腎代替療法、腎移植)との関係を検討した。

(3) 左室収縮機能の保持された非糖尿病CKD患者160名において、ELISA法にて血中FGF21/FGF23/Klotho(血中Klotho: Immono-Biological Laboratories Co., Ltd, Gunma, Japan、血中intact FGF23: Kainos Laboratories, Inc., Tokyo, Japan、血中FGF21: Bio Vendor Laboratory Medicine, Inc.)を測定し、心臓超音波による収縮機能である左室駆出率(EF)、拡張機能である僧帽弁輪速度(e'), 心筋重量係数(LVMI)との関係を検討した。

4. 研究成果

(1) 年齢57(43-67)歳、男性63%、eGFR48(22-75)ml/min/1.73m²、尿蛋白0.84(0.32-2.34)g/gCr、血中FGF21の中央値は299(109-603)pg/mLであった。血中FGF21は高血圧、脂質異常、高尿酸血症を有する群で有意に高値であった。血中FGF21はCKD stageの進行とともに増加した。血中FGF21は、FMDと有意な逆相関、baPWV、maxIMT、ACIと有意な正相関を示した。多変量解析において、FGF21はFMD<6%、maxIMT 1.1mm)、ACI>0%の独立した規定因子であった。以上からCKD患者において血中FGF21が、糖尿病、脂質代謝異常と独立して、血管内皮機能、頸動脈プラーク、腹部大動脈石灰化など血管障害と関連することが示唆された。FGF21は、インスリン抵抗性、脂質異常、炎症、酸化ストレスによる血管障害に対して代償的に上昇するほか、動物モデルではFGF21の血管への直接の保護効果が示されている



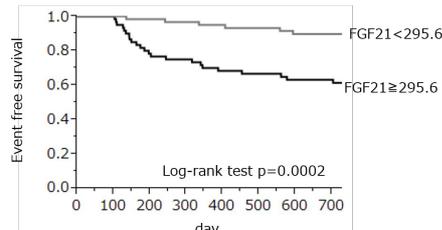
各種血管障害に対する多変量解析

	FMD<6%		PWV≥1400		maxIMT≥1.1mm		ACI>0%	
	β	p	β	p	β	p	β	p
Age	0.1172	0.0420	0.0620	0.1586	0.2255	0.2585	0.1633	0.0086
Male	-0.3262	0.7550	-1.0726	0.1947	-1.7781	0.2856	1.5526	0.0854
Smoking	2.3700	0.0590	0.6371	0.3202	1.2671	0.4504	0.1761	0.8053
BMI	-0.3722	0.5619	-0.6306	0.2126	3.7141	0.0893	0.4706	0.3721
脈圧	0.1118	0.0709	0.0902	0.0419	0.2443	0.0387	0.0434	0.4221
eGFR	-0.0830	0.0458	-0.0564	0.0268	-0.0008	0.9869	-0.0735	0.0214
蛋白尿	-0.6293	0.0884	1.1145	0.0449	-9.6718	0.0349	0.2979	0.5646
Uric acid	0.5151	0.2393	0.6922	0.1089	1.2411	0.1463	-0.6259	0.1281
LDL/HDL	-0.8788	0.3003	1.3731	0.0300	2.6222	0.1020	1.0288	0.1378
HbA1c	-0.3566	0.8431	1.9842	0.1758	-3.7173	0.2575	-1.2123	0.3246
Ca×P	-0.3046	0.1162	-0.3229	0.0118	-0.3297	0.1693	0.0014	0.9918
1,25D	0.0616	0.1738	0.0557	0.1452	0.0562	0.1515	0.0956	0.0400
FGF23	0.0305	0.1151	-0.0012	0.4877	-0.0440	0.2973	-0.0018	0.5218
FGF21	2.0167	0.0453	1.1038	0.0841	7.0852	0.0307	1.7573	0.0173

(2) ベースラインの年齢56(43-66)歳、男性62%、糸球体腎炎59%、腎硬化症28%、糖尿病性腎症5%、eGFR56(24-73)ml/min/1.73m²、尿蛋白0.84(0.31-2.49)g/gCr、血中FGF21296(90-560)pg/mLであった。FGF21はeGFRと負の相関(r=-0.4940、p<0.0001)、蛋白尿と正の相関(r=0.2583、p=0.0044)を示した。2年の観察期間中、29名がエンドポイントに到達し、血中FGF21高値群(296pg/mL)では有意に腎予後不良であった(p<0.0001)。血中FGF21高値群では有意に腎予後不良であった。Cox比例ハザード解析において、FGF21は腎機能、蛋白尿と独立して腎予後を予測する有意な規定因子であった。以上から、CKD患者において、血清FGF21は、腎機能、蛋白尿と独立して腎予後を予測する有用なバイオマーカーであることが示唆された。

エンドポイント: Cr 1.5倍化、腎代替療法、腎移植(3カ月以内の透析導入は除外)

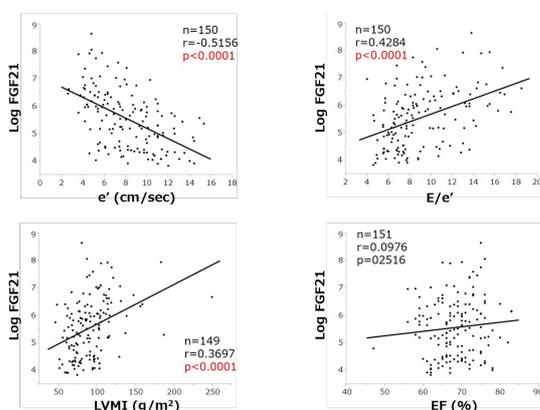
	Total, n	FGF21<295.6 (n=60)	FGF21≥295.6 (n=60)
Cr 1.5倍化	26	6	20
透析導入	3	0	3
複合	29	6	0



Cox比例ハザードモデル(腎エンドポイント)

	Model 1		Model 2 (Model 1+CKD-MBD)	
	HR (95CI)	p	HR (95CI)	p
FGF21 ≥ median	2.1514 (1.0669-4.7927)	0.0314	2.2174 (1.0557-5.0553)	0.0349
Age (per 10 years)	0.8327 (0.5299-1.3190)	0.4303	0.7881 (0.4857-1.2600)	0.3223
Male	1.0718 (0.5985-1.9320)	0.8145	0.9784 (0.8954-1.1485)	0.9412
BMI (per 1kg/m ²)	1.0458 (0.9193-1.1758)	0.4806	1.0214 (0.8954-1.1485)	0.7377
Current smoking, yes	0.3487 (0.1115-0.8441)	0.0169	0.2980 (0.0897-0.7877)	0.0124
Pulse pressure (per 10 mmHg)	0.8016 (0.5810-1.0685)	0.1349	0.7516 (0.5366-1.0162)	0.0641
Non HDL (per 10mg/dL)	0.9369 (0.8263-1.0280)	0.1913	0.9242 (0.8034-1.0249)	0.1550
FFP (per 10 mg/dL)	0.6824 (0.4937-0.9726)	0.0354	0.6957 (0.4938-1.0346)	0.0711
Glycoalbumin (per 1%)	1.3078 (1.0339-1.7019)	0.0245	1.2563 (0.9648-1.6793)	0.0913
eGFR (per 10mL/min/1.73m ²)	0.6202 (0.4449-0.8215)	0.0005	0.6258 (0.4402-0.8440)	0.0016
Proteinuria (per 0.5g/gCr)	1.3361 (1.1530-1.5716)	0.0001	1.3735 (1.1583-1.6530)	0.0002
RASB, yes	0.6362 (0.3266-1.2684)	0.1924	0.4187 (0.1898-0.9207)	0.0307
Phosphate (per 0.5mg/dL)			1.2792 (0.8353-1.9432)	0.2524
FGF23 ≥ median			2.1158 (1.1289-4.3345)	0.0189

(3) 年齢 51 ± 17 歳、男性 60%、eGFR 57 (24-77)ml/min/1.73m²、尿蛋白 0.77 (0.28-2.06)g/gCr、血中 FGF21 296 (90-560)pg/mL、FGF23 48 (37-71)pg/mL、血中 Klotho 617 ± 236pg/mL であった。血中 FGF21/23 は、e' と負相関、E/e'・LVMI と正相関し、血中 FGF23 は EF と負相関が見られた。多変量解析において、FGF21 は e'、FGF23 は EF の独立した規定因子であった。これらの結果は、収縮機能の保持された非糖尿病 CKD 患者において、血中 FGF21 は拡張機能と、FGF23 は収縮機能と関連することを示唆している。FGF21 は cardiac stress 時 (心肥大、心筋梗塞、虚血再灌流など)に、心筋細胞に発現すること、FGF21 は抗アポトーシス作用、抗酸化作用、抗炎症作用、抗リモデリング作用、心臓へのエネルギー供給(脂肪酸 酸化)を介して、autocrine/endocrine として心筋保護を示すこと、が報告されており、CKD でよく見られる cardiac stress の結果として拡張機能が低下し、代償的に FGF21 が上昇していることが考えられた。



各心パラメーターに対する多変量解析

	e'		E/e'		LVMI		EF	
	β	p	β	p	β	p	β	p
Age	-0.0824	<.0001	0.0773	<.0001	0.1538	0.4028	0.0631	0.1720
Male	0.0938	0.6120	-0.2381	0.3723	6.0191	0.0236	-0.3198	0.6323
SBP	-0.0351	<.0001	0.0499	<.0001	0.3054	0.0129	-0.0002	0.9942
nonHDL	-0.0029	0.5244	-0.0047	0.4707	0.0132	0.8377	-0.0142	0.3847
Hb	-0.4129	0.0004	0.0744	0.6484	0.8953	0.5767	-0.0851	0.8337
Alb	1.2455	0.0017	-0.5371	0.3397	-5.3391	0.3370	-0.9354	0.5072
eGFR	0.0302	<.0001	-0.0027	0.8005	-0.1510	0.1651	0.0206	0.4436
proteinuria	0.3112	0.0017	-0.1137	0.4184	-1.9117	0.1714	-0.4244	0.2296
phosphate	0.0335	0.8952	0.0819	0.8229	4.9454	0.1736	0.0045	0.9961
FGF23	-0.0008	0.2821	-0.0008	0.4252	0.0108	0.3014	-0.0058	0.0306
sKlotho	-0.0010	0.1477	-0.0001	0.9368	-0.0028	0.7795	0.0020	0.4241
FGF21	-0.0006	0.0196	0.0004	0.2802	0.0005	0.8926	0.0019	0.0435
BNP	-0.0019	0.4899	0.0091	0.0244	0.0232	0.5534	-0.0038	0.6998

今後の展望

これまでの結果から、FGF21/23 は、腎疾患における動脈硬化・心血管指標、腎予後を予測する早期バイオマーカーとなる可能性を秘めている。また FGF21/23 をターゲットに治療介入を行うことで、腎臓病の進展の抑制や慢性腎臓病患者の心血管病発症リスクの低下させる可能性もある。今後は、FGF19 の測

定も終了していることから、これを加えてさらなる解析を行う予定である。また既存の診断項目やバイオマーカー同士を組み合わせ、より精度の高い病態予測を行う「バイオマーカーのパネル化」を行っていきたいと考えている。

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)

北川正史、杉山 斉「心腎連関における FGF21 とインスリン抵抗性を介する動脈硬化進展機序の解明」月刊「Medical Science Digest」2017 年 5 月号

〔学会発表〕(計 8 件)

Masashi Kitagawa, Hitoshi Sugiyama, Hiroshi Morinaga, Toshio Yamanari, Akifumi Onishi, Keiko Tanaka, Tatsuyuki Inoue, Jun Wada: Serum FGF21 and FGF23 are associated with the diastolic and systolic functions, respectively, in patients with non-diabetic chronic kidney disease. 2016.11.15-20 ASN Kidney Week 2016 Chicago, IL

北川正史、杉山 斉、井上達之、森永裕士、秋山愛由、山成俊夫、大西章史、田中景子、井上章子、菊本陽子、和田 淳: 非糖尿病慢性腎臓病患者において、FGF21 は拡張機能、FGF23 は収縮機能と関連する。2016.6.17-6.19 第 59 回日本腎臓学会(横浜)

Masashi Kitagawa, Hitoshi Sugiyama, Hiroshi Morinaga, Ayu Akiyama, Toshio Yamanari, Akifumi Onishi, Keiko Tanaka, Yoko Kikumoto, Tatsuyuki Inoue, Jun Wada: Serum Fibroblast Growth Factor 21 Is a Significant Predictor for Renal Outcomes in Patients of Chronic Kidney Disease. 2015.11.3-8 ASN Kidney Week 2015 San Diego, CA

北川正史、杉山 斉、森永裕士、秋山愛由、山成俊夫、大西章史、田中景子、菊本陽子、井上達之、内田治仁、和田 淳: 血中 FGF21 は腎機能、蛋白尿と独立した腎予後を予測するバイオマーカーである。2015.6.5-6.7 第 58 回日本腎臓学会(名古屋)

Masashi Kitagawa, Hitoshi Sugiyama, Hiroshi Morinaga, Ayu Akiyama, Toshio Yamanari, Akifumi Onishi, Keiko Tanaka, Yoko Kikumoto, Tatsuyuki Inoue, Jun Wada, Hirofumi Makino: Serum FGF21 is a novel biomarker associated with endothelial dysfunction and aortic calcification

independent of glucose and lipid profiles in patients with chronic kidney disease. 2015.2.28 4th CKD Frontier Meeting (Nagoya)

Masashi Kitagawa, Hitoshi Sugiyama, Hiroshi Morinaga, Ayu Ogawa, Toshio Yamanari, Akifumi Onishi, Keiko Tanaka, Yoko Kikumoto, Shinji Kitamura, Yohei Maeshima, Jun Wada: Serum FGF21 Is a Novel Biomarker Associated with Endothelial Dysfunction and Aortic Calcification in Chronic Kidney Disease. 2014.11.11-16 ASN Kidney Week 2014 Philadelphia, PA

北川正史、杉山 斉、小川愛由、森永裕士、山成俊夫、大西章史、菊本陽子
喜多村真治、前島洋平、榎野博史：血中 FGF21 は慢性腎臓病の血管内皮機能、頸動脈プラーク、血管石灰化を規定するバイオマーカーである 2014.7.4-7.6 第 57 回日本腎臓学会(横浜)

Masashi Kitagawa, Hitoshi Sugiyama, Hiroshi Morinaga, Ayu Ogawa, Toshio Yamanari, Akifumi Onishi, Yoko Kikumoto, Shinji Kitamura, Yohei Maeshima, Hirofumi Makino : LOWER LEVELS OF URINARY SOLUBLE KLOTTHO SIGNIFICANTLY PREDICT RENAL OUTCOMES IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE: A NOVEL BIOMARKER FOR PROGRESSION OF CHRONIC KIDNEY DISEASE. APCN2014 Tokyo May 2014

〔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〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北川正史 (KITAGAWA, Masashi)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
腎・免疫・内分泌代謝内科学 助教

研究者番号：80644377