



PTH 様式 1
令和元年 5 月 9 日

(注意：本研究の報道解禁日時は 5 月 13 日午後 3 時(U.S.ET) (日本時間 14 日午前 4 時) です)

生体のリン感知機構、リン濃度調節機構を解明

徳島大学先端酵素学研究所の高土祐一特任助教、福本誠二特任教授らの研究グループは、血中リン濃度調節に必須のホルモンである線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)の産生調節機構の解析から、生体のリン感知機構、リン濃度調節機構を明らかにしました。これらの結果は、今後慢性腎臓病患者の二次性副甲状腺機能亢進症や血管石灰化などに対する新たな治療法の開発に繋がることが期待されます。本成果は、5 月 14 日付けで米国科学雑誌『Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America』オンライン版に掲載されます。

(報道概要)

徳島大学先端酵素学研究所の高土祐一特任助教(現 福岡大学医学部助教)、福本誠二特任教授らの研究グループは、血中リン濃度調節に必須のホルモンである線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)の産生調節機構の解析から、生体のリン感知機構、リン濃度調節機構を明らかにしました。

血中リン濃度の異常は、異所性石灰化、骨石灰化障害を特徴とするくる病や骨軟化症などを惹起します。このことから、生体には血中リン濃度を一定の範囲に維持する機構が備わっているものと考えられます。同研究グループは、FGF23 が血中リン濃度を低下させるホルモンであること、FGF23 作用異常により低リン血症や高リン血症性疾患が惹起されることを明らかにしてきました。しかし、血中リン濃度の変化がどのような機構により FGF23 産生や濃度を調節しているかは明らかではありませんでした。そこで同グループは、細胞外リン濃度の上昇により活性化される蛋白の網羅的解析から、リンが FGF 受容体の活性化を介して FGF23 産生を調節していることを明らかにしました。これらの結果は、今後慢性腎臓病患者の二次性副甲状腺機能亢進症などの代謝異常症に対する新たな治療法の開発に繋がることが期待されます。

本成果は、5 月 14 日付けで米国科学雑誌『Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America』オンライン版に掲載されます。

(研究の背景)

細胞外液中にはカルシウムやリンなど、種々のミネラルが存在します。血中カルシウム濃度の上昇は、意識障害や異所性石灰化などを、逆にカルシウム濃度の低下はテタニーや全身痙攣などを引き起こすことがあります。またリン濃度の上昇はやはり異所性石灰化の、リン濃度の低下は骨石灰化障害を特徴とするくる病や骨軟化症の原因です。健常人ではこれらの異常はおこりませんので、生体には

血中カルシウムやリン濃度を一定の範囲に維持する機構が備わっているものと考えられます。

血中カルシウム濃度の維持に中心的役割を果たすのは、副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone: PTH) です。PTH は、骨吸収や腎臓遠位尿細管カルシウム再吸収の促進などにより、血中カルシウム濃度を上昇させるように作用します。逆に血中カルシウム濃度の上昇は、副甲状腺カルシウム感知受容体 (Ca-sensing receptor: CaSR) を介し、PTH 産生や分泌を抑制することが明らかにされてきました。すなわち、血中カルシウム濃度と PTH 分泌の間にはネガティブフィードバック機構¹ が存在し、この機構により血中カルシウム濃度が維持されるものと考えられています (図 1)。

一方血中リン濃度調節に重要な役割を果たすホルモンが、線維芽細胞増殖因子 23 (fibroblast growth factor 23: FGF23) です。同グループは、2001 年に低リン血症性疾患の原因惹起因子として FGF23 を同定するとともに、FGF23 が骨により産生される血中リン濃度調節ホルモンであること、FGF23 作用異常により低リンや高リン血症性疾患が惹起されることなどを明らかにしてきました。また、高リン食により血中 FGF23 濃度が上昇するなど、リンにより FGF23 産生や濃度が調節されていることを示唆する成績も報告されていました。しかし、生体がどのように血中リン濃度の変化を感知し、FGF23 産生や濃度を調節しているのかは明らかではありませんでした。

(研究の成果)

本研究ではまず、マウスを高リン食で飼育することにより、血中 FGF23 濃度の上昇が起こることが確認されました。一方高リン食は、骨における *FGF23* 遺伝子発現を変化させず、FGF23 蛋白の分解を抑制するように機能する蛋白をコードする *Galnt3* 遺伝子発現を促進することが明らかとなりました。また、骨芽細胞様細胞株 UMR106 を用いた検討でも、細胞外リン濃度の上昇により *Galnt3* 遺伝子発現が亢進することも明らかになりました。したがって、*Galnt3* 遺伝子がリン応答遺伝子であることが確認されました。そこで UMR106 細胞を用い、細胞外リン濃度の上昇により発現が変化する遺伝子をマイクロアレイ解析により網羅的に検討したところ、*Egr1* や *Etv5* などの転写因子の発現が細胞外リン濃度の上昇により亢進することが明らかになりました。これらの転写因子は、受容体型チロシンキナーゼの下流に存在することが知られています。そこで細胞外リン濃度の上昇が、受容体型チロシンキナーゼを活性化する可能性が考えられました。

そこで抗リン酸化チロシン抗体を用いて UMR106 細胞の蛋白を精製し、細胞外リン濃度の上昇によりチロリンリン酸化が惹起される蛋白を液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析装置 (liquid chromatograph-tandem mass spectrometer: LC-MS/MS) により解析しました。その結果細胞外リン濃度の上昇は、線維芽細胞増殖因子受容体 1 (fibroblast growth factor receptor 1: FGFR1) の細胞内領域に存在するいくつかのチロシン残基のリン酸化を惹起することが明らかとなりました。FGFR のチロリンリン酸化は、FGF receptor substrate 2 (FRS2) や extracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化など、種々の細胞内情報伝達系を活性化することが知られています。実際、細胞外リン濃度の上昇により、UMR106 細胞の FRS2 や ERK の活性化が起こること、FGFR1 や ERK 経路の阻害薬により、リンによる *Galnt3* 発現の促進が抑制されることも明らかになりました。したがって UMR106 細胞において、細胞外リン濃度の上昇は FGFR1-FRS2-ERK 系

の活性化を介して *Galnt3* 発現を促進するものと考えられました。

最後に、実際にこの系が生体内においても機能しているのかどうかを明らかにするために、骨特異的 *Fgfr1* ノックアウトマウスを作成し、検討を行いました。野生型マウスでは、前述のように高リン食により骨での *Galnt3* 遺伝子発現が亢進します。一方本ノックアウトマウスでは、高リン食による *Galnt3* 発現亢進が抑制されていることが明らかとなりました。従って FGFR1 が、実際に生体内のリン感知機構として機能していることが示されました(図 2)。

(本成果の意義・今後の展望)

本研究により、生体は FGFR1 を介してリン濃度の変化を感知し、FGF23 産生や濃度を調節していることが明らかとなりました。FGF23 はリン濃度を低下させるホルモンであることから、血中リン濃度と FGF23 産生の間にもネガティブフィードバック機構が存在することが解明されました(図 3)。FGF に対する受容体と考えられてきた FGFR1 がリンにより活性化される詳細な機構は、今後の検討課題です。一方リン濃度の上昇は、FGF23 産生促進に加え、PTH 産生や動脈石灰化の促進なども惹起することが知られています。したがって本研究の成果は、今後慢性腎臓病患者の二次性副甲状腺機能亢進症や血管石灰化などに対する新たな治療法の開発に繋がることを期待されます。

掲載誌名 : Proc Natl Acad Sci U S A

論文題目 : **Activation of unliganded FGF receptor by extracellular phosphate potentiates proteolytic protection of FGF23 by O-glycosylation**

論文著者 : Yuichi Takashi, Hidetaka Kosako, Shun Sawatsubashi, Yuka Kinoshita, Nobuaki Ito, Maria K Tsoumpra, Masaomi Nangaku, Masahiro Abe, Munehide Matsuhisa, Shigeaki Kato, Toshio Matsumoto, and Seiji Fukumoto*

(下線 : 徳島大学、* 責任著者)

本研究の報道は、掲載日(令和元年 5 月 13 日午後 3 時(U.S.ET))(日本時間 14 日午前 4 時)まで厳しく禁止されていますので、解禁前に報道することがないように十分にご注意願います。

お問い合わせ先

部局名 徳島大学先端酵素学研究所 オープンイノベーション領域
藤井節郎記念医科学センター 分子内分泌学研究分野

責任者 福本誠二

担当者 福本誠二

電話番号 088-634-6440

メールアドレス fukumoto.seiji1@tokushima-u.ac.jp

【用語解説】

*1 ネガティブフィードバック機構

あるシステムにおいて、出力の効果の一部が入力の変動を抑えるように作用する機構。生体においては、恒常性を維持するために作用していることが多い。内分泌系においては、ホルモンなどの因子の作用の一部が、その因子の変動を緩衝するように作用する場合を指す。

*2 受容体型チロシンキナーゼ

細胞膜一回貫通構造を示す、細胞膜受容体の一種である。リガンドが細胞外領域に結合すると、受容体の構造変化により細胞内領域に存在するチロシンキナーゼが活性化され、本受容体を含む種々の細胞内蛋白のチロシン残基がリン酸化される。線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor: FGF)受容体や上皮成長因子(epidermal growth factor: EGF)受容体などが、代表的受容体型チロシンキナーゼである。

図 1. 血中カルシウム濃度調節におけるネガティブフィードバック機構

副甲状腺ホルモンは、血中カルシウム濃度を上昇させるホルモンである。血中カルシウム濃度の上昇は、副甲状腺カルシウム感知受容体の活性化を介し、副甲状腺ホルモンの産生や分泌を抑制する。これにより、血中カルシウム濃度の上昇が緩衝される。従って、生体はカルシウム検知受容体により血中カルシウム濃度の変化を感知しており、血中カルシウム濃度と PTH 産生、分泌の間にはネガティブフィードバック機構が存在することになる。

図 2. 生体のリン感知機構としての FGFR1

リン濃度の上昇は、線維芽細胞増殖因子受容体 1(fibroblast growth factor receptor 1: FGFR1)の活性化、FGF receptor substrate 2 (FRS2)や extracellular signal-regulated kinase (ERK)のリン酸化、Egr1 や Etv5 などの転写因子を介し、*Galnt3* 遺伝子発現亢進から線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)産生を促進する。

図 3. 血中リン濃度調節におけるネガティブフィードバック機構

線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)は、血中リン濃度を低下させるホルモンである。血中リン濃度の上昇は、線維芽細胞増殖因子受容体 1(fibroblast growth factor receptor 1: FGFR1)の活性化を介し、FGF23 の産生を促進する。これにより、血中リン濃度の上昇が緩衝される。従って、生体は FGFR1 により血中リン濃度の変化を感知しており、血中リン濃度は FGFR1-FGF23 作用を介したネガティブフィードバック機構により一定の範囲に維持されることになる。