

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

ホルモン受容機構異常に関する調査研究

分担研究報告書

閉経後健常女性における Ca・P 代謝と可溶性 α -Klotho の関係の検討

研究分担者 杉本利嗣 島根大学医学部内科学講座内科学第一 教授

研究要旨：膜型 α -Klotho は Ca-P 代謝調節因子であることが明らかとなっているが、可溶性 α -Klotho の機能の詳細は不明である。生理的範囲において可溶性 α -Klotho が Ca、P、ビタミン D 代謝に關与するかを、健常閉経後女性において検討した。可溶性 α -Klotho は年齢、BMI、Ca、intact PTH、25(OH)D で補正後もリン再吸収率(%TRP)と有意な負相関を認めた。可溶性 α -Klotho 自身が P 代謝をはじめとするミネラル代謝異常症に關与する可能性を明らかにした。

A . 研究目的

α -Klotho は早期老化様症状を呈する突然変異マウスの原因遺伝子として同定された。 α -Klotho ノックアウトマウスは血中 Ca、P、1,25(OH)₂D₃ の著明な上昇を認め、その後の分子機能解析により、Ca-P 代謝調節因子であることが明らかとなった。すなわち、膜型 α -Klotho は FGF 受容体(FGFR1)、FGF23 と複合体を形成することで、ビタミン D の活性化や P 利尿に關与する。一方、細胞外ドメインで切断された可溶性 α -Klotho は血中、尿中、脳脊髄液中に存在するが、その機能の詳細は明らかとなっていない。

α -Klotho 遺伝子異常により可溶性 α -Klotho 濃度が著明に上昇し、低 P 血症性くる病を示した例が報告されていることから、可溶性 α -Klotho がくる病・骨軟化症の原因や、ミネラル代謝異常の原因に關与する可能性がある。本検討では生理的範囲において可溶性 α -Klotho が Ca、P、ビタミン D 代謝に關与するかを、健常閉経後女性において検討する。

B . 研究方法

骨粗鬆症健診を受けた健常閉経後女性

174 名を対象とした。血液検査において Ca (mg/dL)、P (mg/dL)、Cr (mg/dL)、intact PTH (pg/mL)、25(OH)D (ng/mL)、骨形成マーカーである I 型プロコラーゲン N-プロペプチド (PINP) (ng/mL)、オステオカルシン(OC) (ng/mL)、骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド(CTX) (ng/ml)を測定した。また、既報(Yamazaki Y et al. BBRC. 2010)の ELIZA 法を用いた方法にて患者血清における可溶性 α -Klotho (pg/mL)濃度を測定した。尿検査にて uCa (mg/dL)、uCr (mg/dL)、uP (mg/dL) を測定し、eGFR (estimated glomerular filtration rate) (ml/min/1.73m²)、尿中 Ca/Cr 比、FE_{Ca} (%)、リン再吸収率 (tubular reabsorption of phosphate: %TRP)を算出した。また、DXA 法にて腰椎および大腿骨頸部の骨密度を測定した。統計解析は SPSS-17.0 を用い、いずれの場合も危険率 5%未満をもって有意とした。

(倫理面への配慮)

研究計画は島根大学医学部の倫理委員会に申請し、承認されている。

C . 研究結果

対象群の平均年齢(mean ± SD)は 63.2 ± 7.4

歳であった。各々のベースラインデータは、Ca 9.1 ± 0.3 mg/dL、P 3.5 ± 0.4 mg/dL、Cr 0.58 ± 0.10 mg/dL、intact PTH 45.0 ± 14.0 pg/mL、25(OH)D 16.0 ± 4.3 ng/mL、可溶性 α -Klotho 596.7 ± 171.9 pg/mL、eGFR 82.0 ± 15.0 ml/min/1.73m²、uCa/uCr 0.10 ± 0.06 、FECa 0.61 ± 0.32 %、%TRP 89.1 ± 3.6 %であった。可溶性 α -Klothoの正常値は明らかとなっていないが、既報の値と同程度であった。

【可溶性 α -Klothoと各因子における単回帰分析】

可溶性 α -Klothoは年齢、BMIと相関を認めなかった。また、可溶性 α -KlothoはCa、Cr、intact PTH、25(OH)D、P1NP、CTX、OC、eGFR、uCa/uCr、FECa、および骨密度と相関を認めなかったが、P($r=-0.156$, $p=0.040$)、および%TRP($r=-0.178$, $p=0.019$)と有意な負相関を認めた。

【可溶性 α -KlothoとPおよび%TRPにおける重回帰分析】

可溶性 α -KlothoとPは年齢を考慮すると相関を認めなかった。一方、可溶性 α -Klothoは年齢、BMI、Ca、intact PTH、25(OH)Dで補正後も%TRPと有意な負相関を認めた($r=-0.175$, $p=0.031$)。

D. 考察

α -Klothoは副甲状腺、腎臓尿細管、脳の脈絡膜で発現しており、 α -Klotho遺伝子ノックアウトマウスでは著明な高Ca、P血症、1,25(OH)₂D₃高値を示す。 α -Klothoは細胞膜上に存在するタイプと、細胞膜貫通ドメインの直上で切断された分泌されるタイプが知られており、後者である可溶性 α -Klothoは血清、脳脊髄液、尿中で同定される。膜型 α -KlothoはFGFR1およびFGF23と複合体を形成することで、FGF23独自の

作用であるP・ビタミンD代謝調節作用を発現させる役割を担う。つまり、 α -Klothoは α -glucuronidase活性を示し、この作用により α -Klothoが結合蛋白の特殊な糖鎖構造を認識することで、FGFR1がFGF23と選択的に結合することを可能にしていると考えられている。一方、可溶性 α -Klothoも α -glucuronidase活性を保持していることから可溶性 α -Klothoが酵素、あるいはグルクロン酸結合蛋白としての機能を有する可能性が示唆されている。実際、可溶性 α -KlothoがNaPi-2a蛋白のN型糖鎖に作用し、NaPi-2a蛋白が分解されやすくしているとの報告がある。また、ヒトにおいて α -Klotho遺伝子異常により可溶性 α -Klotho濃度が著明に上昇し、低P血症性くる病を示した例が報告されている。今回の可溶性 α -Klothoが%TRPと負相関を示すとの結果は、可溶性 α -Klotho過剰症における病態と合致する結果であり、可溶性 α -Klotho自身がヒトにおける生理的状态においても、P代謝に関与する可能性を初めて明らかにした。

E. 結論

可溶性 α -Klotho自身がP代謝をはじめとするミネラル代謝異常症に関与する可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka K, Kanazawa I, Yamaguchi T, Yano S, Kaji H, Sugimoto T: Active vitamin D possesses beneficial effects on the interaction between muscle and bone. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 450: 482-487.
- 2) Tanaka S, Kuroda T, Sugimoto T,

- Nakamura T, Shiraki M Relationship between change in lumbar bone mineral density to vertebral fracture risk reduction in osteoporosis patients treated with once-weekly teriparatide. *Curr Med Res Opin.* 2014; 30: 931-936.
- 3) Nakano T, Shiraki M, Sugimoto T, Kishimoto H, Ito M, Fukunaga M, Hagino H, Sone T, Kuroda T, Nakamura T Once-weekly teriparatide reduce the risk of vertebral fracture in patients with various fracture risks-subgroup analysis of Teriparatide Once-Weekly Efficacy Research (TOWER) Trial. *J Bone Miner Metab.* 2014; 32: 441-446.
 - 4) Sugimoto T, Nakamura T, Nakamura Y, Isogai Y, Shiraki M. Profile of changes in bone turnover markers during once-weekly teriparatide administration for 24 weeks in postmenopausal women with osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2014; 25: 1173-1180.
 - 5) Sone T, Ito M, Fukunaga M, Tomomitsu T, Sugimoto T, Shiraki M, Yoshimura T, Nakamura T. The effects of once-weekly teriparatide on hip geometry assessed by hip structural analysis in postmenopausal osteoporotic women with high fracture risk. *Bone* 2014; 64: 75-81
 - 6) Ohta H, Uemura Y, Nakamura T, Fukunaga M, Ohashi Y, Hosoi T, Mori S, Sugimoto T, Itoi E, Orimo H and Shiraki M. Serum 25-hydroxyvitamin D levels as an independent determinant of quality of life in osteoporosis with a high risk of fracture. *Clin Ther.* 2014; 36:225-235.
 - 7) Ito M, Oishi R, Fukunaga M, Sone T, Sugimoto T, Shiraki M, Nishizawa Y, Nakamura T. The effects of once-weekly teriparatide on hip structure and biomechanical properties by CT. *Osteoporosis Int.* 2014; 25: 1163-1172.
 - 8) 矢野彰三, 杉本利嗣: 最新の予防と治療の基本と実際, 副甲状腺ホルモン (PTH). *Medical Practice*, 2014; 31: 1975-1980.
 - 9) 山本 昌弘, 杉本 利嗣 ステロイド性骨粗鬆症に対するテリパラチドの効果 *CLINICAL CALCIUM* 2014; 24: 1379-1385.
 - 10) 山内美香, 杉本利嗣: Ca 検査値異常のアプローチ, *日本内科学会雑誌*, 2014; 103:870-877.
 - 11) 矢野彰三、杉本利嗣 連日テリパラチ皮下注治療の進歩と課題 *CLINICAL CALCIUM* 2014; 24: 35-43.
2. 学会発表
 - 1) Nawata K, Yamauchi M, Yamamoto M, Tanaka K-I, Ogawa N and Sugimoto T: Relationship between soluble -klotho and nutritional intake in postmenopausal women, 24th annual scientific meeting of Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Queenstown, 2014 in September
 - 2) Yamaguchi T, Tada Y, Kanazawa I, Morita M, Furuya N, Yamamoto M, Yamauchi M and Sugimoto T: Intensive glycemic control improved the excretion of urine mineral ions in type 2 diabetes mellitus, 24th annual scientific meeting of Australian and New Zealand Bone and Mineral Society, Queenstown, 2014 in September

- 3) Nakamura Y, Kuroda T, Sugimoto T, Shiraki M, Nakano T, Kishimoto H, Ito M, Fukunaga M, Hagino H, Sone T and Nakamura T: Once-weekly teriparatide reduces vertebral fracture risk: subgroup analysis from the teriparatide once weekly efficacy research (TOWER) trial, World Congress on osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases, Seville, 2014 in April
- 4) McCloskey EV, Oden A, Nakamura T, kuroda T, Eto M, Shiraki M, Sugimoto T, Tanaka S, Kanis JA and Johansson H: Efficacy of teriparatide on the risk of vertebral fracture and the interaction with FRAX, World Congress on osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases, Seville, 2014 in April
- 5) 杉本利嗣: シンポジウム、骨粗鬆症治療における薬剤選択とその長期展望、テリパラチドの適応症例、第16回日本骨粗鬆症学会、東京、2014年10月23日
- 6) 田中賢一郎, 金沢一平, 山口徹, 梶博史, 杉本利嗣: AGE2、3及び活性型ビタミンDの筋芽細胞分化及び骨芽細胞分化促進因子 Osteoglycin 発現に及ぼす影響、第32回日本骨代謝学会学術集会、大阪、2014年7月24-26日
- 7) 名和田清子, 山内美香, 田中賢一郎, 小川典子, 杉本利嗣: 閉経後女性における可溶性 klotho と栄養摂取量の関係についての検討、第32回日本骨代謝学会学術集会、大阪、2014年7月24-26日
- 8) 杉本利嗣: パネルディスカッション、骨粗鬆症治療の今後の展望、骨形成促進剤: Daily と Weekly PTH の相違点 第87回日本整形外科学会学術総会、神戸、2014年5月23日
- 9) 田中賢一郎, 金沢一平, 山口徹, 梶博史, 杉本利嗣: 活性型ビタミンDはAGE2、3による筋芽細胞分化抑制及び骨芽細胞分化促進因子 Osteoglycin 発現抑制を回復させる、第87回日本内分泌学会学術総会、福岡、2014年4月24-26日
- 10) 山内美香, 杉本利嗣: クリニカルアワー; 骨・ミネラル代謝異常症診療の進歩、骨粗鬆症診療の state-of-the-art、第87回日本内分泌学会学術総会、福岡、2014年4月24-26日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

