

審査の結果の要旨

氏名 伊東 伸朗

本研究は生理的なリン代謝調節液性因子であると報告されている、fibroblast growth factor (FGF)23 の産生調節機構を明らかにするため、(1)各種リン代謝疾患患者での実際の血中 FGF23 濃度の検討、(2)FGF23 関連高リン血症性疾患と報告されている familial tumoral calcinosis (FTC)の原因遺伝子の一つである

UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase3 (GALNT3)遺伝子を、in vitro にてノックダウンした際の、FGF23 蛋白の発現の検討、(3)健康成人で血中リン濃度を急激に変化させた時の血中 FGF23 濃度変化の検討と、ヒト *FGF23* 遺伝子プロモーター領域のリン濃度変化に対する転写活性の変化の検討を試み、下記の結果を得ている。

1. FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症と報告されている X-linked hypophosphatemic rickets/osteomalacia (XLH)患者の血清 FGF23 値は全長 FGF23 測定キットでは29例中24例 (82.8%)、C端 FGF23 測定キットでは29例中13例 (44.8%) が基準値上限以上であった。tumor-induced rickets/osteomalacia (TIO)患者の血清 FGF23 濃度は、全長 FGF23 アッセイでは全例が、C端 FGF23 測定キットでは13例中10例 (76.9%)が基準値上限以上であった。*FGF23* 遺伝子変異による FTC 患者では、全長 FGF23 の値は 11.0 pg/ml と基準値内低値であったのに対し、C端 FGF23 の値は 2948 RU/ml と異常高値であった。また *GALNT3* 遺伝子変異による FTC 患者2例でも、全長 FGF23 の値は 12.1、7.0 pg/ml と基準値内低値、または低値であったのに対して、C端 FGF23 の値は 4700、1478 RU/ml と異常高値であった。
2. *GALNT3* 遺伝子に対する siRNA により ppGaNTase-T3 の発現は抑制された。ppGaNTase-T3 の抑制により全長 FGF23 が減少したのに対して、C端フラグメントは増加 (124.3%)した。また培養上清中の FGF23 濃度でも、全長アッセイでは 60.9%に減少していたにもかかわらず、C端アッセイでは有意な変化を認めなかった。
3. リン酸二カリウム液静注負荷により、血清リンは3時間目で前値の 186%まで有意に上昇した。炭水化物経口摂取負荷では、血清リンは2時間目で前値の 81%と有意な低下を認めた。しかしいずれの実験においても、血中 FGF23 の有意な変動は認められなかった。HOS-TE85 の培養上清中のリン濃度を 5 mM に上昇させた場合、細胞内の ERK のリン酸化の亢進が認められた。コントロールと比較し、*FGF23* のプロモーターベクターは何れも有意な活性の上昇を示した。また 1826 bp にてコントロールの 9.1 倍と最も高い活性を示した。培養上清中のリン濃度を 1、5、10 mM に変更しても、*FGF23* 遺伝子プロモーター活性の有意な変化は認められなかった。

以上、本論文により血中 FGF23 の測定はリン代謝異常症の病態の把握に有用であることを示した。さらに *FGF23* 及び *GALNT3* 遺伝子変異による FTC の病因が、FGF23 蛋白のプロセッシングの亢進にあることが明らかとなり、さらには *GALNT3* 遺伝子変異が、おそらく O 型糖鎖付加の障害を介して FGF23 蛋白の易切断性を惹起していることも確認できた。本一連の検討により、一見無関係と思われる糖鎖修飾を媒介する酵素である ppGaNTase-T3 と FGF23 蛋白との関係性が明らかとなり、また糖鎖修飾による蛋白プロセッシングの調節が、血中 FGF23 濃度の調節機序の一部を担っているという興味深い結果が得られた。*GALNT3* 遺伝子変異による腫瘍状石灰沈着症は、現在知られている唯一のムチン型 O 型糖鎖付加の異常による疾患である。従ってこれらの結果は、ムチン型 O 型糖鎖付加異常によるタンパクプロセッシングの亢進からの疾患の発症という、疾病の新たな発症機序を明らかにしたことになる。本研究結果は、今後のリン代謝異常症の診断や病態の把握に重要な貢献をなすと考えられること、また本研究により新たな疾病の発症機序を明らかにしたことから、学位の授与に値するものと考えられる。