

審査の結果の要旨

氏名 堀 倫子

線維芽細胞増殖因子 23(fibroblast growth factor 23: FGF23)は、骨細胞で産生され、主に腎臓に作用し体内のリン代謝を調節するホルモンである。ビタミン D 受容体(vitamin D receptor: VDR)の刺激により FGF23 遺伝子の転写が促進されることは知られているが、骨細胞における FGF23 の産生調節には、不明な点が多く残されている。FGF23 は血中リン濃度を低下させるが、リンによる FGF23 の産生調節に関してはこれまでのところ *in vivo* での報告に留まっている。本研究は、慢性腎臓病患者の血中 FGF23 濃度規定因子を検討するとともにラット骨芽細胞様細胞株 UMR-106 を用い、リンによる FGF23 産生調節機構に関して検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 腹膜透析患者における FGF23 の濃度規定因子の検討では、単回帰解析で透析期間、体重、血圧、透析方法、血清リン値、血清クレアチニン値 (Cre)、骨型 ALP、腎尿素 Kt/V/週、総尿素 Kt/V/週、腎クレアチニククリアランス、総クレアチニククリアランスと FGF23 との間に有意な相関が認められた。特に、リンに関しては相関係数 0.672 と、最も強い相関を認めた。FGF23 と有意な単相関を認めたこれらの変数を独立変数とした変数増減法による重回帰分析では、FGF23 値に対する影響は骨型 ALP、透析方法、リン、Cre の順に高いという結果が得られた。
2. 1, 25(OH)₂D₃ による FGF23 mRNA 発現調節の検討では、UMR-106 の FGF23 mRNA 量は 1, 25 (OH)₂ D₃ 濃度依存性に増加した。ラット FGF23 遺伝子-500 bp までの領域をサブクローニングしたベクターを用いて FGF23 プロモーター活性を定量すると、1, 25 (OH)₂ D₃ 添加群では非添加群の 1.5 倍に有意に上昇した。また、FGF23 mRNA の安定性に関しては 1, 25 (OH)₂D₃ 100 nM 添加群では 1 nM 添加群と比較し、mRNA の半減期が約 2 倍に有意に延長した。以上の結果から、1, 25(OH)₂D₃ による FGF23 mRNA 発現増加は、転写促進と mRNA 安定性の向上の両者によるという結果が得られた。
3. リンによる FGF23 mRNA 発現調節の検討でも、UMR-106 の FGF23 mRNA 量はリン濃度依存性に増加した。-500 bp までの領域をサブクローニングしたベクターを用いてラット FGF23 プロモーター活性を定量すると、リン 5 mM 添加群は非添加群と比較して約 1.7 倍と有意に活性が上昇した。しかし、FGF23 mRNA の安定性はリン添加の有無で変化はなく、リンによる FGF23 mRNA 発現増加は転写促進のみによるという結果が得られた。
4. リンにより活性化される細胞内シグナル伝達には様々なものがあるが、その一つとして活性酸素が関与するとの報告がある。リンによる FGF23 mRNA 発現調節が活性酸素を介しているか検討するため、まずは H₂O₂ による FGF23 発現調節の有無を検討し

た。UMR-106 に H_2O_2 を添加すると、 H_2O_2 濃度依存性に *FGF23* mRNA 量は増加した。また、リンの添加により、UMR-106 の細胞内活性酸素量は有意に増加し、活性酸素合成阻害剤の1つである apocynin の添加で、リンによる *FGF23* mRNA 発現の増加は有意に抑制された。従って、リンによる *FGF23* mRNA 発現調節の少なくとも一部は、活性酸素を介していることが示された。

以上、本論文により、リンが骨芽細胞系細胞に作用し、*FGF23* の転写促進を介して *FGF23* 発現を促進することが示された。さらに、リンによる *FGF23* 発現調節には酸化ストレスが介在する可能性が示された。CKD 患者において血中リン濃度と *FGF23* に相関が認められることから、CKD 患者での *FGF23* 上昇の少なくとも一部は、血中リン濃度の上昇を介することが明らかとなった。本研究の結果は、CKD 患者での *FGF23* 関連有害事象の発症機序や予防法の解明に繋がる可能性があり、学位の授与に値するものと考えられる。