無機リン酸イオン恒常性維持機構： 腎臓と多臓器連関制御

辰巳佐和子, 宮本 賢一

要約：無機リン酸 (Pi) は生体にとって必須のイオンであり、エネルギーの中間代謝、糖、タンパク質、脂質、核酸代謝、酵素活性の調節、細胞内シグナル伝達、骨格形成の基質など多数の生理機能を有している。血中リン濃度は、おもに腸管吸収、骨代謝 (骨形成・吸収)、腎臓における排泄と再吸収により維持されている。腎臓からの再吸収能は、リン恒常性維持に重要な役割を果たしているため、その調節は生体内リン恒常性維持の中核と考えられている。これまでの研究から、腎臓尿細管におけるリン再吸収・排泄を制御する巧妙な調節系が存在し、複数の臓器と相互作用していることが分かってきた。とくに、慢性腎臓病 (CKD) では、骨と腎臓を結ぶリン代謝系に異常が観察され、CKD 早期から骨細胞における線維芽細胞様増殖因子 23 (FGF23) の発現は亢進し、リン過剰を呈していることが報告されている。また古くより、肝臓がん患者や生体肝移植のドナーに肝臓切除手術を施すと、術後急激に、腎臓によるリン排泄亢進に起因して低リン血症を呈することが知られていた。最近、これらの原因が検討され、肝臓と腎臓を結ぶリン代謝系が明らかにされた。肝臓切除後の尿中リン排泄亢進の原因は、何らかの因子による Nampt の活性化を介した腎臓内ニコチンアミド代謝促進である可能性がわかった。本稿では、新しいリン調節経路を加えて、腎臓を中心とした多臓器にわたるリン恒常性維持機構について概説する。

1. はじめに

無機リン酸 (以下リン) の血中濃度を正常値に保つことは、非常に重要であり大きな意味を持つ。過剰なリンを摂取すると、速やかに生体内における血中リン濃度の恒常性維持機構により、血中リン濃度を大きく

上昇させることなく腎臓よりリンを排泄する。このリン恒常性は、腎臓近位尿細管におけるリン再吸収・排泄を制御する巧妙な調節系が複数の臓器と相互作用して維持するとされている (1-3)。近年、日本を含め世界的に慢性腎臓病 (chronic kidney disease : CKD) 患者が増加している。CKD 患者では高リン血症がよく見られ、骨と腎臓を結ぶリン代謝系に異常が早期より観察される。CKD 早期から骨細胞において、リン利尿因子である線維芽細胞様増殖因子 23 (FGF23) の発現が亢進することから、腎臓 1 ネフロン当たりに対するリン過剰を呈していると考えられている (1, 3, 4)。また、リンの過剰摂取と CKD や循環器疾患などとの関連性を示唆する研究成果が相次いで報告されており (1-4)、リン管理の重要性が認められてきた。そのため、多臓器にわたる生体内の無機リン酸イオンの恒常性維持機構を、多階層的に理解する研究が求められている。本稿では、最近明らかになった肝臓と腎を結ぶ調節系を中心にリン代謝における多臓器連関制御について概説する。

2. リントランスポーターとリン恒常性維持機構

リン (Pi) は、細胞膜、エネルギー代謝、核酸、酵素機能、pH 調整など、細胞機能維持に重要な構成因子である。また、細胞内では最も高濃度含まれる陰イオンであり、リン化合物は全体で 100 mM に達する (5)。さらにリンはカルシウムとともに骨の構成成分 (ハイドロキシアパタイト) として骨格形成に必須である。そのため、生体内のリンは過不足なく恒常性が維持される必要がある (5)。そして、すべての細胞には、ナトリウム濃度勾配を利用してリンを細胞内に輸送するナトリウム依存性リントランスポーターが存在している

キーワード：無機リン酸 (Pi)、腎臓、トランスポーター、リン利尿因子 (フォスファトニン)
徳島大学大学院 医歯薬学研究部 分子栄養学分野 (〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町 3 丁目 18-15)

E-mail: tatsumi@tokushima-u.ac.jp 原稿受領日：2015 年 11 月 1 日、依頼原稿

Title: Regulation of inorganic phosphate ion homeostasis: crosstalk kidney and other organs

Author: Sawako Tatsumi, Ken-ichi Miyamoto

(1, 5). 現在までに, 3 種類の NaPi ファミリーが同定されており, type I から type III まで分類されている (1, 5). Type I は, SLC17A1 (NaPi-I, Npt1) として分類され, 最初に同定されたリントランスポーターである. 腎および肝臓に発現しナトリウム依存性のリン輸送を行なうが, リンに対する親和性が低く, むしろ有機アニオン (尿酸等) の排泄に関与している. Type II は, SLC34 ファミリー (NaPi-II, Npt2) として分類され, 腎および小腸などに発現し, 上皮型組織でリン輸送を担う遺伝子ファミリーである. さらに, NaPi-II は, IIa, IIb および IIc に分類される (Npt2a, Npt2b, Npt2c). 腎近位尿細管細胞では, NaPi-IIa および NaPi-IIc が刷子縁膜に局在している. 特に NaPi-IIa は, 腎近位尿細管刷子縁膜を用いたリン輸送特性に極めて類似した特性を有しているため, リン再吸収の中心をなす分子と考えられている. NaPi-IIb は, 肺や腸管に発現しており, 食事由来のリン吸収を担う分子と想定されている (1, 5). また, NaPi-IIc は, 生後の成長期に重要なトランスポーターであり, ヒト腎臓ではリン再吸収の中心的な分子と考えられている. Type III は, SLC20A1, SLC20A2 (NaPi-III, PiT-1, PiT-2) として分類され, 両者は様々な臓器に発現し, 高親和性リン輸送を担っている.

3. 多臓器にわたるリン調節系

血中のリン濃度維持は, 副甲状腺ホルモン (PTH)

や $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (活性型ビタミン D) の調節を受ける. さらに, インスリン, 成長ホルモン, ステロイドホルモンなども, 腎臓, 腸管および骨などに作用して, リン代謝に関与することが知られている (2, 3, 5-8). このうち PTH のリン利尿作用は, 最も古くから研究されている. 一方, 腫瘍性骨軟化症患者の腫瘍で高発現しているリン利尿因子は, フォスファトニンと命名され, その 1 つは FGF23 と考えられている. この他にも, secreted frizzled-related protein-4 (sFRP4), fibroblast growth factor-7 (FGF-7), dentin matrix protein-1 (DMP-1), matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) などのリン利尿作用が報告されている (9). 食事性リンの摂取にตอบสนองして腎臓からのリン利尿を促す, 腸管リン利尿因子の存在や, 肝臓切除に伴う低リン血症においても, 肝臓由来の未知のリン利尿因子の存在が想定されている (図 1).

1) 副甲状腺と腎臓を結ぶリン代謝系 (PTH によるリン利尿作用)

PTH は腎臓に作用し近位尿細管に発現する, ナトリウム依存性リン酸トランスポーター (NaPi-IIa, NaPi-IIc) の発現量を低下させ, 尿中からのリン再吸収を抑制する. つまり PTH はリン利尿因子である. マウスや培養細胞を使った研究において, PTH の作用は短時間で NaPi-IIa をアピカル膜から細胞内へエンドサイトーシスにより細胞内へ取り込ませる. そして NaPi-IIa はラ

図1 リン排泄の腎臓と多臓器による制御

腎臓からのリン排泄は骨, 副甲状腺, 腸管, 肝臓などの多臓器と連関して制御される. 骨 (骨細胞) より, FGF23, 副甲状腺から PTH, 腸管, 肝臓から未同定のフォスファトニンが分泌され, 腎臓に発現する NaPi-IIa/NaPi-IIc 発現を抑制し, 尿中リン排泄を亢進させる.

FGFR: fibroblast growth factor 受容体, NHERF: Na^+/H^+ exchanger regulatory factor, pMAPK: mitogen-activated protein kinase, PTHR1: parathyroid hormone 受容体, FGF23: fibroblast growth factor-23, PTH: parathyroid hormone, NaPi-IIa/NaPi-IIc: 2 型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター.

イソゾームへ移行されることにより速やかに分解されることが分かっている。PTH は Na^+/H^+ exchanger regulatory factor-1 (NHERF-1) をリン酸化することが知られている。NHERF は足場タンパク質のひとつとして働き、NaPi-IIa 複合体を形成する。そして NaPi-IIa をアピカル膜に安定して局在させる働きがある。しかしながら、PTH により NHERF-1 がリン酸化されることにより、この複合体が解離された結果、NaPi-IIa がエンドサイトーシスされ、リン再吸収が低下すると報告されている(10) (図 1)。

2) 骨と腎臓を結ぶリン調節系 (FGF23 によるリン利尿作用)

FGF23 は骨細胞から分泌され、その分泌機序については、未だ不明な点が多い。食事性リン、活性型ビタミン D、PTH、などにより、FGF23 合成や分泌が促進されることが報告されている(11)。また、後述するように、CKD においては、早期から血中 FGF23 濃度の上昇が知られており、GFR (glomerular filtration: 糸球体濾過量) の低下と血中 FGF23 濃度の上昇が逆相関している(12-15)。骨細胞から分泌される FGF23 は、腎近位尿細管におけるリン再吸収能や活性型ビタミン D 合成を抑制する作用を有している。FGF23 によるリン利尿作用には、Klotho (α -Klotho) の役割が必須である。Klotho タンパク質は、おもに遠位尿細管細胞に発現しており、FGF 受容体 (FGFR) と結合し共受容体を形成することで FGF23 のシグナルを細胞内に伝達する(16, 17)。

FGF23 がどのようにして、リン利尿促進やビタミン D 合成抑制を行なうか、未だ明確な結論が得られていない。FGF23 を動物に投与すると、まず腎臓では遠位尿細管にシグナルが伝達される(16)。Klotho や FGFR1 の欠損した動物では、遠位尿細管における FGF23 シグナルが観察されないため、これらの因子は FGF23 シグナル伝達には必須であると予想される(16)。FGF23 のリン利尿促進作用として、遠位尿細管において形成された FGF23/klotho/FGFR1c 複合体からのシグナルは、NaPi-IIa, IIc が局在する近位尿細管に伝達され、その発現を抑制しリン利尿を促進すると想定されている(18) (図 1)。また、NaPi-IIa, IIc の発現抑制には NHERF が関わっているという報告もある(図 1)。FGF23 のリン利尿促進作用およびビタミン D 合成抑制の分子機構は複雑であり、新たな因子の存在も考えられている。

3) 腸管と腎臓を結ぶリン調節系 (腸管フォスファトニンとリン利尿)

食事性リンは、活性型ビタミン D の合成、PTH 分泌

および腎臓再吸収を制御することがわかっている。また高リン食を摂取した場合、血中リン濃度を上昇させることなく速やかに近位尿細管のリン再吸収を低下させ、尿中へリンを排出する。しかしながら、食事性リンに応答する腸管フォスファトニンは未だ同定されておらず、PTH、ビタミン D、成長ホルモン、甲状腺ホルモン、カルシトニン、または FGF23 とは異なる因子であると想定されている(図 1)。いくつかの報告において、腸管細胞が食事のリン含量を感知し腸管フォスファトニンを分泌することを示している。その一つとして、想定される腸管フォスファトニンは、腸と腎臓をつなぐ系によって腎臓 NaPi-IIa, NaPi-IIc 発現量の迅速な調節に関与している可能性がある(19)。Burnts 等は、十二指腸へ 1.2 M のリン酸ナトリウムを注入するとリン排泄量が 20 分以内に著しく増加することを示した(19)。この腸管へのリン負荷応答 (リンセンシング) は、PTH、FGF23、sFRP4 などの血中濃度の上昇を介したのではなく腸管フォスファトニンによる作用であることを示している(19)。つまり、彼らはリンを含む食事を摂取した後、腎臓からのリン排泄効率の変化は腸管からのシグナル、そして腸管フォスファトニンに媒介されることを明らかにした(図 1)。今後この腸管フォスファトニンを同定する研究の進展が期待される。

4) 肝臓と腎を結ぶリン調節系 (肝臓切除による低リン血症)

(1) 肝臓切除を伴う低リン血症

古くより、肝臓がん患者や生体肝移植ドナーで肝臓切除手術を施すと、術後急激に低リン血症を呈することが知られている(20-23)。これらの患者に静脈内投与でリンを補給しても血中リン濃度が改善しないことや、残存肝重量が小さいほど血中リン濃度が低下することも報告されていた(9)。低リン血症が静脈内投与によるリン補充によって改善しない理由は、これらの患者では尿中へのリン排泄が著しく亢進するためである。これらの臨床的な知見から、肝臓切除により何らかのリン利尿因子が生じ、それが腎近位尿細管に作用することでリン排泄亢進を促すと考えられた(20)。一方、肝臓切除患者における血中リン濃度の低下を指標として、既知のリン利尿因子の変動を調べた報告では、PTH、FGF23、sFRP4、FGF-7 などの変化とは一致しないため、肝臓切除に伴う低リン血症の発症原因は、依然不明なままである(23)。

我々のグループは、肝臓切除を伴う低リン血症発症機序を明らかにした(図 1)。まず、肝臓切除 (partial hepatectomy: PH) モデル動物 (PH ラット, PH マウ

ス) を作製して、リン利尿亢進機序を検討した(24)。PH ラットは sham ラットと比較して、術後 12 時間、24 時間後において尿中リン排泄が有意に亢進し、それぞれ約 2 倍、1.5 倍となった。血中リン濃度はそれぞれ、著しく低下していた(24)。既存のリン利尿因子について検討した結果、FGF23 は術後 6 時間で約 6% 有意に低下し、12 時間、24 時間後では約 45% 有意に低下した。PTH は術後 6 時間で一過性に約 3 倍に増加していた。さらに、腎臓においてリン再吸収を担う NaPi-IIa は術後 6 時間、および 12 時間で約 60% まで有意に低下していた。NaPi-IIa、IIc の膜発現量減少に与える PTH の影響を確認するため、甲状腺/副甲状腺摘出ラットを用いて同様の肝臓切除手術を施した。その結果 NaPi-IIa、IIc の膜発現量の減少が確認された(24)。以上より、PTH および FGF23 は肝臓切除を伴う低リン血症発症には関与しないことが明らかとなった。そこでさらに詳細に代謝産物の検討を行った結果、ニコチンアミド (NAM) およびニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD^+) 代謝の大きな変動が認められた。尿中へ NAM および NAM 異化代謝産物である MNA (N^1 -メチルニコチンアミド)、4-Py (N^1 -メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド) が排出された(24) (図 2)。

(2) NAM と NAD^+ 代謝の活性化によるリン利尿促進

PH ラットにおいて、sham ラットと比較して発現が増加していた遺伝子を抽出すると、NAM からの NAD 合成に必要な酵素である Nampt (nicotinamid phosphoribosyltransferase), Kynu (kynureninase), Nmnat (nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase) の遺伝子発現が共に増加していた(24-26)。NAM からの NAD 合成における律速酵素である Nampt の腎臓での遺伝子発現およびタンパク質発現は著しく増加した。 NAD 代謝は、各臓器、各細胞でおこなわれる代謝とは別に、血中に分泌される細胞外型 Nampt (eNampt) を介した全身性の代謝制御系も存在する。 NAD 代謝の活性化モデルとして、ラットへ NAM 投与をおこない、リン代謝へ及ぼす影響が確認された。PH マウスに Nampt 特異的阻害薬である FK866 を投与することで、尿中リン排泄を伴う著しい低リン血症が改善された。よって肝臓切除を伴う低リン血症発症機序は、Nampt の活性化による異常なニコチンアミド代謝の亢進によるものであることが明らかとなった(24)。以上より、肝臓と腎臓を結ぶ新しいリン代謝調節因子は、腎臓内 Nampt の活性化によりニコチンアミド代謝を活性化することで尿中リン排泄を促進する。そしてその因子は、肝臓切除により誘導されるものと予想される (図 1, 図 2)

図2 肝臓と腎臓をつなぐ新たなリン調節系

肝臓から放出される大量のニコチンアミドは腎臓から尿中へ排泄される。腎臓において Nampt の活性化を介したニコチンアミド代謝の亢進は NaPi-IIa、NaPi-IIc 発現を抑制し、尿中リン排泄を促進する。腎臓での Nampt の活性化に肝臓フォスファトニンの関与が示唆される。

NAM: ニコチンアミド, NMN: N^1 -メチルニコチンアミド, 2-Py: N^1 -メチル-2-ピリドン-5-カルボキサミド, 4-Py: N^1 -メチル-4-ピリドン-3-カルボキサミド, Nampt: ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ。

(3, 24). 今後, 本因子を同定することは, 肝臓と腎臓を結ぶ新たなリン代謝調節機構の解明につながるものと考えられる.

4. おわりに

骨と腎臓を結ぶ FGF23/klotho 系の発見により, リン代謝の重要性が再認識され CKD や老化などの様々な病態との関連性が解明されてきた. 一方で, 我々の食生活におけるリン摂取量が, コンビニエンスフードや調理済み加工食品の摂取により増加傾向にあることが懸念されている. 腎機能が低下している慢性腎臓病での過剰なリン摂取は, 病態進行を加速し, 循環器疾患のリスクを増大させる. そのため, リン毒性という概念も生まれてきた. 腎機能が低下した場合には, 多臓器ネットワークを介して速やかに体内から過剰なリンを排泄する必要がある. 今後は, 多臓器連関のみならず, 未だ全く解明されていない細胞内リンシグナル伝達系を含むリン代謝系の全貌を多階層的に把握するための研究が必要と考えられる.

著者の利益相反: 開示すべき利益相反はない.

文 献

- 1) Miyamoto K, et al. J Pharm Sci. 2011;100:3719-3730.
- 2) Berndt T, et al. Physiology (Bethesda). 2009;24:17-25.
- 3) Tatsumi S, et al. J Bone Miner Metab. 2015 In press.
- 4) Block GA, et al. J Am Soc Nephrol. 2004;15:2208-2218.
- 5) Murer H, et al. Physiol Rev. 2000;80:1373-1409.
- 6) Weinman EJ, et al. Exp Cell Res. 2012;318:1027-1032.
- 7) Tenenhouse HS. J Steroid Biochem Mol Biol. 2007;103:572-577.
- 8) Donate-Correa J, et al. Cytokine Growth Factor Rev. 2012;23:37-46.
- 9) Berndt TJ, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2005;289:F1170-F1182.
- 10) Weinman EJ, et al. J Biol Chem. 2010;285:25134-25138.
- 11) Martin A, et al. Physiol Rev. 2012;92:131-155.
- 12) Hallan SI, et al. JAMA. 2012;308:2349-2360.
- 13) Palmer SC, et al. JAMA. 2011;305:1119-1127.
- 14) Isakova T, et al. Kidney Int. 2011;79:1370-1378.
- 15) Wolf M. Kidney Int. 2012;82:737-747.
- 16) Urakawa I, et al. Nature. 2006;444:770-774.
- 17) Kurosu H, et al. J Biol Chem. 2006;281:6120-6123.
- 18) Gattineni J, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2014;306:F351-F358.
- 19) Berndt T, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104:11085-11090.
- 20) Salem RR, et al. Ann Surg. 2005;241:343-348.
- 21) Nafidi O, et al. Ann Surg. 2007;245:1000-1002.
- 22) Lee HW, et al. Surgery. 2008;144:448-453.
- 23) Nafidi O, et al. Ann Surg. 2009;249:824-827.
- 24) Nomura K, et al. J Am Soc Nephrol. 2014;25:761-772.
- 25) Revollo JR, et al. J Biol Chem. 2004;279:50754-50763.
- 26) Garten A, et al. Trends Endocrinol Metab. 2009;20:130-138.