

氏名	しま だ たか し 島 田 孝 志
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	論 薬 博 第 731 号
学位授与の日付	平成 17 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	線維芽細胞増殖因子23は血中のリン酸およびビタミンD <sub>3</sub> 濃度を負に調節するために必須な因子である
論文調査委員	(主 査) 教授 伊藤 信行 教授 辻本 豪三 教授 藤井 信孝

### 論 文 内 容 の 要 旨

健常成人における血中リン酸濃度は、食物からの腸管吸収と腎臓尿細管からの再吸収のバランスにより規定されている。腸管吸収は1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>(1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)により、腎臓再吸収は副甲状腺ホルモン(PTH)により調節されている。一方、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>やPTH以外にも血中リン酸濃度を調節する未知の液性因子“phosphatonin”の存在も指摘されていた。本研究において、申請者はphosphatoninが線維芽細胞増殖因子(FGF)23であることを明らかにするとともに、その生物活性も明らかにした。

#### 第1章 腫瘍性骨軟化症惹起因子としての線維芽細胞増殖因子23の同定

腫瘍性骨軟化症は、低リン酸血症、著しい血中1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>濃度低下、および骨軟化症を呈する全身疾患であり、腫瘍を伴うことが特徴的である。この随伴腫瘍を除去すると全ての病状が寛解することから、腫瘍中より放出される液性因子phosphatoninが本疾患の原因因子であると想定されていた。申請者は罹患患者より摘出した腫瘍中に高発現している遺伝子群をcDNAサブトラクション法によって抽出し、それらの遺伝子産物の生物活性を評価することでphosphatoninの同定を試みた。その結果、腫瘍に高発現する遺伝子としてFGF23が同定され、組換えFGF23蛋白質のマウスへの持続投与により腫瘍性骨軟化症と酷似の表現型質が再現されることが見出された。これらの結果から、FGF23が腫瘍性骨軟化症の惹起因子“phosphatonin”であることが明らかになった。

#### 第2章 FGF23の薬理作用の解析

FGF23の腫瘍性骨軟化症誘導メカニズムを明らかにするため、薬理量の組換えFGF23蛋白質をマウスに一過性に投与し、それに続く経時的な変化を分子生物学的手法にて解析した。その結果、FGF23は腎臓に存在するⅡ型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター(NaPi2a)の蛋白質レベルを著明に低下させ、尿中へのリン酸排泄を促進し、血中リン酸濃度を低下させることが明らかとなった。さらに、FGF23はビタミンD代謝調節における鍵酵素である1α水酸化酵素遺伝子の発現低下と24水酸化酵素遺伝子の発現亢進を迅速に誘導し、血中の1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>濃度を強力に低下させる作用を有することが明らかになった。

#### 第3章 FGF23遺伝子欠損マウスの作成と解析

正常ヒトやマウスの血中においてFGF23が一定レベルで常に存在していることから、FGF23が生理的な役割を担う内分泌ホルモンである可能性が示唆された。そこで申請者はFGF23遺伝子欠損マウスを作成し、FGF23の生理的役割を検討した。FGF23欠損マウスは胎性致死を示さず、出生直後も顕著な異常は認められなかった。しかし、生後2週齢頃より重度の成長障害と骨格形成異常をきたし、短命であった。また、生後10日齢頃より著しい高リン酸血症ならびに高1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>血症を示した。さらに、NaPi2aや1α水酸化酵素遺伝子の発現も亢進していた。以上の結果から、FGF23は正常な骨格形成ならびに生存に必須の因子であり、血中リン酸ならびに1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>濃度を負に制御するために不可欠な生理的因子であることが明らかとなった。

本研究によって、phosphatoninがFGF23であることが明らかとなり、腫瘍性骨軟化症の発症メカニズムが解明された。

また、その後の研究により、タイプの異なる低リン酸血症くる病／骨軟化症においても、血中 FGF23 濃度が異常高値を示し、FGF23 がリン酸代謝異常疾患に共通な原因分子であると認識されるようになった。また、本研究は FGF23 による血中リン酸濃度や  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  濃度の負の制御機構を解明した。さらに、本研究はくる病／骨軟化症など骨ミネラル代謝異常疾患の治療に FGF23 が有望なターゲットとなる可能性を明らかにし、新たな薬剤の開発に大きな手掛かりを与えた。

### 論文審査の結果の要旨

健康成人における血中リン酸濃度は、食物からの腸管吸収と腎臓尿細管からの再吸収のバランスにより規定されている。腸管吸収はビタミン  $\text{D}_3$  により、腎臓再吸収は副甲状腺ホルモンにより調節されている。一方、ビタミン  $\text{D}_3$  や副甲状腺ホルモン以外にも血中リン酸濃度を調節する未知の液性因子“phosphatonin”の存在も指摘されていた。本研究において、申請者は phosphatonin が FGF23 であることを明らかにするとともに、その生物活性を明らかにした。

腫瘍性骨軟化症は低リン酸血症、著しいビタミン  $\text{D}_3$  血中濃度低下、および骨軟化症を呈する全身疾患であり、腫瘍を伴うことが特徴的である。この随伴腫瘍を除去すると全ての病状が寛解することから、腫瘍中より放出される液性因子 phosphatonin が本疾患の原因因子であると想定されていた。申請者は罹患患者より摘出した腫瘍中に高発現している遺伝子群を cDNA サブトラクション法によって抽出し、それらの遺伝子産物の生物活性を評価することで phosphatonin の同定を試みた。その結果、腫瘍に高発現する遺伝子として FGF23 が同定され、組換え FGF23 蛋白質のマウスへの持続投与により腫瘍性骨軟化症と酷似の表現型質が再現されることが見出された。これらの結果から、FGF23 が腫瘍性骨軟化症の惹起因子“phosphatonin”であることが明らかになった。

FGF23 の腫瘍性骨軟化症誘導メカニズムを明らかにするため、薬理量の組換え FGF23 蛋白質をマウスに一過性に投与し、それに続く経時的な変化を分子生物学的手法にて解析した。その結果、FGF23 は腎臓に存在する II 型ナトリウム依存性リン酸トランスポーターの蛋白質レベルを著明に低下させ、尿中へのリン酸排泄を促進し、血中リン酸濃度を低下させることが明らかとなった。さらに、FGF23 はビタミン D 代謝調節における鍵酵素である  $1\alpha$  水酸化酵素遺伝子の発現低下と  $24$  水酸化酵素遺伝子の発現亢進を迅速に誘導し、血中のビタミン  $\text{D}_3$  濃度を強力に低下させる作用を有することが明らかになった。

正常ヒトやマウスの血中において FGF23 が一定レベルで常に存在していることから、FGF23 が生理的な役割を担う内分泌ホルモンである可能性が示唆された。そこで、申請者は FGF23 遺伝子欠損マウスを作成し、FGF23 の生理的役割を検討した。FGF23 欠損マウスは出生直後には顕著な異常は認められなかった。しかし、生後 2 週齢頃より重度の成長障害と骨格形成異常をきたし、短命であった。また、生後 10 日齢頃より著しい高リン酸血症ならびに高ビタミン  $\text{D}_3$  血症を示した。さらに、II 型ナトリウム依存性リン酸トランスポーターや  $1\alpha$  水酸化酵素遺伝子の発現も亢進していた。従って、FGF23 は正常な骨格形成ならびに生存に必須の因子であり、血中リン酸とビタミン  $\text{D}_3$  濃度を負に制御するために不可欠な生理的因子であることが明らかとなった。

以上、本研究は腫瘍性骨軟化症の発症メカニズムが解明するとともに、FGF23 による血中リン酸濃度やビタミン  $\text{D}_3$  濃度の負の制御機構を解明した。さらに、本研究はくる病／骨軟化症などの骨ミネラル代謝異常疾患の治療に FGF23 が有望なターゲットとなる可能性を明らかにし、新たな薬剤の開発に大きな手掛かりを与えた。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成 17 年 8 月 17 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。