

論文内容要旨

報告番号	甲 栄 第 291 号	氏名	YILIMULATI YIMAMU
題 目	25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase (CYP27B1) induces ectopic calcification (25-ヒドロキシビタミンD-1 α -水酸化酵素は異所性石灰化を誘導する)		
<p>慢性腎臓病では、高リン血症による血管などの軟部組織に異所性石灰化を生じ、心血管疾患の発症や死亡リスクの増大を招く。高リン血症による異所性石灰化のメカニズムについては、血管平滑筋において研究が進んでいる。これまでの研究から、高リン血症では、血管平滑筋細胞において骨芽細胞への分化のマスター遺伝子であるrunt-related transcription factor 2 (RUNX2)の発現誘導が生じ、血管平滑筋細胞から骨芽細胞様細胞に分化し、アルカリホスファターゼや骨基質タンパク質であるオステオカルシンやオステオポンチンの発現が増加することで、骨と同様の石灰化を引き起こす。しかしながら、この石灰化誘導機構については、未だ詳細なメカニズムは解明されておらず、根本的な治療法はなく、現在は、リン制限食やリン吸着薬による高リン血症の是正が主たる治療法である。本研究は、著しい高リン血症を招き、異所性石灰化を発症するklotho変異マウスを用いて、異所性石灰化の発症機構の解明に取り組んだ。</p> <p>まず、klotho変異マウスの心臓や大動脈の異所性石灰化部位の免疫組織化学的解析を行ったところ、本来腎臓の近位尿細管に発現する活性型ビタミンD産生の律速酵素である25-ヒドロキシビタミンD-1α-水酸化酵素(CYP27B1)が発現することを見出した。この異所性のCYP27B1発現の増加は、mRNAレベルおよびタンパク質レベルでも確認された。さらに、ウェスタンブロット解析では、異所性石灰化部位に発現するCYP27B1には、分子量の増加が認められ、糖鎖修飾を受けていることを見出した。このklotho変異マウスは、3週齢では石灰化を認めず、その後成長するにつれて石灰化が生じ、6週齢では明確な石灰化像を認めることが知られている。そこで、3週齢と6週齢のklotho変異マウスにおいてCYP27B1の免疫組織化学解析を行ったところ、石灰化を生じる前の3週齢の段階において、既にCYP27B1の発現が増加しており、CYP27B1の発現は石灰化に先行して生じるものであると考えられた。</p> <p>そこで、CYP27B1の異所性石灰化における役割を明らかにするために、培養血管平滑筋細胞を用いて検討を行った。その結果、CYP27B1の過剰発現により高リン負荷時の石灰化が増強されること、siRNAによるCYP27B1の発現抑制により石灰化が低下すること、CYP27B1の糖鎖修飾部位の変異体であるCYP27B1-N310AならびにCYP27B1-T439Aを発現させた場合には、石灰化の誘導が減弱することを見出した。また、CYP27B1の基質となる25-ヒドロキシビタミンDを除去した血清を用いても石灰化は生じたことから、CYP27B1による活性型ビタミンDの産生そのものは異所性石灰化には関係しないと考えられた。</p> <p>これらの結果は、慢性腎臓病などで見られる高リン血症の病態において、糖鎖修飾されたCYP27B1の発現誘導が血管平滑筋などで生じることが、異所性石灰化を引き起こすために重要であることを示すものである。</p>			

報告番号	甲 栄 第 291 号	氏名	YILIMULATI YIMAMU
審査委員	主査 瀬川 博子 副査 酒井 徹 副査 馬渡 一論		
<p> 題目 25-hydroxyvitamin D-1α-hydroxylase (CYP27B1) induces ectopic calcification (25-ヒドロキシビタミンD-1α-水酸化酵素は異所性石灰化を誘導する) </p> <p> 著者 <u>Yilimulati Yimamu</u>, Ayako Ohtani, Yuichiro Takei, Airi Furuichi, Yuki Kamei, Hisami Yamanaka-Okumura, Hirokazu Ohminami, Masashi Masuda, Makoto Miyazaki, Hironori Yamamoto, Yutaka Taketani </p> <p> 令和 4年 2月 14日 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition誌に受理済 </p> <p> 要旨 本研究は、慢性腎臓病などで見られる異所性石灰化の発症機構について、高リン血症を呈し異所性石灰化を発症するklotho変異マウスおよび培養血管平滑筋細胞をモデルとして用い、ビタミンD活性化の律速酵素である25-ヒドロキシビタミンD-1α-水酸化酵素(CYP27B1)の役割を検討したものである。まず、klotho変異マウスの心臓や大動脈の異所性石灰化部位の免疫組織化学的解析を行ったところ、CYP27B1が発現することを見出した。この異所性のCYP27B1発現の増加は、mRNAレベルおよびタンパク質レベルでも確認された。さらに、ウェスタンブロット解析では、異所性石灰化部位に発現するCYP27B1には、分子量の増加が認められ、糖鎖修飾を受けていることを見出した。このklotho変異マウスは、3週齢では石灰化を認めず、その後成長するにつれて石灰化が生じ、6週齢では明確な石灰化像を認めることが知られている。そこで、3週齢と6週齢のklotho変異マウスにおいてCYP27B1の免疫組織化学的解析を行ったところ、石灰化を生じる前の3週齢の段階において、既にCYP27B1の発現が増加しており、CYP27B1の発現は石灰化に先行して生じるものであると考えられた。そこで、CYP27B1の異所性石灰化における役割を明らかにするために、培養血管平滑筋細胞を用いて検討を行った。その結果、CYP27B1の過剰発現により高リン負荷時の石灰化が増強されること、siRNAによるCYP27B1の発現抑制により石灰化が低下すること、CYP27B1の糖鎖修飾部位の変異体であるCYP27B1-N310AならびにCYP27B1-T439Aを発現させた場合には、石灰化の誘導が減弱することを見出した。また、CYP27B1の基質となる25-ヒドロキシビタミンDを除去した血清を用いても石灰化は生じたことから、CYP27B1による活性型ビタミンDの産生そのものは異所性石灰化には関係しないと考えられた。これらの結果は、慢性腎臓病などで見られる高リン血症の病態において、糖鎖修飾されたCYP27B1の発現誘導が血管平滑筋などで生じることが、異所性石灰化を引き起こすために重要であることを示すものである。本研究は、慢性腎臓病における異所性石灰化の発症機序の一端を明らかにしたものであり、今後の栄養療法や治療法の探索に貢献するものであることから、博士(栄養学)の学位授与に値するものと判定した。 </p>			