



リン酸トランスポーターと心血管疾患

はじめに

リンは、生体内で6番目に多い元素であり、カルシウムと共にヒドロキシアパタイトを形成し骨石灰化に関わる。加えて、体内のエネルギー通貨であるATPの高エネルギーリン酸結合の形成や核酸、生体膜リン脂質の構成成分、様々なタンパク質や生体内基質のリン酸化に関わる必須の栄養素でもある。このため、食事からのリン供給や体内のリン需要などの環境変動に適応するために様々な調節因子を介して血清リン酸濃度（正常範囲2.5~4.5 mg/dL (0.8~1.5 mM)）を維持している。リン代謝調節機構の破綻は、低リン血症や高リン血症などの病態を引き起こす。近年の研究によりこれらのリン代謝調節系の分子メカニズムが詳細に解明されると共に、リン代謝調節異常による病態の理解が進んできている¹⁾。

1. リン代謝調節とトランスポーター

血清中では、リンの大部分が無機リン酸（以下リン酸）の形で存在する。血清リン酸濃度は、主に腎臓からの再吸収、消化管からの吸収、および骨やその他の組織との間での移行により調節されている。生体内のリン代謝恒常性維持に最も重要なものは腎臓での再吸収である。腎臓では特に、NaPi-IIa (SLC34A1) および NaPi-IIc (SLC34A3) と呼ばれるナトリウム依存性リン酸トランスポーターが再吸収の律速段階を担う。多くのリン代謝調節ホルモンは、これらのトランスポーターの活性を調節することでリン酸再吸収量を調節し、血清リン酸濃度の恒常性を調節している。一方、小腸では、主に NaPi-IIb (SLC34A2) と呼ばれるナトリウム依存性リン酸トランスポーターが発現しており、食事からのリン酸吸収に寄与している。NaPi-III は、

体内のほぼ全ての組織に発現するナトリウム依存性リン酸トランスポーターであり、PiT-1 (SLC20A1) および PiT-2 (SLC20A2) と呼ばれる二つのアイソフォームが存在する。生体内のリン恒常性維持に関わるリン酸の輸送は主にこれらのトランスポーターを介して行われる。従って、これらのトランスポーターおよびリン代謝恒常性維持調節機構の破綻は、低リン血症や高リン血症などの病態を引き起こす。近年注目されているのは、新たにリン代謝制御因子として同定された線維芽細胞増殖因子 (FGF) 23 である。FGF23 は、血清リン酸濃度あるいは活性型ビタミン D 濃度の上昇に応じて骨から分泌され、老化関連遺伝子産物の一つである *klotho* と共に腎臓でのリン再吸収を強力に抑制するほか、25-ヒドロキシビタミン D_{1α}-水酸化酵素の活性を抑制し、血清リン酸濃度と活性型ビタミン D 濃度を低下させる²⁾。すなわち FGF23 は、血清リン酸濃度調節とビタミン D 活性化のフィードバック制御機構の根幹をなすホルモンの一つでもある。従って、FGF23 の過剰作用は、低リン血症くる病の原因となる^{1,2)}。一方、FGF23 の機能不全型変異やその共役因子である *klotho* の機能不全は、高リン・高ビタミン D 血症を呈する^{3,4)}。FGF23 欠損マウスや *klotho* 変異マウスではいずれも早期老化様病変を有するが、ビタミン D 制限食やリン制限食でその表現型は改善する⁵⁾ことから、高リン血症が動脈硬化などの老化関連疾患の発症に重要であると考えられる。これらのリン代謝調節の詳細については、本誌 68 巻 12 号宮本の総説¹⁾を参考にされたい。

2. 心血管疾患リスク因子としての高リン血症

臨床において高リン血症の多くは慢性腎臓病に伴う高リン血症である。これまでの多くの疫学研究より、末期の腎不全患者では血清リン酸濃度が高くなるほど総死亡リスクおよび心筋梗塞などの心血管疾患発症リスクが増大することが報告されてきた⁶⁾。その詳細な解析から、高リン血症がこれらの独立した危険因子であることが明らかにされてきている。加えて、ごく最近このような血清リン酸濃度と心血管疾患の関係は、腎臓病患者だけでなく健常者においても見られることが複数の研究で報告されるようになった⁷⁾。従って、血清リン酸濃度上昇と心血管疾患発症とをつなぐメカニズムの解明は、心血管疾患の治療や予防法の開発につながる重要な課題である。

3. 血管石灰化におけるリン酸トランスポーターの役割

では、高リン血症はなぜ心血管疾患の発症リスクを高め

ることになるのだろうか？ 現在最も支持されているのは、血清リン酸濃度の増加は、血管平滑筋の石灰化を引き起こし、中膜の石灰化を中心とした動脈硬化を惹起することである。すなわち、細胞外リン酸濃度の増加により血管平滑筋細胞において PiT-1 を介したリン酸の細胞内流入が増加し、cbfa-1 などの骨芽細胞分化促進因子の発現が誘導され、骨関連タンパク質であるオステオポンチンやオステオカルシンなどの発現誘導が起り、骨芽細胞様細胞への分化ならびに石灰化が引き起こされるというものである⁸⁾ (図 1)。

実際に、慢性腎臓病患者では大動脈の中膜石灰化を伴うメンケベルグ型動脈硬化を発症する患者が多く、心血管疾患の発症や総死亡リスクと相関することが示されている⁹⁾。また、早老症の一つであるウェルナー症候群の患者においても好発する異所性石灰化の発症に PiT-1 の発現上昇が関与している¹⁰⁾。従って、PiT-1 を介したリン酸流入が中膜石灰化を伴う動脈硬化や異所性石灰化発症の重要なメカニズムとして位置付けられている。

4. 血管内皮細胞におけるリン酸トランスポーターの役割

一方で、前述のとおり健常人でも血清リン酸濃度の増加が心血管疾患の発症に関与するのであれば、より早期から動脈硬化の発症に影響を及ぼすことが考えられる。我々は、高リン血症がアテローム型動脈硬化の発症過程の初期段階に重要な血管内皮機能障害を惹起する可能性を検討した。

ウシ大動脈由来血管内皮細胞を用いて検討した結果、培養液中のリン酸濃度を 0.9 mM から 2.8 mM まで上昇させると、濃度および時間依存的に活性酸素種 (ROS) の産生が増大すること、および血管弛緩因子である一酸化窒素 (NO) 産生を抑制することを見出した¹¹⁾。さらに、細胞外リン酸濃度の上昇は、在来型プロテインキナーゼ C (cPKC) の活性化を引き起こすことや ROS の産生過程には主に NAD(P)H オキシダーゼが関与すること、NO 産生抑制には PKC を介した内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) の 497 番目のセリン残基のリン酸化が関与することを見出した¹²⁾。活性酸素は NO と反応してより強力な ROS であるペルオキシナイトライト (ONOO⁻) を産生し、単球/マ

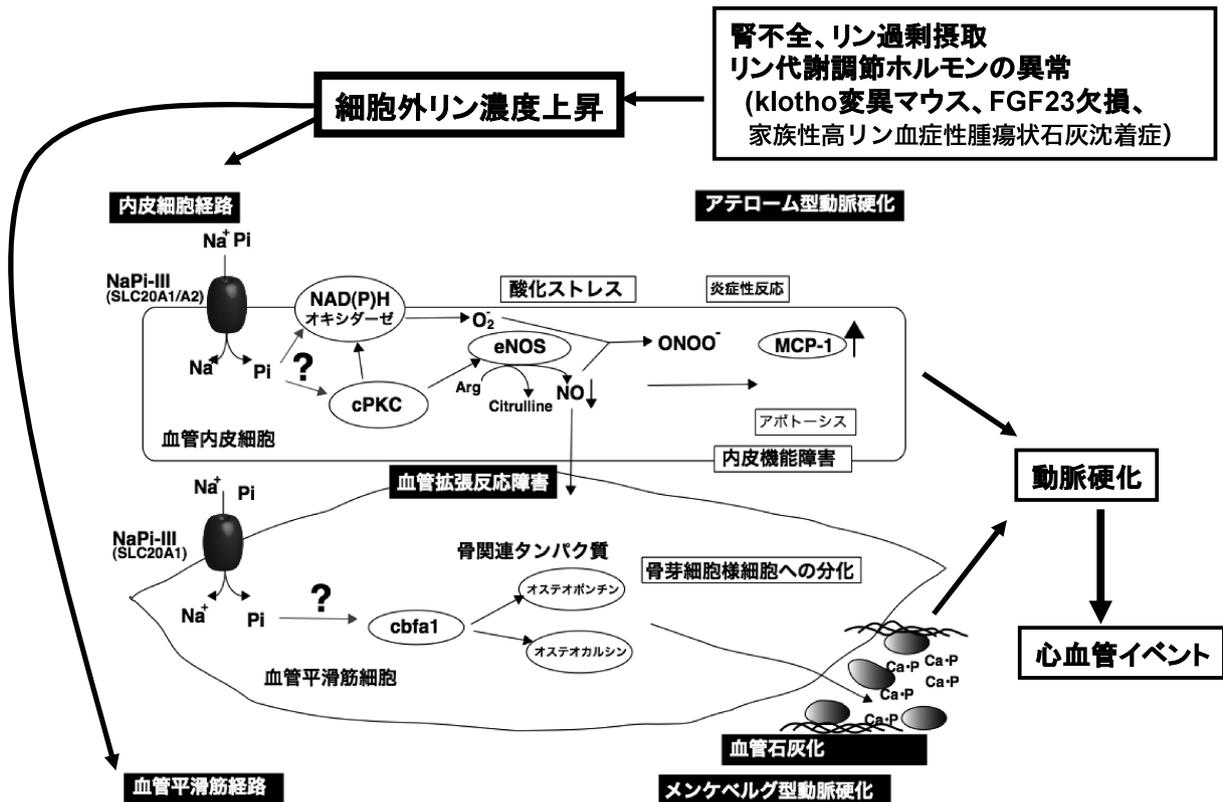


図 1 高リン血症による動脈硬化発症進展におけるナトリウム依存性リン酸トランスポーターの役割

クロファージ走化性促進因子 (MCP-1) などの発現を誘導し炎症性反応を惹起することで動脈硬化促進につながる。一方, eNOS 活性低下と ONOO⁻ の産生により細胞内の有効な NO 量が低下し, 血管内皮の重要な機能である NO 依存性の血管拡張反応が低下する (図 1)。

血管内皮細胞には, 血管平滑筋細胞と同じく NaPi-III である PiT-1 および PiT-2 の発現が認められた。そこで, ナトリウム依存性リン酸トランスポーター特異的阻害剤である phosphonoformic acid (PFA) および PiT-1 と PiT-2 の siRNA を用いてこれらのトランスポーターの活性を抑制した。その結果, 細胞外リン酸濃度の上昇による ROS の産生や PKC の活性化が抑制されることを見出した。また, DiMarco らは, 我々と同様に血管内皮細胞には PiT-1 が発現しており, 細胞外リン酸濃度上昇により細胞内へのリン酸流入が増加し, 酸化ストレスが増大することおよび血管内皮細胞におけるアポトーシスを誘導することを見出している¹³⁾。以上のことから細胞外リン酸濃度の上昇は, NaPi-III を介した細胞内へのリン酸流入の増加を介して細胞内に何らかのシグナルを伝達し, PKC 活性化や ROS 産生増加などを引き起こしていると考えられた。

以上のことから, 血清リン酸濃度の上昇は, 血管平滑筋における異所性石灰化を促進するだけでなく, 酸化ストレスの増大や NO 産生低下, アポトーシスの誘導などを介して血管内皮機能の障害も引き起こす (図 1)。このような内皮機能の障害が慢性腎臓病患者などで見られる心血管疾患発症の初期段階のイベントとなっていると考えられる。また, NaPi-III は, 血管平滑筋の石灰化と血管内皮機能障害の両方に関与することから, 高リン血症と動脈硬化性疾患の発症をつなぐ重要な役割を担っている分子である。

5. おわりに

このようにリンは, 成長や生体機能維持に不可欠の栄養素である一方, 慢性腎臓病患者で見られるように過剰となれば血管機能障害や異所性石灰化などカルシウム・リン代謝異常や老化関連疾患と密接に関係することが明らかとなってきた。しかしながら, 未だに細胞内へのリン酸流入量の増大が細胞内シグナルを活性化するメカニズムは解明されていない。ATP 合成やエネルギー代謝とも密接な関係にあるリン酸のもつシグナル機能の解明は, 骨ミネラル代謝疾患や心血管疾患発症のメカニズム解明だけでなく, 器官形成や様々な栄養素代謝とリンとの新たな関係を切り開くものと期待される。

- 1) 宮本賢一 (2006) 生化学, 78, 1131-1140.
- 2) Fukumoto, S. (2008) *Intern. Med.*, 47, 337-343.
- 3) Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Kaname, T., Kume, E., Iwasaki, H., Iida, A., Shiraki-Iida, T., Nishikawa, S., Nagai, R., & Nabeshima, Y.I. (1997) *Nature*, 390, 45-51.
- 4) Shimada, T., Kakitani, M., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Takeuchi, Y., Fujita, T., Fukumoto, S., Tomizuka, K., & Yamashita, T. (2004) *J. Clin. Invest.*, 113, 561-568.
- 5) Stubbs, J.R., Liu, S., Tang, W., Zhou, J., Wang, Y., Yao, X., & Quarles, L.D. (2007) *J. Am. Soc. Nephrol.*, 18, 2116-2124.
- 6) Ganesh, S.K., Stack, A.G., Levin, N.W., Hulbert-Shearon, T., & Port, F.K. (2001) *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12, 2131-2138.
- 7) Kanbay, M., Goldsmith, D., Akcay, A., & Covic, A. (2009) *Blood Purif.*, 27, 220-230.
- 8) Jono, S., McKee, M.D., Murry, C.E., Shioi, A., Nishizawa, Y., Mori, K., Morii, H., & Giachelli, C.M. (2000) *Circ. Res.*, 87, e10-e17.
- 9) Block, G.A., Klassen, P.S., Lazarus, J.M., Ofsthun, N., Lowrie, E.G., & Chertow, G.M. (2004) *J. Am. Soc. Nephrol.*, 15, 2208-2218.
- 10) Honjo, S., Yokote, K., Fujimoto, M., Takemoto, M., Kobayashi, K., Maezawa, Y., Shimoyama, T., Satoh, S., Koshizaka, M., Takeda, A., Irisuna, H., & Saito, Y. (2008) *Rejuvenat. Res.*, 11, 809-819.
- 11) Takeda, E., Taketani, Y., Nashiki, K., Nomoto, M., Shuto, E., Sawada, N., Yamamoto, H., & Isshiki, M. (2006) *Adv. Enz. Regul.*, 46, 154-161.
- 12) Shuto, M., Taketani, Y., Tanaka, R., Harada, N., Isshiki, M., Sato, M., Nashiki, K., Amo, K., Yamamoto, H., Higashi, Y., Nakaya, Y., & Takeda, E. (2009) *J. Am. Soc. Nephrol.*, 20, 1504-1512.
- 13) DiMarco, G.S., Hausberg, M., Hillebrand, U., Rustemeyer, P., Wittkowski, W., Lang, D., & Pavenstädt, H. (2008) *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 294, F1381-F1387.

竹谷 豊

(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・臨床栄養学分野)

Sodium-dependent phosphate transporters and cardiovascular disease

Yutaka Taketani (Department of Clinical Nutrition, Institute of Health Biosciences, University of Tokushima Graduate School, 3-18-15 Kuramoto-cho, Tokushima 770-8503, Japan)