

Klotho・Na⁺/K⁺ ATPase 複合体が制御する生体応答システムの研究

The study on the bio-response system regulated by Klotho・Na⁺/K⁺ ATPase complex

鍋島 陽一 (Yo-ichi Nabeshima)

京都大学・大学院医学研究科・教授



研究の概要

α -Klotho は Na⁺,K⁺-ATPase と結合しており、細胞外カルシウムの低下に伴い、Na⁺,K⁺-ATPase を細胞膜への移動を制御する。その制御を介してカルシウムの輸送（腎臓遠位尿細管、脳の脈絡膜）、PTH の分泌が誘導される。また、 α -Klotho、FGF23、1,25(OH)₂D の相互作用、フィードバックシステムからなるカルシウム、リン代謝の全体像を明らかにした。更に α -klotho 高発現患者の解析によりヒトでも α -klotho はカルシウム代謝を統合する因子であることを証明した。これらを総合してカルシウム恒常性制御機構の新たなコンセプトを提案した。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード： α -Klotho, Na⁺,K⁺-ATPase, 生体恒常性、カルシウム、早期老化、FGF23

1. 研究開始当初の背景・動機

多彩な早期老化症状によく似た変異表現型をもつマウスを発見し、その原因遺伝子 α -klotho を同定したことから、その原因遺伝子の機能解明を進めた。

2. 研究の目的

α -Klotho/Na⁺,K⁺ ATPase 複合体が生体の恒常性維持機構においてどのような役割をどのような仕組みで担っているかを明らかにすることを目的として以下の研究を進めた。

(1) 細胞外のどのような変化を認識し、応答するか、(2) 細胞外の変化を認識する分子は何か、(3) FGF23 シグナル伝達における α -Klotho の役割とその分子機構、(4) 細胞外の変化を Klotho/Na⁺,K⁺ ATPase 複合体に伝えるシグナル伝達機構 (5) シグナルを受け取った後に Klotho/Na⁺,K⁺ ATPase 複合体を細胞表面へリクルートする仕組みの解明

(6) Na⁺,K⁺ ATPase の機能変化を介して電解質バランスやPTHなどのホルモン分泌を制御する仕組み (7) ヒト α -Klotho 機能異常症と生体応答能の破綻の解析

3. 研究の方法

(1) 脈絡膜を用いて Na⁺/K⁺ ATPase の細胞表面量、Na⁺/K⁺ ATPase 活性を測定する系を開発し、どのような細胞外の変化が活性制御に関わるかを解析した。また、 α -Klotho の分泌が連動しているかを解析した。

(2) α -Klotho・Na⁺/K⁺ ATPase 複合体の細

胞表面への移動を制御できる in vitro システムを開発して、分子機構を解析した。

(3) ヒト α -Klotho の異常についての解析、血清 α -Klotho 測定系を開発した。

(4) α -Klotho と FGF23、FGFR との結合、動物個体における FGF23 シグナル伝達の解析等を進めた。

4. これまでの成果

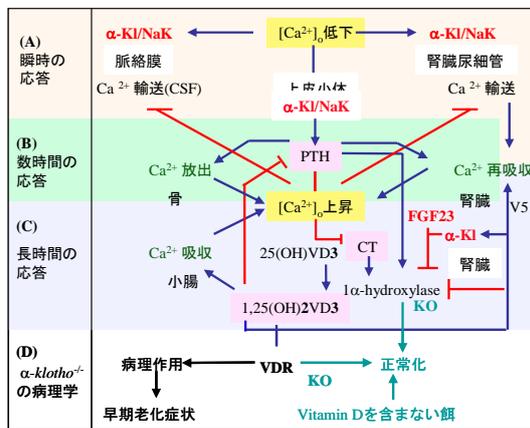
α -Klotho は PTH の分泌制御、ビタミン D の合成制御、脳脊髄液へのカルシウムの輸送、腎臓におけるカルシウムの再吸収制御を担っており、カルシウム代謝の中心的な制御分子である事が本研究により明らかとなった。

α -Klotho は腎臓、上皮小体、脈絡膜において Na⁺,K⁺ATPase と結合しており、細胞外カルシウム濃度の低下に素早く応答して Na⁺,K⁺ATPase の細胞表面へのリクルートが誘導され、Na⁺,K⁺ATPase の機能が亢進した。この応答は α -Klotho に依存していた。また、Na⁺,K⁺ATPase の細胞表面へのリクルートと α -Klotho 蛋白の分泌が同時に起こり、関連していた。さらに、 α -Klotho・Na⁺,K⁺ATPase 複合体は ER,Golgi 体で観察され、Endosome 分面に蓄積していた。これらの事実は細胞外のカルシウム濃度の低下を細胞表面のセンサー分子が感知し、そのシグナルが Na⁺,K⁺ATPase の細胞表面への移動と α -Klotho の分泌を引き起こすことを強く示唆している。

α -Klotho 蛋白は Na^+, K^+ -ATPase の細胞表面へのリクルートの制御を介して腎臓でのカルシウムの再吸収、脳脊髄液へのカルシウムの輸送、PTHの分泌を制御しており、 α -Klotho はカルシウム濃度の低下にすばやく応答してカルシウム濃度の上昇をもたらす引き金を引く。次いで、増加したカルシウムは Na^+, K^+ -ATPase の細胞表面へのリクルートを低下させ、腎臓でのカルシウムの再吸収、脳脊髄液へのカルシウムの輸送、PTHの分泌を抑制する。一方、 α -Klotho 蛋白は FGF23 による 1α -hydroxylase の発現抑制を促進し、ビタミンD合成を負に制御する新たな調節回路の因子として機能している。更に分泌型 α -Klotho と FGF 受容体の結合や FGF23 との結合、フィードバック機構を解析した。

5. これまでの進捗状況と今後の計画

α -Klotho 結合分子の機能解明が進み、概ね予定通りに進んだ。また、in vitro 解析系もでき、カルシウムの輸送制御、細胞外カルシウムの濃度の低下を認識する分子の解析、 α -Klotho/ $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ 複合体のトラフィック制御機構を進める。また、FGF23 と α -Klotho の相互作用についての新たな知見が得られており、詳細な機構を解析する。さらに細胞外に分泌される Klotho を分離精製する方法を開発できたので、結合分子の解析を含めてその機能を解析する。(下図に全体像を示す)



カルシウムホメオスタシスにおける α -Klotho の機能変異表現系の主要な要因

6. これまでの発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Brownstein CA, Adler F, Nelson-Williams C, Iijima J, Li P, Imura A, **Nabeshima Y**, Reyes-Mugica M, Carpenter TO, Lifton RP. A translocation causing increased α -klotho level results in hypophosphatemic

rickets and hyperparathyroidism. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, 105(9); 3455-3460 (2008)

2. **Nabeshima Y**, Imura H. α -Klotho: a regulator that integrate calcium homeostasis. **Am. J. Nephrology (Review)** Am. J. Nephrol. 28(3) 455-464 (2007)

3. Tanaka T, **Nabeshima Y**. Preview: Nampt/PBEF/visfatin: A new player in b cell physiology and in metabolic disease? **Cell Metabolism (Preview)** 6, 341-343 (2007)

4. Imura A, Tsuji Y, Murata M, Maeda R, Kubota K, Iwano A, Obuse C, Togashi K, Tominaga M, Kita N, Tomiyama K, Iijima J, Nabeshima Y, Fujioka M, Asato R, Tanaka S, Kojima K, Ito J, Nozaki K, Hashimoto N, Ito T, Nishio T, Uchiyama T, Fujimori T, **Nabeshima Y**. α -Klotho as a regulator of Calcium homeostasis. **Science** 316, 1615-1618 (2007)

5. Sato A, Hirai T, Imura A, Kita A, Iwano A, Muro S, **Nabeshima Y**, Suki B, Mishima M. Morphological mechanism of the development of pulmonary emphysema in klotho mice. **Proc Natl Acad Sci USA** 104(7), 2331-2336 (2007)

6. Toyama R, Nabeshima Y, Tsuji Y, Fujimori T, **Nabeshima Y**. Impaired regulation of gonadotropin-releasing hormone leads to the atrophy of the female reproductive system in klotho-deficient mice. **Endocrinology** 147(1), 120-129 (2006)

7. **Nabeshima Y**. Toward a better understanding of Klotho. **Sci. Aging Knowledge Evolution**. pe11 PMID: 16672727 (2006)

8. Segawa H, Yamanaka S, Ohno Y, Onitsuka A, Shiozawa K, Aranami F, Furutani J, Tomoe Y, Ito M, Kuwahata M, Tatsumi S, Imura A, **Nabeshima Y**, Miyamoto KI. Correlation between hyperphosphatemia and type II Na/Pi cotransporter activity in klotho mice. **Am J Physiol Renal Physiol**. 292(2), F769-779 (2006)

9. Ito S, Fujimori T, Furuya A., Satoh J., Nabeshima Y., **Nabeshima Y**. Impaired negative feedback suppression of bile acid synthesis in micelacking β Klotho. **J. Clin. Invest.** 115, 2202-2208 (2005)

受賞

武田医学賞 2007年度

上原賞 2005年度

ホームページ等

<http://lsls.med.kyoto-u.ac.jp>