

## 公募助成「CKD（慢性腎臓病）病態研究助成」研究サマリー

研究名	CKD-MBD リン代謝調節機構の破綻による異所性石灰化が認知機能低下に及ぼす影響
所属機関	徳島大学大学院 医歯薬学研究部 応用栄養学分野
氏名	塩崎 雄治
<p>慢性腎臓病（CKD）患者ではリン・カルシウム代謝調節機構が破綻し、高リン血症に加えて血中副甲状腺ホルモン濃度および血中 Fibroblast growth factor-23 濃度の上昇が見られ、結果として血管の異所性石灰化から心血管疾患による死亡リスクが増大する。近年、CKD 患者では年齢に関わらず、腎機能正常者と比較して軽度の認知障害（Mild Cognitive Impairment: MCI）の頻度が高まることについて報告されており、加齢や心血管疾患が関与する可能性が示唆されている。しかしながら MCI 発症機構に高リン血症が関与するかについては分かっていない。脳の脈絡叢上皮細胞に発現する Xenotropic and polytropic retrovirus receptor 1 (XPR1) は脳室内外にリン酸を輸送する働きを持ち、XPR1 遺伝子変異を持つ患者では脳室内リン濃度が高まることで大脳基底核石灰化が起り運動機能障害を呈することが示唆されている。また、Xpr1 は血管石灰化を抑制することが報告されており、CKD-MBD 患者で脳動脈の石灰化が生じる場合、脳への悪影響から MCI の進展を促進する可能性が予想される。我々は XPR1 が高リン血症時に脳室内および血管異所性石灰化への防御的な役割によって脳への CKD-MBD の負荷を軽減し MCI 発症を抑制すると仮説を立て、CKD-MBD マウスモデルにおける認知機能への影響および上皮培養細胞系での Xpr1 のリン酸透過性への役割を解析することを目的とした。まずはマウス CKD-MBD モデルの確立を試みた。当初はアデニン投与マウスの使用を想定したが高リン血症が一過性であることから、イムノトキシン LMB2 投与後に糸球体障害を誘発できる NEP25 Tg マウス（ポドサイトにヒト CD25 を発現）を用いた。NEP25 Tg マウスに LMB2 を投与し、有機リン主体の MF 食で飼育したところ、野生型マウスと比較して 6 から 10 mg/dL と血中リン濃度が増加する一方で血管石灰化が観察できなかった。続いては、無機リン酸主体の CP 食で LMB2 投与 NEP25 Tg マウスを飼育したところ、血中リン濃度が 20 mg/dL とより高値まで増加したが血管石灰化は生じなかった。しかしながら、高リン血症亢進から血管への悪影響が予測された。また、培養細胞モデルで XPR1 ノックアウト (KO) 上皮細胞株を樹立するため、近位尿細管細胞株を用いて Cas9 タンパク質、XPR1 に対する single guide RNA、赤色蛍光タンパク質 tdTomato を共発現するプラスミドを一過性発現し、セルソーターによってシングルセルを分取したところ、XPR1 をフレームシフト変異により機能欠損する細胞株を得ることができ、また Xpr1 KO 細胞で上皮シート形成の遅れが確認された。以上より、本研究から高リン血症を伴う CKD マウスモデルの作製と、XPR1 KO 細胞株の樹立手法が定まった。今後は NEP25 マウス CP 食飼育群血管を ex vivo で培養し無機リン酸誘導性石灰化の検討および、行動解析によるマウス認知機能評価が課題である。また、脳脈絡叢上皮細胞株で XPR1 KO 細胞を作製しリン透過性の解析が必要である。</p>	