

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	骨特異的誘導型 Klotho 過剰発現マウスを用いた FGF23 分泌調節機構の解明
所 属 機 関	東海大学医学部
氏 名	駒場 大峰
FGF23 は骨細胞から分泌される液性因子であり、リンやビタミン D 代謝を介して、CKD-MBD の発症・進展に重要な役割を果たす。しかし、その分泌調節機構は未解明な点が多い。これまでに、リン、カルシウム、PTH、活性型ビタミン D、および骨細胞に発現する FGF 受容体が FGF23 分泌に関与することが示されている。申請者は米国留学中、骨に微量に発現する Klotho が骨形成や FGF23 分泌に影響する可能性を示した。帰国後、申請者は CAG-loxP-STOP-loxP-Klotho を ROSA26 に導入した Klotho-loxP マウスと、骨芽細胞特異的 Cre を持つ Colla1-Cre マウスを交配し、骨特異的 Klotho 過剰発現マウスを作出した。このマウスでは FGF23 が顕著に亢進し、骨に発現する Klotho が FGF 受容体と共に FGF23 の共受容体を形成し、自己産生を促進する正のフィードバック機構が示唆された (Komaba H et al. ASN Kidney Week 2023)。 しかし、このマウスは出生後数日で死亡するため、長期的な影響の検討が困難だった。そこで本研究では、成長後に骨特異的 Klotho 過剰発現を誘導するため、タモキシフェン誘導型 CreER システムを導入した。具体的には、Klotho-loxP ホモと Colla1-CreER-DsRed ヘテロを交配し、新たなマウスを作製した。理論上、この交配から生まれるマウスの半数は誘導可能な個体となるが、4 週齢時の genotyping ではすべてが WT であり、改変マウスが得られなかった。出生直後に再度確認したところ、期待通り改変マウスが含まれていたが、大半が生後 3 日以内に死亡していた。 解析の結果、タモキシフェン未投与でも CreERT2 による組換えが既に生じており、骨での Klotho 過剰発現と FGF23 の異常高値が確認された。これにより重篤なミネラル代謝異常が生じ、致死となったと考えられる。この表現型は非誘導型 Cre モデル (Komaba H et al. ASN Kidney Week 2023) と類似しており、CreERT2 システムにおける「リーク現象」が関与していると示唆された。リーク現象とは、タモキシフェン非投与でも CreERT2 が核内に移行し、組換えが起こる現象であり、近年報告が増えている。CreERT2 タンパク質の構造が温度、ストレス、遺伝的背景や環境因子に影響されることが原因とされる。 本研究ではこのリークにより、出生早期から Klotho 過剰発現と FGF23 異常産生が生じ、多くのマウスが致死となった。これにより形態解析や FGF 受容体阻害薬の介入など計画していた実験が実施できなかった。今後は、より正確な時期制御が可能な Cre システムや、リークを抑制する新技術の導入が求められる。	