

維持透析患者におけるリン添加物摂取に関する基礎的研究

瀬川博子

徳島大学大学院医歯薬学研究部・分子栄養学分野

key words：リン添加物，腸管，アルカリホスファターゼ

要 旨

高リン血症などのリン代謝障害は、透析患者における副甲状腺機能亢進症、骨障害および心血管系障害の発症を誘起し、患者の生命予後をも規定する重要な因子となる。我々が食事から摂取するリンは主に蛋白質食品または食品添加物に由来し、特に食品添加物に含まれるリン酸化合物は、生体内で様々な影響を及ぼす可能性が示唆されている。心肥大や異所性石灰化を誘発する原因が、リン化合物自身の独自の効果であるか、または遊離された無機リンの効果なのか、腸管リン酸分解酵素 Akp3 に注目して検討を行った。Akp3 KO マウスの解析より腸管リン代謝機構に影響を及ぼすことが示唆された。リン添加物であるトリリン酸塩を過剰に添加した餌をマウスに長期摂取させた場合、同量のリン含量を含むモノリン酸塩添加食と比較して、腎の線維化および石灰化進行に悪影響を引き起こすことが明らかとなった。また Akp3 KO 腎不全モデルマウスを用いた検討より、Akp3 の欠損が腎不全の進行を緩やかにすることが明らかとなった。

以上の結果は、蛋白質摂取に関するリン情報（形態）を正確に把握する必要性や、加工食品の危険性に関する基礎的な情報につながる。

1 目 的

維持透析患者では高率に栄養障害が見られることが多く、これらの合併症は患者の生命予後と密接に関係することが知られている。また、高リン血症などのリ

ン代謝障害は、透析患者における副甲状腺機能亢進症、骨障害および心血管系障害の発症を誘起し、患者の生命予後をも規定する重要な因子となる。

我々が食事から摂取するリンは、主に蛋白質食品または食品添加物に由来し、これは維持透析患者において体内リンバランスを決定する重要な因子である。特に食品添加物に含まれるリン酸化合物は、蛋白質性食品の有機リン酸に比べて吸収率が高く、生体内で様々な影響を及ぼす可能性が示唆されている。心肥大や異所性石灰化を誘発する原因が、リン化合物自身の独自の効果、あるいは、遊離された無機リンの効果なのか明らかにはされていない。本研究では、日常摂取する食事に含まれるリン添加物の影響について検討した。

2 方 法

動物実験は徳島大学動物実験委員会の許可の下、徳島大学動物実験指針に従って行った。

Akp3 ノックアウトマウス (Akp3^{-/-}) は、Akp3 ヘテロマウス (Akp3^{+/-}) を交配し、野生型 (Akp3^{+/+}) および Akp3^{-/-} マウスを得た。実験には 8 週齢 (グループ 1~4) または 13~14 週齢 (グループ 5) の Akp3^{+/+} マウス⁺ と Akp3^{-/-} マウスのオスを用いた。マウスはプラスチックケージ内で、高温高湿の飼育部屋で、明暗サイクル (8:00~20:00) のもと、飼育した。実験開始までは動物実験用飼料 CE-2 (CREA, Tokyo, Japan) と蒸留水の自由摂取で飼育した。

試験餌は、AIN93G 変型食を基本として以下の 5 群を作製しマウスに 5 週間摂餌させた。

グループ1 低リン食群; LP (Pi: 0.02%, Ca: 0.6%)
 グループ2 コントロール食群; CP (Pi: 0.6%, Ca: 0.6%)
 グループ3 高リン食群1; HP1 (モノリン酸群; Pi: 1.2%, Ca: 0.6%; KH₂PO₄をリン源とした)
 グループ4 高リン食群2; HP2 (トリリン酸群; Pi: 1.2%, Ca: 0.6%; K₅O₁₀P₃をリン源とした)
 グループ5 腎不全モデルマウス群; アデニン誘発性腎障害モデルマウスを作製するため, 約13~14週齢のマウスにアデニン0.2%含有食を自由摂食させ, 8週間後に解剖を行った。

3 結果および考察

Akp3 KO マウスは, 野生型マウスと比較して, 活性型ビタミンD濃度の有為な上昇以外に, リンおよびカルシウム代謝関連因子の生化学データに異常は認められなかった。しかしながら血中リン濃度, 尿中および糞中リン排泄量に違いは認められなかったものの, Akp3 KO マウスの腸管リン経細胞吸収の有為な低下が認められた。Akp3欠損により腸管リン代謝機構に

影響を及ぼすことが示唆された。

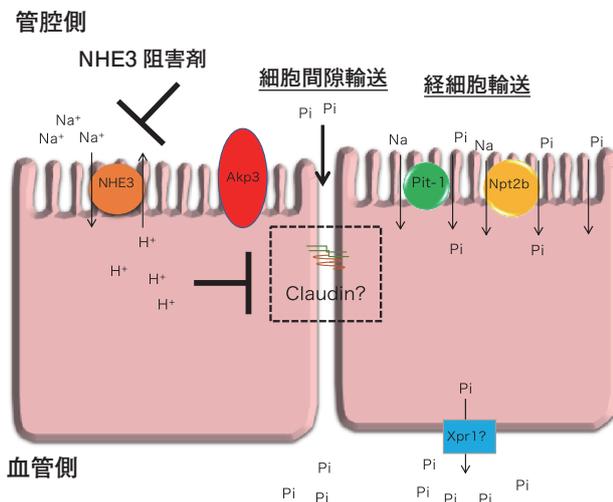
野生型マウスに試験餌を5週間摂餌させたところ, HP1群およびHP2群で血中リン濃度, 尿中リン排泄量, 血中FGF23濃度に有為な差は認められなかったが, 血中PTH濃度において, HP1群と比較してHP2群で有為な上昇が認められた。また多臓器の炎症マーカーに関して, 他の群と比較して高リン食群で有為な上昇が確認されたが, HP1群およびHP2群間の有為な差はみとめられなかった。しかしながら, 腎臓および心臓における線維化の進行および腎の石灰化が, HP1群と比較して, HP2群において有為な進行が認められた。よってトリリン酸は, モノリン酸と比較して生体に悪影響を及ぼすことが示唆された。

野生型マウスと比較して, Akp3 KO マウスは, アデニン誘導腎不全の進行自体も緩やかであり, トリリン酸による影響も緩やかであった。Akp3欠損は, 腎不全による影響を緩和することが示唆された。

4 結論

本研究において, 腸管リン酸分解酵素 Akp3 の KO マウスを解析した結果, 腸管リン代謝に影響を与える

a) 野生型マウス



b) Akp3KO マウス

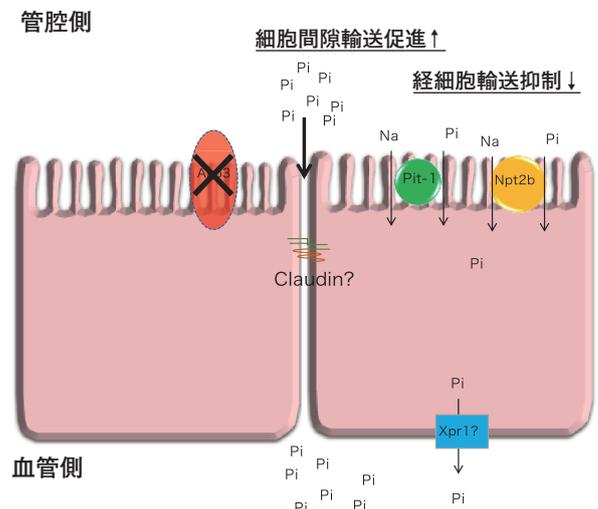


図1 腸管リン吸収機構

(a) 野生型マウスにおけるリン吸収機構, 腸管リン吸収機構は, トランスポーターを介する経細胞輸送と濃度勾配に従う細胞間隙輸送が存在する。経細胞輸送を担うトランスポーターは, SLC20A1/Pit1, SLC20A2/Pit2 および SLC34A2/NaPi2b が管腔側に局在する¹⁾。リンを排出するトランスポーター SLC53A1/Xpr1 が同定されたが, その局在は明らかにされていない²⁾。ナトリウム/プロトンエキスチェンジャー3 (NHE3) を阻害剤により細胞内の H⁺ 濃度が上昇し細胞間隙 Pi 輸送が抑制される³⁾。(b) Akp3KO マウスは, 腸管リン経細胞吸収の有為な低下が認められたが, 血中リン濃度およびリン排泄に影響を与えなかったことより, リン吸収の主要経路と考えられている細胞間隙輸送による代償作用に影響を与えることが考えられた。

ことが明らかとなった。特に今回の検討では、腸管経細胞リン吸収を低下させることが明らかとなったが、血中リン濃度およびリン排泄に影響を与えなかったことより、リン吸収の主要経路と考えられている細胞間隙輸送による代償作用に影響を与えることが考えられた。

腸管リン吸収機構は、トランスポーターを介する経細胞輸送と濃度勾配に従う細胞間隙輸送が存在する(図1)。経細胞輸送を担うトランスポーターは、SLC20A1/PiT1, SLC20A2/PiT2 および SLC34A2/NaPi2b が管腔側に局在することが明らかとなっている。近年リンを排出するトランスポーター SLC53A1/Xpr1 が同定されたが、その局在は明らかにされていない^{2,4)}。また細胞間隙輸送機構の詳細は明らかではないが、ナトリウム/プロトンエキスチェンジャー3 (NHE3) を阻害することで、細胞内の H⁺ 濃度上昇により細胞間隙 Pi 輸送を抑制することが報告されている。この機構には、タイトジャンクションを構成する claudin が関与すると考えられているが、詳細は明らかではない^{3,5)}。図1に腸管リン吸収機構と Akp3KO マウスの腸管に及ぼす表現型をまとめた。しかしながら、現在リンの細胞間隙輸送メカニズムはその詳細が明らかとなっていないことより、本マウスをその解明に利用できる可能性がある。

腸管ではモノリン酸の形態で吸収されると考えられている。本研究では、モノリン酸およびトリリン酸をリン源とした餌では、血中リン濃度、リン排泄に違いはないが、腎や心臓の線維化に関してトリリン酸での悪影響が認められた。このことより、腸管におけるリンの形態を感知する機構の存在が示唆される。上記結果には示していないが、腸管 Akp3 発現にモノリン酸餌とトリリン酸餌で違いが認められている。このことより、Akp3 は腸管でのリンの形態感知に関与する可能性が示唆された。

Akp3KO 腎不全モデルマウスの結果より、Akp3 の抑制は腎不全の進行抑制に寄与する可能性が示唆された。

以上より、本研究の結果は、日本人維持透析患者における栄養障害や PEW の進展を考慮した場合には、蛋白質摂取に関するリン情報(形態)を正確に把握する必要性や、加工食品の危険性に関する基礎的な情報を提示する事に貢献すると考えられた。

平成28年度日本透析医会公募助成により得られた成果の一部を原著論文として投稿中である。よって二重投稿となることを避け、本報告書ではその概要を総説的に記載した。

利益相反について

著者は本研究に関して開示すべき COI はありません。

文 献

- 1) Segawa H, Sasaki S, Mukai T, et al. : The roles of intestinal and renal sodium dependent phosphate transporters in phosphate homeostasis. Clin Calcium 2012; 22 : 1469-1476.
- 2) Giovannini D, Touhami J, Charnet P, et al. : Inorganic phosphate export by the retrovirus receptor XPR1 in metazoans. Cell Rep 2013; 3 : 1866-1873.
- 3) King AJ, Siegel M, He Y, et al. : Inhibition of sodium/hydrogen exchanger 3 in the gastrointestinal tract by tenapanor reduces paracellular phosphate permeability. Sci Transl Med 2018; 10.
- 4) Ansermet C, Moor MB, Centeno G, et al. : Renal Fanconi Syndrome and Hypophosphatemic Rickets in the Absence of Xenotropic and Polytopic Retroviral Receptor in the Nephron. J Am Soc Nephrol 2017; 28 : 1073-1078.
- 5) Labonte ED, Carreras CW, Leadbetter MR, et al. : Gastrointestinal Inhibition of Sodium-Hydrogen Exchanger 3 Reduces Phosphorus Absorption and Protects against Vascular Calcification in CKD. J Am Soc Nephrol 2015; 26 : 1138-1149.