

血中リン濃度調節機構と日内リズム形成

辰巳佐和子*1 瀬川博子*2 宮本賢一*3

*1 滋賀県立大学大学院人間文化科学研究科臨床栄養学研究室 *2 徳島大学大学院医歯薬学研究部応用栄養学分野

*3 龍谷大学農学部食品栄養学科

key words : リン酸, 腎臓, 日内リズム, NAD, ノックアウトマウス

要旨

血中リン濃度は、主に腸管吸収、骨代謝（骨形成・吸収）、腎臓における排泄と再吸収、肝臓、筋肉といった軟組織への組織移行により維持される。血中リン濃度は日内リズムを形成し、その形成機序は早朝空腹時のリン濃度を規定する重要な要因と考えられている。慢性腎臓病（CKD）では非常に早期よりリン代謝異常が生じている。CKDや維持透析患者の死亡リスクは、早朝空腹時の血中リン濃度と相関することが知られている。最近、Nampt (nicotinamide phosphoribosyl transferase)/NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) 系が、ナトリウム依存性リン輸送体である NaPi-IIa (Npt2a), NaPi-IIc (Npt2c), NaPi-IIb (Npt2b) の発現量を調節し、腎臓リン排泄、腸管リン吸収を調節することで、血中リン濃度の日内リズム形成に関わることが明らかにされた。実際に、Namptヘテロ欠損マウスでは、血中リン濃度の日内リズムは消失する。また肝臓特異的 Nampt欠損マウスでは、異常な日内リズム形成を示すことから、リンの組織移行にも関与する可能性が示唆されている。生体におけるリン代謝調節とその日内リズム形成のさらなる理解は、CKDや維持透析患者のリン管理において重要である。

はじめに

血中リン濃度は、腎臓と多臓器（副甲状腺、骨、肝臓、腸管など）との相互連関により調節されている。その中心は、腎臓からのリン排泄であり、副甲状腺か

ら分泌される副甲状腺ホルモン（PTH）や骨細胞からの線維芽細胞増殖因子 23（FGF23, fibroblast growth factor 23）などが関与している。GFRの低下は、単位ネフロン当りにおけるリン排泄亢進をもたらし、リン利尿因子の血中濃度上昇をもたらされる。慢性腎臓病（chronic kidney disease; CKD）患者では、尿細管における Klotho 蛋白の減少などに伴い、代償性に FGF23 や、活性型ビタミン D の合成抑制により PTH が上昇することで単位ネフロン当たりのリン排泄量が増加する。一方で、血中リン濃度は、顕著な日内リズムを有し、これらは肝臓や筋肉などの軟部組織へのリンの移行によるものと考えられており、インスリンや Nampt (nicotinamide phosphoribosyl transferase)/NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) 代謝などとの関係が示唆されている。

本稿ではリン代謝を中心に、日内リズム形成との関係について、最近の知見を概説する。

1 リン代謝

血中リン濃度は、主に腸管吸収、腎臓排泄、および骨代謝を調節する各種ホルモンにより維持されている¹⁾。一方、骨は総リンの貯蔵所に加えて、内分泌臓器としても機能している。これらに加えて、肝臓、筋肉などの軟組織などへのリン流入・排出も、血中リン濃度に影響を及ぼすと考えられている^{1,2)}。リンは、排泄量（尿、汗、内因性糞中排泄）が吸収量（小腸での総吸収量）と等しい時にバランスが取れる。リンは PTH や、1,25-デヒドロキシビタミン D (1,25(OH)₂D,

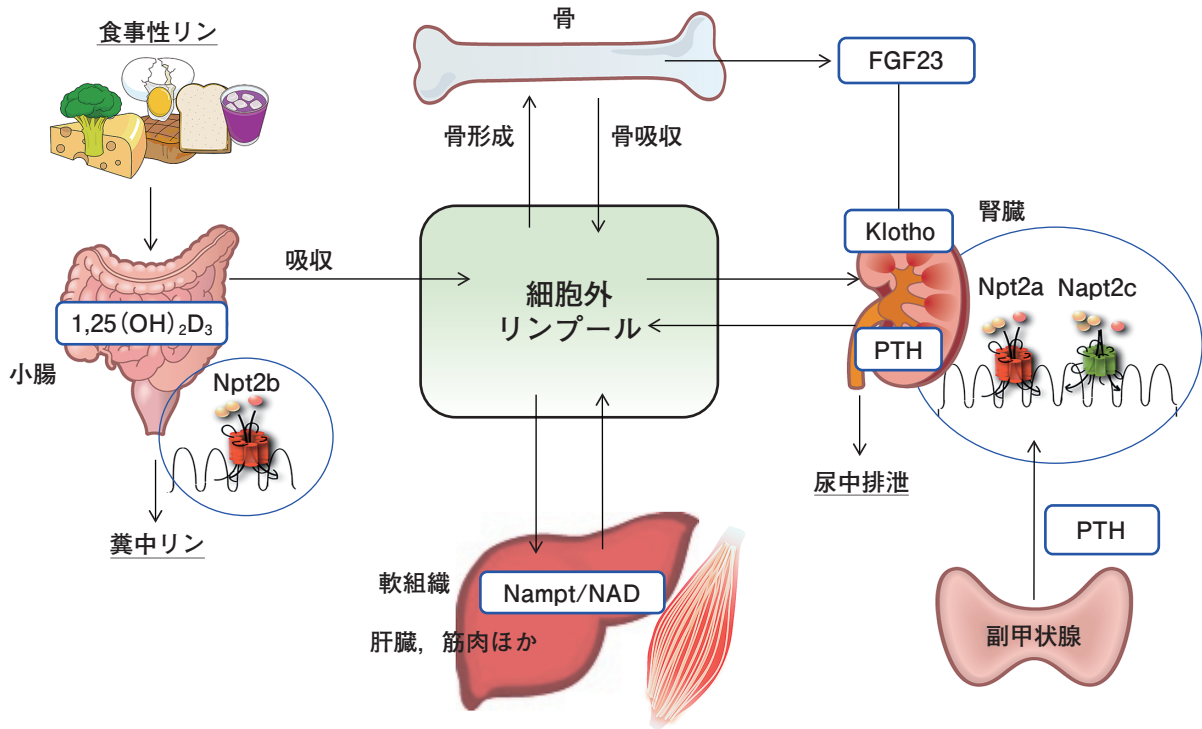


図1 多臓器連関による血中リン濃度維持機構

食事に含まれるリン酸 (P) は、腸管から吸収され、全身におけるリン代謝に影響を及ぼす。小腸からのリン吸収は活性型ビタミン D (1,25(OH)₂D₃) により促進される。また、副甲状腺における PTH 分泌は、リン負荷により促進し、活性型ビタミン D、FGF23/Klotho、CaR (カルシウム受容体) などにより影響を受ける。骨から分泌される FGF23 および副甲状腺から分泌される PTH は、腎臓に発現する Npt2a/Npt2c 発現や活性型ビタミン D 合成を抑制し、尿中リン排泄を亢進させる。このように、細胞外液 (血液を含めた) のリン恒常性は腎臓、骨、副甲状腺、腸管、肝臓を含む軟組織による多臓器連関により制御される。FGF23: fibroblast growth factor-23, PTH: parathyroid hormone, Npt2a/Npt2b/Npt2c: II 型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター, Nampt: nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAD: nicotinamide adenine dinucleotide

活性型ビタミン D) の調節を受けながら、血中でカルシウムイオンと反応しあっている¹⁾。また、FGF23 は、骨細胞から分泌され、腎臓に作用して、尿中リン再吸収および活性型ビタミン D の合成を抑制することで、体内からリン吸収とリン排泄を調節している¹⁾。また、最近では、Nampt/NAD 系が、リンの組織内移行に関連することが明らかにされている^{3,4)}。さらに、生体におけるリン調節機構には、各臓器に存在するナトリウム依存性リン輸送体の役割が重要である。

このように、リン代謝は、腎臓を中心として、腸管、骨および軟組織を介した多臓器による連関を受け制御されている (図 1)。

2 リン吸収・排泄

成人におけるリンの腸管吸収効率は、リンの摂取量の広い範囲にわたって 60~70% を示し、リン吸収と摂取量の間で直線的な関係が認められる。活性型ビタ

ミン D は、リン摂取量が低値を続けた場合にリンの腸管吸収を高める。腸管リン吸収を担う分子として IIb 型ナトリウム依存性リン輸送担体 (NaPi-IIb) が知られている。NaPi-IIb の発現調節は、活性型ビタミン D などにより行われる⁵⁾(図 1)。一方で、通常の摂取量では、細胞間隙を介するリン吸収が重要であり、これらには、クローデインファミリーなどの膜タンパク質が関与していると予想されている⁶⁾。最近、NHE3 阻害剤が開発され、高リン血症治療薬として期待されている。この阻害剤によるリン吸収阻害機構には、細胞間隙輸送によるリン吸収抑制の関与が予想されている⁷⁾。

一方、腎近位尿細管における尿中リン再吸収機構は、血中リン濃度を調節する中心的な役割を有している。リン再吸収機構には、腎臓の近位尿細管細胞の刷子縁膜に発現するナトリウム依存性リン輸送体 (NaPi-IIa, NaPi-IIc および PiT2) がその役割を担うことが知られ

ている。NaPi-IIaを介するリン輸送は起電性であり、Na:リンの輸送比は3:1である。一方で、NaPi-IIcの輸送比は2:1であり起電性を示さない^{1,8)}。これらの性質より、NaPi-IIaは、NaPi-IIcに比べて高いリン濃縮力を有すると考えられる。一方、PiT2の役割は少ないが、主に酸性下におけるリン再吸収に重要と考えられる^{1,8)}。

3 リン代謝と調節因子

3-1 PTHおよびFGF23

腎機能が正常であれば、摂取するリン濃度が一定基準値より高い場合（高リン負荷）において、2種類のリン利尿因子（PTHおよびFGF23）が分泌される¹⁾。過剰なリンを体外に排泄するため、PTHおよびFGF23は、腎臓NaPi-IIa、NaPi-IIcに作用し、リン再吸収を抑制する。また、FGF23は、腎臓における活性型ビタミンDの合成を抑制することで、その濃度を低下させる¹⁾。血中活性型ビタミンD濃度の低下は、腸管におけるリン吸収の抑制を引き起こす（図1）。Klotho蛋白質は、主に、遠位尿細管細胞に発現しており、FGF受容体（FGFR）と結合することでFGF23のシグナルを細胞内に伝達する⁹⁾。FGFR1、FGFR3およびFGFR4欠損マウスを用いた研究により、FGF23によるビタミンD合成抑制およびリン利尿促進作用には、異なるFGFRを使用していることが明らかにされている¹⁰⁾。FGF23のリン利尿促進作用は、リン輸送担体が局在する近位尿細管において、FGF23/Klotho/FGFR1c複合体からのシグナルにより制御されている^{9,11)}

3-2 リン代謝とNAD代謝産物

血中リン濃度の調節機構において、腸管吸収および腎臓からの排泄とリンクした細胞内リンの移行が知られている。古くより、インスリンは軟部組織へのリン移行を促進する因子として報告されていた。

最近、Nomuraらは、肝臓切除に伴う低リン血症発症機序を明らかにした¹²⁾。Namptは、ニコチンアミドからNAD⁺を合成する経路の最初の律速酵素であり、NAD⁺代謝調節に必須である^{13,14)}。肝臓切除後の尿中リン排泄亢進および腸管リン吸収抑制の原因は、Namptの活性化を介した腎臓・腸管内ニコチンアミド代謝促進と想定されている^{2,3,12)}。全身性Namptの

活性化により、軟部組織へのリン移動、腸管NaPi-IIb（Npt2b）の抑制、腎臓NaPi-IIa・NaPi-IIc低下を介して、血中リン濃度の低下、およびリン利尿を促進する機構が存在する。さらに、Nampt/NADシステムは、血中リン濃度の日内リズムの維持に重要と考えられる^{3,4)}

NAD代謝物の中でも、食事に含まれるナイアシン（ニコチン酸）のプロドラッグであり、血中コレステロール低下作用を有するニセリトロールは、透析患者において、腸管でのリン吸収を抑制する作用があり、高リン血症の治療への有効性が報告されている¹⁵⁾。一方で、血小板減少症をきたした報告があり、慎重に投与する必要があることが知られている。さらに、ナイアシン（ニコチンアミド）には、古くより近位尿細管におけるリン再吸収抑制作用を持つことが知られている。

我々は、ニコチンアミドを投与された動物では、小腸リン吸収抑制が認められること¹⁶⁾を報告した。また、Etoらのグループは、CKDモデルラットにニコチンアミドを投与することで、腸管NaPi-IIb（Npt2b）の発現量を低下させることで、血中リン濃度の上昇を抑止する可能性を示した¹⁷⁾一方で、最近の研究では、早期CKD患者における3年間のナイアシン投与は、血中リン濃度の低下効果を有するが、その他の指標には効果がなかったと結論している¹⁸⁾。

4 腎臓の日内リズム

腎臓では、腎血漿流量、糸球体濾過速度および尿細管再吸収および/または分泌過程は活動中にピークに達し、休息中に低下することが示されている¹⁹⁾。これらの生理機能にかかわるリズムの一部は、体内時計と呼ばれる自律的なシステムにより制御されている。体内時計は、転写、翻訳、タンパク質の翻訳後修飾（リン酸化、アセチル化、ユビキチン化など）や分解など、さまざまな細胞機能を制御する。たとえば、ナトリウム、カリウム、塩化物、およびその他の主要な電解質には排泄パターンに日内リズムがあることが示された。この日内リズムは、液性因子やまだ知られていない腎臓内のメカニズム（またはその両方）によって制御されていると考えられている¹⁹⁾。

さらに多くの動物モデルの研究から、腎臓の体内時計の破綻は、血圧制御の喪失、水および尿中の電解質

排泄の日内リズムの変化をもたらすことがわかってきた²⁰⁾。また腎機能の日内リズムの異常は、高血圧、慢性腎臓病、腎線維症および腎結石の発症と関連することが明らかとなっており、腎臓内時計は、さまざまな薬物の薬物動態学および/または薬力学を妨げる可能性がある。

5 血中リン濃度の日内リズム

先述したように、Nomuraらは、肝臓切除後の尿中リン排泄亢進の原因は、なんらかの因子によるNamptの活性化を介した腎臓内ニコチンアミド代謝促進である可能性があることを証明した¹²⁾。Namptは、ニコチンアミドからNAD⁺を合成する経路の最初の律速酵素であり、NAD⁺代謝調節に必須である^{13,14)}。NADはさまざまな代謝反応の補酵素として知られている。そして臓器中のNAD⁺量には24時間周期の日内リズムが存在する²¹⁾。最近の報告では、体内時計を消失させたclock/clock変異マウス、および、Cry1/Cry2 KO由来のマウス胎児由来線維芽細胞 (mouse embryonic fibroblast; MEF) において、細胞内NAD量の概日リズムが消失することが報告されている^{22,23)}。さらに、これらの変異マウスではNampt発現量の日内リズムは認められないことから、体内時計がNamptの発現

を制御し、細胞内NAD量を調節しているものと考えられている^{22,23)}。

過去の報告より、ヒトにおいても、げっ歯類と同様に血中リン濃度に日内リズムが存在することがわかっている²⁴⁾ (図2)。最近、Miyagawaらによって、マウスにおける血中リン濃度の概日リズムの詳細が検討された⁴⁾ (図3)。マウスを絶食させると、血中リン濃度の日内変動が大きく乱れることから、食事摂取の影響が強いことがわかっている。また腎臓でリン再吸収を担う、ナトリウム依存性リン酸トランスポーターNpt2aとNpt2cタンパク質発現にはダイナミックな日内リズムが存在し、尿中リン排泄のリズムと血中リン濃度のリズムと相関することもわかった。さらに、Npt2a/Npt2cノックアウトマウスでは完全に血中リン濃度の日内リズムが消失した。また全身性Namptヘテロ欠損マウスにおいて、NADレベルは肝臓、腎臓および腸で有意に減少し、血中リン濃度の概日リズムは著しく減弱した。さらに肝臓特異的Nampt欠損マウスでは休息期 (明期) の血中リン濃度が著しく上昇し、異常な血中リン濃度の日内リズムを形成することが明らかとなっている⁴⁾。これらの報告より、血中リン濃度の日内リズムには、NAD/Nampt経路が必須であり、尿中リン排泄、リン組織移行を制御すると考え

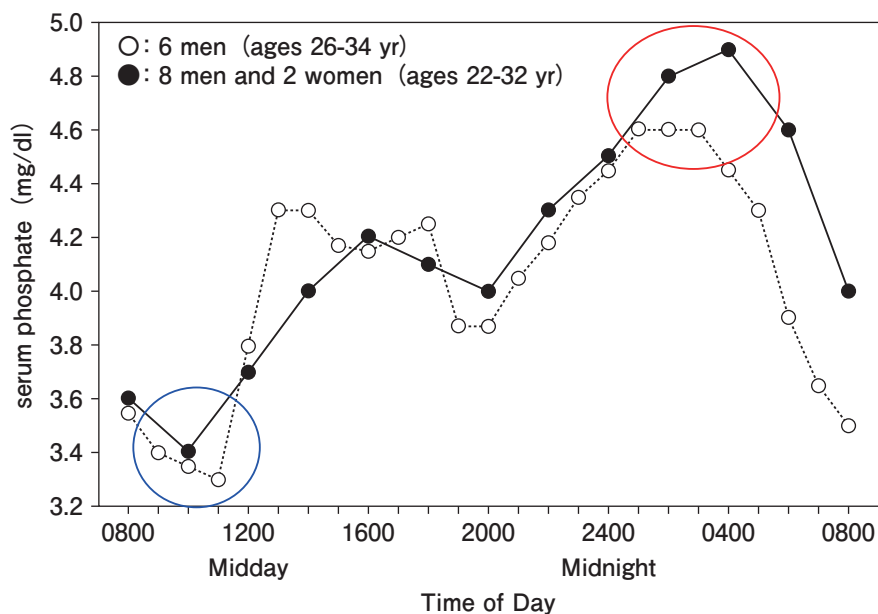


図2 健康者における血中リン濃度の日内リズムについて

ヒトの血中リン濃度は、日中と深夜に高くなる二相性の動きを示し、このリズム形成は食事の摂取が大きく関与しているため。青丸は、血中リン濃度の最も低い時間、赤丸は、ピーク時の時刻を示している。

(文献24参照、図を改変)

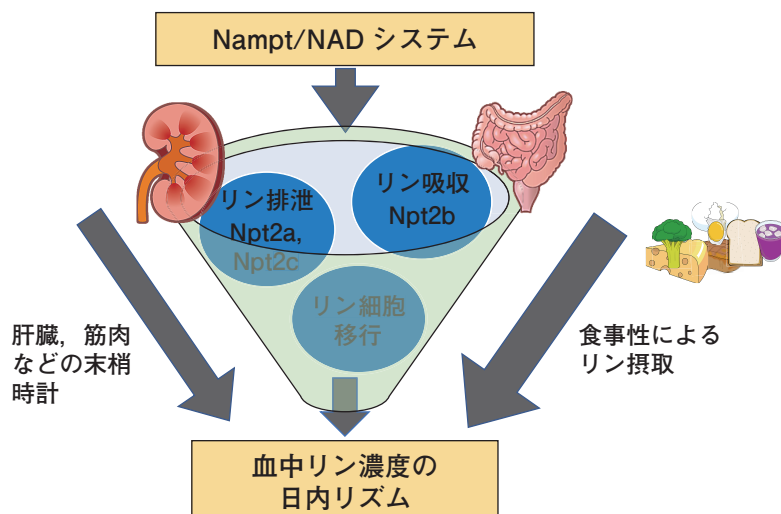


図3 血中リン濃度調節における Nampt/NAD システムと組織内リン移行
血中リン濃度維持における腎臓 Npt2a, Npt2c および腸管 Npt2b の役割に加えて、Nampt/NAD システムは、リン組織移行を制御して、日内リズム形成に関与している。
(文献 27 参照, 図を改変)

られる (図 3)。

6 CKD 患者と透析患者における日内リズム

慢性腎臓病 (CKD) において、日内リズムの乱れが生じることがわかっている。例えば、健常人において、血圧は通常、夜間の睡眠時 (休息期) に 10~20% 低下する。この夜間の血圧低下を *dipping* と言い、睡眠時の午前 3~4 時頃に最低となった後、徐々に上昇し、覚醒に伴いさらに上昇し、午前中に最も高くなるという概日リズムを形成する。しかし CKD では eGFR の低下に伴い、夜間の降圧作用が消失する (0~10%) などの日内リズムの異常がみられ (*non-dipping*)、心血管病 (CVD) 発症の危険因子となっている^{5~8)}。また、CKD では日内リズムの乱れより、睡眠障害が生じることがわかっている。

最近 Tahara らの報告では、CKD と時計遺伝子 (Clock) の関係を明らかにした²⁵⁾。Clock 変異マウスを用いた CKD モデルマウスの解析より、体内時計の乱れは、睡眠障害、血圧 (*non-dipping*) は腎臓機能の日内リズムの減弱を誘発する。そのことにより、腎機能低下が加速することが明らかとなった。体内時計を正常化することは、CKD の進展予防につながる可能性がある。実際、タイムシフトワーカーなどで体内時計が乱れている人は、腎機能低下と相関があることもわかっている²⁵⁾。

また、CKD では血中リン濃度の日内リズムの異常

が認められる。維持透析患者の死亡リスクが早朝空腹時のリン濃度が規定するとされていることから、早朝空腹時の血中リン濃度を減少させる必要がある²⁶⁾。そのため、血中リン濃度を是正するため、血中リン濃度の概日リズムを理解する必要があると認識されている。

おわりに

血中リン濃度の日内リズム形成機序に焦点を当て、最近の知見を記述した。生体には、血中リン濃度を持続的に上昇させないためのリン代謝系が存在し、その重要性が再認識され、慢性腎臓病 (CKD) や老化などの様々な病態との関連性が解明されてきた。特に腎機能が低下した場合には、多臓器連関を介して速やかに体内に過剰なリンを腎臓から排泄する必要がある。血中リン濃度の日内リズム形成における NAD/Nampt 経路は、尿中リン排泄、リン組織移行を制御すると考えられるため CKD の進展予防も重要と考えられる。

今後、腎臓内因性の日内リズムの分子機序とその重要性に関しては、さらなる検討が必要である。

利益相反自己申告：申告すべきものはなし

文 献

- 1) Miyamoto K, Haito-Sugino S, Kuwahara S, et al. : Sodium-dependent phosphate cotransporters : lessons from gene knockout and mutation studies. J Pharm Sci 2011; 100(9) :

- 3719-3730.
- 2) Tatsumi S, Miyagawa A, Kaneko I, et al. : Regulation of renal phosphate handling : inter-organ communication in health and disease. *J Bone Miner Metab* 2016; 34(1) : 1-10.
 - 3) Tatsumi S, Katai K, Kaneko I, et al. : NAD metabolism and the SLC34 family : evidence for a liver-kidney axis regulating inorganic phosphate. *Pflugers Arch* 2019; 471(1) : 109-122.
 - 4) Miyagawa A, Tatsumi S, Takahama W, et al. : The sodium phosphate cotransporter family and nicotinamide phosphoribosyltransferase contribute to the daily oscillation of plasma inorganic phosphate concentration. *Kidney Int* 2018; 93(5) : 1073-1085.
 - 5) Kaneko I, Tatsumi S, Segawa H, et al. : Control of phosphate balance by the kidney and intestine. *Clin Exp Nephrol* 2017; 21(Suppl 1) : 21-26.
 - 6) Ikuta K, Segawa H, Sasaki S, et al. : Effect of Npt2b deletion on intestinal and renal inorganic phosphate (Pi) handling. *Clin Exp Nephrol* 2018; 22(3) : 517-528.
 - 7) Block GA, Rosenbaum DP, Yan A, et al. : Efficacy and Safety of Tenapanor in Patients with Hyperphosphatemia Receiving Maintenance Hemodialysis : A Randomized Phase 3 Trial. *J Am Soc Nephrol* 2019; 30(4) : 641-652.
 - 8) Murer H, Hernando N, Forster I, et al. : Proximal tubular phosphate reabsorption : molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80(4) : 1373-1409.
 - 9) Kuro-o M : Endocrine FGFs and Klothos : emerging concepts. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19(7) : 239-245.
 - 10) Gattineni J, Twombly K, Goetz R, et al. : Regulation of serum 1,25(OH)₂ vitamin D3 levels by fibroblast growth factor 23 is mediated by FGF receptors 3 and 4. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301(2) : F371-377.
 - 11) Gattineni J, Bates C, Twombly K, et al. : FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297(2) : F282-291.
 - 12) Nomura K, Tatsumi S, Miyagawa A, et al. : Hepatectomy-related hypophosphatemia : a novel phosphaturic factor in the liver-kidney axis. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25(4) : 761-772.
 - 13) Revollo JR, Grimm AA, Imai S : The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *J Biol Chem* 2004; 279(49) : 50754-50763.
 - 14) Garten A, Petzold S, Korner A, et al. : Nampt : linking NAD biology, metabolism and cancer. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20(3) : 130-138.
 - 15) Takahashi Y, Tanaka A, Nakamura T, et al. : Nicotinamide suppresses hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004; 65(3) : 1099-1104.
 - 16) Katai K, Tanaka H, Tatsumi S, et al. : Nicotinamide inhibits sodium-dependent phosphate cotransport activity in rat small intestine. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(5) : 1195-1201.
 - 17) Eto N, Miyata Y, Ohno H, et al. : Nicotinamide prevents the development of hyperphosphatemia by suppressing intestinal sodium-dependent phosphate transporter in rats with adenine-induced renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(7) : 1378-1384.
 - 18) Malhotra R, Katz R, Hoofnagle A, et al. : The Effect of Extended Release Niacin on Markers of Mineral Metabolism in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018; 13(1) : 36-44.
 - 19) Firsov D, Bonny O : Circadian rhythms and the kidney. *Nat Rev Nephrol* 2018; 14(10) : 626-635.
 - 20) Firsov D, Bonny O : Circadian regulation of renal function. *Kidney Int* 2010; 78(7) : 640-645.
 - 21) Powanda MC, Wannemacher RW Jr : Evidence for a linear correlation between the level of dietary tryptophan and hepatic NAD concentration and for a systematic variation in tissue NAD concentration in the mouse and the rat. *J Nutr* 1970; 100(12) : 1471-1478.
 - 22) Ramsey KM, Yoshino J, Brace CS, et al. : Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis. *Science* 2009; 324(5927) : 651-654.
 - 23) Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, et al. : Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science* 2009; 324(5927) : 654-657.
 - 24) Becker GJ, Walker RG, Hewitson TD, et al. : Phosphate levels-time for a rethink? *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(8) : 2321-2324.
 - 25) Motohashi HT, Whittaker DS : The circadian clock is disrupted in mice with adenine-induced tubulointerstitial nephropathy. *Kidney Int* 2020; 97 : 728-740.
 - 26) Chang AR, Grams ME : Serum phosphorus and mortality in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) : effect modification by fasting. *Am J Kidney Dis* 2014; 64(4) : 567-573.
 - 27) Isakova T, Block G : The phosphate bucket list. *Kidney Int* 2018; 93 : 1033-1035.