

FGF23 の HFpEF への関与についての検討

溝渕正英

昭和大学医学部内科学講座腎臓内科学部門

key words : FGF23, 心筋線維化, ビタミン D

要 旨

FGF (fibroblast growth factor) 23 は心毒性を有していることが示唆されている。今回、我々は HFpEF (heart failure with preserved ejection fraction) を呈する DOCA 食塩負荷マウスを用いて、外因性の FGF23 投与による心障害について検討した。

DOCA 食塩負荷マウスの頸静脈に小型ポンプを挿入し、FGF23 (1.6 µg/日) もしくは同容量の溶媒 (PBS) を 2 週間持続的に静脈投与した後の、心機能および心組織変化を検討した。FGF23 投与により、血中 FGF23 濃度は増加し、心臓超音波所見では HFpEF が増悪した。また、心筋細胞の肥大化はみられず、心筋組織の線維化が促進し、組織内の CYP27B1mRNA 発現が低下し、CYP24A1mRNA 発現が上昇した。

以上より、外因性の FGF23 投与により HFpEF は増悪するが、この増悪には心筋組織内のビタミン D 活性化障害に起因する心筋線維化が関与することが示唆された。

1 目 的

リン (P) 利尿ホルモンである FGF (fibroblast growth factor) 23 の生理作用は標的臓器である腎臓を介して発揮されるが、FGF23 は腎機能が排泄した透析患者においても、死亡や血管石灰化、心不全などの心血管病変、貧血などとの関連性が指摘されている¹⁾。FGF23 と各種病態との関連性は P や Ca に代表されるミネラル代謝異常とは独立してみられることから、

FGF23 の各種病態への直接的な関与についての可能性が示唆されている。特に心臓への障害作用は注目されており、左室肥大を引き起こす“toxin”としての作用も示されている¹⁾。一方で、透析患者の血中 FGF23 濃度は腎機能正常者の数万倍に達するにもかかわらず、こうした透析患者に特徴的な心合併症は存在しない。

近年、心不全の病態解明が進み、その病態は細分化されている。欧米では左室収縮能による心不全分類が多用されるようになっており²⁾、我が国の 2017 年の心不全ガイドライン改訂版でも左室駆出率 (LVEF) の程度による心不全分類が新たに盛り込まれた。具体的には LVEF が低下した心不全 (heart failure with reduced EF; HFrEF)、保たれた心不全 (heart failure with preserved EF; HFpEF)、軽度低下した心不全 (heart failure with mid-range EF; HFmrEF)、改善した心不全 (HFpEF improved もしくは heart failure with recovered EF; HFrecEF) に分類されている (https://www.j-circ.or.jp/old/guideline/pdf/JCS2017_tsutsui_h.pdf)。

これまでは CKD と HFrEF の関係は多く検討され、心腎連関として議論されてきた。しかしながら、非 CKD 患者において HFpEF は HFrEF と同レベルの合併症発症や死亡リスクを有していることが示され³⁾、またそれぞれ固有の病態を呈しており、HFpEF の重要性が指摘されている。HFpEF のリスク因子には年齢、高血圧、体液過剰、貧血、炎症などが挙げられており³⁾、これらは CKD、特に透析患者では顕著にみられる。

今回、我々は FGF23 の心毒性の可能性に着目し、

マウス HFpEF モデルにおける外因性 FGF23 の影響を検討した。

2 方法

HFpEF モデルとして、C57BL6 マウスに片腎摘出を施し、deoxycorticosterone acetate (DOCA) ペレット (25 mg/ペレット, Innovative Research of America, FL, USA) を皮下に留置し、1% NaCl 溶液を飲水とした、DOCA 食塩負荷マウスを用いた (G.A. Silberman, Circulation 2010)。同モデルに片腎摘出の回復期間を設け、片腎摘出7日後に、経頸静脈にインフュージョンポンプ (SMP-310R, iPRECIO, Tokyo, Japan) を留置し、マウス recombinant FGF23 (R & D systems, MN, USA) もしくは vehicle (PBS) を投与した。投与量は FGF23 の生理作用の P 利尿作用がみられる量で、既報に準じ 1 日 1.6 μ g とした⁴⁾。持続的に 2 週間静脈内投与した後、同マウスの血圧や血液の各種データ、心臓の機能を心エコーにより評価した。心組織の形態学的変化、各種心筋リモデリングマーカーの遺伝子および蛋白発現レベルも確認した。

3 結果と考察

DOCA および溶媒投与群 (DOCA+V)、DOCA および FGF23 投与群 (DOCA+F) と、同週齢の野生型雄性マウスを正常コントロール群 (WT) とした計 3

群、各 4 匹を比較した。

DOCA 投与により血圧は WT よりも有意に上昇したが、DOCA+V と DOCA+F の間に差は見られなかった。腎機能や血中 Ca 濃度は 3 群間に差はなく、血中 P 濃度は DOCA+V 群が他の 2 群よりも有意に高値を示した。血中 FGF23 濃度は DOCA+F 群が他の 2 群よりも有意に高値を示した (表 1)。心エコーによる検討では、DOCA+V 群で左室駆出率 (EF) が保たれ、E/A が低下する HFpEF の所見を呈した。DOCA+F 群では、E/A の低下とともに EF も低下しており心機能の悪化がみられた (表 2)。

心筋のリモデリング変化は、心筋組織の ANP, BNP, I 型コラーゲン mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。ANP mRNA は、3 群間で変化はなかったが、BNP mRNA は、DOCA 投与により有意に上昇し、DOCA+V と DOCA+F 群間に差はみられなかった。I 型および III 型コラーゲン mRNA は、DOCA+F 群が他の 2 群と比較して有意に上昇した (図 1)。心筋細胞径は、DOCA 投与により有意に上昇し、DOCA+V と DOCA+F 群間に差はみられなかったが (図 2)、心筋線維化面積は、DOCA+F 群が他の 2 群と比較して有意に上昇した (図 3)。ビタミン D 代謝酵素である CYP27B1 および CYP24A1 の心筋内の遺伝子発現をみると、DOCA+F 群で CYP27B1 mRNA 発現が低下し、CYP24mRNA 発現が増加しており (図

表 1 生化学データ

	sBP (mmHg)	Cre (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	FGF23 (pg/mL)
WT	91 ± 4	0.2 ± 0.0	7.3 ± 0.6	5.5 ± 0.3	51 ± 24
DOCA+V	126 ± 2 ^a	0.2 ± 0.0	7.8 ± 0.4	7.0 ± 0.5 ^{a,c}	249 ± 30
DOCA+F	127 ± 1 ^a	0.2 ± 0.1	7.9 ± 0.5	5.2 ± 0.3	1,416 ± 459 ^{a,b}
ANOVA	<0.001	0.896	0.577	0.014	0.011

a : p<0.05 vs WT, b : p<0.05 vs DOCA+V, c : p<0.05 vs DOCA+F

sBP : 収縮期血圧, Cre : クレアチニン, Ca : カルシウム, P : リン, FGF23 : fibroblast growth factor-23, 平均値 ± 標準誤差で表示 (各群 4 検体)。

表 2 心重量および心臓超音波所見

	HW/BW (mg/g)	LV/BW (mg/g)	EF (%)	E/A
WT	4.8 ± 0.3	3.3 ± 0.2	61 ± 2	1.9 ± 0.2
DOCA+V	6.9 ± 0.4 ^a	4.8 ± 0.2 ^a	56 ± 1	1.0 ± 0.2 ^a
DOCA+F	6.8 ± 0.5 ^a	4.8 ± 0.2 ^a	52 ± 1 ^a	0.7 ± 0.1 ^a
ANOVA	0.008	0.001	0.014	0.003

a : p<0.05 vs WT, b : p<0.05 vs DOCA+V, c : p<0.05 vs DOCA+F

HW/BW : 心重量/体重, LV/BW : 左室重量/体重, EF : 左室駆出率, 平均値 ± 標準誤差で表示 (各群 4 検体)。

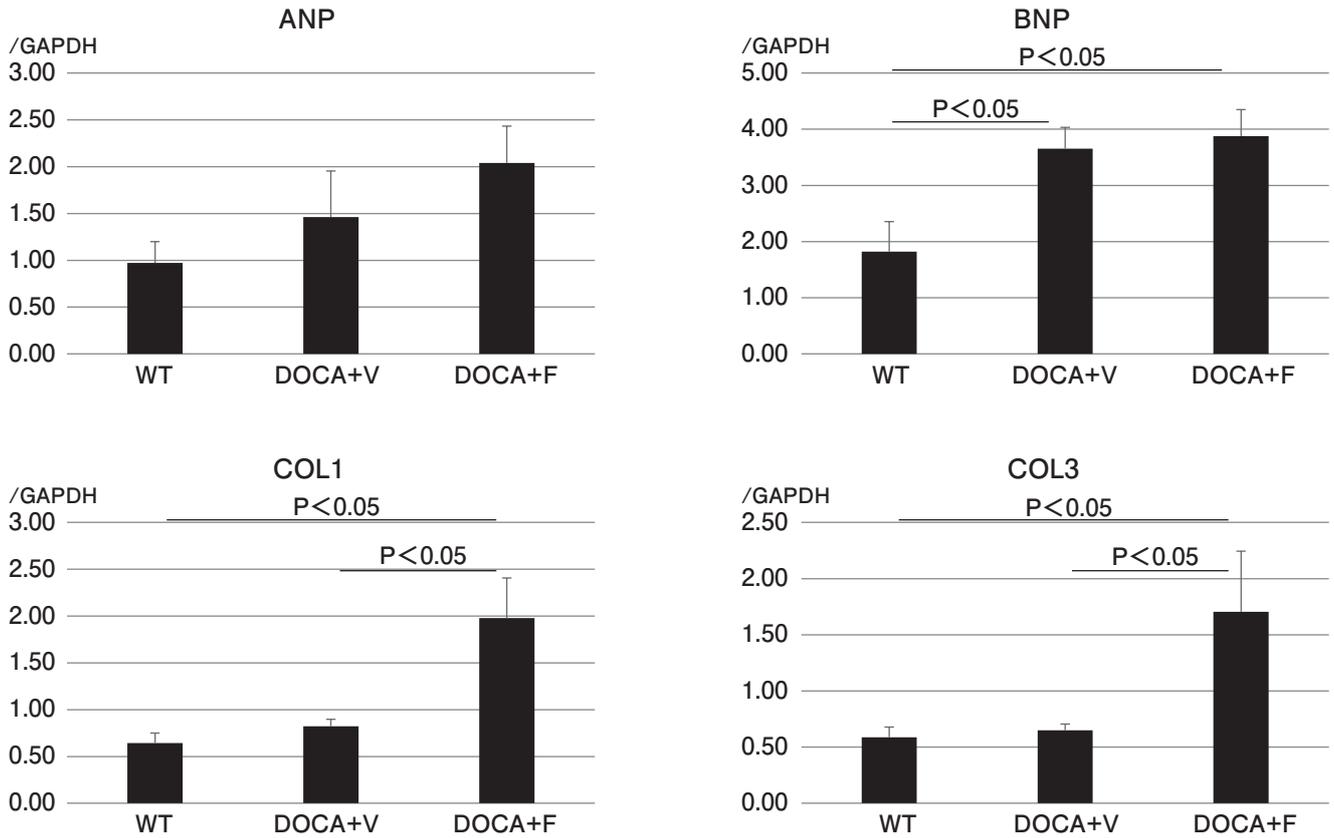


図1 心筋組織内のリモデリングマーカー遺伝子の発現量
各遺伝子の発現レベルは GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 発現量で補正。平均値±標準誤差で表示 (各群 4 検体)。

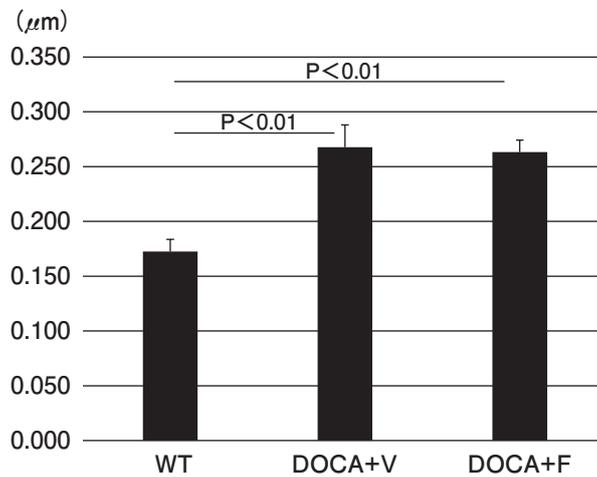


図2 心筋細胞径 (μm) の比較
平均値±標準誤差で表示 (各群 4 検体)。

4), 免疫染色によるこれらの蛋白発現も同様の傾向がみられた (図 5)。

FGF23 の心毒性はこれまでも報告されているが, その多くは左室肥大の促進作用であり, その細胞内メカニズムとして FGF 受容体 4 を介した NFAT (calcineurin/nuclear factor of activated T cells) シグナル系

の関与が指摘されてきた^{5,6)}。本研究では FGF23 投与により心筋線維化の促進とともに HFpEF が悪化し, この病態に心筋組織内のビタミン D 代謝酵素の異常の関与が示唆された点が新規に確認された点である。活性型ビタミン D 製剤には心筋線維化抑制作用が報告されており^{7,8)}, これらの知見を踏まえると, 今回

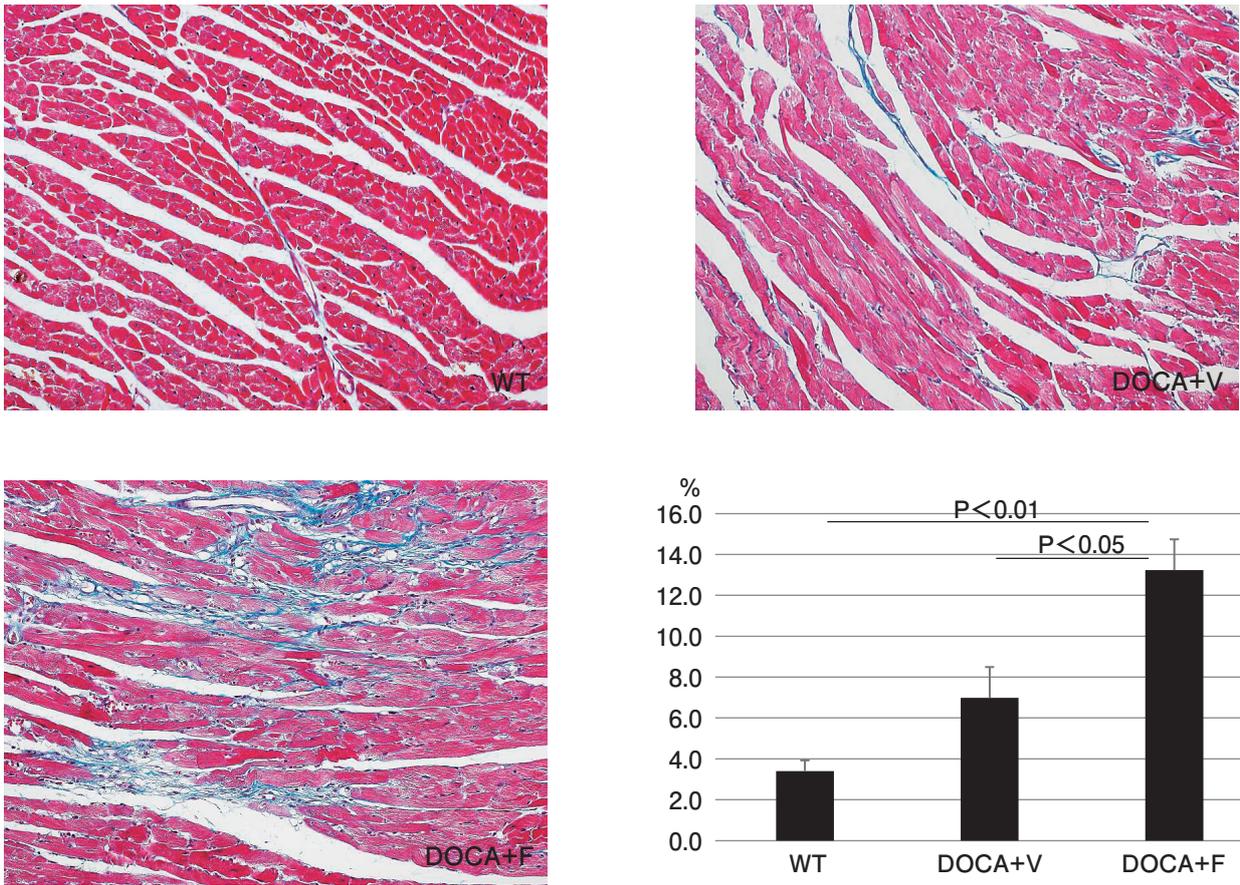


図3 心筋線維化面積の比較

Masson-Trichrome 染色, 倍率 200 倍. 半定量のグラフは平均値 ± 標準誤差で表示 (各群 4 検体).

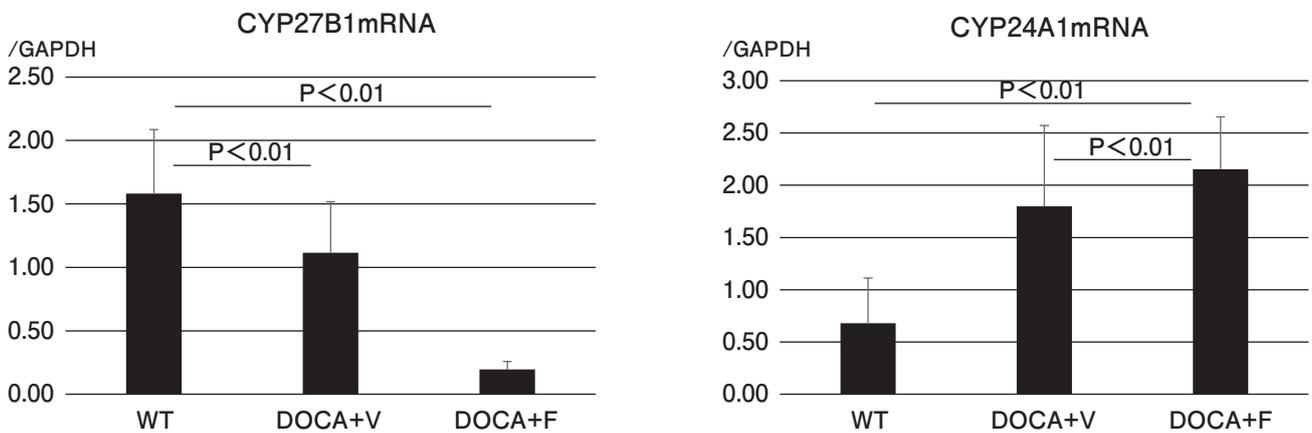


図4 心筋組織内の CYP27B1 および CYP24A1 遺伝子の発現量

各遺伝子の発現レベルは GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 発現量で補正. 平均値 ± 標準誤差で表示 (各群 4 検体).

のモデルでは, FGF23 による心筋組織内の局所的なビタミン D 活性化障害が線維化を促進させた可能性が考えられた.

4 結 語

HFpEF を呈する DOCA 食塩負荷マウスに外因性に高 FGF23 血症を誘導すると HFpEF が増悪するが, この増悪は心筋組織内のビタミン D 活性化障害による

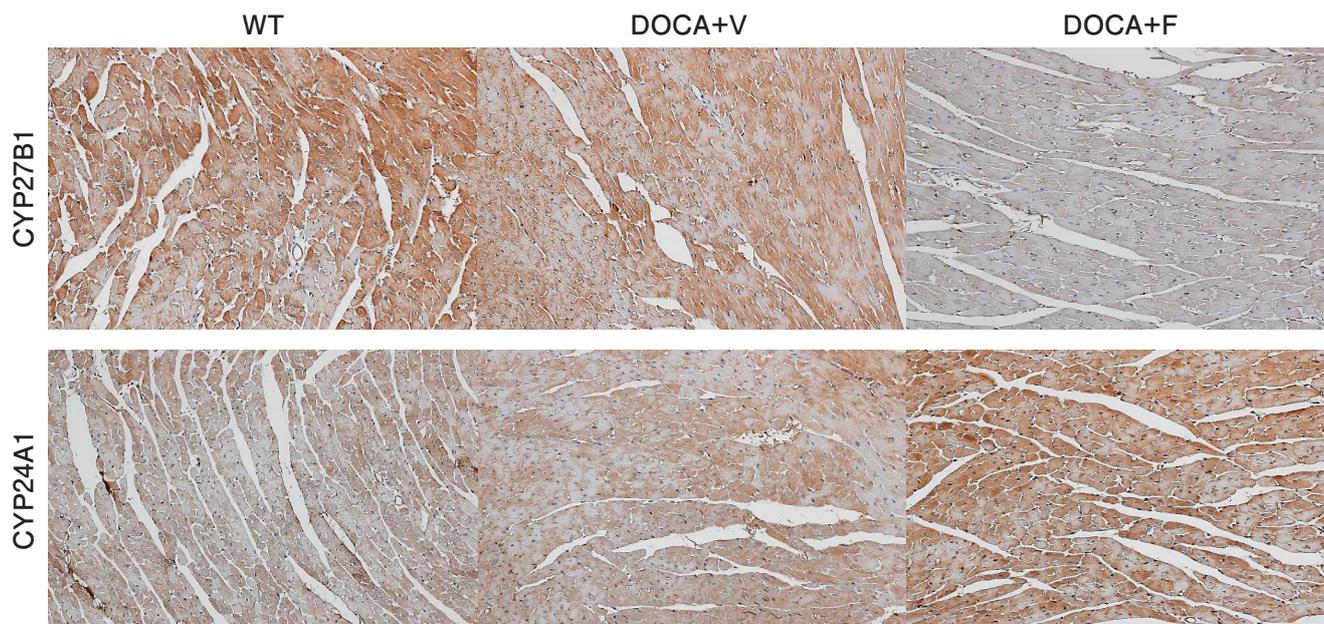


図5 心筋組織のCYP27B1 (上段) およびCYP24A1 (下段) の免疫組織染色 (倍率200倍). DOCA+F群のCYP27B1は低下し, CYP24A1は上昇した.

心筋線維化の促進が関与している可能性が示唆された.

本研究は平成30年度日本透析医会公募研究助成によって行われ, 成果は原著論文として英文誌に投稿予定であり, 重複掲載を避けるために概要を記した.

利益相反自己申告: 申告すべきものなし.

文 献

- 1) Rodelo-Haad C, Santamaria R, Munoz-Castaneda JR, et al. : FGF23, Biomarker or Target? *Toxins (Basel)* 2019; 11.
- 2) Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. : 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure : The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2016; 18 : 891-975.
- 3) Antlanger M, Aschauer S, Kopecky C, et al. : Heart Failure with Preserved and Reduced Ejection Fraction in Hemodialysis Patients : Prevalence, Disease Prediction and Prognosis. *Kidney Blood Press Res* 2017; 42 : 165-176.
- 4) Faul C, Amaral AP, Oskouei B, et al. : FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011; 121 : 4393-4408.
- 5) Faul C : Cardiac actions of fibroblast growth factor 23. *Bone* 2017; 100 : 69-79.
- 6) Grabner A, Amaral AP, Schramm K, et al. : Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metab* 2015; 22 : 1020-1032.
- 7) Panizo S, Carrillo-Lopez N, Naves-Diaz M, et al. : Regulation of miR-29b and miR-30c by vitamin D receptor activators contributes to attenuate uraemia-induced cardiac fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2017; 32 : 1831-1840.
- 8) Mizobuchi M, Ogata H, Yamazaki-Nakazawa A, et al. : Cardiac effect of vitamin D receptor modulators in uremic rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; 163 : 20-27.