

Title	Mechanisms for the reduction of 24,25-dihydroxyvitamin D3 levels and bone mass in 24-hydroxylase transgenic rats.
Sub Title	24-水酸化酵素トランスジェニックラットにおける血中24,25_ジヒドロキシビタミンD3濃度および骨最低下のメカニズム
Author	細金, 直文
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.3 (2003. 9) ,p.3-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030902-0003">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030902-0003</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Mechanisms for the reduction of 24,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> levels and bone mass in 24-hydroxylase transgenic rats.

(24-水酸化酵素トランスジェニックラットにおける  
血中24,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>濃度および骨量低下のメカニズム)

細 金 直 文

## 内容の要旨

ビタミンDは骨・カルシウム代謝調節に重要な役割を果たすホルモンであり、1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) が活性型として作用する。ビタミンD代謝に関与する24-水酸化酵素には二つの作用があることが知られている。一つは腎臓において25-ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>) を基質として24,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) を産生する作用であり、もう一つは1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>を分解する作用である。われわれは24-水酸化酵素の*in vivo*における生理的な作用を明らかにする目的で24-水酸化酵素トランスジェニックラット (CYP24Tgラット) を作製し、予想外の血中ビタミンD代謝産物濃度変化や高脂血症、蛋白尿などの表現型を呈することを報告している。本研究はCYP24Tgラットにおける血中ビタミンD代謝産物濃度変化の機序および骨代謝への影響を解析する目的で行った。

CYP24Tgラットでは血中24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、25(OH)D<sub>3</sub>ともに有意に低下し、血中1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>値は野生型と変わらなかった。近年、メガリンのビタミンD代謝における役割が明らかにされ、それまで遊離型の25(OH)D<sub>3</sub>が血管側から近位尿管細胞へ取り込まれると考えられてきたが、実際にはビタミンD結合蛋白質 (DBP) と結合した25(OH)D<sub>3</sub>が糸球体を通過された後、管腔側からメガリンを介して取り込まれることが明らかになった。そこでメガリンの発現を定量したところ野生型と有意差がなかったことからメガリンの発現低下が血中24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>低下の原因ではないと考えられた。メガリンはアルブミンなど種々の蛋白質と結合することが知られており、またCYP24Tgではアルブミン尿を来すことから排泄されたアルブミンがDBP-25(OH)D<sub>3</sub>複合体のメガリンを介した再吸収を競合的に阻害すると推測し、尿中25(OH)D<sub>3</sub>排泄の有無を調べた。その結果、25(OH)D<sub>3</sub>はCYP24Tgラットでのみ排泄が認められ、DBP排泄もCYP24Tgのみで確認された。

次に骨代謝の変化を調べた。8週齢ラットの骨量を定量化したところ、CYP24Tgラットでは有意な骨密度低下が認められた。この骨密度低下は25(OH)D<sub>3</sub>喪失による結果であるか否かを調べるため、CYP24Tgに25(OH)D<sub>3</sub>投与を行った結果、25(OH)D<sub>3</sub>投与群ではvehicle投与群と比較し骨量減少が起らず、組織学的にもvehicle投与群では頰骨の増加が認められたが25(OH)D<sub>3</sub>投与群では阻害されていた。

本研究ではメガリンとアルブミンの相互作用からCYP24TgラットにおけるビタミンD代謝動態を明らかにした。また、アルブミン大量排泄時における骨病変には25(OH)D<sub>3</sub>も有用であることを示した。

## 論文審査の要旨

骨・カルシウム代謝調節に重要な役割を果たす1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) は24-水酸化酵素により分解される。また、24-水酸化酵素は25-ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>) を基質として24,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) を産生する。この24-水酸化酵素の*in vivo*における生理作用を明らかにする目的で24-水酸化酵素トランスジェニックラット (Tgラット) を作製し表現型の解析を行った。

Tgラットでは予想外に蛋白尿を来し、また血中24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、25(OH)D<sub>3</sub>値ともに有意に低下し、血中1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>値は野生型と変わらなかった。さらにTgラットでは25(OH)D<sub>3</sub>、ビタミンD結合蛋白質 (DBP) の尿中排泄が認められた。25(OH)D<sub>3</sub>-DBP複合体の近位尿管での取り込みに関与するメガリンの発現には変化が認められなかったことから、排泄されたアルブミンがDBP-25(OH)D<sub>3</sub>複合体のメガリンを介した再吸収を競合的に阻害しDBP-25(OH)D<sub>3</sub>複合体が尿中に排泄されることが明らかとなった。またTgラットでは骨量の低下が認められるが、この骨病変は25(OH)D<sub>3</sub>の持続投与により予防されることが示された。

審査では、導入遺伝子由来の24-水酸化酵素のWestern blotや免疫染色による検出について質問された。これに対しWestern blotは試みたが発現量が少なく困難であったと回答された。また、24-水酸化酵素を薬剤などにより誘導した際に腎病変は再現されるか質問された。これに対し24-水酸化酵素を誘導可能なのは1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>のみでこれでは一過性に誘導されるが発現を持続させることはできず、長期投与では高Ca血症をきたしてしまうために困難であると回答された。次にCa、P代謝について質問された。これに対し本研究では血中、尿中の経時変化を調べただけでTgラットの病態解明のためには検討が不十分であったと回答された。また、糸球体障害、尿管障害のどちらが先に生じるのかという質問に対し、尿蛋白質をSDS-PAGEで検討した結果、低分子量の蛋白質排泄が認められないこと、尿中グルコース排泄が若齢では亢進しないことから初期には尿管機能は障害されていないと考えられると回答された。また、本研究にラットを用いた理由について質問され、当初は骨解析が主目的でありそれにはマウスよりラットが適するためと回答された。最後にこのTgラットに相当するヒトの疾患は存在するか質問され、現時点では全く報告がないと回答された。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき点を残しているが、24-水酸化酵素トランスジェニックラットの病態を明らかにした点が有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭  
病理学 岡田 保典 発生・分化生物学 須田 年生  
内科学 猿田 享男 医化学 末松 誠  
学力確認担当者：  
審査委員長：岡田 保典

試問日：平成15年5月13日