

3 副甲状腺の遺伝子治療

POINT

- 二次性副甲状腺機能亢進症では副甲状腺細胞は受容体発現の減少による質的变化を呈しており、一部には外科治療困難な難治例も存在する。
- ウイルスベクターや small interfering RNA を用いた遺伝子導入によって副甲状腺の遺伝子調節を可能とすることは、副甲状腺の質的变化や難治性を克服した治療法の可能性を示唆している。
- 遺伝子治療を実現するためには、安全性が高く標的に対してもっとも効果的な投与方法を選択していくことが重要である。

はじめに

副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone ; PTH) はヒトの骨とミネラル代謝における主要な分子である。副甲状腺機能の異常はあらゆる骨・ミネラル代謝に影響を及ぼし、CKD における二次性副甲状腺機能亢進症 (secondary hyperparathyroidism ; SHPT) は骨疾患だけでなく異所性石灰化による心血管疾患を合併し、生命予後を脅かす重大な疾患である。

現在、SHPT は活性型ビタミン D により広く治療されているが、過形成による副甲状腺の腫大化に伴うビタミン D 受容体 (vitamin D receptor ; VDR) 発現の減少とともに活性型ビタミン D への治療抵抗性を示すようになることが知られている。SHPT における活性型ビタミン D 抵抗性の発生原因として副甲状腺細胞に発現する VDR の減少が重要であることは、透析患者¹⁾ や腎不全ラットの副甲状腺を用いた実験で明らかにされている^{2), 3)}。さらにカルシウム受容体 (calcium sensing receptor ; CaSR) の発現減少についても報告があり^{4), 5)}、進行した SHPT の副甲

状腺細胞においては、各種の受容体遺伝子の発現低下によって活性型ビタミン D やカルシウムの作用が阻害されていると考えられている。SHPT がさらに進展し内科的治療抵抗性となると副甲状腺への外科的治療法が選択される。しかし、これらの治療後でも実際にはガイドラインで推奨される適正 PTH 値へのコントロールは難しく、parathyromatosis による再発も問題となる。

このような問題点への新たなアプローチとして、今日までの研究において副甲状腺における機能性遺伝子導入の検討がされており、アデノウイルスを用いた *in vitro* および *in vivo* での副甲状腺細胞への遺伝子導入実験が報告されている^{6), 7)}。しかし遺伝子導入技術の開発のなかでも、これらウイルスベクターに対する安全性の懸念は常にあり、治療応用を視野に入れたより効果的な方策を検討する必要性が生じている。近年、さまざまな医療分野で応用される RNA 干渉法 (RNA interference ; RNAi) に注目し、本稿ではこれまでの遺伝子治療の変遷と RNAi による治療応用の可能性に関して概説する。

I. SHPT 発症メカニズム

CKDにおけるSHPTの発症機序には低カルシウム血症, 高リン酸血症, ビタミンD活性化障害が関与している。SHPT発症・進展には副甲状腺細胞増殖によるPTH基礎分泌量増加といった量的変化に加えて, CaSR発現減少によるカルシウム感受性低下, VDR発現減少による活性型ビタミンD抵抗性といった質的变化があるものと考えられている。

副甲状腺細胞は主として細胞外カルシウム濃度を感知して厳密にPTH分泌を調整している。SHPTの進展した結節性過形成ではCaSR発現が低下しておりPTH分泌調節機構を破綻させている。CaSR遺伝子欠損マウスにおける高ビタミンD状態での副甲状腺細胞増殖はCaSRを介したシグナルによる制御の関与を示唆している⁸⁾。一方で, SHPT進展における細胞増殖はCaSR発現減少に先行することが報告されている^{9), 10)}。CaSR発現には活性型ビタミンDやリンが影響する可能性が示されており^{11), 12)}、CKDにおける高リン酸血症ではtransforming growth factor- α (TGF- α)発現とその受容体であるepidermal growth factor receptor (EGFR)が増強し, 副甲状腺細胞増殖を促進していると考えられる¹³⁾。

TGF- α /EGFRによる刺激は副甲状腺のVDR発現抑制をきたし, 細胞増殖とCaSR減少によってSHPTの進展に関与している^{9), 14)}。VDR発現は細胞周期調節因子であるcyclinD1やcyclin dependent kinase inhibitorであるP21, P27発現と密接に関わり, TGF- α /EGFR活性とVDR発現低下の相互作用が副甲状腺細胞増殖に大きく関与すると考えられる¹⁴⁾。リン負荷によって増加した

TGF- α 発現は高カルシウム食によって減弱し, P21発現の誘導によって細胞増殖を抑制することが示唆されている。

また副甲状腺にはklothoとFGF受容体(fibroblast growth factor receptor; FGFR)の発現が確認されており, FGFRのリガンドであるFGF23はこれらの共受容体を介してPTH抑制作用を示すことが知られている¹⁵⁾。SHPTにおいてはFGFR発現減少が認められており, 治療抵抗性との関連が考えられている。

II. 副甲状腺の遺伝子調節

これまでに副甲状腺細胞におけるウイルスベクターを用いた遺伝子導入技術を確認したものは, Iwasakiらの報告による⁶⁾。この研究は有用な副甲状腺細胞への遺伝子導入技術の確立を目的として行われており, *in vitro*においてはSHPT患者より摘出した副甲状腺培養細胞へのアデノウイルスベクターによるVDR遺伝子の導入を成功させている。VDR遺伝子の導入によりビタミンD濃度依存性にPTH分泌の反応を認めており, 機能性遺伝子導入による効果を示している。さらに*in vivo*においては5/6腎摘ラットに高リン食を与えSHPTを誘導したモデルへ遺伝子導入を行い3週間にわたるウイルス感染を確認している。この動物モデルでは手術下に副甲状腺へ直接注入を行い*lacZ*, VDR, CaSR遺伝子の導入を試みている。処置前と7日目の血清PTHを比較した結果, VDRとCaSR遺伝子導入群では有意に分泌抑制を認めており, この研究における遺伝子導入技術により安定した効果が実証された。さらには, このような遺伝子導入技術の応用によってP21や腫瘍抑制遺伝子のコントロールが可能となれば, 過形成組織の進展を抑制する

ことが可能であるかもしれない。

最近の報告では、Shiizaki らによる SHPT の副甲状腺細胞においてアデノウイルスを用いた遺伝子導入により CaSR 発現を増加させカルシウム感受性の回復を試みる研究がなされている⁷⁾。これは、SHPT モデル動物の副甲状腺内に *CaSR* 遺伝子を導入したアデノウイルスを直接注入し、感染細胞への CaSR 過剰発現を誘導するものである。実験では前述の報告とも同様に高効率なウイルス感染が確認されているが、新たに静注など直接注入以外のウイルス投与では副甲状腺細胞に感染させることができないことが報告されている。ウイルスベクターを用いた *CaSR* 遺伝子導入により副甲状腺の CaSR 発現増強が示されている。また、モデル動物へのカルシウム輸注に対する血清 PTH を検証しており、カルシウム反応性の回復が示されている。本研究は副甲状腺細胞への *CaSR* 遺伝子導入による発現調節の可能性を示唆するものであるが、長期的な CaSR 発現調節への課題も明示した。

Ⅲ. RNAi による副甲状腺機能の抑制

RNAi は細胞自身のもつ mRNA の分解メカニズムであり、短い二本鎖 RNA (small interfering RNA ; siRNA) に相補的な塩基配列をもつ標的 mRNA を特異的に分解することで遺伝子の発現が抑制される現象である¹⁶⁾。

SHPT における PTH の過剰分泌は *PTH* 遺伝子の発現状態の変化ではなく、その mRNA の turn-over が阻害され、細胞内に蓄積することが一因であることが報告されており¹⁷⁾、mRNA を直接の標的とする RNAi が有効であると考えられている。

in vitro では、PTH mRNA の一部と相補的な塩基配列をもつ二本鎖の siRNA をヒト副甲状腺細胞に取り込ませ、細胞内の PTH mRNA および培地中に分泌される PTH の量を測定したところ、濃度依存性に顕著な減少が認められた¹⁸⁾。長期観察が可能なヒト副甲状腺細胞培養系を用いて siRNA による抑制効果がどれほどの期間維持されるのかを確かめたところ、80%以上の抑制が培養直後から約 30 日間続き、PTH 分泌が元のレベルまで回復するのは培養約 80~100 日後であった (図 6-3-1)。

in vivo では、5/6 腎摘ラットに高リン食を与え SHPT モデルを作成した後、ラット PTH siRNA を直接副甲状腺内へ投与した場合、14 日目以降に血中 PTH の抑制効果が認められた。さらに 20 日目において血中 PTH 濃度は最大 60% の抑制を示し、その後、緩やかに回復していくものの 40% 程度で抑制効果が持続した。本研究の結果は RNAi による PTH 発現調節の可能性を示唆するもの

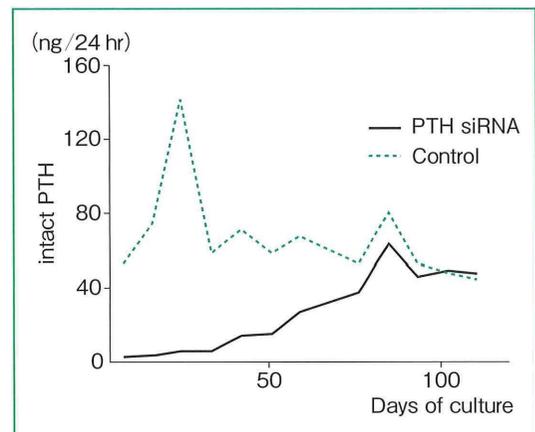


図 6-3-1 ヒト副甲状腺細胞への PTH 分泌に対する siRNA の効果

24 時間当りの PTH 分泌量を測定。Anti-PTH siRNA 投与群で PTH は初期より抑制され、60 日以上持続した。

[Kanai G, et al : Kidney int 2009 ; 75 : 490-498¹⁸⁾ より引用]

であった。

IV. SHPT に対する siRNA 療法

SHPT において siRNA を治療として応用するには、血中や組織中での siRNA の安定化をはかることが重要である。通常では siRNA を静脈投与すると網内系やヌクレアーゼによる加水分解により短時間に効果を消失し、標的細胞へ行きつくことはかなり難しい。われわれの実験での全身投与は手法の改良や siRNA の化学修飾などにより効率的な遺伝子導入を可能としたが、治療への可能性を考えると、より実効性の高い方法を検討する必要がある。

siRNA を標的臓器特異的に集中して効果的に到達させるドラッグデリバリーシステム (drug delivery system ; DDS) が数多く開発されている。非ウイルス性の DDS としては、陽性荷電したマテリアルと siRNA が複合体を形成することによるエンドサイトーシスを利用したものがある。このうちの一つであるアテロコラーゲンは仔ウシの真皮から抽出した I 型コラーゲンを主とした低抗原性蛋白質で、すでに形成外科領域で皮膚陥凹部を修復する皮下投与型医療機器として臨床適用されており安全性が確認されている。アテロコラーゲンは投与局所にとどまり siRNA の徐放性効果をもたらしその作用を持続させ、細胞内への取り込みを助ける¹⁹⁾。このようなバイオマテリアルの応用と副甲状腺への siRNA 直接投与が RNAi 効果を最大限に発揮させ、その効果をより確実なものとする考えられる。

おわりに

SHPT において RNAi メカニズムの機能が

示されたことでわれわれは遺伝子導入といった新たなアプローチの可能性を得たが、将来における siRNA 治療の確立までには多くの困難と検討すべき課題が残されている。近年、副甲状腺腫瘍における microRNA 解析が報告されており²⁰⁾、SHPT 進展メカニズムのさらなる解明と診断、治療への応用が期待される。

文 献

- 1) Korkor AB : Reduced binding of [³H]1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the parathyroid glands of patients with renal failure. *N Engl J Med* 1987 ; 316 : 1573-1577
- 2) Merke J, Hügél U, Zlotkowski A, et al : Diminished parathyroid 1,25(OH)₂D₃ receptors in experimental uremia. *Kidney Int* 1987 ; 32 : 350-353
- 3) Takahashi F, Finch JL, Denda M, et al : A new analog of 1,25-(OH)₂D₃, 19-NOR-1,25-(OH)₂D₂, suppresses serum PTH and parathyroid gland growth in uremic rats without elevation of intestinal vitamin D receptor content. *Am J Kidney Dis* 1997 ; 30 : 105-112
- 4) Kifor O, Moore FD Jr, Wang P, et al : Reduced immunostaining for the extracellular Ca²⁺-sensing receptor in primary and uremic secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ; 81 : 1598-1606
- 5) Gogusev J, Duchambon P, Hory B, et al : Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1997 ; 51 : 328-336
- 6) Iwasaki Y, Kakuta T, Fukagawa M, et al : Adenovirus-mediated functional gene transfer into parathyroid cells in vivo and in vitro. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 (Suppl 3) : iii18-22
- 7) Shiizaki K, Hatamura I, Fukagawa M, et al : Development of a technique for introduction of an expressed cDNA into parathyroid cells by direct injection. *Endocrinology* 2010 ; 151 : 4031-4038
- 8) Ho C, Conner DA, Pollak MR, et al : A mouse model of human familial hypocalciuric hyper-

- calcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Nat Genet* 1995 ; 11 : 389-394
- 9) Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA, et al : Parathyroid hyperplasia in uremic rats precedes down-regulation of the calcium receptor. *Kidney Int* 2001 ; 60 : 1737-1744
- 10) Yano S, Sugimoto T, Tsukamoto T, et al : Association of decreased calcium-sensing receptor expression with proliferation of parathyroid cells in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000 ; 58 : 1980-1986
- 11) Canaff L, Hendy GN : Human calcium-sensing receptor gene. Vitamin D response elements in promoters P1 and P2 confer transcriptional responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 30337-30350
- 12) Ritter CS, Martin DR, Lu Y, et al : Reversal of secondary hyperparathyroidism by phosphate restriction restores parathyroid calcium-sensing receptor expression and function. *J Bone Miner Res* 2002 ; 17 : 2206-2213
- 13) Arcidiacono MV, Cozzolino M, Spiegel N, et al : Activator protein 2alpha mediates parathyroid TGF-alpha self-induction in secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 1919-1928
- 14) Arcidiacono MV, Sato T, Alvarez-Hernandez D, et al : EGFR activation increases parathyroid hyperplasia and calcitriol resistance in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 310-320
- 15) Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, et al : The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest* 2007 ; 117 : 4003-4008
- 16) Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al : Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998 ; 391 (6669) : 806-811
- 17) Yalcindag C, Silver J, Naveh-Many T : Mechanism of increased parathyroid hormone mRNA in experimental uremia : roles of protein RNA binding and RNA degradation. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10 : 2562-2568
- 18) Kanai G, Kakuta T, Sawada K, et al : Suppression of parathyroid hormone production in vitro and in vivo by RNA interference. *Kidney Int* 2009 ; 75 : 490-498
- 19) Takei Y, Kadomatsu K, Yuzawa Y, et al : A small interfering RNA targeting vascular endothelial growth factor as cancer therapeutics. *Cancer Res* 2004 ; 64 : 3365-3370
- 20) Rahbari R, Holloway AK, He M, et al : Identification of differentially expressed microRNA in parathyroid tumors. *Ann Surg Oncol* 2011 ; 18 : 1158-1165

(金井巖太, 深川雅史)

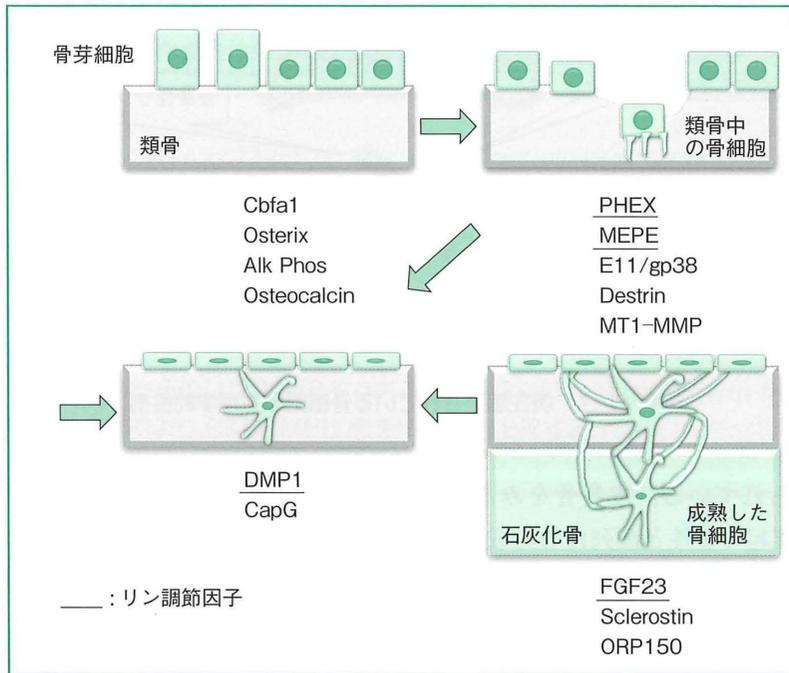


図6-4-2 骨芽細胞から骨細胞への移行と遺伝子発現

骨細胞は骨芽細胞から分化し、自身の出す骨基質に埋没していく。そして突起をのぼし骨表面上の細胞と接する。さらに骨細胞は成熟骨細胞へと分化する。骨細胞は成熟度の違いにより、遺伝子発現が異なる。

II. 骨細胞特異的に発現する sclerostin と骨形成阻害

sclerostin は骨細胞特異的に発現する蛋白質であり、分子量約 22.5 kDa の膜蛋白質である。骨芽細胞のカノニカル Wnt シグナルの阻害剤として働く。Wnt が Frizzled と LRP5/6 の複合体に結合すると効率よく β カテニン経路が活性化され骨形成が促進する。sclerostin は、Wnt-Frizzled-LRP5/6 複合体の形成を阻害することによって β カテニンの活性化経路を遮断し骨形成を抑制する。

一方、骨細胞から分泌される sclerostin を抑制すると、骨形成が誘導されるという報告もある。実際、sclerostin をコードしている SOST 遺伝子の機能欠損変異は、骨芽細胞の機能亢進による非常に高い骨量を症状として

もつ硬結性骨化 (sclerostenosis) を発症させる⁸⁾。これらの報告から、骨細胞は骨形成を抑制するために重要であることがわかる。

III. 骨細胞による破骨細胞の活性化

骨細胞は骨吸収のシグナルを破骨細胞へ送ることができるという概念はあるが、詳細はいまだ不明である。最近の報告では、骨細胞は骨表面の骨芽細胞、破骨細胞を制御する司令塔細胞であることがわかってきた^{9), 10)}。

高柳らのグループにより破骨細胞分化因子である RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) は骨細胞に非常に多く発現していることから、骨細胞は破骨細胞を分化させる能力の高い細胞であることが明らかとなった⁹⁾。さらに彼らは骨細胞特異的 RANKL ノックアウトマウスを作製したところ重篤な大

理石病を発症することを見出した。また、出生後すぐには大理石病は発症しておらず、成長に伴う力学的負荷を骨細胞が感知して RANKL を発現するようになること示唆した⁹⁾。

また、辰巳らのグループによる、骨細胞特異的に死滅させることのできるマウスを使った研究では、骨細胞を死滅させると破骨細胞が活性化し、骨吸収が促進することが示された¹⁰⁾。

両者の研究から、骨細胞は破骨細胞の分化、機能調節に必須であることが示された。今後、骨細胞をターゲットとした骨粗鬆症治療の研究が進むと期待される。

IV. 骨細胞とリン代謝

PHEX, DMP1, MEPE, FGF23 は骨細胞に発現している。FGF23, DMP1, PHEX は遺伝性低リン血症の原因遺伝子として明らかとなった^{11)~13)}。このことから、骨細胞は骨代謝だけではなく、リン代謝における役割にも注目されるようになった。FGF23 は骨細胞でおもに分泌され、腎近位尿管に発現する II 型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター (NaPi-II a, NaPi-II c) の発現量を低下させる。よって、尿中からのリン再吸収が抑制され、リン排泄が増加する¹⁴⁾。遺伝性低リン血症として頻度のもっとも高い X 染色体優性低リン血症性くる病/骨軟化症 (X-linked hypophosphatemic rickets/osteomalacia; XLH) は XLH 患者家系を対象としたポジショナルクローニングにより、1995 年に責任遺伝子が発見された¹⁵⁾。責任遺伝子はプロテアーゼの一種である PHEX 遺伝子であった¹⁵⁾。これまでに XLH 患者、HYP マウス (PHEX 活性異常マウス) において PHEX 不活性化変異が報告されている。

PHEX 遺伝子の変異した患者では血清

FGF23 濃度が高値を示すことから、PHEX は FGF23 分泌抑制に関与することが示唆されている¹¹⁾。実際、骨芽細胞、骨細胞特異的に PHEX 遺伝子をノックアウトした研究では、マウス骨細胞、骨芽細胞での PHEX 機能欠損は FGF23 mRNA 合成制御機構を破壊させ、正常マウスと比較し約 10 倍もの発現増加を導く。つまり、PHEX は間接的ではあるが、FGF23 発現抑制因子であることが証明された¹⁶⁾。また MEPE は PHEX と結合し、カテプシン B による MEPE 分解を抑制する。MEPE はカテプシン B によって分解され ASARM と呼ばれるペプチドを分泌する。ASARM はリン酸化され、ASARM-PO₄ を産生し、骨石灰化を抑制する。また、MEPE から産生された ASARM は腎臓に作用して尿中リン再吸収を抑制することが示された¹⁷⁾。

DMP1 は非コラーゲン性の骨基質蛋白質であり、Small Integrin-Binding Ligand N-linked Glycoprotein (SIBLING) family に属する。In vitro 実験より全長 DMP1 蛋白質は前駆体として存在し、DMP1 は 37 kDa と 57 kDa の二つのフラグメントに切断され、C 端側の 57 kDa のフラグメントが骨細胞の成熟に関わっていることが示唆されている¹⁸⁾。DMP1 遺伝子の機能欠損変異をもつ常染色体劣性低リン血症くる病 (autosomal recessive hypophosphatemic rickets; ARHR) 患者や、DMP1 欠損マウスでは、骨細胞における FGF23 産生が著しく増加している。このことから、PHEX とともに、DMP1 は FGF23 産生を負に制御することが明らかとなっている¹³⁾。

V. 骨細胞とCKD-MBDとの関わりについて

FGF23は、CKD患者で著しく発現量が上昇する。CKDの進行においてFGF23はCKDステージの早期から上昇し、ネフロン数の減少を代償して血清リン濃度の上昇を抑制すると考えられている¹⁹⁾。しかしながら、未だFGF23の発現を増加させる詳細なメカニズムは明らかとなっていない。保存期CKD患者のFGF23値は、透析導入前の心血管病発症を予測できることが示された²⁰⁾。またCKD患者においてFGF23高値と左心肥大の発症には相関があり、FGF23はKlotho非依存的に心臓に作用し、左心肥大を引き起こすことが明らかにされた²¹⁾。これらの報告から、FGF23の異常高値が継続することはCKD患者の予後、QOLに関わるため、リン摂取量、ネフロン当りのリン負荷量がどのようなシグナルを介して腎臓から遠隔の骨細胞に伝達されFGF23産生を上昇させるのか、今後さらなる研究が期待される。

また、CKD患者ではFGF23に次いで血中のPTHレベルが上昇する。PTHも腎臓に作用してリン利尿を促進する因子であり、両者は血中リン濃度の上昇を抑制する方向に働く。骨細胞にはPTHレセプターが発現していることが知られている。機能獲得型のPTHレセプターを骨細胞特異的に発現させたトランスジェニックマウスでは、FGF23の著しい産生増加が示され、PTHシグナルもFGF23の産生を制御することが示唆された²²⁾。

おわりに

高齢者では骨細胞数が減少しており、その

ため骨細管のネットワークに乱れが生じ、骨細胞間、骨芽細胞、破骨細胞との情報交換が遮断される²³⁾。一方で加齢に伴う腎機能の低下により、CKDの発症リスクは増加する。今後、骨細胞と腎臓の臓器相関を介したリン代謝のさらなる研究進展は、CKD-MBD患者の骨障害、高リン血症治療への分子基盤につながると期待される。

文献

- 1) Sissons HA, O'Connor P: Quantitative histology of osteocyte lacunae in normal human cortical bone. *Calcif Tissue Res* 1977; 22: (Suppl): 530-533
- 2) Bonewald LF: The amazing osteocyte. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 2011; 26: 229-238
- 3) Hirose S, Li M, Kojima T, et al: A histological assessment on the distribution of the osteocytic lacunar canalicular system using silver staining. *J Bone Miner Metab* 2007; 25: 374-382
- 4) Komori T, Yagi H, Nomura S, et al: Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; 89: 755-764
- 5) Ubaidus S, Li M, Sultana S, et al: FGF23 is mainly synthesized by osteocytes in the regularly distributed osteocytic lacunar canalicular system established after physiological bone remodeling. *J Electron Microsc (Tokyo)* 2009; 58: 381-392
- 6) Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, et al: Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J* 2005; 19: 1842-1844
- 7) Guo D, Keightley A, Guthrie J, et al: Identification of osteocyte-selective proteins. *Proteomics* 2010; 10: 3688-3698
- 8) Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al: Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet* 2001; 10: 537-543
- 9) Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al: Evidence for osteocyte regulation of bone

- homeostasis through RANKL expression. *Nat Med* 2011 ; 17 : 1231-1234
- 10) Tatsumi S, Ishii K, Amizuka N, et al : Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction. *Cell Metab* 2007 ; 5 : 464-475
 - 11) Endo I, Fukumoto S, Ozono K, et al : Clinical usefulness of measurement of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in hypophosphatemic patients : proposal of diagnostic criteria using FGF23 measurement. *Bone* 2008 ; 42 : 1235-1239
 - 12) ADHR Consortium : Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet* 2000 ; 26 : 345-348
 - 13) Feng JQ, Ward LM, Liu S, et al : Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 1310-1315
 - 14) 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 : 3719-3730
 - 15) A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. The HYP Consortium. *Nat Genet* 1995 ; 11 : 130-136
 - 16) Yuan B, Takaiwa M, Clemens TL, et al : Aberrant Phex function in osteoblasts and osteocytes alone underlies murine X-linked hypophosphatemia. *J Clin Invest* 2008 ; 118 : 722-734
 - 17) Rowe PS : Regulation of bone-renal mineral and energy metabolism : the PHEX, FGF23, DMP1, MEPE ASARM pathway. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2012 ; 22 : 61-86
 - 18) Lu Y, Yuan B, Qin C, et al : The biological function of DMP-1 in osteocyte maturation is mediated by its 57-kDa C-terminal fragment. *J Bone Miner Res* 2011 ; 26 : 331-340
 - 19) Isakova T, Wahl P, Vargas GS, et al : Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2011 ; 79 : 1370-1378
 - 20) Nakano C, Hamano T, Fujii N, et al : Intact fibroblast growth factor 23 levels predict incident cardiovascular event before but not after the start of dialysis. *Bone* 2012 ; 50 : 1266-1274
 - 21) Faul C, Amaral AP, Oskouei B, et al : FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 4393-4408
 - 22) Rhee Y, Bivi N, Farrow E, et al : Parathyroid hormone receptor signaling in osteocytes increases the expression of fibroblast growth factor-23 in vitro and in vivo. *Bone* 2011 ; 49 : 636-643
 - 23) Qiu S, Rao DS, Palnitkar S, et al : Age and distance from the surface but not menopause reduce osteocyte density in human cancellous bone. *Bone* 2002 ; 31 : 313-318

(辰巳佐和子, 野村憲吾, 宮本賢一)