

【トピックス】

EPO・鉄と FGF-23*

緒方浩顕** 荏原 徹** 坂下暁子**

■ はじめに

Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) は、染色体12短腕にコードされる251個のアミノ酸からなるペプチドホルモンである。主に骨細胞や骨芽細胞で産生され、リン(P)およびvitamin D (VD) の代謝調節のkey playerであり、その主な作用はP利尿促進およびVD活性化抑制である。FGF-23はCKD患者や一般集団においても、その血中濃度がさまざまなアウトカムと関連することが大規模観察研究で明らかになった。最近では、FGF-23と炎症、鉄代謝や赤血球造血との関連が次々報告され、大きな注目を集めている^{1~4)}。CKDの重大な合併症であるCKD-MBDと貧血(腎性貧血)の病態生理には、共通してFGF-23が大きな役割を担っている可能性がある。本稿では、CKDにおけるFGF-23と鉄代謝の赤血球造血の関連について概説する。

■ FGF-23 産生調節

FGF-23産生調節の特徴は、FGF-23転写、蛋白産生と細胞内プロセッシングによる不活性化の2段階に行われることである。さまざまな刺激が生理活性を有する全長FGF-23 (intact FGF-23 : iFGF-23) 産生を増加させるが、iFGF-23は速やかに細胞内プロセッシングよりN端フラグメン

トとC端フラグメントに切断される。つまり、循環血中 iFGF-23 濃度は産生量だけでなく細胞内プロセッシング量とのバランスに規定され、その産生量が増加しても代謝される量が増加(coupling)していれば、血中 iFGF-23 濃度は変わらない。一方、iFGF-23 産生量と細胞内プロセッシングを受け不活性化される量の比率が変化(uncoupling)すると、血中 iFGF-23 濃度は変化する。図1には、FGF-23代謝調節を図示した。全身性、局所性のさまざまな要因により FGF-23 の転写は促進、抑制されるが、産生された全長 FGF-23 蛋白は速やかに furin や furin-like proprotein convertase により、ゴルジ装置で179Argと180Serの間で分解される。この過程で、切断部位近傍のアミノ酸修飾がこの過程に関与している。178番目のThrがUDP-N-acetyl- α -D-galactosamine : polypeptide N-acetylgalactosaminyl-transferase 3 (GALNT3) により O-glycosylation 化されると切断が抑制され、反対に180番目のSerがfamily with sequence similarity 20, member C (FAM20C) により phosphorylation を受けると切断が促進される。この両者の修飾状況が、FGF-23の細胞内プロセッシング量を規定すると考えられている。

FGF-23測定法には、全長 FGF-23 を測定する iFGF-23 と C—末端フラグメントを検出する cFGF-23 があり、iFGF-23 と切断され放出された

* Crosstalk among erythropoiesis, iron and fibroblast growth factor 23 regulation

key words : エリスロポエチン, FGF-23, 鉄, HIF, hepcidin

** 昭和大学横浜市北部病院内科 OGATA Hiroaki, EBARA Toru, SAKASHITA Akiko
(〒224-8503 横浜市都筑区茅ヶ崎中央 35-1)

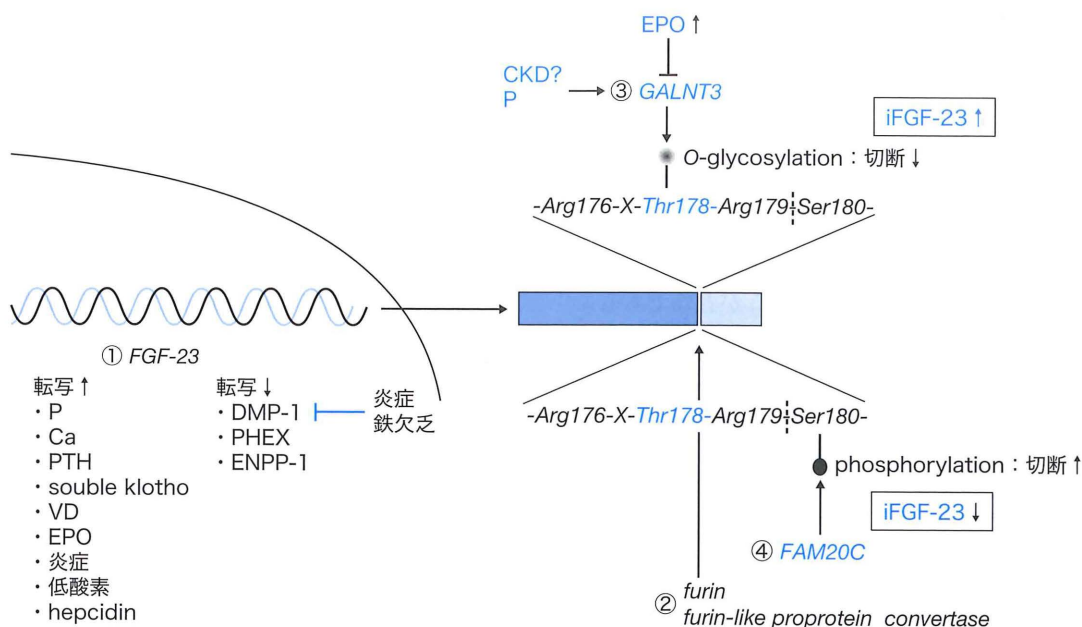


図1 FGF-23 代謝調節

FGF-23 転写はさまざまな因子により亢進、抑制される(①)。転写、翻訳された全長 FGF-23 は細胞内で furin, furin-like proprotein convertase により切断される(②)。この細胞内プロセッシングは GALNT3 や FAM20C により調節を受ける(③, ④)。

P : リン, Ca : カルシウム, PTH : 副甲状腺ホルモン, VD : vitamin D, EPO : エリスロポエチン, DMP-1 : dentin matrix acidic phosphoprotein 1, PHEX : phosphate-regulating neutral endopeptidase, ENPP : ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 1, GALNT3 : polypeptide N-acetyl-galactosaminyltransferase 3, FAM20C : family with sequence similarity 20, member C

C 端フラグメントの両方が測定される。血中 iFGF-23 測定値は活性型 FGF-23 量を、血中 cFGF-23 測定値は体内での FGF-23 産生状況を示し、iFGF-23 に対する C 端フラグメントの比は、細胞内プロセッシングの状態を表すと考えられている。

II 鉄欠乏と FGF-23

P・Ca 負荷、活性型 VD や PTH などの CKD-MBD 因子ばかりでなく、鉄欠乏や炎症、そして EPO も FGF-23 代謝に関与していることが相次いで報告されている^{1,2,4,5)}。この事実は、FGF-23 が鉄代謝異常、炎症および EPO 産生異常という CKD に合併する貧血、腎性貧血の主要な病態と密接な関係があり、FGF-23 代謝調節の解明が腎性貧血の治療・管理の向上につながる可能性を示

している。

古くから鉄欠乏、鉄剤投与に伴う P 代謝異常が知られていたが、その機序は不明であった。P 利尿因子として FGF-23 が同定され、FGF-23 と鉄代謝の関連に関する知見が集積しつつある。鉄欠乏状態の wild type のマウスでは、FGF-23 産生が増加、血中 cFGF-23 濃度が上昇するが、iFGF-23 濃度は不変ないしは軽度の上昇にとどまる。このことは、FGF-23 産生とその細胞内プロセッシングが coupling 状態であり、iFGF-23 の細胞内代謝が増加していることを示している。FGF-23 の転写調節位領域には低酸素誘導因子 HIF-1 α と結合する hypoxia-response element が存在するが、鉄欠乏状態では HIF-1 α が安定化するために FGF-23 転写が増加、蛋白産生が増加するが、同時に furin 発現が upregulation し、FGF-23 蛋白の細胞内切断が増加する。FGF-23 の切断部位ア

ミノ酸変異があり、細胞内プロセッシングに抵抗性を有する常染色体劣性低P血症性くる病 (ADHR) では、通常の鉄充足状態では低P血症を生じないが、鉄欠乏を契機にiFGF-23濃度が急激に増加し、腎性P喪失やビタミンD活性化障害による低P血症性くる病を呈する。興味深いのは、ADHRの低P血症などの異常には、P補充や活性型VD製剤投与より鉄補充のほうが有効であることが多いという事実である。このことは血中iFGF-23濃度の決定にはFGF-23転写・産生調節よりも、細胞内プロセッシングのほうが重要であることを示しているのかもしれない。後述するように、CKDでは腎機能が低下するに伴い細胞内プロセッシングが抑制され (uncoupling), 血中iFGF-23濃度が上昇する。

Hepcidinは鉄代謝調節の中心をなすペプチドホルモンであり、十二指腸、空腸上部の上皮細胞での鉄吸収、肝細胞や網内系から血液中へ鉄の動員を抑制する。炎症は肝臓でのhepcidin産生を亢進させ、貯蔵鉄を増加させ、機能的鉄欠乏を生じさせる。また、hepcidinはFGF-23転写・産生を増加させるが、一般的には同時に細胞内プロセッシングが増加するために、血中iFGF-23濃度は変わらない。

鉄欠乏では骨組織のFGF-23産生は増加するが、含糖鉄剤の一部ではそれらの投与より奇異性に血中iFGF-23値が上昇し、低P血症を生じることがある。日本で使用されている静注用鉄剤であるsaccharated ferric oxideは、鉄欠乏を有するHD患者に投与すると血中iFGF-23濃度が上昇することが報告されている⁶⁾。糖構造を有する鉄剤ではO-glycosylationを増加させ、細胞内プロセッシングに対して抑制的に作用する可能性が指摘されている。

III 赤血球造血における FGF-23

FGF-23の主な産生部位は骨細胞や骨芽細胞であるが、骨髓を構成する細胞にもその発現がみられる。FGF-23は骨髓細胞でのEPO産生を減少させ、赤芽球系細胞のアポトーシスの増加や細胞周

期 (S期↓・G2/M期↑)を変化させることが報告されている⁷⁾。FGF-23ノックアウトマウスでは、血中EPO濃度が上昇し、赤血球造血が亢進するが、一方wild typeのマウスにiFGF-23を投与すると血中EPO濃度は低下し、赤血球造血が低下する⁷⁾。FGF-23負荷は腎や骨髓のHIF-1 α 発現を抑制し、EPO遺伝子発現やその蛋白産生を抑制することが報告されている。加えて、FGF-23増加は炎症性サイトカイン発現を亢進させるとともに肝hepcidin発現を増加させ、機能的鉄欠乏を助長すると考えられている (図2)。

一方、EPO投与は骨髓細胞のFGF-23発現、産生を増加させる。FGF-23は赤血球造血のnegative regulatorであり、negative feedback loopを形成していると考えられる。内因性、外因性の血中EPO濃度上昇はFGF-23産生を促進するが、同時に細胞内プロセッシングが増加し、iFGF-23/cFGF-23は低下、iFGF-23濃度の上昇はほとんどないか軽度である。EPOに反応して細胞内プロセッシングが変化するメカニズムは不明である。EPOを過剰発現させたマウスでは、骨や骨髓でのGALNT3およびprohormone convertase 5/6の遺伝子発現が低下し、O-glycosylation減少による細胞内プロセッシングの増加が報告されているが⁸⁾、EPO負荷によっても変化しないとの報告もあり、今後の検討が必要である。

IV CKDと FGF-23

さまざまな因子がFGF-23転写、その蛋白産生を増大させるが、細胞内プロセッシングがcouplingしている状態では、生物学的活性を有するiFGF-23の血中濃度は横ばいないしは軽微の上昇にとどまる。この病態は、血中cFGF-23値 (C端フラグメント+iFGF-23)、血中iFGF-23値を同時に測定することで把握可能である。一方、細胞内プロセッシングが抑制される状態では、血中iFGF-23濃度は急激に上昇する。その病態の代表が切断部位のアミノ酸配列に変異を有するADHRであり、後天的疾患はCKDである。図3aは、健康人、保存期CKDおよび血液透析 (HD)

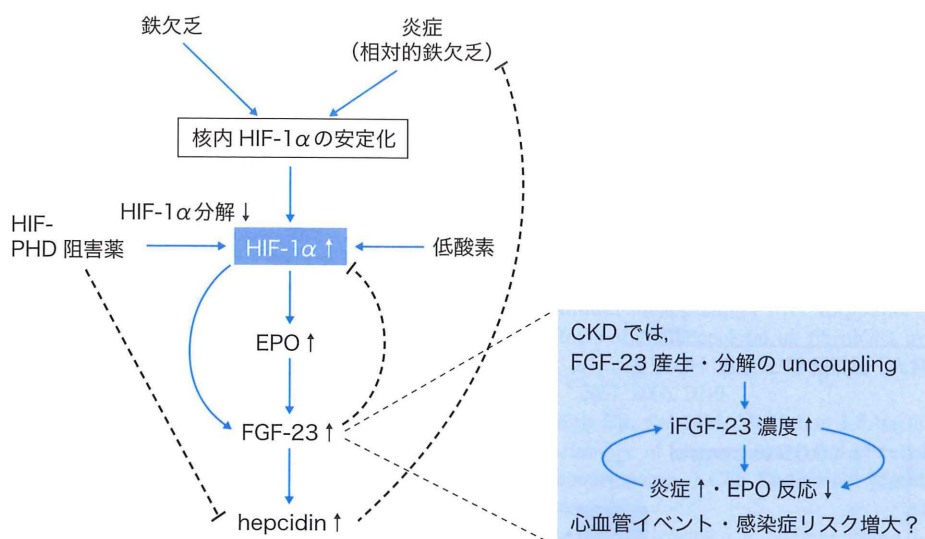


図2 鉄欠乏、炎症と FGF-23

鉄欠乏、炎症とそれに伴う相対的鉄欠乏は HIF-1 α の安定化を介して、EPO 発現を増加させ、さらに直接的、間接的に FGF-23 の発現、産生を促す。FGF-23 の増加は、肝 hepcidin 発現を上昇させ、鉄代謝に影響を与える。FGF-23 の細胞内代謝が低下している CKD では、iFGF-23 が増加し、炎症・EPO 低反応などを介して、悪循環を招来する可能性がある（著者作成）。HIF-1 α : hypoxia-inducible factor α 1, EPO : erythropoietin, HIF-PHD : hypoxia Inducible factor prolyl hydroxylase

患者の血中 iFGF-23 値に対する C 端フラグメントの比率を示しているが、腎機能の悪化に伴いその比率が増加している。つまり、CKD では FGF-23 産生が著増しているだけでなく、細胞内の iFGF-23 不活性化が低下するために、CKD、特に透析患者では血中 iFGF-23 濃度が健常人に比較して 1,000 倍以上にも達する⁹⁾。CKD 進行に伴う FGF-23 産生増大は血清 P 濃度の上昇に対する代償作用と考えられるが、尿毒症環境下の FGF-23 の代謝調節には不明な点が多い。ラットでは腎摘後速やかに血中 iFGF-23 濃度は上昇し、cFGF-23/iFGF-23 比はコントロール群<片腎摘群<両腎摘群の順に上昇したことが示されている（図 3 b）¹⁰⁾。また、腎動静脈での iFGF-23 濃度を測定したところ、腎動脈>腎静脈であり、腎臓が FGF-23 のクリアランスに直接的な役割を担っている可能性がある。最近 Takashi らは、新規の細胞外 P 濃度の sensing mechanism として P が FGF 受容体を直接活性化することにより細胞内プロセッシング部位の O-glycosylation を増加させ、FGF-

23 代謝を抑制し iFGF-23 の細胞外放出が増加することを報告している（図 1）¹¹⁾。

FGF-23 と CKD における貧血の関連を検討した臨床研究では、米国の保存期 CKD 患者を対象とした観察研究、CRIC 研究において、観察開始時の cFGF-23 濃度が高いほど貧血合併の頻度が高く、観察期間中の貧血の新規発症リスクが増大していたことが明らかにされている¹²⁾。動物実験などで、急性の EPO 投与により FGF-23 発現の増大、血中 FGF-23 濃度の上昇は明らかであるが、一方、CKD 患者の貧血に対する長期 erythropoiesis stimulating agent (ESA) 投与の FGF-23 代謝への影響についてのデータはほとんどなく、腎性貧血に対する治療、ESA の選択、投与方法や鉄補充などの臨床的選択が FGF-23 代謝に与える影響についても不明である。高度に上昇した血中 iFGF-23 濃度が CKD-MBD だけでなく、貧血管管理にも大きな影響を与えている可能性がある。つまり、iFGF-23 が炎症、機能的鉄欠乏から EPO 低反応を引き起こし、EPO 投与量の増量が、さらな

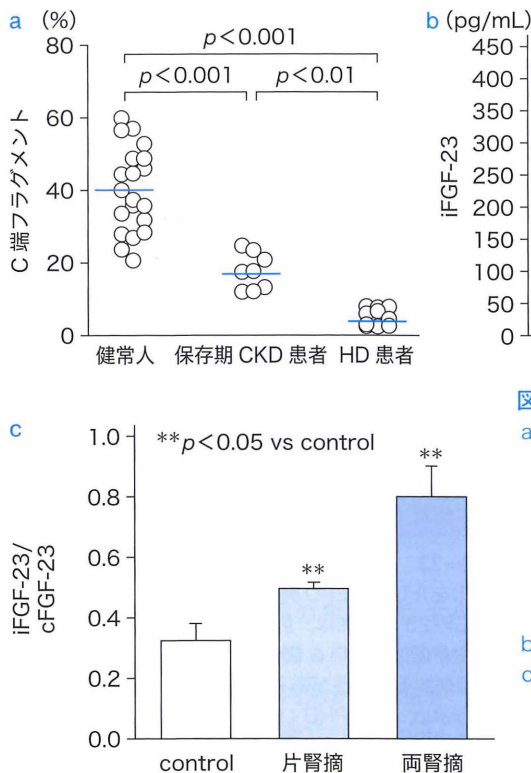


図3 腎機能低下の FGF-23 代謝に与える影響

- a : 健康人, 保存期 CKD および血液透析 (HD) 患者における C 端フラグメント/全 FGF-23 比 (Western-blotting 法)。CKD 患者では腎機能低下とともに C 端フラグメント化が減少し, 活性型の iFGF-23 比率が増大する。
(Smith ER, et al : Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. J Clin Endocrinol Metab **97** : 3357-3365, 2012⁹⁾ より引用改変)
- b : ラットにおける腎摘後の血中 FGF-23 濃度の推移
- c : ラットにおける腎摘の血中 FGF-23 濃度に対する影響 (腎摘 55 分後)
(Mace ML, et al : Key role of the kidney in the regulation of fibroblast growth factor 23. Kidney Int **88** : 1304-1313, 2015¹⁰⁾ より引用改変)
- b, c : ラットでは腎摘後に速やかに血中 iFGF-23 濃度が上昇しており, 腎が直接的に FGF-23 代謝に関与していることを示している。

る FGF-23 の上昇を招くという悪循環を形成するかもしれない (図 2)。新規腎性貧血治療薬として注目されている HIF-PHD 阻害薬をラットに投与したところ, 骨髄細胞の FGF-23mRNA 発現増加や血中 cFGF-23 濃度の上昇がみられたが, EPO 投与より軽度であり, HIF-PHD 阻害薬により誘導された緩徐な血中 EPO 濃度上昇による間接的な効果と考えられている¹³⁾。HIF-PHD 阻害薬は, 肝臓の hepcidin 産生を抑制し, 慢性炎症状態における機能的鉄欠乏状態でも貧血の改善に有効であることが報告されている。今後, 慢性炎症の EPO 低反応性における FGF-23 の役割, HIF-PHD 阻害薬の効果の検証に期待したい。

最近, C 端フラグメントを投与すると機能的鉄欠乏が改善し, hepcidin をはじめとする炎症マーカーが低下することが報告されており, C 端フラグメントが iFGF-23 の受容体結合を競合的に阻

害する可能性が指摘されている¹⁴⁾。これが事実だとすると, CKD で低下している細胞内 FGF-23 プロセッシングの改善 (C 端フラグメントの増加, iFGF-23 の減少) が貧血, CKD-MBD の病態改善に有用であるかもしれない。

CKD 患者における鉄剤投与の効果を検証する臨床試験が行われているが, 一定の結果が得られていないのが現状である。対象患者の腎機能, 血清 P 濃度や鉄欠乏の有無, 投与する鉄剤によって FGF-23 代謝の反応はさまざまであり, 今後のさらなる検討が必要である。しかしながら, 積極的な鉄剤投与により ESA 抵抗性は改善する点では一致しており, 小規模な pilot study であるが, クエン酸第二鉄水和物投与群で ESA 投与量の減少だけでなく, 入院リスクおよび総死亡と腎代替療法導入準備の複合エンドポイントの改善が報告されている¹⁵⁾。最近, 発表された HD 患者を対象と

した PIVOTAL 研究の結果と併せて、CKD 患者における鉄の積極的な補給の意味を示唆しているのかもしれない。

■ おわりに

本稿では、FGF-23 代謝調節における鉄と EPO の関与、赤血球造血における FGF-23 の役割および腎性貧血の病態における FGF-23 の重要性を概説した。CKD では EPO 産生だけでなく、EPO に対する反応性異常、鉄代謝障害など、さまざまな因子が貧血の病態生理に関与していることが長年指摘されてきたが、その原因については不明点が多かった。CKD-MBD 同様、腎性貧血における FGF-23 の病態への役割を解明することが、その治療、管理を改善することにつながると考えられる。さらなる研究の進展に期待したい。

文 献

- 1) David V, Francis C, Babitt JL : Ironing out the cross talk between FGF23 and inflammation. *Am J Physiol Renal Physiol* **312** : F1-F8, 2017
- 2) Rossaint J, Unruh M, Zarbock A : Fibroblast growth factor 23 actions in inflammation : a key factor in CKD outcomes. *Nephrol Dial Transplant* **32** : 1448-1453, 2017
- 3) Babitt JL, Sitara D : Crosstalk between fibroblast growth factor 23, iron, erythropoietin, and inflammation in kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **28** : 304-310, 2019
- 4) Edmonston D, Wolf M : FGF23 at the crossroads of phosphate, iron economy and erythropoiesis. *Nat Rev Nephrol* **16** : 7-19, 2020
- 5) van Vuren AJ, Gaillard C, Eisenga MF, et al : The EPO-FGF23 Signaling Pathway in Erythroid Progenitor Cells : Opening a New Area of Research. *Front Physiol* **10** : 304, 2019
- 6) Takeda Y, Komaba H, Goto S, et al : Effect of intravenous saccharated ferric oxide on serum FGF23 and mineral metabolism in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* **33** : 421-426, 2011
- 7) Coe LM, Madathil SV, Casu C, et al : FGF-23 is a negative regulator of prenatal and postnatal erythropoiesis. *J Biol Chem* **289** : 9795-9810, 2014
- 8) Hanudel MR, Eisenga MF, Rappaport M, et al : Effects of erythropoietin on fibroblast growth factor 23 in mice and humans. *Nephrol Dial Transplant* **34** : 2057-2065, 2019
- 9) Smith ER, Cai MM, McMahon LP, et al : Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. *J Clin Endocrinol Metab* **97** : 3357-3365, 2012
- 10) Mace ML, Gravesen E, Hofman-Bang J, et al : Key role of the kidney in the regulation of fibroblast growth factor 23. *Kidney Int* **88** : 1304-1313, 2015
- 11) Takashi Y, Kosako H, Sawatsubashi S, et al : Activation of unliganded FGF receptor by extracellular phosphate potentiates proteolytic protection of FGF23 by its O-glycosylation. *Proc Natl Acad Sci USA* **116** : 11418-11427, 2019
- 12) Mehta R, Cai X, Hodakowski A, et al : Fibroblast Growth Factor 23 and Anemia in the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *Clin J Am Soc Nephrol* **12** : 1795-1803, 2017
- 13) Flamme I, Ellinghaus P, Urrego D, et al : FGF23 expression in rodents is directly induced via erythropoietin after inhibition of hypoxia inducible factor proline hydroxylase. *PLoS One* **12** : e0186979, 2017
- 14) Agoro R, Park MY, Le Henaff C, et al : C-FGF23 peptide alleviates hypoferremia during acute inflammation. *Haematologica*, 2020 (in press)
- 15) Block GA, Block MS, Smits G, et al : A Pilot Randomized Trial of Ferric Citrate Coordination Complex for the Treatment of Advanced CKD. *J Am Soc Nephrol* **30** : 1495-1504, 2019

*

*

*