

## 特集：再生医療と栄養

## ビタミンDの代謝調節と体内時計の関与について

山本浩範<sup>1,5)</sup>, 石黒真理子<sup>1)</sup>, 福田詩織<sup>2)</sup>, 中橋乙起<sup>3)</sup>, 田中更沙<sup>4)</sup>,  
増田真志<sup>5)</sup>, 武田英二<sup>5)</sup>, 竹谷 豊<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 仁愛大学人間生活学部健康栄養学科

<sup>2)</sup> 島根県立大学看護栄養学部健康栄養学科

<sup>3)</sup> 徳島文理大学人間生活学部食物栄養学科

<sup>4)</sup> 兵庫県立大学環境人間学部食健康栄養課程

<sup>5)</sup> 徳島大学大学院医歯薬学研究部食環境管理学分野

(令和6年1月29日受付) (令和6年2月19日受理)

## はじめに

慢性腎不全患者や透析患者では、尿中リン排泄およびビタミンD\*の活性化障害による高リン血症、低ビタミンD血症を生じるため、二次性副甲状腺機能亢進、腎性骨異常栄養症、血管や心臓における異所性石灰化へと重症化し、心血管疾患発症および死亡リスクを増大させる。また、近年、透析導入患者の約半数が糖尿病を合併していることから、三大合併症の糖尿病腎症への進展予防が重要となる。さらに、高リン血症は、腎機能が正常でも心不全の発症および死亡リスクが上昇することや、リンおよび活性型ビタミンDである1,25(OH)<sub>2</sub>Dの血中濃度は日内リズムが存在することが報告されている。このことから、健常時から疾患時の幅広いライフステージにおける食事リンの量的・質的・時間的な栄養管理は、ビタミンD・カルシウム・骨代謝の恒常性維持や腎疾患の発症・進展予防に役立つだけでなく、糖尿病や炎症性疾患を中心とした生活習慣病の重症化予防にも役立つと考えられる。本稿では、腎疾患におけるビタミンDの欠乏・不足、日内リズムとの関係、ビタミンD代謝調節の研究から明らかになったエネルギー・コレステロール代謝との関連、ライフステージにおけるリン感受性の違いや異所性石灰化の発症リスクについて紹介する（\*本稿中、ビタミンDはビタミンD<sub>3</sub>とビタミンD<sub>2</sub>の総和を意味する）。

## 1. ビタミンDの代謝と必要量

ビタミンDの供給源は、皮膚からの合成と食品から

の摂取であり、ヒトを含む哺乳動物の皮膚で日光の紫外線によりプロビタミンD<sub>3</sub> (7-デヒドロコレステロール) が合成され、体温による熱異性化によりビタミンD<sub>3</sub> (カルシフェロール) が生成する。食品中には、キノコ類に含まれるビタミンD<sub>2</sub> (エルゴカルシフェロール) と魚肉および魚類肝臓に含まれるビタミンD<sub>3</sub> (コレカルシフェロール) がある。ビタミンD代謝における活性化の最初のステップは、肝臓の水酸化酵素CYP2R1またはCYP27A1により25位が水酸化され、25-ヒドロキシビタミンD [25(OH)D] が生じる。25(OH)Dは、ビタミンD結合タンパク質(DBP)と共に血中を循環する。次いで、腎臓の近位尿管細胞の水酸化酵素CYP27B1により25(OH)Dの1位が水酸化され活性型ビタミンDとして1α, 25-ジヒドロキシビタミンD [1, 25(OH)<sub>2</sub>D] が産生される。一方、CYP24A1は、25(OH)Dや1, 25(OH)<sub>2</sub>Dの24位を水酸化することで異化反応を担う。1, 25(OH)<sub>2</sub>Dは、核内受容体のビタミンD受容体(VDR)に結合して、転写因子として標的遺伝子の発現を調節することで、その生物活性を発揮する<sup>1)</sup>。

食事摂取基準の算定には、25(OH)Dの血中濃度20 ng/mLを参照値として用いている。18歳以降の目安量は、男女共8.5 μg/日である。25(OH)Dは、血中にDBPと結合して長期間安定して存在するため、ビタミンDの充足・不足状態を正確に反映する栄養指標とされている。「ビタミンD不足・欠乏の判定指針」では、血中25(OH)D濃度が30 ng/mL以上を「充足」、30 ng/mL未満を「非充足」、20 ng/mL以上、30 ng/mL未満を「不足」、20 ng/mL未満を「欠乏」と判定するとし

ている<sup>2,3)</sup>。

## 2. ビタミンD代謝異常と疾患

持続的なビタミンD欠乏では、カルシウム代謝異常を伴う骨の石灰化障害（小児：くる病，成人：骨軟化症）が惹起される一方、ビタミンD過剰により、高カルシウム血症、尿路結石を含む腎障害、心血管を中心とした軟組織の石灰化などが起こる。また、ビタミンDの生理作用には、骨・カルシウム代謝調節作用だけでなく、自己免疫疾患の乾癬、抗がん作用、抗炎症作用そして結核菌やインフルエンザウイルス、Covid-19に対する抗菌・抗ウイルス作用、免疫賦活作用など多様な生理作用を有しており、ビタミンD欠乏や不足の回避は、健康維持だけでなく疾患予防および重症化予防に期待されている<sup>4)</sup>。

ビタミンD代謝異常は、ビタミンDの代謝酵素や受容体、代謝調節因子（PTH, FGF23）などに関連する先天性代謝異常症だけでなく、生活習慣病の一つとされる慢性腎臓病CKDや透析の患者において問題となる。CKDの進行において血中25(OH)Dおよび1,25(OH)<sub>2</sub>Dの濃度は共に低下するが、その低下についてはさまざまなメカニズムが提唱されている。1) 腎近位尿細管細胞の脱落によりCYP27B1発現量が低下する。2) より早期の段階からFGF23がCYP27B1発現ならびに活性を低下させる。3) ビタミンD結合蛋白DBPと結合し血中を循環する25(OH)Dは、近位尿細管に存在するメガリンを介して再吸収されるため、尿細管障害に伴い25(OH)Dの再吸収が阻害される。また、尿蛋白が多い症例ほど血中ビタミンD濃度が低下することから、DBPとともに尿中に漏出する。4) 尿毒症による皮膚でのビタミンD合成能の低下や日光照射不足、そして、5) 治療を目的とした食事制限によるビタミンDの摂取不足などが考えられている<sup>5)</sup>。

## 3. ビタミンDと日内リズム

これまでにヒトにおいて1,25(OH)<sub>2</sub>Dの血中濃度に日内リズムが存在し、その濃度は夜間で低く朝食後上昇することが報告されている<sup>6)</sup>。また、ニワトリにおいて腎臓での活性型ビタミンDの生産能は、暗期から明け方にかけて減少し明期で上昇することが報告されている<sup>7)</sup>。つまり、腎臓での1,25(OH)<sub>2</sub>D産生も血中濃度と同様に

日内変動がみられたため、活性型ビタミンDの生理作用においても時間によって異なる可能性が考えられる。近年、VDRと時計遺伝子CLOCK, BMAL1との相互作用が報告され、特に小腸や骨組織でのビタミンD作用の日内リズムの存在とそのメカニズムが報告されている<sup>8)</sup>。5/6腎摘ラットや二次性副甲状腺機能亢進症の患者において、活性型ビタミンD投与は投与時間、タイミングにより薬理効果だけでなく、高カルシウム血症や高リン血症などの副作用の発生に差異が生じる報告があり、活性型ビタミンDの時間治療、時間薬理学への応用が期待されている<sup>9,10)</sup>。

## 4. リン・ビタミンDとコレステロール代謝

リン代謝を調節する主な因子としては、副甲状腺ホルモン（PTH）や線維芽細胞増殖因子23（FGF23）、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>が知られているが、甲状腺ホルモン（T<sub>3</sub>）やレチノイン酸（RA）によってもリン再吸収が亢進することが知られている<sup>11)</sup>。T<sub>3</sub>は、核内受容体スーパーファミリーに属する甲状腺ホルモン受容体（Thyroid hormone receptor：TR）を介してコレステロールの肝臓への取り込みに関わるLDL受容体やコレステロール・胆汁酸代謝酵素であるCYP7A1発現を活性化化するなどの作用により血中コレステロール値を低下させる。筆者らはT<sub>3</sub>による血中リン濃度の上昇作用には腎近位尿細管でのリン再吸収調節を担うSLC34ファミリーに属するSlc34a1（Npt2a）が必須であること、およびT<sub>3</sub>はTR依存的にNpt2a遺伝子上のT<sub>3</sub>応答エレメント（TRE）を介して転写活性を上昇させることを明らかにした<sup>12)</sup>。次に筆者らはリンとコレステロールの相互代謝調節についてマウスを用いて検討した。食餌性のリンを制限した群では、リン充足群と比し肝臓コレステロール蓄積の上昇およびCyp7a1発現の低下が観察された。またリン制限食は、血中FGF23値の低下および1,25(OH)<sub>2</sub>D値を上昇させることでVDR依存的に回腸FGF15発現を上昇させることを見出した<sup>13,14)</sup>。さらに興味深いことに回腸FGF15および肝臓Cyp7a1発現レベル、血中トリグリセリド値は日内リズムを示し、食餌性リン制限は肝臓Cyp7a1発現レベルおよび血中トリグリセリド値の位相に影響を与えた（図1）。

血中コレステロール値の低下を伴う甲状腺機能亢進症（バセドウ病）患者では、血中リン濃度の上昇および血中1,25(OH)<sub>2</sub>D濃度の低下を生じることが報告されてい

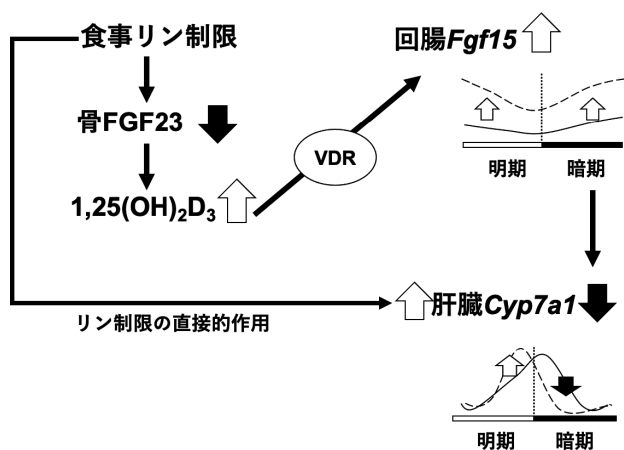


図1 ビタミンD/VDRを介した食事性リンによるコレステロール代謝調節の経路

食事リン制限時には、FGF23作用が低下することで1,25(OH)<sub>2</sub>D値が上昇し、日内リズムを示す回腸FGF15 mRNA発現はVDR依存的に明期、暗期ともに促進される。肝臓Cyp7a1 mRNA発現は、リン制限の直接的な作用およびFGF15作用により位相が前進（明期で上昇、暗期で低下）する。グラフ内の実線はコントロール食摂取時、点線はリン制限食摂取時を示す。

る<sup>15)</sup>。筆者らはマウスへのT<sub>3</sub>投与はリン代謝の変動だけでなく、血中1,25(OH)<sub>2</sub>D値および腎臓のCYP27B1発現の低下を示すことを観察した。さらに、T<sub>3</sub>およびTRαおよびβ1は、CYP27B1遺伝子プロモーター上の負のT<sub>3</sub>応答領域(1α-negative TRE; 1α-nTRE)を介して転写活性を抑制すること、1α-nTREは、Sterol regulatory element-binding proteinであるSREBP-1a, SREBP-1cおよびSREBP-2が結合するステロール応答エレメント(SRE)として転写促進エレメントとしても機能することを見出した<sup>16)</sup>。さらに、CYP24A1遺伝子の転写活性においてもSREBPにより促進され、ヒトおよびマウスCYP24A1遺伝子プロモーター上にSREを見出した。CYP24A1遺伝子プロモーター上のSREは、2カ所のVDREに挟まれる位置に存在し、SREBP-1cは1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>による本遺伝子の転写誘導活性をさらに増強させた<sup>17)</sup>。これらのことから、SREBPは、CYP27B1およびCYP24A1両酵素の遺伝子発現を正に調節する因子であり、25(OH)D<sub>3</sub>から1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の合成と分解の両代謝を促すことが考えられる。実際、25(OH)D<sub>3</sub>、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の3つのビタミンD代謝産物、特に25(OH)D<sub>3</sub>が、SCAP(SREBP cleavage-activating protein)の分解、SREBPタンパクの不安定化させることで脂質代謝を調節する可能性が報告されている<sup>18)</sup>。このように1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の合成や分解のビタミ

ンD代謝調節には、VDR非依存的なSREBPタンパクを介した複雑な調節系が存在すると考えられる(図2)。

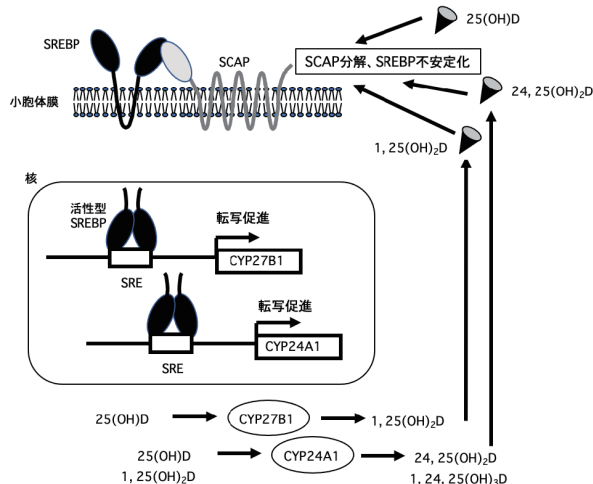


図2 SREBPによるビタミンD代謝調節機構

ビタミンD代謝酵素であるCYP27B1およびCYP24A1遺伝子のプロモーター上にはSRE(Sterol regulatory element)が存在し、SREBP(SRE-binding protein)により転写が促進される。生成されたビタミンD代謝産物の1,25(OH)<sub>2</sub>Dや24,25(OH)<sub>2</sub>D、1,24,25(OH)<sub>3</sub>Dおよび25(OH)Dは、SCAP(SREBP cleavage-activating protein)のタンパク分解およびSREBPタンパクの不安定化させ、SREBP活性化を抑制する。

## 5. ライフステージにおけるリン感受性の違い

リン調節因子であるFGF23は、腎臓においてα-klothoを共役受容体としてFGFR1cを介して作用し、腸管でのリン吸収と腎臓でのリン再吸収を抑制することで尿中リン排泄を促進する。当初、α-klothoは老化抑制遺伝子として同定されたが、α-klothoの発現低下や欠損は、高リン血症を介して異所性石灰化や骨粗鬆症など早期老化様病変を誘発することが明らかにされた<sup>19)</sup>。つまり、リン代謝異常は老化症状と関連することから、ライフステージ(年齢)によってリン感受性に違いが存在する可能性が考えられた。そこで、3週齢(成長期)と7週齢(青年期)、13ヵ月齢(壮年高齢期)において、リン、ビタミンD代謝および腎α-klotho発現、異所性石灰化に及ぼす食餌性リン感受性について調べた。その結果、離乳直後の成長期に1.8%の高リン食(対照は0.6%)を2週間摂取させると、著しい成長障害を呈し、腎臓および血管組織に異所性石灰化を生じ、若年期は成人マウス

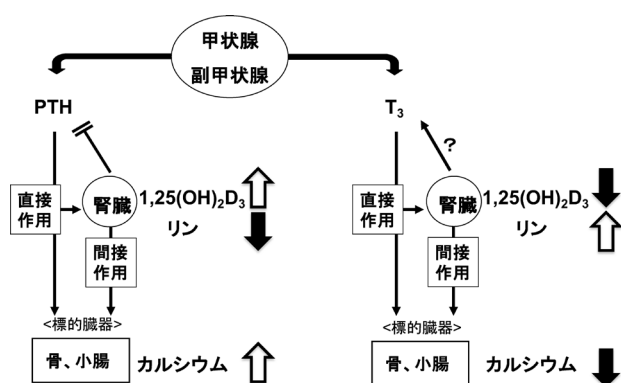


図3 甲状腺ホルモン、副甲状腺ホルモンによるリン・ビタミンD・カルシウム代謝調節機構

に比しリン感受性が高いことを見出した。さらに、リン・ビタミンD代謝調節因子であるKlotho発現の減弱が生じることを明らかにした。これらの結果は、成長期（特に幼若期）における高リン食摂取が、青年期以降の期間よりもより有害である可能性が示された<sup>20, 21)</sup>。

#### おわりに

リン、ビタミンD代謝調節機構については、未だ不明な点が多く、さらなる解析が必要であるが、組織学的に非常に密接した甲状腺および副甲状腺から放出される $T_3$ 、PTHには、骨や腸管に対する直接的な作用だけでなく腎臓でのリン再吸収や $1, 25(OH)_2D_3$ 産生を介した間接的に正または負に調節する役割がある（図3）。このことは、膵臓の $\alpha$ 細胞、 $\beta$ 細胞からのグルカゴンやインスリンによる糖代謝調節を連想する。また、従来から知られていた食餌性リンのFGF23を介するリン、ビタミンD代謝調節に加え、その作用の下流には回腸FGF15発現が調節を受けることにより肝臓のコレステロール代謝に影響を及ぼすことが明らかになり、リン、ビタミンD、コレステロール代謝の調節系の存在が示された。さらに、ライフステージの違いによって、リン感受性が異なることからこれらの研究の発展は、代謝性骨疾患や甲状腺疾患だけでなく慢性腎臓病や糖尿病をはじめとする生活習慣病におけるリン・ビタミンD代謝変動を理解する手がかりとなり、それら疾患の予防や治療時の栄養管理に役立つことが期待される。

#### 謝 辞

本研究は、科研費（22680053, 25282022, 16K00875）および仁愛大学共同研究費による助成を受けたものである。

#### 文 献

- 1) Saponaro, F., Saba, A., Zucchi, R.: An Update on Vitamin D Metabolism. *Int J Mol Sci.*, **21** (18) : 6573, 2020
- 2) 田中清, 榑原晶子, 津川尚子: 日本人の食事摂取基準2020年版におけるビタミンD. *Vitamins (Japan)*, **94** (7) : 375-381, 2020
- 3) Okazaki, R., Sugimoto, T., Kaji, H., Fujii, Y., *et al.*: Vitamin D insufficiency defined by serum 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone before and after oral vitamin  $D_3$  load in Japanese subjects. *J Bone Miner Metab.*, **29** : 103-110, 2011
- 4) Bouillon, R., Marcocci, C., Carmeliet, G., Bikle, D., *et al.*: Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D : Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocr Rev.*, **40** (4) : 1109-1151, 2019
- 5) Fukagawa, M., Komaba, H., Hamano, T.: Vitamin D supplementation in renal disease : is calcitriol all that is needed?. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.*, **243** : 120-123, 2012
- 6) Rejnmark, L., Lauridsen, A. L., Vestergaard, P., Heickendorff, L., *et al.*: Diurnal rhythm of plasma 1, 25-dihydroxyvitamin D and vitamin D-binding protein in postmenopausal women : relationship to plasma parathyroid hormone and calcium and phosphate metabolism. *Eur J Endocrinol.*, **146** (5) : 635-642, 2002
- 7) Miller, B.: Norman A W Evidence for circadian rhythms in the serum levels of the vitamin D-dependent calcium-binding protein and in the activity of the 25-hydroxyvitamin  $D^3$ -1 $\alpha$ -hydroxylase in the chick : studies on the mode of action of calciferol. *FEBS Lett.*, **141** (2) : 242-244, 1982
- 8) Kawai, M., Kinoshita, S., Yamazaki, M., Yamamoto, K., *et al.*: Intestinal clock system regulates skeletal

- homeostasis. *JCI Insight.*, **4**(5) : e121798, 2019
- 9) Tsuruoka, S., Nishiki, K., Sugimoto, K., Fujimura, A.: Time of day improves efficacy and reduces adverse reactions of vitamin D<sub>3</sub> in 5/6 nephrectomized rat. *Life Sci.*, **71**(15) : 1809-1820, 2002
  - 10) Tsuruoka, S., Wakaumi, M., Sugimoto, K., Saito, T., *et al.*: Chronotherapy of high-dose active vitamin D<sub>3</sub> in haemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism : a repeated dosing study. *Br J Clin Pharmacol.*, **55**(6) : 531-537, 2003
  - 11) Forster, I., Hernando, N., Sorribas, V., Werner, A.: Phosphate transporters in renal, gastrointestinal, and other tissues. *Adv Chronic Kidney Dis.*, **18**(2) : 63-76, 2011
  - 12) Ishiguro, M., Yamamoto, H., Masuda, M., Kozai, M., *et al.*: Thyroid hormones regulate phosphate homeostasis through transcriptional control of the renal type IIa sodium-dependent phosphate co-transporter (Npt2a) gene. *Biochem J.*, **427**(1) : 161-169, 2010
  - 13) Nakahashi, O., Yamamoto, H., Tanaka, S., Kozai, M., *et al.*: Short-term dietary phosphate restriction up-regulates ileal fibroblast growth factor 15 gene expression in mice. *J Clin Biochem Nutr.*, **54**(2) : 102-108, 2014
  - 14) Tanaka, S., Yamamoto, H., Nakahashi, O., Kagawa, T., *et al.*: Dietary phosphate restriction induces hepatic lipid accumulation through dysregulation of cholesterol metabolism in mice. *Nutr Res.*, **33**(7) : 586-593, 2013
  - 15) Yamashita, H., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Yamashita, T., *et al.*: Fibroblast growth factor-23 in patients with Graves' disease before and after antithyroid therapy : its important role in serum phosphate regulation. *J Clin Endocrinol Metab.*, **90**(7) : 4211-4215, 2005
  - 16) Kozai, M., Yamamoto, H., Ishiguro, M., Harada, N., *et al.*: Thyroid hormones decrease plasma 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D levels through transcriptional repression of the renal 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 1 $\alpha$ -hydroxylase gene (CYP27B1). *Endocrinology.*, **154**(2) : 609-622, 2013
  - 17) Kagawa, T., Kozai, M., Masuda, M., Harada, N., *et al.*: Sterol regulatory element binding protein 1 trans-activates 25-hydroxy vitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase gene expression in renal proximal tubular cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, **500**(2) : 275-282, 2018
  - 18) Asano, L., Watanabe, M., Ryoden, Y., Usuda, K., *et al.*: Vitamin D metabolite, 25-hydroxyvitamin D, regulates lipid metabolism by inducing degradation of SREBP/SCAP. *Cell Chem Biol.*, **24** : 207-217, 2017
  - 19) Kuro-o, M.: Klotho, phosphate and FGF-23 in ageing and disturbed mineral metabolism. *Nat Rev Nephrol.*, **9**(11) : 650-60, 2013
  - 20) Yoshikawa, R., Yamamoto, H., Nakahashi, O., Kagawa, T., *et al.*: The age-related changes of dietary phosphate responsiveness in plasma 1, 25-dihydroxyvitamin D levels and renal Cyp27b1 and Cyp24a1 gene expression is associated with renal  $\alpha$ -Klotho gene expression in mice. *J Clin Biochem Nutr.*, **62**(1) : 68-74, 2018
  - 21) Fukuda-Tatano, S., Yamamoto, H., Nakahashi, O., Yoshikawa, R., *et al.*: Regulation of  $\alpha$ -Klotho Expression by Dietary Phosphate During Growth Periods. *Calcif Tissue Int.*, **104**(6) : 667-678, 2019

## *Systemic regulation and circadian rhythms of vitamin D metabolism*

*Hironori Yamamoto<sup>1,5)</sup>, Mariko Ishiguro<sup>1)</sup>, Shiori Fukuda<sup>2)</sup>, Otoki Nakahashi<sup>3)</sup>, Sarasa Tanaka<sup>4)</sup>, Masashi Masuda<sup>5)</sup>, Eiji Takeda<sup>5)</sup>, and Yutaka Taketani<sup>5)</sup>*

<sup>1)</sup>*Department of Health and Nutrition, Faculty of Human Life, Jin-Ai University, Fukui, Japan*

<sup>2)</sup>*Department of Health and Nutrition, Faculty of Nursing and Nutrition, University of Shimane, Shimane, Japan*

<sup>3)</sup>*Division of Functional Food Chemistry, Institute for Health Science, Tokushima Bunri University, Tokushima, Japan*

<sup>4)</sup>*School of Human Science and Environment, University of Hyogo, Hyogo, Japan*

<sup>5)</sup>*Department of Clinical Nutrition and Food Management, Institute of Biomedical Sciences, University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

In chronic renal failure patients and dialysis patients, hyperphosphatemia and hypovitaminosis occur due to impaired urinary phosphorus excretion and vitamin D activation, leading to secondary hyperparathyroidism and renal osteodystrophy. These events can lead to severe ectopic calcification in blood vessels and the heart, increasing the risk of cardiovascular disease and death. In recent years, approximately half of patients undergoing dialysis have diabetes, so it is important to prevent the progression to diabetic nephropathy as one of the three major complications. Furthermore, it has been reported that hyperphosphatemia increases the risk of developing heart failure and death even when renal function is normal, and blood concentrations of phosphorus and 1, 25(OH)<sub>2</sub>D, the active form of vitamin D, have a circadian rhythm. Therefore, quantitative, qualitative, and temporal nutritional management of dietary phosphorus during a wide range of life stages from healthy to disease is important for maintaining homeostasis of vitamin D, calcium, and bone metabolism, and for preventing the onset and progression of kidney disease, not only is it useful, but it is also thought to be useful in preventing lifestyle-related diseases such as diabetes and inflammatory diseases from becoming more severe. In this article, we will discuss vitamin D deficiency/insufficiency in renal disease, its relationship with circadian rhythms, energy and cholesterol metabolism revealed through research on the regulation of vitamin D metabolism, differences in phosphorus sensitivity at life stages.

Key words : vitamin D, kidney disease, circadian rhythm, CYP27B1, CYP24A1