

日本骨代謝学会50周年を迎えて



日本骨代謝学会 理事長 田中 栄

(東京大学大学院医学系研究科感覚・運動機能医学講座整形外科学 教授)

日本骨代謝学会の前身である「骨代謝研究会」が産声を上げたのは1967年6月17日のことです。当時は会員数も少なく、第1回研究会は東京大学医学部の会議室で開催されました。しかし発表演題をみると、副甲状腺機能亢進症、骨系統疾患、消化管手術後の骨病変、糖尿病に伴う骨病変、腫瘍性骨軟化症など多岐にわたるとともに、現在にもつながる先進的な内容であり、発足当時の学会の熱気や勢いが伝わる内容となっています。さて2017年に本学会は50周年を迎えましたが、この半世紀で骨代謝研究は大きな進歩を遂げてきました。骨代謝を制御する細胞の分化や機能を調節する因子が次々と解明され、骨代謝の制御機構も分子レベルで明らかになってきました。そしてこれらの研究分野において、日本骨代謝学会は中心的

な役割を果たしてきました。また社会の高齢化に伴って大きな社会問題となっている骨粗鬆症の治療薬開発に、これらの研究成果が大いに貢献してまいりました。

この度、『骨研究の歩み ―日本骨代謝学会創立50周年特別寄稿―』を発刊することになりました。冊子の内容は2017年の第35回日本骨代謝学会で行われた「50周年記念シンポジウム」をベースにしていますが、このシンポジウムは、それぞれの分野をリードしてこられた方々の功績を紹介することで、学会の歩んできた道を振り返ろうという目的で企画されたものです。また、現在一線で活躍しておられる方々による座談会も同時に掲載しております。この冊子を通じて、骨代謝研究半世紀の流れを肌で感じていただければ幸いです。

CHAPTER

I

日本骨代謝学会 50周年記念シンポジウム

(第35回 日本骨代謝学会学術集会, 2017年7月27日開催)

演者

- 杉本 利嗣** 島根大学医学部内科学講座内科学第一 教授
- 遠藤 直人** 新潟大学大学院医歯学総合研究科機能再建医学講座整形外科学分野 教授
- 米田 俊之** 大阪大学大学院歯学研究科分子免疫制御学講座生化学教室 特任教授
- 高橋 直之** 松本歯科大学総合歯科医学研究所 所長
- 松本 俊夫** 徳島大学 名誉教授 / 藤井節郎記念医科学センター 顧問

座長

- 田中 栄** 東京大学大学院医学系研究科感覚・運動機能医学講座整形外科学 教授
- 田中 良哉** 産業医科大学医学部第1内科学講座 教授



田中 栄



田中 良哉

カルシウム・骨代謝研究のあゆみ - 藤田拓男先生の業績に焦点を当てて -

杉本 利嗣 鳥根大学医学部内科学講座内科学第一 教授



1967年に骨代謝研究会が設立されて以降、藤田拓男先生は常に大きな役割を果たしてこられました。第16回骨代謝研究会が発展的改称により日本骨代謝学会となり、その翌年の第2回日本骨代謝学会(1984年)では学会長ならびに理事長を務められ、その後も現在に至るまで本学会の発展に多大な貢献をされてきておられます。

また、国際的には、カルシウム(Ca)・骨代謝領域と骨粗鬆症領域でそれぞれわが国初の国際学会となるInternational Conference on Calcium Regulating HormoneとInternational Conference on Osteoporosisなど3つの学会を神戸で主催され、国際学術交流を盛んにし、研究者の裾野と視野を広げることに貢献されました。

藤田先生は1952年に東京大学医学部をご卒業後、米国バッファロー大学に留学され、その時図書館で、当地の出身であるFuller Albrightの名著『Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease』を読んで、感銘を受けたことをきっかけに、Ca・骨代謝領域の研究に足を踏み入れられたと伺っています。

帰国後は東京大学の第三内科、老年科、そして和歌山県立医科大学の教授を経て、1978年に神戸大学第三内科の教授に就任され、1991年に退官されるまで一貫してCa・骨代謝研究を進めてこられました。

藤田先生の一貫した姿勢“藤田イズム”は、いつまで経っても私の頭の中から離れることはありません。「Caは生命の源」とは先生の口癖です。Caが不足すると骨が粗鬆化する反面、血管を始めとした種々の臓器、細胞がCa過飽和状態とな

り、全身の臓器障害をきたすこと、そしてこの謎を解くカギとして、PTHというホルモンを提起されました。

「運動器病学を内科学の新しい領域と捉え、内科側(運動器内科)と外科側(整形外科)の協力体制の構築が重要である」と力説され、わが国で内科系では初となる骨粗鬆症外来を開設されました。

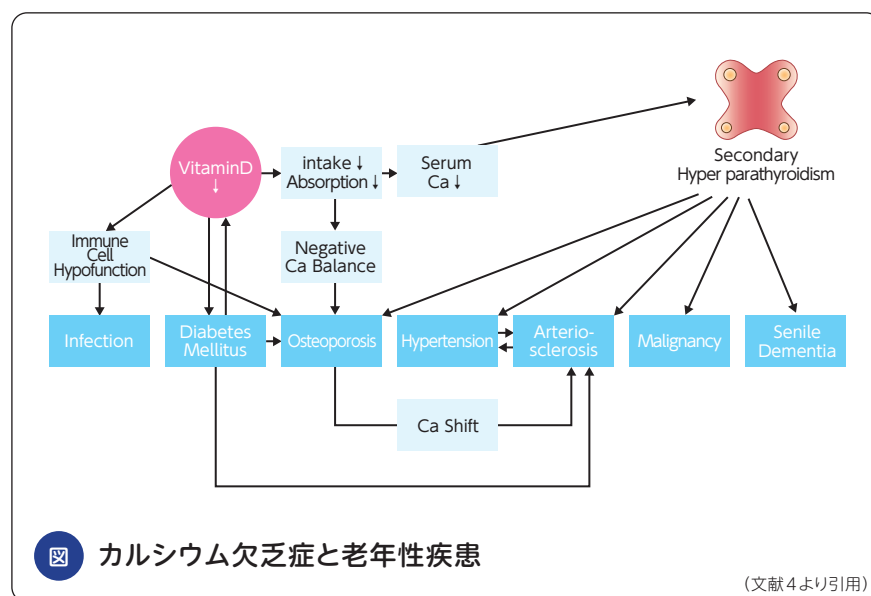
次に、具体的な業績についてご紹介します。先に述べたように、藤田先生は、Caが不足すると、PTHが過剰分泌されて骨からCaが出ていく一方、血管を始めとする臓器では逆流的にCaが沈着し、臓器障害を起こすという概念、すなわちCa・パラドックスを提起されました。これを立証すべく、紀伊半島で沿岸部・山間部住民を対象とした疫学調査を行い、Ca・ビタミンD不足と骨粗鬆症、動脈硬化ならびに心血管障害の密接な関連性を明らかにされました¹⁾²⁾。

また、PTHの関与について、折茂肇先

生らとともにPTHのラジオイムノアッセイ系を確立し、骨粗鬆症患者ではPTHが高く、PTHが高いほど腰椎変形度が大きいことを示されました³⁾。

以上、藤田先生は、PTHをCa・骨代謝研究の開拓者となるホルモンと位置づけ、1980年半ばで既に、Ca・ビタミンD不足がPTH上昇などを介して多臓器に障害を及ぼすこと、さらにビタミンD不足・欠乏は糖尿病の発症ならびに免疫異常をきたして骨粗鬆症の発症に関与することを力説されていました(図)⁴⁾。そして、骨粗鬆症の成因として、Fuller Albrightが提唱したエストロゲン欠乏に加え、Ca欠乏、免疫異常、酸化ストレスの関与を強調されていました。近年、骨と多臓器の連関が注目されていますが、これも30数年前に藤田先生が提唱されていた概念が源流にあると思いつく次第です。

一方、基礎研究においては、PTH生



体内代謝と分解機構, PTHバイオアッセイ法, 骨形態計測も含めた骨や腎臓でのPTH・PTHrPの細胞内情報伝達・作用様式等に関する研究を指導され, 坂口和成先生, 山口徹先生, 北澤理子先生はじめ多くの藤田門下の先生方が実績をあげています。

次に, わが国における骨粗鬆症治療薬の開発について振り返りますと, 藤田先生と門下は, PTH (1-34)であるテリパラチドの臨床応用について, 大きな役割を果たしてきました⁵⁾。

1987年, テリパラチドが体外診断薬として臨床応用された後, 骨粗鬆症治療薬として, 藤田先生を中心に週1回注射製剤の開発がスタートしました。1999年には, 第II相後期試験で著明な骨密度の上昇が確認され, 満を持して2000年に椎体骨折防止効果を確認する試験が開始されました。しかし, ラットでの長期投与により骨肉腫の発生がみられたことにより, 試験は一旦中止になりました。その後, 2007年に再開され, 著明な骨折防止効果が認められ, 承認されるに至っています。また, 連日投与製剤の臨床応用には, 藤田先生の愛弟子である宮内章光先生が週1回注射製剤より1年先行した臨床現場への登場に貢献されました。

非常に多くの代謝性骨疾患の症例を経験させていただき, 原発性副甲状腺機能亢進症, 分泌低下型副甲状腺機能低下症などでdisease-oriented researchを進めることができました。また, この領域を専門にしているにもかかわらず実際に経験することが稀な偽性副甲状腺機能低下症1b型, あるいはFGF23関連骨疾患やこれの鏡像的疾患である腫瘍性石灰沈着症, 進行性骨化性線維異形成症などについて, 国内外との共同研究で病因解明に繋がる研究もさせていただき, patient-oriented researchの面白さも教えていただきました。

このなかで特に印象に残っているのが, 腫瘍性骨軟化症です。今でこそ広く知られた疾患ですが, 1980年代半ば, 数年来の進行性の骨痛と筋力低下が, 大腿骨血管周囲細胞腫を切除することで軽快した症例でした。宮内章光先生らは, この腫瘍をヌードマウスに移植したモデルを世界に先駆けて確立し, 故 深瀬正晃先生が留学中に開発された近位尿管細胞培養系

を用いて, 腫瘍抽出物が $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 産生を抑制することを立証されました⁶⁾。

その後, 1990年代より, 骨粗鬆症領域においては折茂肇先生らによる「骨粗鬆症の治療に関するガイドライン」, 森井浩世先生, そして西澤良記先生らによる「骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン」, 代謝性骨疾患においては尾形悦郎先生らによる「偽性副甲状腺機能低下症の診断マニュアル」, 清野佳紀先生, そして松本俊夫先生らによる「副甲状腺機能低下症を含む低Ca血症の鑑別診断マニュアル」, 「くる病・骨軟化症の診断マニュアル」, 「ビタミンD不足・欠乏の判定指針」を始めとするわが国のガイドライン, マニュアルが数多く策定されてきています。

以上, 藤田イズムを直接, あるいは間接的に受け継いだ門下生は数多く臨床, 基礎領域で活躍しており, あらためて藤田拓男先生はわが国のCa・骨代謝領域のパイオニア的存在であると実感する次第です。

REFERENCES

- 1) Fujita T, et al. J Am Geriatr Soc. 1977; 24: 254-57.
- 2) Fujita T, et al. J Am Geriatr Soc. 1984; 32: 124-8.
- 3) Fujita T, Orimo H, et al. Endocrinol Jpn. 1972; 19: 571-7.
- 4) Fujita T. Miner Electrolyte Metab. 1986; 12: 149-56.
- 5) Fujita T, et al. Osteoporos Int. 1999; 9: 296-306.
- 6) Miyauchi A, Fujita T, et al. J Clin Endocrinol Metab. 1988; 67: 46-53.

わが国における骨形態計測研究のあゆみ — 高橋榮明先生のご業績を中心に —

遠藤 直人 新潟大学大学院医歯学総合研究科機能再建医学講座整形外科分野 教授



組織学的骨形態計測法は, その大きな特徴として, 第一に骨の代謝動態を直接的に評価できる点が挙げられます。骨形成と骨吸収を数値として算出することで骨の組織や形態を定量評価し, またテトラサイクリン系の抗生剤をタイムマーカーとして用い

ることにより, 骨形成速度に代表される時間の要素を加味した評価が行えます。さらに, 石灰化の程度の評価も可能となります。

第二に, 骨軟化症などの病態診断や, 薬剤効果の判定に有用である点が挙げられます。非脱灰標本では, 類骨(未石

灰化骨)と石灰化骨の識別が可能で, 過剰な類骨がある場合に石灰化障害(骨芽細胞機能障害)を示し, 組織学的な骨軟化症の確定診断に繋がります。

さて, 日本における骨形態計測学分野は, 1979年に新潟大学講義室にて開催

された第1回骨形態計測実技講習会を始まりとしています。この後、第7回から骨形態計測研究会、第10回以降は日本骨形態計測学会として、さらなる発展を遂げてきました。

学会として、和文誌では『日本骨形態計測学会雑誌』、英文雑誌として『JBMM』をオフィシャルジャーナルとして発行しているほか、1983年には『骨形態計測ハンドブック』を出版して1997年には第2版を重ねています。

骨形態計測学分野における業績面では、まずはFrost研究室における研究成果が注目されます。1964年、高橋先生は骨形態計測学の創始者であるFrost先生とともにヒトの骨の代謝機能単位を検討し、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成との間に時間的・空間的關係がある¹⁾ことを初めて示されました。すなわち、細胞組織レベルで骨の吸収活動は、骨の形成活動に常に先行するというリモデリングの基本的事実を明らかにされたのです。

1960~1990年代の研究では、骨標識、骨形態計測に関する基本的なデータについての検討が行われ、日本初のテトラサイクリンをタイムマーカーとして用いた研究²⁾、長管骨皮質の縦軸方向の吸収速度の解明³⁾、くる病の骨組織所見の電顕・光顕の比較⁴⁾、2回骨標識後のBMU層板骨形成時のon/off現象⁵⁾、日本人腸骨のパラメータ基本値の算出⁶⁾、骨量と脊椎圧迫骨折の關係⁷⁾などが報告されています。

続いて、hPTHに関する一連の研究として、高橋先生のもとで研究された井上旬二先生が、ビーグル犬に15日間PTHを連日皮下投与して組織学的骨動態を分析しました。コントロールに比してPTHを投与した群はいずれも骨形成、骨吸収ともに増加していました。すなわち海綿骨、皮質骨ともに、吸収・形成とも著明に亢進した高回転所見であることが示されました。なお、皮質骨については、高用量では多孔率増加を示したものの、PTHの休業により

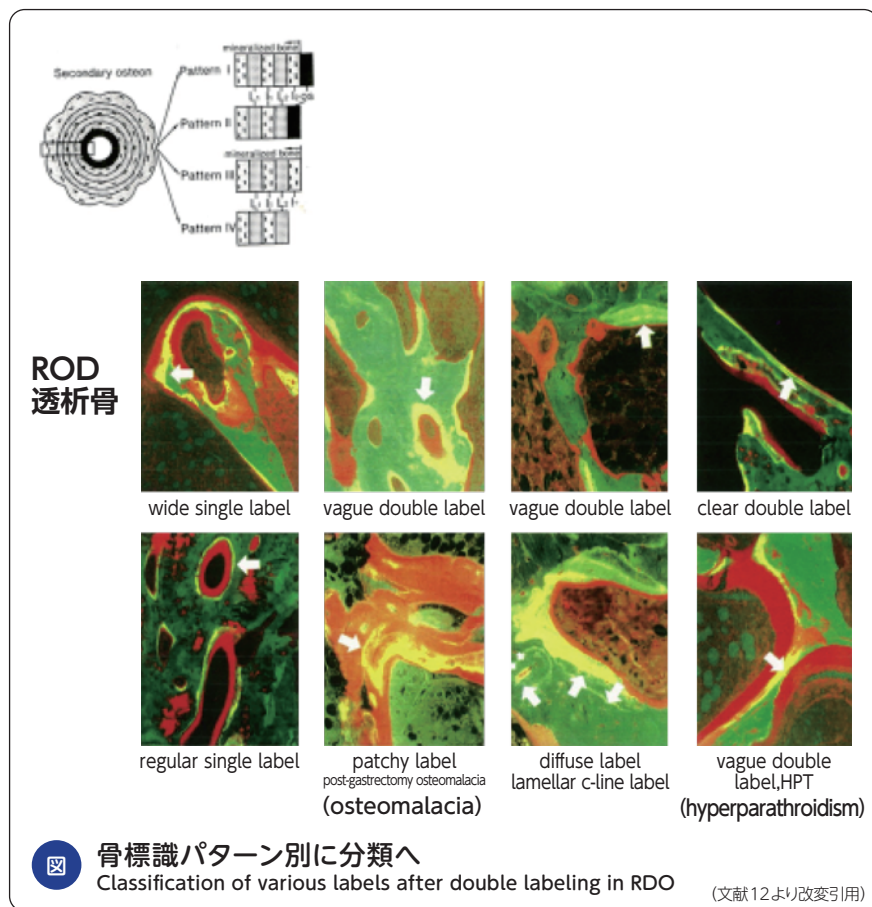
正常化したことも明らかにされています⁸⁾。この研究は、PTHの効果を骨動態の面から解析評価したものであり、現在の臨床応用に大きく貢献していると考えられます。

PTHの研究はその後、骨組織動態の視点から幾つか解析が行われています。1つ目は海綿骨・皮質骨への影響についてのイヌのみならずラットなどを用いての研究、2つ目は、PTH投与終了後の変化についての研究で、これらの研究からPTH投与により増加した骨も投与終了後に減少することが確認されました。3つ目として、骨量維持のための運動負荷やビスホスホネート剤使用などが検討されてきました。

微小電流による皮質骨のインターナル・リモデリングへの影響についての研究で、骨に力を加えると圧電気現象が生じ、一方、外部からの通電で仮骨形成に至るといふ世界に誇る日本の研究があります。これを応用し、イヌのモデルで微小直流電

流あるいはパルス波の微小電流を流し、いずれもインターナル・リモデリングを高めることが報告されています。この結果から、電気刺激がリモデリングを高め、骨形成を促進すること、骨切り部通電を行うと新生骨内のリモデリングが促進されることが明らかとなり、骨融合促進効果と骨折治療への応用が期待されました^{9)・11)}。

透析骨の研究は、大きな進歩を遂げました。腎性骨異常栄養症(renal osteodystrophy: ROD)は代表的な骨疾患ですが、透析骨は非常に多彩で、ターンオーバーの低い骨軟化型、無形成骨型があれば、ターンオーバーの高い線維性骨炎型もあります。そこで、骨形態計測による骨組織の評価による骨動態、経時的変化の評価が可能となったことで、高橋先生は、RODの透析骨を標識パターン別に分類¹²⁾し、それにより骨動態を識別する手法を確立されました。



骨髓腔内のインプラント周囲所見も、重大な関心事でした。人工関節や骨折手術などにおいて、骨のなかにインプラントを固定しても、脆弱な骨との固定性がどれほど上昇するかは不明です。そこで、大腿骨骨髓内にロッドを入れたところ、骨形態計測で周囲の骨形成を解析し、Bone particlesがあると骨形成が抑制されることが明らかになりました。インプラント周囲の新生骨を組織によって直接的に評価する手法として高く評価され、横断拡大図が雑誌『Bone』の表紙を飾っています¹³⁾。

最近話題になっているミニモデリングです。リモデリングは、吸収、形成、吸収を繰り返しますが、セメントラインに吸収窩の跡がなく平滑かつ休止面に直接骨形成を認める所見がみられることがあります。このように、休止面から直接に形成が起こるのがミニモデリングですが、高橋先生はこれが変形性関節症症例でもみられる¹³⁾ことを信州大学との共同研究で明らかにされました¹⁴⁾。

ミニモデリングについては、骨の硬化性疾患やPTH投与、ビタミンD治療の症例などにおいてもみられ、臨床的意義は不明ですが、早い段階から直接組織をみることで認識されるため、組織を観察する組織骨形態計測が非常に有用といえます。

改めて骨組織形態計測は、骨代謝動態を直接的に評価できるものとして、特に骨標識により、時間も含めて評価できる点が有用といえます。診断、治療効果の判定

に必要な不可欠な評価指標である点で臨床との接点も大きいと考えられますが、解釈は非常に慎重にあるべきで、数字のみを鵜呑みにすることは避けなくてはなりません。

最後に、高橋先生が長年、骨形態計測の発展に貢献され続けたのも、国内外の多くの骨代謝研究者との輪の広がりによるものであったことを強調したいと思います。

REFERENCES

- 1) Takahashi H, Hattner R, Frost HM, et al. Med Bull. 1964; 12: 359-64.
- 2) 太田道夫. 日整会誌. 1970; 44: 299-312.
- 3) 乗松尋道. 日整会誌. 1971; 45: 415-30.
- 4) 柳京三. 日整会誌. 1986; 60: 337-48.
- 5) Hori M. Bone. 1985; 6: 147-54.
- 6) 今野俊幸. 日整会誌. 1987; 61: 1081-92.
- 7) 上野欣一. 新潟医学会雑誌. 1989; 103: 310-22.
- 8) 井上旬二. 日整会誌. 1985; 59: 409-27.
- 9) 花岡司. 日整会誌. 1983; 57: 151-66.
- 10) 外川裕. 日整会誌. 1983; 57: 817-35.
- 11) 渡辺元. 新潟医学会雑誌. 1989; 103: 911-22.
- 12) Takahashi HE (ed). Bone Morphometry. 1990; pp239-46.
- 13) Ishizaka M, Tanizawa T, Sofue M, et al. Bone. 1996; 19: 589-94.
- 14) Kobayashi S, Takahashi HE, Takaoka K, et al. Bone. 2003; 23: 163-9.

軟骨細胞の正体を追い求めて

米田 俊之 大阪大学大学院歯学研究科分子免疫制御学講座生化学教室 特任教授



大阪大学歯学部生化学教室は、初代教授の故 竹田義朗先生のサポートのもと、防衛大学名誉教授の下村裕先生、大阪大学名誉教授の鈴木不二男先生、そして私の3名を中心メンバーとして、1972年に軟骨細胞の研究を開始しました。

われわれがこの研究に取り組むきっかけとなった疑問は、「軟骨細胞はどのような運命をたどるのか」で、当時は2つの大きな仮説が提唱されていました。1つは、軟骨細胞は死滅して骨軟骨接合部

で骨に置き換わるという概念です。主に電子顕微鏡などの組織学的な観察から導き出された仮説であり、これが軟骨内骨化と大多数の研究者が考えていました。

そのような状況のなかで下村先生は、軟骨細胞をトリチウムチミジンでラベリングし、軟骨内骨化が起きるとチミジンが骨内にも認められる現象をオートラジオグラフィーで観察され、その結果から軟骨細胞は軟骨内骨化において骨細胞に置き換わるという仮説を提唱されました。そこでわれわれ3人は軟骨細胞

を培養し、試験管のなかでそれを証明しようと実験をスタートしました。

研究にはラットやウサギの肋軟骨細胞を用いました。軟骨細胞を培養して長期間置くと白い基質が形成され、それをトルイジンブルー (toluidine blue) で染色するとグリコサミノグリカン産生によるメタクロマジーの発現を認めました。さらにこれらの培養細胞を縦断面で観察すると、まさに *in vivo* の柱状軟骨が並んでいるような像が得られ、時間を置くと石灰化することまで明らかとなりました。

この研究は、鈴木先生と2人で京都大学の岡田節人先生のもとを訪れ、軟骨細胞の培養方法を教わりながら行ったことが思い返されます。さらに当時のピペットはディスプレイでなかったため、ガラスのプレートとピペットを使い、常に洗浄して乾熱滅菌するという労力を費やしたものです。

そして、この培養細胞を用いて採取した軟骨細胞を解析し、フェノタイプを明らかにしていくことと、培養細胞を用いて骨細胞に変わることを証明していく2つの研究の方向性が定まりました。

そのときに採用したのがdiffusion chambersで、ミリポアフィルターで封鎖したchamberに軟骨細胞を挿入し、それをラットの腹腔内に移植する手法です。chamberはフィルターで封鎖されているため細胞は通過できず、液性因子のみがchamber内に侵入できる状況で、そのなかで軟骨細胞が骨細胞に変わることを示そうとしました。しかしながら軟骨細胞は増殖しましたが骨形成には至りませんでした。

しかし、そのとき成長軟骨細胞と骨髄細胞を同時封入して移植すると非常にきれいな骨ができることがわかり(図)¹⁾、当時のcalcified tissue research (現calcified tissue international)に報告をしています。

さらに、このとき防衛医大で下村先生と研究をされていた沖花裕行氏により、さまざまなタイプの軟骨細胞ペレットを作製して皮下移植したところ、成長軟骨細胞は骨形成を起こすものの、静止軟骨細胞、関節軟骨、耳介軟骨、気管軟骨は骨を作らないという興味深い結果が得られています。

これらの結果を踏まえ、われわれは「どうして成長軟骨細胞が骨形成に関連するのか。それはどういう形でレギュレートされているのか」、「なぜ骨髄があると骨ができるのか。どのような細胞、分子が関与しているのか」という点を解明することにしました。もう1つ、「いわゆる永久軟骨はどうして骨化しないのか」という点にも注目しましたが、この疑問は現在でもまだ明確な答えが導き出されていません。

このとき鈴木先生のアイデアに基づいて軟骨細胞にPTH受容体があることを現 東北大学名誉教授の山本照子先生が見つけれられました。近年、ハーバード大のKronenberg教授のグループや日本では東京大学の鄭雄一先生のグループがPTH-rpの軟骨分化にかかわる研究を盛んに行っておられますが、その先駆けとなる知見はこの研究から得られたといえるでしょう。

また、鈴木先生は、いつでも容易に

軟骨細胞を分離培養する初代培養は極めて*in vivo*に近いものの、生化学的解析には適していないことから、ATDC5という奇形腫がインスリンの存在下で軟骨細胞の分化を示すことを発見され、これを多くの実験に用いられることとなりました。

さらに、鈴木先生と現 京都大学教授の開祐司先生は、軟骨基質中には軟骨細胞自身の増殖・分化を制御する因子が存在する可能性に注目され、ウシ胎仔軟骨より軟骨細胞の増殖を促進する因子の探索を試みた結果、ソマトメジン様活性を有する因子が存在することを発見²⁾されました。これは後にコンドロモジュリン-I (ChM-I)と命名され、血管新生抑制因子として、軟骨の中にがん細胞が侵入していかない理由が初めて明らかとなりました。

その後、時代が進むと、鈴木先生のグループが手がけてきた業績に加え、現在の西村教授のグループが、遺伝子改変マウスを用いて、転写因子が軟骨の分化に重要であることを見事に示しました³⁾。

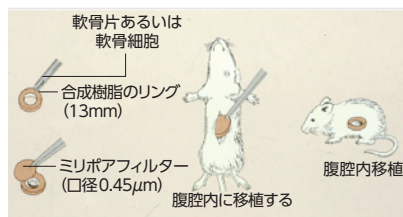
転写因子のなかでも、現 岐阜大学整形外科教授の秋山治彦先生が発見されたSox9、その他にもRunx2、Osterixは軟骨分化に極めて重要であり、それをBMPあるいはPTH-rp、TGF- β といったサイトカインが制御していることを*in vivo*で証明している段階です。

また、最近のトピックとして、2014年前後から、軟骨細胞が骨芽細胞に変わる可能性を遺伝子改変マウスで証明する研究が相次いでいます。ひょっとすると軟骨細胞は45年前にわれわれが提唱したように死滅せずに骨芽細胞に形質変換し、骨細胞にも変わっていくことが、developmental stage (発生段階)、postnatal (発生後)、骨折治癒過程にも起こる可能性が提唱⁴⁾⁵⁾されています。

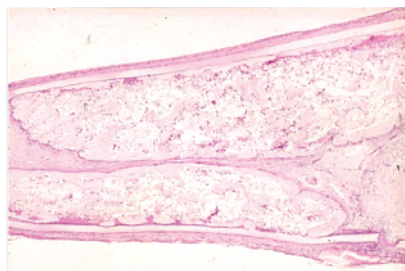
現在は西村教授のもと、*in vivo*での軟骨細胞の機能、フェノタイプ、胎生期

IP implantation of chondrocytes in diffusion chambers

Osteogenesis in chambers with GC and BM cells



Provided by Dr. Suzuki



成長軟骨細胞と骨髄細胞が混在する diffusion chamber内でみられた骨形成

(文献1より改変引用)

における分化が調べられている段階ですが、次のステップとしては、これが軟骨欠損あるいは骨折治癒過程にどう影響するのか、変形性膝関節症や関節リウマチなどの疾患にどう応用できるかが1つのターニングポイントになるでしょう。一方で、純然たる基礎研究としての軟骨の分化メカニズムを探ることも忘れてはなりません。

これは半世紀にわたる研究であり、貢献されたすべての方のお名前を挙げることはできませんでしたが、この研究に貢献

された鈴木不二男先生、ならびに生化学教室同門の先生方に大きな敬意と感謝を捧げたいと思います。

REFERENCES

- 1) Shimomura Y, Yoneda T, Suzuki F, et al. Calcif Tissue Res. 1975; 19: 179.
- 2) Hiraki Y, Inoue H, Iyama K, et al. J Biol Chem. 1997; 272: 32419-26.
- 3) Yoshida M, Hata K, Takashima R, et al. Nat Commun. 2015; 6: 6653.
- 4) Zhou X, von der Mark K, Henry S, et al. PLoS Genet. 2014; 10: e1004820.
- 5) Yang L, Tsang KY, Tang HC, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014; 111: 12097-102.

須田立雄先生と骨代謝研究

高橋直之 松本歯科大学総合歯科医学研究所 所長



須田立雄先生は、東京医科歯科大学大学院を修了後、ウィスコンシン大学のDeLuca教授のもとに留学され、ビタミンDの研究に従事されました。1971年に母校に戻られた後もビタミンDの研究を継続され、1977年に昭和大学歯学部生化学教室の初代教授に就任されるとともに骨代謝の研究を開始されました。2000年に退官された後、2001年からは埼玉医科大学ゲノム医学研究センター教授に就任され、現在も客員教授として研究を行っておられます。

それでは、須田先生の骨代謝研究の足跡をご紹介します。須田先生は、1971年にウィスコンシン大学で活性化型ビタミンDの構造決定に成功され、東京医科歯科大学においてはアルファカルシドールの開発を手がけられました。

その後、1981年に昭和大学にて活性化型ビタミンDの細胞分化誘導能を発見され、1992年にはスペースシャトル実験にてニワトリ胚の骨形成に重力は関係しないことを明らかにされました。また、BMP-2やエストロゲンの研究、破骨細胞分化因子ODFの研究を行われるなど、須田先生の主要な骨代謝研究は昭和大学時代に成

し遂げられております。なお、骨代謝学会は、日本骨代謝研究会を前身として1983年に創設されましたが、須田先生の研究成果はほとんどすべて骨代謝学会で最初に発表されたと私は記憶しております。

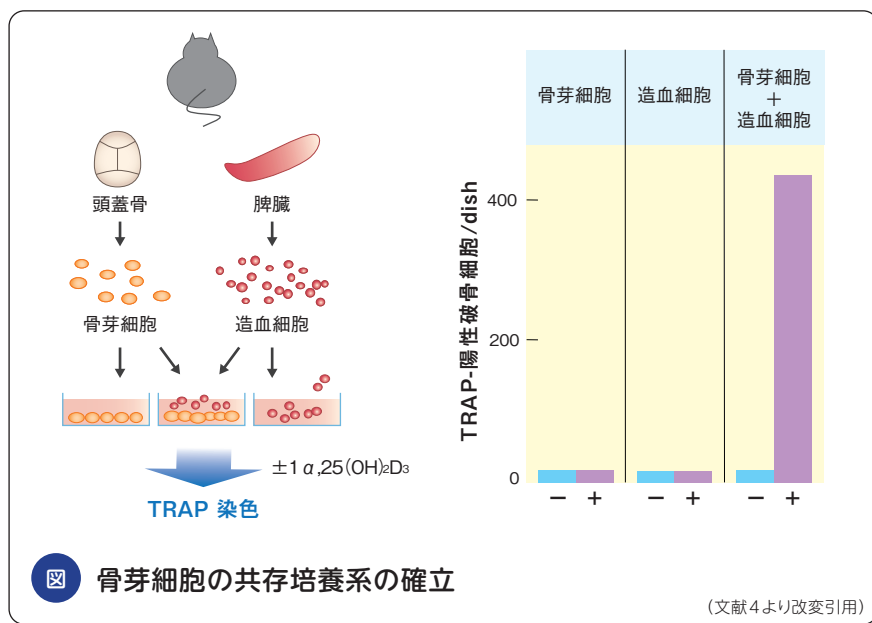
須田先生の研究の根底には、「ビタミンDは骨で何をしているのか」という問いがありました。1972年に、Raisz先生とDeLuca先生は、活性化型ビタミンDは骨吸収促進因子であることをScience誌に報告され¹⁾、それを裏付けるように、阿部悦子先生が活性化型ビタミンDの細胞分化誘導作用²⁾、さらに肺胞マクロファージの多核化促進作用³⁾を発見されました。須田先生は当初この多核細胞が破骨細胞に分化すると考えられたのですが、のちに骨吸収活性をもたないマクロファージポリカリオンであるという結論に至りました。

一方、1981年にはMartin先生とRodan先生により、PTHとPGE₂が骨芽細胞に作用し、破骨細胞を誘導するという仮説が提唱されると、須田先生はこの考え方を取り入れ、ビタミンDも骨芽細胞に作用して破骨細胞を誘導するのではないかと着想されました。

そこで私たちは、骨芽細胞と造血細胞の共存培養系を確立し、活性化型ビタミンDは骨芽細胞と造血系細胞の共存培養においてのみ破骨細胞形成を促進することを明らかにしました(図)⁴⁾。

この共存培養系における破骨細胞の形成は大きな反響を呼びました。当時、明海大学の久米川正好先生は、活性化型ビタミンDが破骨細胞前駆細胞に直接作用するという仮説を提唱されました。一方の須田先生は、骨芽細胞に作用してODFの発現を誘導するという説を提唱され、1987~1994年頃にかけて、日本骨代謝学会では久米川先生と須田先生の熱い論争が繰り広げられました。最終的には、この論争はODFがRANKLとして同定されて決着しました。

また、ODFのクローニングに関する雪印乳業との共同研究論文は、「破骨細胞分化因子ODFは、最近発見されたOPG、OCIFのリガンドで、それは既知のTRANCE/RANKLと同一因子である」⁵⁾というタイトルで『PNAS』誌に掲載されました。また、この論文には、須田先生の破骨細胞形成に関する仮説の図が採用



されております。さらに、RANKLの発見から10年後に、ヒト型抗RANKL抗体であるデノスマブが開発されました。

一方のアルファカルシドールの動物実験データや臨床データでは、ビタミンDは骨吸収促進因子ではなく骨吸収抑制因子であるという知見が集まり、尾形悦郎先生は活性型ビタミンDによる破骨細胞の分化抑制をいち早く報告されました。

一方、須田先生は、活性型ビタミンDは骨吸収促進因子であると信じており、骨代謝学会では、須田先生と尾形先生の間でビタミンDの骨作用に関する論争が展開されました。

2005年になると、エルデカルシトールの第II相試験の結果が松本俊夫先生より報告されました⁶⁾。報告では、すなわち、エルデカルシトールの投与は、濃度依存的に骨吸収を抑制し、骨量を増加させることが示されました。須田先生はこの結果をご覧になり非常に驚かれ、エルデカルシトールの骨吸収抑制機構をぜひ明らかにしたいと私たちに提案されました。

そこで、エルデカルシトール研究の許可をいただくため、当時中外製薬の社外取締役として開発の陣頭指揮をとっておられた尾形先生にお会いして、エルデカルシ

トールの破骨細胞形成抑制作用について「破骨細胞の前駆細胞に直接作用する」、「骨芽細胞に作用し、骨吸収を抑制する」という2つの仮説を検証したい旨をお伝えしたところ、快く承諾して下さいました。しかし誠に残念なことに、その実験結果をご覧になることはなく、2009年11月に尾形先生はお亡くなりになりました。

2012年に行われたOVX（卵巣摘出）マウスへのエルデカルシトールの投与実験では、4週間投与は破骨前駆細胞に影響を与えることはなく、骨芽細胞の発現するRANKL/OPG比を低下させて骨吸収を抑制する可能性が示されました⁷⁾。

このエルデカルシトール投与により骨吸収が抑制され、そのために骨量が増加するという結果に、須田先生は「ビタミンDの長期間投与は骨吸収を抑制し骨量を増やす」と初めて確信された次第です。

さらにエルデカルシトールによる骨吸収抑

制機構を明らかにするため、骨芽細胞特異的にビタミンD受容体(VDR)を欠損したマウスを作製しました。そのマウスに、エルデカルシトールを投与して骨組織を解析した結果、骨吸収抑制作用は起こらないことがわかりました。以上の結果から、エルデカルシトールは骨芽細胞のVDRを介して破骨細胞形成を抑制するという結論に至りました。

振り返ると、須田先生の骨代謝研究の足跡は、大きく3つの発見に集約されると思います。まず、1971年に活性型ビタミンDの構造決定に成功され、その後、1980年にアルファカルシドールの開発に着手されました。そして、1981年にビタミンDの分化誘導能を発見されました。これが第1の発見となります。

また、1992年にODF仮説を提唱され、1998年にRANKLのクローニングに成功されました。このビタミンDによる骨吸収誘導機構の解明が第2の発見です。

さらには、2014年にビタミンDの骨吸収抑制作用を確信され、2017年に骨芽細胞を介した骨吸収抑制作用を明らかにされました。このビタミンDによる骨量増加作用を解明されたことが第3の発見です。

以上をまとめますと、須田先生の骨代謝研究は「ビタミンDの骨作用、すなわち骨吸収促進作用と骨吸収抑制作用はともに、骨芽細胞のVDRがカギを握っている」ことを明らかにされたことに集約されるのではないのでしょうか。

須田先生は現在、埼玉医科大学で新たな研究プロジェクトを推進されております。その研究成果を2018年の骨代謝学会で発表する予定であるとのこと。2018年の骨代謝学会を楽しみにしたいと思います。

REFERENCES

- 1) Raisz LG, DeLuca HF, et al. Science. 1972; 175: 768-9.
- 2) Abe E, Suda T, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1981; 78: 4990-4.
- 3) Abe E, Suda T, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1983; 80: 5583-7.
- 4) Takahashi N, Suda T, et al. Endocrinology. 1988; 123: 1504-10.
- 5) Yasuda H, Suda T, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95: 3597-602.
- 6) Matsumoto T, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90: 5031-6.
- 7) Harada S, Suda T, et al. J Bone Miner Res. 2012; 27: 461-73.

日本骨代謝学会の歴史と尾形悦郎先生の足跡

松本 俊夫 徳島大学 名誉教授 / 藤井節郎記念医科学センター 顧問



1983年に日本骨代謝学会が設立された当初、内分泌領域はカルシウム・リン代謝やビタミンD代謝を対象とした研究が中心であり、骨は硬組織で解析が困難なことから、腎臓や腸を中心とした組織学的解析研究が行われていました。

ところが、須田立雄先生の研究室からビタミンDの代謝・作用に関する数々の研究報告が行われると、その後、骨の組織培養や培養細胞株を用いた研究が後に続きました。

その後、培養法などの進歩により、骨の組織培養や培養細胞株を用いた研究が数多く報告され、1987年にはPTH-rpが高カルシウム血症惹起因子として同定されると、1990年頃からは分子生物学が全盛期を迎え骨代謝研究への導入も進みました。

そのころからDXAによる骨密度の測定法が確立され、これに基づく骨粗鬆症の診断基準づくりも進みました。

また、骨芽細胞、破骨細胞の分化制御の解明研究が明らかとなり、遺伝子改変動物を用いた各種制御因子の役割の解明が進んでいきました。

その次の世代、第5回会長の鳥塚莞爾先生の後には尾形悦郎先生らが骨代謝学会を牽引され、その後も多くの先生方がさらなる発展に導かれました。そして今年には田中良哉先生が、記念すべき第50回会長として、素晴らしい学会を開催しておられます。

ここで、過去のシンポジウムを振り返って、タイトルを幾つか並べてみます。初期はまだサイトカイン、growth factor

などが同定される前の時代ですが、第1回「副甲状腺ホルモン」、第3回「ビタミンDと細胞分化」、第4回「骨形成因子および骨吸収因子をめぐる諸問題」がテーマとして並びます。当時、鈴木不二男先生のCDF(軟骨由来成長因子)の研究について、『PNAS』に発表された報告を、私の米国留学先のポストドクがむさぼるように読んでいたのを記憶しています。

その後は、第6回「骨芽細胞の機能の多様性／腎性骨胃栄養症」、第7回「メカニカルストレスと骨」と続き、第8回(1990年)の尾形悦郎先生が会長のときに「遺伝子工学は骨代謝研究にどのように利用できるか」、「退行期骨粗鬆症の薬物療法」と、薬物療法のモダリティーが開発段階ながら増えてきつつあったことがわかります。そして第9回では「骨塩定量の進歩: DEXAによる骨塩定量」がテーマでしたが、現在は「骨密度」という用語に統一され、診断基準などの確立に進んでいきました。

その後、現在に繋がるような細胞生物学から分子生物学を生かした骨代謝研究に大きく流れが移り、第15回(1997年)久米川正好先生のおときには「骨粗鬆症治療薬のガイドライン」が初めてシンポジウムで取り上げられています。

その後、がんと骨病変、がんとホルモン、乳がんや前立腺がんと内分泌という方向性での大きな領域の流れができていきました。その流れがさらに発展して、第22回(2004年)には、「関節リウマチと変形性関節症における骨破壊

分子メカニズム」といった軟骨関節破壊に関するテーマが取り上げられ、関節リウマチは骨代謝学会としても重要な研究領域となっていきました。さらにリン代謝とFGF23、FGF23のTIOにおける原因物質としての同定に始まり、FGF23受容体の解明と治療への応用へと研究の流れは繋がっていきます。

このような流れのなか、尾形先生は1956年に東京大学医学部を卒業され、医学博士を取得後すぐにフルブライトの奨学生として米国に留学されました。最初に留学された大学はヴァンダービルト大学で、アミロライド感受性Naチャネルの変異によるナトリウムの再吸収亢進の病態によるリドル症候群を発見された内分泌学者でもあるLiddle先生から強い影響を受け、幅広い内分泌学への造詣がこのときに確立されたものと思います。

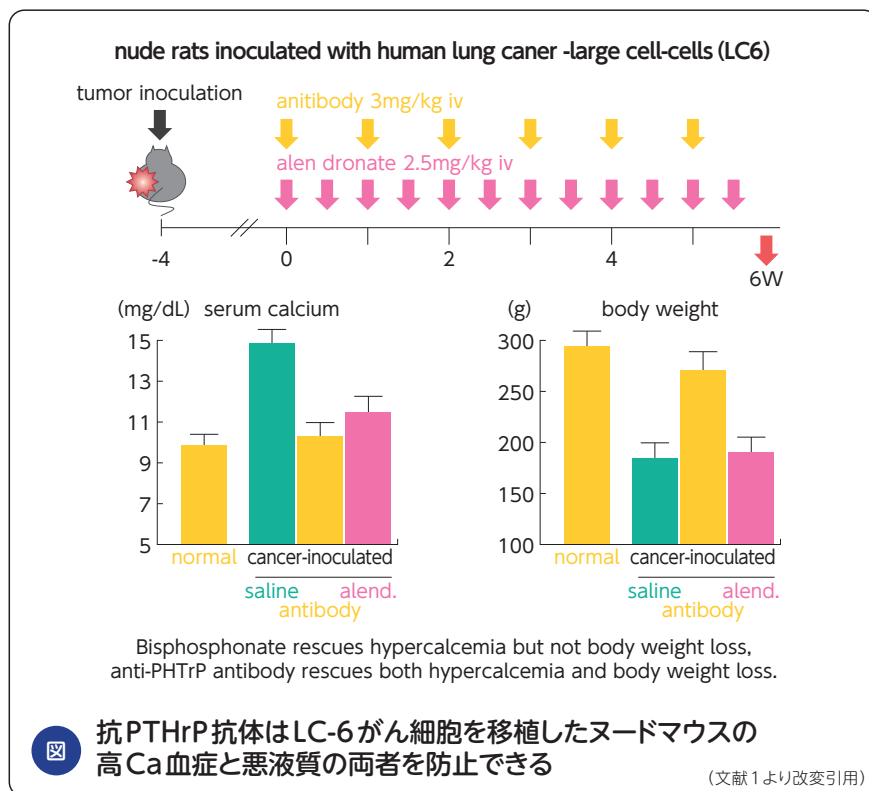
その1年後、今度は臨床研究に飽き足らず、生化学にも関心を向け、当時ウイスコンシン大学におられたRasmussen先生のもとを訪ねておられます。そしてRasmussen先生とともにペンシルベニア大学に異動されると、カルシウム・シグナリングの研究を続けられると同時に、Chance先生との共同研究などを通じてミトコンドリアのバイオロジーに深い理解を築かれ、帰国後もミトコンドリアに関する数多くの研究を残されました。そしてこの時期、Wyngaarden先生やHolmes先生ら、核酸代謝の異常症を数多く発見した先生方とも交流を深められ、核酸代謝にも造詣を深められることとなりました。

東京大学に戻られた後は、保健センターと第1内科研究室を往復される毎日で、私が尾形先生に論文を見てもらうには朝7時頃までに研究室を訪ねなければならず、少しでも遅れるともうコーヒーの香りだけが残っており、先生は既に上野の駅ということもありました。

その後、筑波大学の教授を経て、1979年には東京大学第4内科教授に就任され、私も第4内科に戻って尾形先生のご指導を受けることとなりました。

1993年に定年退任された後は、癌研究会附属病院院長としてがんと骨病変、がんホルモンといった新たな研究領域を切り開かれ、2002年に癌研究会を退任されて中外製薬の社外取締役となりました。それ以降は中外製薬研究所においてPTH-rpの高カルシウム血症惹起因子としての作用のみならず、がんの高カルシウム血症で悪液質が強いことに着目され、PTH-rpが悪液質原因物質であることを同定されています(図)¹⁾。

このようななかで尾形先生のご指導を受けた東京大学第4内科内分泌学研究室出身者は、数多くの業績を残しています。私自身は骨カルシウム代謝を手がけましたが、小島至先生はsignal transductionから今や群馬大学でインスリンの研究に邁進され、岡崎具樹先生は、五十嵐徹也先生と一緒に、やはり副甲状腺などを中心とした遺伝子転写制御などの研究を行われ、多久和陽先



生は血管生物学の研究に進まれました。

当教室には、これら当初のメンバーに加え、若い優秀な先生が尾形先生の指導を仰いで入局され、IGFのsignal transductionなどで多くの業績を残された故 西本育夫先生のほか、池田恭治先生、福本誠二先生、竹内靖博先生、故 原田俊一先生、そして岡崎亮先生、井上大輔先生、竹田秀先生ら、

今でも中心として活躍している先生が数多くおられます。

このように、尾形先生に育てられた先生方がさまざまな領域で活躍されていることは、われわれの憧れであった尾形先生のスケールの大きさ、とてつもない視野の広さを示しているのではないかと思います。

REFERENCES

- 1) Hashimoto H, Azuma Y, Kawasaki M, et al. Clin Cancer Res. 2007; 13: 292-8.