



骨・運動器領域のトップランナーが一堂に会し、国内外の動向、次の展望についてグローバルレベルに議論！

**BONE**  
**SUMMIT**  
今、そして次へ！



メンバー（五十音順）

**小林 泰浩** Yasuhiro Kobayashi

松本歯科大学総合歯科医学研究所 教授

**田中 栄** Sakae Tanaka

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻感覚・運動機能医学講座 教授

**田中 良哉** Yoshiya Tanaka

産業医科大学医学部第1内科学講座 教授

**塚崎 雅之** Masayuki Tukasaki

昭和医科大学歯学部口腔生化学講座 教授

## 骨・関節破壊の基礎と臨床



田中 栄 先生 (司会)



田中 良哉 先生



小林 泰浩 先生



塚崎 雅之 先生

### はじめに

**田中栄 (司会)** 本日は、「骨・軟骨・筋科学Update」春号(第8号)に掲載される座談会企画『骨・関節破壊の基礎と臨床』のために、この分野の第一人者でいらっしゃる、産業医科大学の田中良哉先生、昭和大学の塚崎雅之先生、松本歯科大学の小林泰浩先生のお三方をお招きしました。

年頭のお忙しい中、ご参集いただきありがとうございます。

今回はテーマとして「骨・関節破壊」を取り上げました。関節リウマチや癌骨転移などの病態では病的な骨破壊が見られます。このような骨破壊においても破骨細胞が重要な役割を果たしていますが、このような病態で働く破骨細胞が正常な骨リモデリングと同様であるのか？どのようなメカニズムで破骨細胞が暴走するのか？については議論のあるところ です。また関節破壊については炎症細胞

によるプロテアーゼ産生が重要な役割を果たすことが知られています。本日は骨粗鬆症、関節リウマチ、癌における骨破壊・関節破壊のメカニズムとそれを標的にした治療戦略について議論できればと思います。先生方には、ご自身の専門分野だけではなく、最近のトレンド等についてもお話いただければと思っております。よろしくお願いいたします。

## 1. 骨・関節破壊の基本的なメカニズム

**田中栄** 最初に、骨・関節破壊の基本的なメカニズムについて共有したいと思います。そこでまず、骨破壊において中心的な役割を果たす破骨細胞の起源や分化メカニズム、RANKLの発現、病的な骨破壊における破骨細胞の役割

などについて概観したいと思います。

小林先生、解説をお願いできますでしょうか。

### ●破骨細胞の分化メカニズム

**小林泰浩** 破骨細胞の分化は骨芽細胞系の細胞であるOsteoblastや、2011

年に明らかになったようにOsteocytesが厳密に調整しており、これらの細胞がRANKLやM-CSFを発現し、それらのサイトカインを前駆細胞が認識し破骨細胞に分化します(図1)。

破骨細胞分化における骨芽細胞の

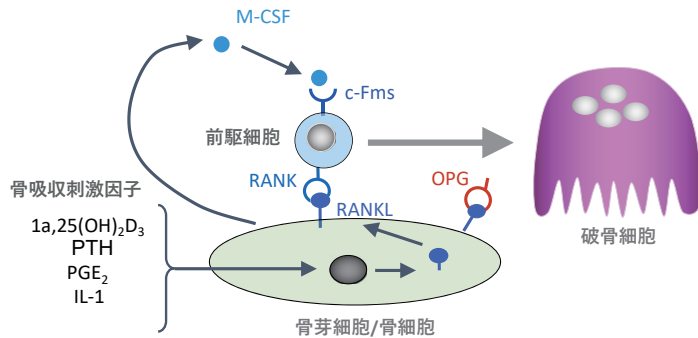


図 1. 破骨細胞の分化

破骨細胞の分化は骨芽細胞・骨細胞が厳密に制御する。これらの細胞は骨吸収刺激因子の刺激を受け RANKL を発現する。また M-CSF を恒常的に発現している。RANKL と M-CSF が前駆細胞のそれぞれの受容体に結合し、破骨細胞分化が誘導される。(小林泰浩先生提供)

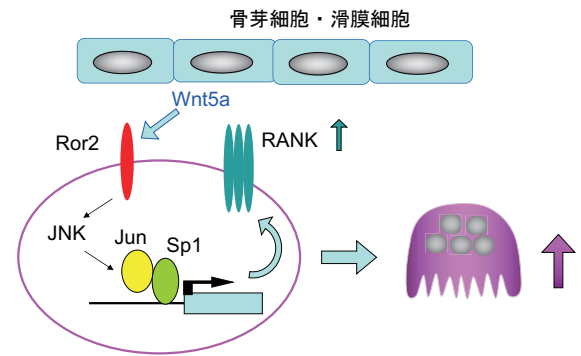


図 2. 破骨細胞の分化における Wnt 非古典経路の役割

骨芽細胞や関節リウマチにおける滑膜細胞は Wnt5a を分泌し、破骨前駆細胞の RANK 発現を上昇させる。これによって RANKL による破骨細胞形成が亢進する。(小林泰浩先生提供)

重要性を最初に示したのは、1988年の高橋直之先生の論文 (Takahashi N et al. *Endocrinology*, 1988)<sup>1)</sup> です。そこでは骨髓細胞培養および骨芽細胞と脾細胞との共存培養によって破骨細胞ができることが示されました。その後1993年には、田中栄先生が破骨細胞分化に対する M-CSF の重要性を明らかにされました (Tanaka S et al. *J Clin Invest*, 1993)<sup>2)</sup>。これらの培養系を利用して1997年に Osteoclastogenesis Inhibitory Factor (OCIF) が発見されました (Tsuda et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997)<sup>3)</sup>。また、これとは独立してアムジェンが破骨細胞分化抑制因子として Osteoprotegerin (以下、OPG) を同定しましたが、OPGはOCIFと同一分子でした (Simonet WS et al. *Cell*, 1997)<sup>4)</sup>。その後、保田先生、Lacyらによって、OPGのligandとして RANKL が報告され (Yasuda et al. *PNAS*, 1998, Lacy DL et al. *Cell*, 1998)<sup>5) 6)</sup>、これにより破骨細胞分化メカニズムがサイトカインレベルで明らかにされてきたわけです。

RANKL と M-CSF のサイトカインによって、骨髓または脾臓から取ってきた破骨細胞の前駆細胞から破骨細胞ができるようになり<sup>7) 8)</sup>、その後、高柳広先生によって破骨細胞分化を司る転写因子 NFATc1 が見つかっています (Takayanagi et al. *Dev Cell*, 2002)<sup>9)</sup>。これら一連の研究はこれまでの破骨細胞分化研究の中で一番重要な発見であると思わ

れます。

現在、破骨細胞分化に影響を及ぼす様々な因子や代謝系なども報告されていますが、おそらく RANKL, RANK, M-CSF のシグナル、NFATc1 を modify するようなものがほとんどではないかという気がしています。

我々は、増殖が止まった破骨細胞前駆細胞が骨芽細胞ニッチに局在することを発見し、破骨細胞をつくる時に破骨細胞ニッチが非常に重要であることを2009年に発表しました (Mizuguchi et al. *J Cell Biol*, 2009)<sup>10)</sup>。Wnt のシグナルが骨代謝に影響することは2005年頃から明らかになってきました。Kersentyらの報告では、成熟骨芽細胞で Wnt/ $\beta$ -catenin 系を活性化すると骨量が増えるわけですが、そのメカニズムとして、骨芽細胞分化には影響がなく破骨細胞が減少するフェノタイプを示すことが明らかにされ、その分子メカニズムを調べたところ、成熟骨芽細胞で恒常活性型の  $\beta$ -catenin を発現させたマウスでは OPG の発現が増えて破骨細胞形成が抑制されることによって骨量が増えるということが報告され、Wnt/ $\beta$ -catenin 系の骨代謝、破骨細胞分化への負の作用が明らかにされました。しかし Wnt 非古典経路のシグナルについては明らかにされていませんでした (Glass DA et al. *Dev Cell*, 2005)<sup>11)</sup>。我々が調べたところ、骨芽細胞、あるいは、後で出てくると思いますが、関節

の synovial cells から分泌されるような非古典経路を活性化する Wnt 5a が破骨細胞前駆細胞の RANK の発現を上昇させることによって破骨細胞分化を促進することを明らかにしました (Maeda K et al. *Nat Med*, 2012)<sup>12)</sup> (図2)。

以上、これまでの破骨細胞分化研究に関し、我々の仕事を含めて、歴史的推移を概説いたしました。

**田中栄** ありがとうございます。RANKL 自体は幾つかの研究室で発見されましたが、日本の研究室が重要な役割を果たし、その後の臨床応用にもつながったという意味では本当に記念碑的な発見だったのではないかと思います。RANKL-RANK 経路は破骨細胞分化・活性化においてセントラル・ドグマ的なものと考えてもいいのですか。

**小林泰浩** RANK シグナルが NFATc1 につながっていくところを修飾する因子が報告されていると思います。例えば、代謝産物による破骨細胞分化の調整など、NFATc1 のエピジェネティックなレギュレーションをするようなものが最近報告されています。したがって、RANKL, RANK, NFATc1 のシグナルはセントラル・ドグマ的なものではないかと私は考えています。

**田中栄** 一時期、RANKL-independent pathway が提唱されたことがあります。それに対して塚崎先生は反論する論文を書いておられますね。

**塚崎雅之** はい。2015年に *Nature* 誌にリシロキシダーゼ (LOX) がRANKL-independentに破骨細胞を誘導するという報告が掲載され<sup>13)</sup>、驚いて追試を試みましたが我々の手では再現性が得られませんでした。RANKLノックアウトマウスを使った実験などにより、LOX

は間質細胞のRANKL発現を上昇させる作用はあるものの、RANKL非依存的に破骨細胞を誘導する効果はない、と結論し *JBM* 誌に報告しました (Tsukasaki M et al. *JBM*, 2017)<sup>14)</sup>。この論争に関して、田中栄先生もコメント論文を書いてくださっています (Tanaka S. *JBM*, 2017)<sup>15)</sup>。その後、

*Nature* 論文は2023年に retract されています。

**田中栄** 塚崎先生も、破骨細胞分化はRANKL-RANK経路によって中心的に制御されているとお考えですか。

**塚崎雅之** はい。

## 2. 骨代謝研究における最近のトピックスから

**田中栄** 破骨細胞の起源は骨髄に存在する造血幹細胞から発生するマクロファージ/単球系の細胞であるとするのが定説ですが、最近、それだけではなく卵黄嚢由来のマクロファージも大事であるとする報告が出てきています。小林先生はそうした報告についてどのようにお考えですか。

### ●卵黄嚢由来のマクロファージも破骨細胞の起源か

**小林泰浩** 組織に局在するマクロファージ (Tissue-resident macrophage) の起源について調べられ、造血幹細胞が発生する前の最初の卵黄嚢の Erythromyeloid progenitors (以下, EMPs) 由来のマクロファージが胎生期の E7.5 ~ 8.5 ぐらいの時期にできてきて、それが各組織に分布されると考えられています。この時期に特異的に出るような Cre マウスを使った系譜解析では、脳のマクロファージである Microglia は生後に置き換えられることなく胎生期に発生したまま Microglia としてずっといることが分かっていますが、肺や肝臓などの臓器のマクロファージは成長し大人になっていく段階で徐々に造血幹細胞 (以下, HSC) 由来のマクロファージと入れ替わっていきます。

2016年に Geissmann が発表した論文 (Mass et al. *Science*, 2016)<sup>16)</sup> では、私が作成した RANK-Cre でラベルした各臓器のマクロファージを調べ、卵黄嚢 (Yolk Sac, 以下YS) のマクロファージや、embryo のYS由来のマクロファージが8割ぐらいラベルされます。これが胎生期由来のマク

ロファージ由来であると考えられます。E14.5 から HSC が出てきますが、HSC 由来の myeloid 系細胞は10% ぐらいしかラベルされません。その後、6週になっても HSC 由来のマクロファージ系細胞は10% 程度ですが、EMPs 系由来の、胎生期に発生したマクロファージが各臓器で90% 近くラベルされた細胞がいます。ということで、RANK は非常によくマクロファージをラベルすることがこの論文で報告されました。

その後、Geissmann らはこの RANK-Cre を使って破骨細胞がどうなっているかを調べています (Jacom-Galarza et al. *Nature*, 2019)<sup>17)</sup>。興味深いことに、HSC で発現するような Flt3-Cre を使った M-CSF のレセプターのコンディショナルノックアウトマウスでは、4週の時点では破骨細胞の数には全く影響がなくて菌も正常に萌出するもののその後だんだん加齢とともに HSC で M-CSF のレセプターが出ないので破骨細胞が減ってくるというフェノタイプが示されています。

片や、RANK-Cre で Csf1 のノックアウトマウスでは、生まれたばかりのときにはほとんど破骨細胞がいなくて菌も生えませんが、4週間になると、菌は萌出しませんが骨髄の中の破骨細胞が徐々に増えてきました。Geissmann らの結論としては、最初の EMPs 由来のマクロファージからつくられる破骨細胞は菌の発生や初期の骨リモデリングにおいて重要ではないかということです。しかし、どうしてこのようなフェノタイプになるかまだまだ不明な点が残されています。

富山大学の箭原康人先生 (現大阪大

学) は、Cx3cr1 などいろいろな Cre を使いシングルセル解析を行い、破骨細胞前駆細胞には YS 由来の破骨細胞前駆細胞、EMPs 由来の破骨細胞、HSC 由来の破骨細胞がいて、これらがフュージョンして最初に生まれてきた段階では骨のリモデリングをするし、興味深いことに、YS 由来のマクロファージは脾臓で保存されており、骨折治癒のときに分化して行くことを報告しています (Yahara et al. *Nat Cell Biol*, 2020)<sup>18)</sup>。また、大阪大学の石井優先生らは、Cx3cr1<sup>lo</sup>Ly6Chi から分化してくる R3' /AtoM がリウマチのときに非常に破骨細胞に分化しやすい病的な破骨細胞に分化することと、AtoM になるための重要な転写因子として FoxM1 を発見し、これが病的な破骨細胞を regulate する pathway であり、リウマチに特異的に出てくる前駆細胞であり非常に破骨細胞に分化しやすいという報告をしています (Hasegawa et al. *Nat Immunol*, 2019)<sup>19)</sup>。

**田中栄** ありがとうございます。

塚崎先生から追加でコメントはありますか。

### ●破骨細胞の寿命について

**塚崎雅之** Geissmann の論文 (Jacom-Galarza et al. *Nature*, 2019)<sup>17)</sup> に関しては2つ大きな問題があると思っています。1つは著者らが、RANK-Cre を YS 由来マクロファージ特異的な Cre であり、骨髄マクロファージの系譜には発現しない Cre と解釈している点です。YS 由来でも骨髄由来でも、破骨前駆細胞に分化した時点で RANK が発現し Cre リコンビネーションが起こると考えられます。RANK-



CreでM-CSF受容体を除去したマウスにおいて、加齢と共に破骨細胞が出現するというデータは驚きですし、YS由来か骨髄由来かという問題で説明できる現象ではないと思います。

**小林泰浩** 今後明らかにされるべき点だと思います。

**塚崎雅之** もう一つは、破骨細胞の寿命に関する著者らの解釈です。YS由来マクロファージをラベルし、生後の破骨細胞を観察するFate-mapping実験の結果から、破骨細胞は長寿命であり融合により新しい核を取り込みながら生き続けると結論づけていますが、破骨細胞でなく破骨前駆細胞が長寿命である可能性が見落とされています。溝口利英先生、高

橋直之先生らは破骨前駆細胞が長寿命であることを報告されており(Mizoguchi T et al. *J Cell Biol.* 2009)<sup>20)</sup>、Geissmannのデータも破骨前駆細胞が長寿命であることを支持するものと私は解釈しています。もし破骨細胞の寿命が長く、一度形成された破骨細胞が何ヵ月も生存するのであれば、リウマチや歯周病などの炎症性骨疾患において炎症を抑えても骨吸収は進行し続けることになりますが、実際そんなことはないと思います。

**田中栄** 破骨細胞自体がそんなに長寿命であるということは通常はなさそうですね。*In vivo*でも多分数週間でなくなってしまうから。

**塚崎雅之** はい。教科書的には破骨細

胞の寿命は2～3週間とされています。ただ、その根拠となっているのは、M-CSFのノックアウトマウスにM-CSFを投与すると破骨細胞が出現するが2週間ぐらいいなくなるという論文(Kodama H. *JBMR.* 1993)<sup>21)</sup> かと思います。この結果ですと、投与したM-CSFが枯渇したために破骨細胞が死んでしまっただけかもしれないので、実は生理的な状況下における破骨細胞の寿命を生体で検証したデータはまだないのではと思っています。

**田中栄** なるほど。そこを改定する必要があるということですね。

**塚崎雅之** はい。

**田中栄** ありがとうございます。

### 3. 病的な骨破壊について①——骨粗鬆症

**田中栄** 次に今回のテーマになっている病的な骨破壊について議論したいと思います。いくつかある病的な骨破壊の中で代表的な疾患は骨粗鬆症であると思います。田中良哉先生から、骨粗鬆症における病的な骨破壊のメカニズムや、薬物治療のメカニズムと有効性、またステロイド性骨粗鬆症(GIOP)などについてお話したいかと思います。

#### ●骨粗鬆症は骨代謝異常症である

**田中良哉** かつて骨粗鬆症とは「低骨量で、かつ骨組織の微細構造が変化し、そのため骨が脆くなり骨折しやすくなった病態」(折茂 肇, 他. 日本骨代謝学会雑誌. 1997)<sup>22)</sup>と定義されていました。骨がスカスカになって骨折しやすくなっている病態ということです。正常な椎骨は大体700kgの荷重に耐えられると言われますが、骨粗鬆症の病態になると跳んだり転けたり、重い物を持つとグシャッとつぶれてしまいます。その後2000年にNIH(米国立衛生研究所)は、「骨の強さ=骨密度(体積または面積当たりの骨量)+骨質(微細構造、代謝回転、骨気質損傷度、石灰化度)」と定義しました。つまり、骨の強さは骨の量だけではなく骨の質でも規定さ

れ、骨の量と骨の質のいずれかまたはその双方が弱くなったときに骨がもろくなると骨粗鬆症であるということです(NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis. *JAMA.* 2001)<sup>23)</sup>。

骨は、骨を食う破骨細胞、骨をつくる骨芽細胞・骨細胞から形成されます。カルシウムイオンが必要になると、骨芽細胞・骨細胞が未熟な破骨細胞を刺激します。カルシウムイオンは全ての細胞が機能する上で重要であり、その主な供給源は消化管であり腎尿管ですが、いずれも不安定な供給源であり、最も重要な供給源は骨です。からだの骨格を支える重要な臓器である骨は、カルシウムイオンなどのミネラルの重要な供給源となっています。カルシウムが不足すると、骨芽細胞・骨細胞が破骨細胞をRANKLなどを介して刺激し、破骨細胞は骨を食ってカルシウムを吸収し供給します。しかし、食ったままではまずいので骨芽細胞・骨細胞がその後、骨基質を産生して埋め合わせます。このようにして順次行われている破壊と形成の回転を骨代謝回転と言います。破骨細胞による吸収が2～3週間、骨芽細胞による形成が2～3ヵ月で行われますので、ほぼ3

～4ヵ月で1周するとされています。

ところが閉経後などによりカルシウムイオンが不足すると、骨芽細胞が破骨細胞をガンガン刺激し、破骨細胞はパクパク骨を食ってカルシウムイオンを供給するわけです。若いうちは骨芽細胞・骨細胞がこれを元通りに穴埋めしてくれますが、年を重ねてしまうと骨芽細胞や骨細胞もへばってしまったりして、穴埋めがうまくいけなくなり穴が空いたままになってしまいます。これが骨粗鬆症の始まりです。そうしたことから骨粗鬆症は骨代謝回転の異常=骨代謝異常症とも言えるわけです(Tanaka Y. *J Bone Miner Metabol.* 2019)<sup>24)</sup>。

骨粗鬆症の治療には、破骨細胞の食い過ぎを止める薬剤として、例えばビスホスホネートや抗RANKL抗体が重要ですが、弱くなった骨芽細胞を元気にする薬剤として抗スクレロシン抗体やPTH(副甲状腺ホルモン)も重要です(図3)<sup>24)</sup>。

#### ●骨粗鬆症の治療薬①：ビスホスホネート

**田中良哉** ビスホスホネートは、HMG CoAからコレステロールがつけられるメバロン酸経路の少し下流のファルネシルピロリン酸合成酵素を抑制する薬剤で

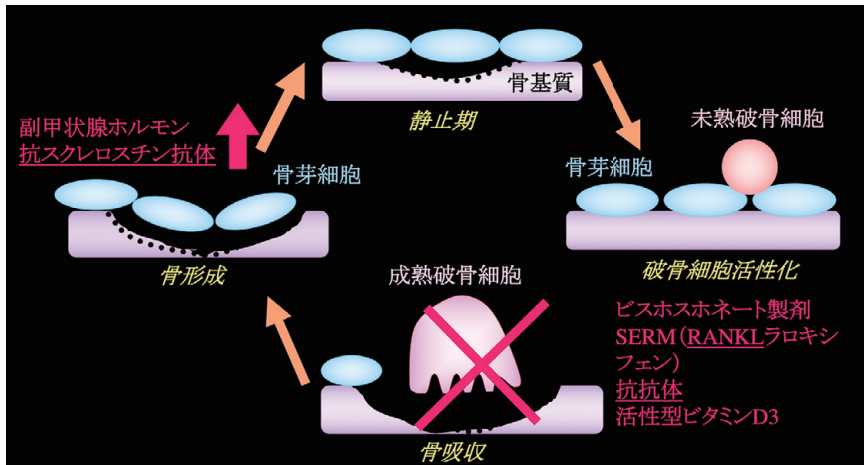


図3. 骨代謝異常症とその治療薬

(田中良哉先生提供)

す。スタチン作用点の少し下流になります。そうであれば、スタチンでも骨は治るのかということになりますが、そうはいきません。ビスホスホネートの優れたところは、骨のハイドロキシアパタイトだけにきちんと沈着する点です。ですから破骨細胞の中にあるビスホスホネートと一緒に食われて、破骨細胞の中だけのメバロン酸経路、ファルネシルピロリン酸の合成をブロックして破骨細胞の膜のプレニル化が保たれなくなって破骨細胞がアポトーシスに陥ります。このようにビスホスホネートは作用機序が明確であるということで、今までゴールドスタンダードの薬剤として用いられてきたわけです。

### ●骨粗鬆症の治療薬②：デノスマブ

**田中良哉** ただ、破骨細胞を本当に殺してしまってもいいのか、また、骨組織に沈着したビスホスホネートしか破骨細胞に取り込まれませんから本当に全ての破骨細胞に行き渡るのかという疑問はありました。骨芽細胞から骨細胞に分化していくとRANKLが発現され、それらは破骨細胞の分化、活性化を誘導します。逆に、例えばRANKあるいはRANKLをノックアウトするとマウスでは大理石骨病になります。そこを上手に使ったのがRANKLに対する抗体であるデノスマブです(Tanaka Y. *J Bone Miner Metabol*, 2019)<sup>24)</sup>。これは破骨細胞の分化、活性化をブロックします。破骨細胞を殺したりはしません。また、抗体なので隔々まで硬い皮質骨(緻密

骨)にまで到達します。先ほどもお話がありました、抗RANKL抗体を用いると海綿骨だけではなく皮質骨の吸収もよく抑え、脊椎のみならず大腿骨などの長管骨の骨密度もよく改善し、非常にいい骨吸収薬だと臨床の現場でも実感することができます。

### ●骨粗鬆症の治療薬③：PTH製剤

**田中良哉** 一方で、骨芽細胞や骨細胞を元気にする薬剤も重要です。その1つがPTHです。PTHは84のアミノ酸から成りますが、そのうちN端の34だけでつくった薬剤がテリパラチドです(Fujita T et al. *Osteoporosis Int*, 1999)<sup>25)</sup>。ただ、これは毎日皮下注射しなければならないので少々煩雑です。

### ●骨粗鬆症の治療薬④：スクレロスチン

**田中良哉** 抗スクレロスチン抗体も骨芽細胞や骨細胞を元気にする薬剤です。先ほどお話がありましたように、Wntを介するシグナルはLRP-5/6に結合してfrizzledを介して様々な骨形成シグナルを誘導します。ところがスクレロスチンは骨芽細胞・骨細胞に発現するLRP-5/6を奪ってしまい、Wntを介するシグナルが伝わらなくなってしまうことで骨形成ができなくなってしまうわけです。したがって、スクレロスチンに対する抗体を使ってLRP-5/6を元のさやに戻してしまうことによって、Wntを介するシグナルが伝わり、骨形成が誘導されというの

が抗スクレロスチン抗体の作用機序です。非常によく骨形成をもたらし、しかも、海綿骨でも皮質骨でも骨形成がよくもたらされるということで、大変優れた薬剤として評価されています。

### ●続発性骨粗鬆症の問題について

**田中良哉** 以上、閉経後の原発性骨粗鬆症とその治療薬について申し上げましたが、骨粗鬆症には続発性骨粗鬆症という大きな問題もあります。全国に原発性骨粗鬆症の患者数は約1,400万人、続発性骨粗鬆症は約200万人とされています。続発性骨粗鬆症患者の大部分は薬剤性骨粗鬆症です。私たちが処方した薬剤でもって骨粗鬆症が起こっていくわけなので、本来であれば薬剤を処方した先生が責任を持って薬剤による続発性骨粗鬆症をちゃんと制御・管理しなければならないのです。

薬剤性骨粗鬆症の中で最も多いのがグルココルチコイド誘発性骨粗鬆症です。グルココルチコイドで3ヵ月以上治療した大部分の患者で骨粗鬆症やそれに伴う骨折が生じます。日本では100万人以上の患者がいます。グルココルチコイドとは副腎皮質から産生されるホルモンで、これまで「副腎皮質ステロイド薬」と呼ばれていました。合成グルココルチコイドは、膠原病リウマチ疾患、呼吸器、腎、神経、消化器疾患など、多くの病気の治療に使用しますが、3ヵ月以上使用している方は骨に要注意です。

生体内のグルココルチコイドは、グルココルチコイドレセプター(以下、GR)に結合すると核内まで行き、糖代謝、脂質代謝など、代謝に重要なGR binding siteを有する様々な転写因子の転写を誘導することによって、transactivation作用を介して生理活性を発揮し、生体のホメオスタシスを守っている重要なホルモンです。ところが、外から薬剤としてグルココルチコイドを投与すると、やはりGRに結合して、TNF-αなどの様々な重要なサイトカインの転写に関与するAP-1やNF-κBとcompetitiveに、あ



るいはcognateに結合してこれらを介するシグナルをブロックします。これがtransrepressionを介するグルコルチコイドの薬理作用です。このような薬理作用を私たちは期待して多くの患者にグルコルチコイドを使ってまいりました。そして、グルコルチコイドはたくさんの方の命を救い、痛みに苦しむたくさんの方を救ってきた本当にすばらしい薬剤でありました。ただ、グルコルチコイドを少し多く使い過ぎると、抗免疫作用が強くなってしまいます。それは免疫抑制であり感染症にかかりやすくなります(Hartmann K, et al. *Physiol Rev*, 2016)<sup>26)</sup>。

もう1つ重要な問題として、グルコルチコイドがtransactivation作用を介して生理活性をもたらすだけであればいいのですが、必ず糖代謝、脂質代謝、骨代謝の異常をもたらしてしまうことがあります。例えば、骨においては骨細胞にアポトーシスを誘導してしまい、骨にとって大変重大な問題となります。そもそも骨のリモデリング、モデリングの要となり骨を支える上で重要な骨細胞を殺してしまうので、骨吸収が誘導され骨形成がブロックされるというとてもないことが起こっていきます(Ferrari S, Langdahl B. *Nat Rev Rheumatol*, 2023)<sup>27)</sup>。2例のGIOP(脊椎圧迫骨折)の画像を供覧します(図4)。どちらも私の患者さんです。グルコルチコイドを服用してわずか3ヵ月でこんなにひどい骨折が起こっています。右は47歳で閉経前ですが、多くの骨折が同時に起こっています。

グルコルチコイドを使っている日本人60数万人のうち年齢と性がマッチした方をreferenceと比較した近畿大学の伊木雅之先生たちの報告では、プレドニゾロン(以下PSL)換算で5mg以上を31~60日以上使うと、大腿骨近位部骨折の発生率が増えて行って1~3年目には約2倍増加し、1.0~2.5mgというごく少量でも1.3~1.5倍増えました(Iki M, et al. *Osteoporosis Int*, 2024)<sup>28)</sup>。日本人ほぼ全員のデータから、たとえごく少量でも骨折が起こるので、グルコルチコイドを使う

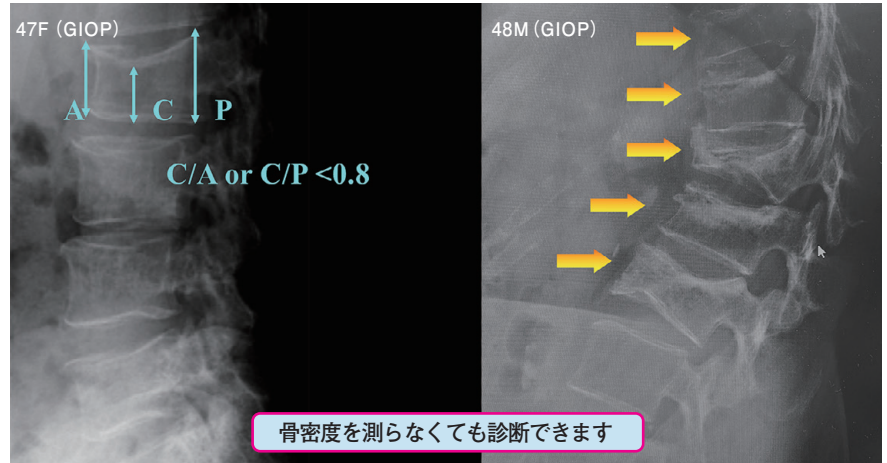


図4. 脊椎圧迫骨折 (田中良哉先生提供)

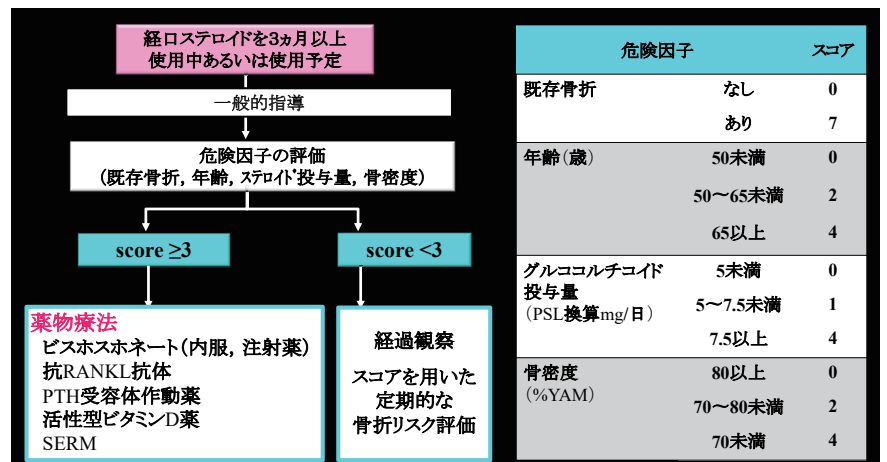


図5. 『グルコルチコイド誘発性骨粗鬆症の管理と治療ガイドライン 2023』より  
本学会グルコルチコイド誘発性骨粗鬆症の管理と治療のガイドライン作成委員会編。委員長：田中良哉先生。

場合にはしっかり管理しなければならぬことが分かったわけです。もはや逃げも隠れもできません。

日本骨代謝学会では一昨年(2023), 『グルコルチコイド誘発性骨粗鬆症の管理と治療ガイドライン2023』を発表しています。田中榮先生にも管理委員会及び作成委員会の両方を担っていただきました。まず、私たち作成委員会は臨床カルクエスチョンを17設け、それに対する推奨文をつくり、その中でグルコルチコイド誘発性骨粗鬆症の危険因子として、既存骨折、年齢、グルコルチコイド投与量、骨密度が検出されました。次に、そのパラメーター推定値を基にこれらの重みづけをし、さらにROC解析を行いカットオフポイントがどこであるかを求めました。その結果、危険因子が3点以上であれば薬物治療の介入をする必

要があることが分かりました<sup>29)</sup>(図5)。

したがって、3ヵ月以上グルコルチコイドを使う場合、例えば65歳以上であれば4点ですので、骨密度を測らずとも、薬物治療を開始しなければなりません。グルコルチコイド投与量(PSL換算mg/日)7.5mg以上、また、骨密度が70%未満であれば4点ですので薬物治療を始めなければなりません。推奨される薬剤は、ビスホスホネート(内服、注射薬)、抗RANKL抗体、PTH受容体作動薬、活性型ビタミンD薬などがあります。なお、抗スクレロシン抗体に関してはまだエビデンスがなかったということでこの時点では薬物療法の中には含まれませんでした(Tanaka Y, et al. *J Bone Miner Metab*, 2024)<sup>29)</sup>。

このように今、私たちの領域では、原発性骨粗鬆症の管理と治療、さらにはグ

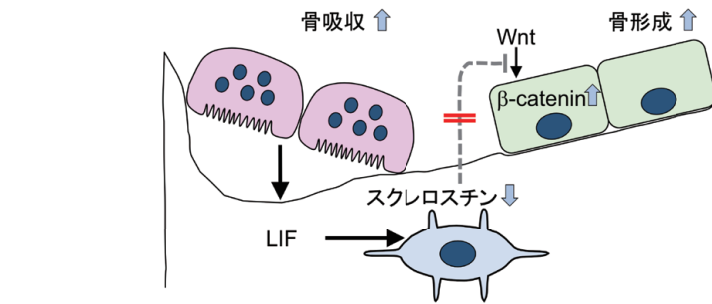
ルコルチコイド誘発性などの続発性骨粗鬆症の管理と治療に焦点を絞って検討されているところです。

**田中栄** ありがとうございます。

さて破骨細胞による骨吸収に引き続いて骨芽細胞が骨形成を行う現象はカップリングと呼ばれていますが、小林先生は、そこに関与する因子として破骨細胞が分泌する LIF (白血病阻害因子) が重要であるという論文を出しておられます。一言ご紹介いただいてもよろしいですか。

#### ●カップリング因子について

**小林泰浩** 破骨細胞によって骨吸収が起こった後、吸収窩を埋めるための骨芽細胞がどのように活性化されるかということで、骨代謝共役因子として、骨基質に埋め込まれている IGF-1, TGF- $\beta$  が破骨細胞に掘り出されることによって骨芽細胞前駆細胞に働くということが以前から想定されてきました。そして近年 Xu Cao のグループによって、*in vivo* でこれらの因子が重要であることが明らかにされました。他にも、Cthrc-1, EphrinB2, S1P, CT-1 など破骨細胞から分泌されて骨形成を活性化する因子が報告されています。しかし、破骨細胞



**図 6. 骨代謝共役における破骨細胞由来 leukemia inhibitory factor (LIF) の役割**

破骨細胞は骨吸収に伴い LIF を分泌し、骨細胞におけるスクレロステチン発現を抑制する。これによって骨芽細胞での Wnt/ $\beta$ -カテンン経路が活性化し、骨形成が増加する。（小林泰浩先生提供）

が骨芽細胞や骨芽細胞前駆細胞に直接的に働くのではなく、骨細胞に働く系についてはよく分かりませんでした。

我々は OPG ノックアウトマウスを解析し、破骨細胞分化抑制因子である OPG がないと非常に骨吸収が高まりますが、同時に骨形成も非常に高まること報告してきました。では、どうして骨吸収が高まると骨形成が高まるのか、さらに細かく見ていくと OPG ノックアウトマウスでは Wnt/ $\beta$ -catenin ス阻害因子スクレロステチンの発現が非常に低下していることが明らかになりました。また、骨リモデリングの際、通常の状態ではスクレロステチンが骨細胞から出てきて Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを抑制することに

よって過剰な骨形成が起こらないようブレーキをかけていますが、骨吸収が過剰になった状態では破骨細胞由来の LIF が骨細胞のスクレロステチン発現を抑制することで Wnt/ $\beta$ -catenin 系の抑制が解除されて骨形成が高まることを見つけました (Koide et al. *Sci Rep*. 2020)<sup>30)</sup>。

したがって、破骨細胞が分泌する LIF が骨細胞のスクレロステチン発現を下げることによって骨形成を亢進させるメカニズムを提唱しました(図6)。

**田中栄** ありがとうございます。カップリング因子として LIF が働くのではないかということを非常にきれいなデータで示していただきました。

## 4. 病的な骨破壊について②——関節リウマチ

**田中栄** 続きまして病的な骨破壊の2つ目として関節リウマチをとりあげたいと思います。まず田中良哉先生から、関節リウマチにおける関節破壊メカニズム、近年の治療薬の進歩などについてご解説いただければと思います。

**田中良哉** 関節リウマチは、発症早期から関節破壊が始まって、進行すると日常生活が大幅に障害されるという疾患だと理解されておりました。その後、関節の中の滑膜にリンパ球が集積し、そこで強い炎症が起こっていて、このリンパ球の多くは自己反応性リンパ球であるということが分かってきました。つまり、免疫の異常が介在するということです。したがって、この疾患を制御するためには

免疫異常を抑制しなければならないということで免疫抑制薬が使われるようになりました。その代表がメトトレキサートです。逆に言えば、免疫抑制薬を関節リウマチの治療に使った場合、私たちは「疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs)」あるいは略して「抗リウマチ薬」と言うようになりました。抗リウマチ薬は、メトトレキサートに代表される内服可能な「合成抗リウマチ薬」と、生物学的製剤で作った「バイオ抗リウマチ薬」の2つに大きく分かれますが、これらを用いることによって免疫異常を抑制し、疾患を制御し、大部分の患者さんで寛解導入が可能となり、寛解に入れば関節が壊れなくなることが分かってきました。現在、生

物学的製剤には6種類の TNF 阻害薬、2種類の IL-6 阻害薬、1種類の T 細胞選択的共刺激調節薬があります (Tanaka Y. *Inflamm Regen*. 2020)<sup>31)</sup>。

#### ●関節リウマチにおける関節破壊メカニズム

**田中良哉** 骨がどうして壊れるかと言いますと、1つには、関節裂隙の狭小化といって、骨と骨の間にある軟骨が溶けていき、X 線で見ると骨と骨の間の隙間がなくなります。それから、骨が壊れ、骨が食われ、穴が空いてしまい、骨びらんができるというように骨が溶けます。しかし、軟骨が溶けるのと骨が溶けるのは、実は全く違ったメカニズムの可能性



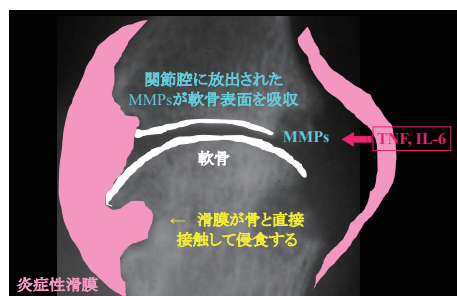


図7. 関節リウマチに伴う軟骨吸収と軟骨下骨の破壊 (田中良哉先生提供)

があります。

軟骨の表面は、滑液という関節の中の液体に浸っています。リウマチなどで関節の滑膜が刺激されてリンパ球などからTNFやIL-6が産生されると、滑膜から蛋白分解酵素であるmatrix metalloproteinase (MMP-3)などが産生され滑液中に放出されます。滑液に浸っている軟骨の表面はじわじわとMMPsで酵素分解されていく。これが軟骨破壊であると言われています。軟骨破壊は滑膜の炎症に依存していますので、それをブロックすることによってMMPsの産生が抑えられ軟骨の吸収が抑えられるものと考えられています。ところが骨の破壊は、軟骨が溶けて骨が溶けるわけではなく、滑膜が骨のほうにせり出して、滑膜と骨の境目では、末梢血の単球が組織へ流れてきた破骨細胞前駆細胞が破骨細胞に分化して、骨をグイグイ食ってしまいます(図7) (Tanaka Y. J Clin Med. 2021 / Tanaka Y. J Bone Miner Metabol. 2019 / Tanaka Y and Okada Y. Curr Drugs Targets. 2005)<sup>24) 32) 33)</sup>。

ここで重要な点は、滑膜と骨の境目のどこを見ても骨芽細胞も骨細胞も存在しないことです。

高柳広先生たちは、TNFやIL-6などで滑膜細胞やT細胞が刺激されるとRANKLを発現し骨芽細胞や骨細胞に成り代わって破骨細胞の成熟・分化を誘導するからこんなところで破骨細胞が大量にできてしまったということを明らかにしました。これがオステオイムノロジー(Osteoimmunology)の始まりです。



図8. 骨粗鬆症とRA骨障害は全く異なるメカニズムである (田中良哉先生提供)

### ●関節リウマチに対するデノスマブの効果

田中良哉 したがって、TNFやIL-6をブロックすればこの一連の過程は阻害されるはずで、その結果として骨が溶けなくなります。もっと簡単に言えば、RANKLをブロックすればこの破壊もブロックできるのではないかと私たちも考えました。

そこで、すでに骨粗鬆症の適応承認されていた、RANKLを標的としたヒト型モノクローナル抗体製剤であるデノスマブを関節リウマチに使いました。まず、軟骨破壊を示す関節裂隙の狭小化に対して、デノスマブは半年たっても1年たってもプラセボと全く差がありませんでした。しかし、骨びらんに関しては用量依存的にブロックすることが分かりました(Tanaka Y. et al. RMD Open. 2020)<sup>34)</sup>。つまり、骨びらんには基質細胞や滑膜細胞に存在するRANKLに依存していて、それをブロックすることによって骨びらんを抑制できるということです。

### ●関節リウマチに対するJAK阻害薬の可能性

田中良哉 最近では、JAK阻害薬も骨びらんを抑制することが可能であるということが明らかになりました。実はJAK依存性のシグナルは破骨細胞、骨芽細胞や骨細胞にはあまり存在していないので、どうしてこれがブロックできるのかと思いました。普通は単球からマク

ロファージができて破骨細胞ができてくるわけですが、私たちは樹状細胞から分化した破骨細胞も存在するかもしれないということをヒトの系で見つけました。単球から樹状細胞への分化を誘導するGM-CSFとIL-4をブロックすることによって、この一連の過程が抑制できますから、JAK阻害薬でも破骨細胞を制御できるのではないかとことを示しました(Tanaka Y. J Clin Med. 2021 / Narisawa M. et al. Bone. 2021)<sup>32) 35)</sup>。

骨粗鬆症と関節破壊とでメカニズムは全く異なります。骨粗鬆症は骨代謝回転の異常であり、破骨細胞の食い過ぎを骨芽細胞が穴埋めできなくなって起こってきますが、関節リウマチの骨びらの形成においては骨芽細胞も破骨細胞も関与することなく、単球あるいはリンパ球や滑膜線維芽細胞に発現するRANKLの関与で起こります。つまり、骨代謝回転から完全に逸脱してしまった状態、骨芽細胞非依存的に起こってくるのが骨びらんであって、ここをきれいに制御するのが抗RANKL抗体であり、TNF阻害薬やJAK阻害薬なのかもしれません(Tanaka Y. J Clin Med. 2021) (図8)<sup>32)</sup>。

こうしてメカニズムが明らかになってくるとともに、私たちは治療の方法を見つけ出すことができるのですし、逆に、治療の結果からメカニズムが異なるのではないかと気づくこともあります。

田中栄 リウマチにおける関節破壊、軟骨破壊と骨破壊のメカニズムの違い、



さらに治療の違いも言及していただきありがとうございます。特にデノスマブは日本ならではの抗リウマチ薬として使うことができるということで、大変すばらしい臨床研究だと思います。関節リウマチの骨・軟骨破壊においてはRANKLによる破骨細胞分化、骨破壊とMMPなどによる軟骨破壊の2つの異なるpathwayが重要であることを示していただきました(図9)<sup>36)</sup>。

### ●RANKLエンハンサー領域について

**田中栄** 塚崎先生は最近RANKLの発現制御などについても研究されておられますが、関連のトピックスがありましたらご紹介いただいてよろしいですか。

**塚崎雅之** 関節リウマチ骨破壊において滑膜線維芽細胞がRANKLの産生源であるというのが、私の師匠の高柳先生が田中栄先生から実験を習っていた頃からのライフワークでして、最近では小松紀子先生らが滑膜線維芽細胞特異的なRANKLコンディショナルノックアウトマウスを用いて生体レベルで証明されています(Komatsu N et al. *J Clin Invest*, 2022)<sup>37)</sup>。そこで次に私たちは、滑膜線維芽細胞でRANKLが誘導されるメカニズムの解明に取り組みました(Yan M et al. *Nature Immunol*, 2022)<sup>38)</sup>。

まず、高柳研の当時大学院生であったYan Mingluさんが公共データベースに公開されていたリウマチ患者の滑膜線維芽細胞を用いたエピゲノム解析データを解析し、滑膜線維芽細胞で活性化しているRANKLエンハンサー領域の候補を5つ(E1-E5)同定しました。現在は東京理科大学におられる室 龍之介さんが5領域を全てクローニングしてルシフェラーゼアッセイを行い、試験管内でRANKL発現誘導能を示す3つの領域(E1, E2, E3)を絞り込みました。それぞれのエンハンサー領域を欠損したマウスを作成し関節炎を誘導したところ、関節炎に伴う骨破壊が抑制されたのはE3領域を欠損したマウスだけでした。そこで、E3領域に結合する転写因子をモチーフ解析で

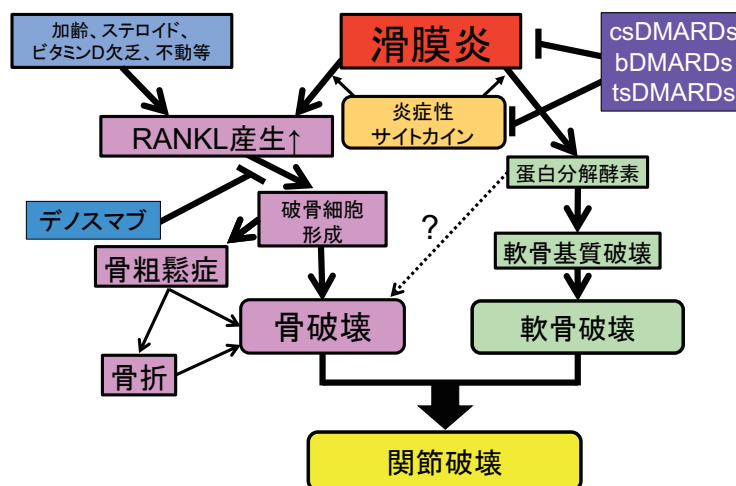
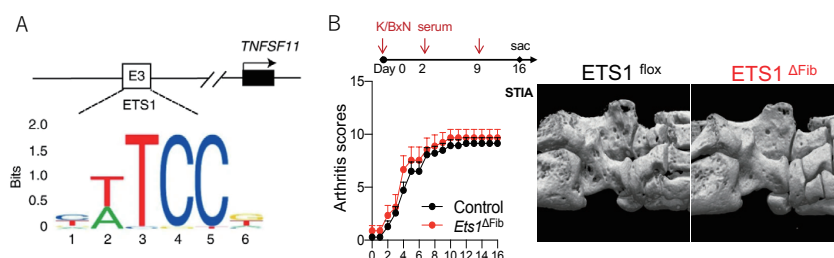


図9. 関節リウマチにおける関節破壊メカニズムの概念図

DMARDsは滑膜炎を抑制することで関節破壊の進行を抑制するが、加齢などその他の原因によって生じる骨破壊・骨粗鬆症化に対する効果は限定的である。デノスマブはRANKLを抑制することで骨粗鬆症、骨破壊を特異的に抑制する。(文献36より改変引用)

DMARDs: disease-modifying anti-rheumatic drugs, csDMARDs: conventional synthetic DMARDs, bDMARD: biological DMARDs, tsDMARD: targeted synthetic DMARDs, RANKL: receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (田中栄先生提供)



Yan, et al., *Nature Immunol* 2022

図10. 関節炎に伴う骨破壊に寄与するRANKLエンハンサーE3領域と転写因子ETS1の同定

(A) モチーフ解析によるE3結合転写因子ETS1の同定。(B) 線維芽細胞特異的ETS1欠損マウス(ETS1 Δ Fib)では関節炎の炎症レベルには変化なく骨破壊のみが抑制された。

(塚崎雅之先生提供)

調べたところETS1がヒットし、これを滑膜線維芽細胞特異的にノックアウトすると、関節炎の炎症レベルは変わらないものの、骨破壊は有意に抑制されることが分かりました(図10)。

関節炎を誘導した滑膜線維芽細胞特異的ETS1欠損マウスから滑膜線維芽細胞を回収してRNA-seq解析を行ったところ、コントロールと比較してRANKLだけでなくMMPsなど組織破壊に関わる遺伝子が軒並み低下していることに気がつきました。一方で、炎症性サイトカインやケモカインなど炎症因子の発現に関しては全く変化がありませんでした。

当時、様々な疾患において、線維芽細胞が大きく分けて「組織破壊・リモデリング型」または「炎症型」の2つのタイプに極性化することで病態形成に寄与するという報告が相次いでいた時期でした(Davidson S et al. *Nat Rev Immunol*, 2021)<sup>39)</sup>。我々はRANKL発現の上流としてETS1を同定したわけですが、RNAseqのデータを見ているうちに、ETS1は単なるRANKL誘導因子でなく、線維芽細胞を組織破壊・リモデリング型へ極性化させる転写因子という、もっと大きな枠組みで機能を議論すべき因子なのではと考えるようになりました。そこで他の疾患への関与を検

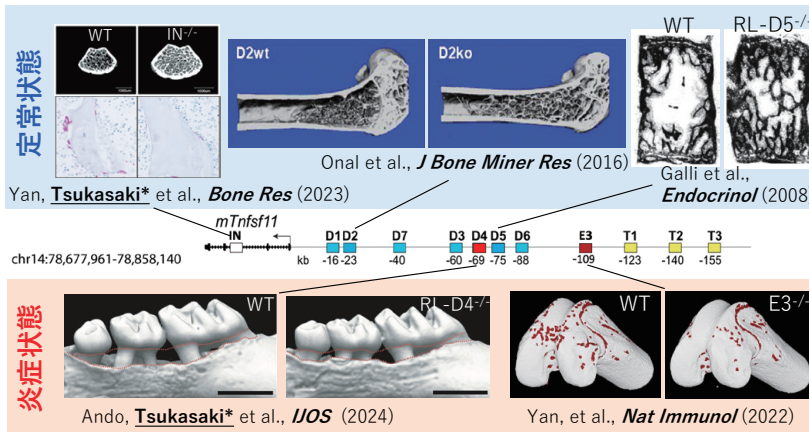


図 11. 細胞種・状況特異的な RANKL エンハンサー領域

生理的な骨リモデリングにおいては骨細胞や骨芽細胞が RANKL 供給源となり、イントロン領域や転写開始点上流に存在するエンハンサーが RANKL 発現を制御する。歯周炎や関節炎においては線維芽細胞が RANKL のソースとなり、それぞれ異なるエンハンサーが炎症性サイトカインに応答し RANKL 発現を誘導する。胸腺の成熟に寄与する T 細胞 RANKL の制御領域は遠位上流に存在する。(塚崎雅之先生提供)

討し、ETS1 による線維芽細胞制御が腸炎や悪性腫瘍の病態にも寄与する可能性を見出しました。

RANKL エンハンサーに関しては以前より、O'Brien や Pike のグループ (Onal et al.

J Bone Miner Res. 2016, Galli et al. Endocrinol. 2008)<sup>40) 41)</sup> 他が骨芽細胞において重要な領域を複数同定していました。最近では私たちもイントロン領域に骨細胞の RANKL 制御に重要なエンハンサーが存在すること (Yan M,

Tsukasaki M et al. Bone Res. 2023)<sup>42)</sup>、上述の関節リウマチにおける滑膜線維芽細胞の E3 領域 (Yan M et al. Nature Immunol. 2022)<sup>38)</sup>、歯周炎において歯根膜線維芽細胞の RANKL 発現に関わる D4 領域 (Ando Y, Tsukasaki M, et al. JIOS. 2024)<sup>43)</sup>などを同定しています。T 細胞における RANKL 発現制御に関しては、さらに遠位上流のエンハンサーが重要だということも報告されており、細胞種や状況に応じて使用される RANKL エンハンサーが異なることが分かってきました (図 11)。

**田中栄** ありがとうございます。RANKL の発現制御については、昔からビタミン D や PTH の関与が知られていましたが、なかなか具体的な制御メカニズムがわかりませんでした。塚崎先生のお仕事ではエンハンサー領域も精緻にマッピングされて、そこを標的にした治療の可能性を示唆しており、大変期待が持てると思います。

## 5. 病的な骨破壊について③——癌による骨破壊・骨転移

**田中栄** 引き続き癌による骨破壊・骨転移に焦点を定めて塚崎先生にお話したいかと思います。

**塚崎雅之** これまでに行われてきた「癌による骨破壊」の研究の多くが、「癌の骨転移」に関するものでした。原発巣の癌が、可溶性 RANKL を含むケモカインに引き寄せられて骨に転移し、PTHrP や PGE2、様々なサイトカインを産生することで骨芽細胞や骨細胞、間質細胞の RANKL を誘導し、これにより破骨細胞が活性化して骨吸収を起こすことで、骨基質から成長因子がリリースされて腫瘍増殖を促すという「悪循環」が生じることが知られています (Okamoto K. JBMM. 2021)<sup>44)</sup>。また、最近のトピックとしては、Matt Greenblatt たちが脊椎を形成する骨格幹細胞を同定し、その系譜が MFGE8 を産生して腫瘍細胞を脊椎に引き付けること、これが全身の骨の中で特に脊椎に腫瘍転移が多いことに関わる可能性を提唱しています (Nature. 2023)<sup>45)</sup>。

このように乳癌、前立腺癌、肺癌、悪性黒色腫などで観察される「骨転移」の研究が数多くなされてきましたが、癌の骨への侵入路は血流だけではなく、口腔がんのように、骨に近接する部位で発生した腫瘍は、血流を介さずにダイレクトに骨膜を超えて骨を侵します。このプロセスは「骨浸潤」と呼ばれ、腫瘍が骨へ侵入する際に骨膜が介在する点が骨転移との大きな違いです。

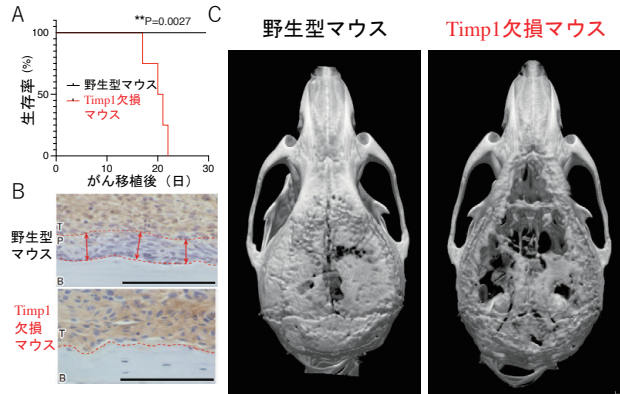
### ●骨膜は腫瘍による骨破壊を抑制する

**塚崎雅之** 癌に伴う骨破壊メカニズムを解析する実験系として一般的に使用されてきたのが、マウスやラットの頭頂部に癌を移植し、頭蓋骨の破壊を観察するモデルです。このモデルを確立した 1985 年の Pollard & Luckert の論文 (JNCI)<sup>46)</sup>で、頭頂部の骨膜を「スクラッチ」する、つまり注射針で機械的に骨膜を破くと骨浸潤が加速することが報告されています。この時点ですでに、骨膜が

腫瘍の浸潤を抑える重要な役割を持つことが示唆されていたのですが、骨浸潤を短期間で観察できる「骨膜スクラッチ」のプロトコルがその後の研究で一般的に用いられるようになり、骨膜—腫瘍の相互作用に関しては見落とされてきました。

私たちは最近、口腔がん骨浸潤の新規マウスモデルを開発し、1985 年に Pollard & Luckert が行った実験を追試しました。彼らの報告通り、骨膜をスクラッチしたマウスでは骨浸潤が加速しましたが、スクラッチしていないマウスの病変をよく観察したところ、腫瘍が近接した骨膜は厚みが通常の 4 倍程度に増加していることに気がつきました。そこで口腔がん患者の病理切片を調べたところ、やはりヒトにおいても腫瘍が近接した骨膜は 3-4 倍程度に厚みを増していることを見出しました。マウスモデルを用いてシングルセル解析を行い、腫瘍が近接した骨組織では骨膜細胞が増加し、遺伝子発現パターンが大きく変化するこ





**図 12. Timp1 は骨膜肥厚を誘導し、がん骨浸潤を抑制する**  
(A) がん細胞移植後の生存曲線。(B) 骨膜の組織像 T; tumor (pan-keratin 抗体で茶染), P; periosteum (骨膜), B; bone (骨)。(C) がん移植後の頭蓋骨 CT 像。  
(塚崎雅之先生提供)

と、中でも腫瘍近接に伴い骨膜細胞で最も顕著に発現が上昇する因子としてプロテアーゼ阻害因子 Timp1 を同定しました。そこで Timp1 遺伝子を欠損したマウスの頭頂骨に、骨膜をスクラッチせずに口腔がん細胞を移植したところ、腫瘍

近接に伴う骨膜肥厚が完全に阻害され、骨浸潤が著明に進行し、野生型マウスよりも早期に死亡することを見出しました(図 12)。こうして腫瘍が近接すると骨膜細胞は増加すると同時に Timp1 を放出し、これがプロテアーゼの働きを抑え

ることで細胞外基質の蓄積が促され、骨膜が肥厚し、物理的に腫瘍の骨浸潤をブロックするというユニークな現象を見出すことができました (Nakamura, Tsukasaki, *Nature*, 2024)<sup>47)</sup>。

**田中栄** ありがとうございます。骨膜が腫瘍による骨破壊を抑制するという非常に驚くべき結果を発表されました。このようなことは腫瘍だけではなく、例えば関節リウマチでもあるのですか？

**塚崎雅之** 田中良哉先生からもリウマチの組織破壊における MMPs の関与についてお話がありました。MMPs を抑える TIMP がリウマチ病態にも関わる可能性は十分に考えられるかと思いますので、TIMP 欠損マウスとリウマチモデルを組み合わせた実験など今後やってみると面白いのではないかと感じました。

**田中栄** ありがとうございます。

## まとめ

**田中栄** 最後にお一方ずつ、本日のご感想等をいただければと思います。まず田中良哉先生から、よろしいですか。

**田中良哉** 骨・関節の破壊については、基礎研究が非常に進み、そのメカニズムの中で重要な分子が明らかになってきました。それが、例えば RANKL であり、あるいはスクレロスタチンです。そしてそれらをピンポイントでターゲティングすることによって見事に治療応用ができます。しかもそれは非常に有効であり、骨粗鬆症だけではなく、リウマチの骨びらんにも効きます。それは私たちが実際に患者さんを診ていて非常にわくわくするところです。これからはメカニズムに立脚した治療がさらに進んでいけばいいと、臨床の立場から本日改めて感じることができました。先生方、どうもありがとうございました。

**田中栄** ありがとうございます。

では、塚崎先生、お願いします。

**塚崎雅之** 骨破壊が最終的に RANKL と破骨細胞に依存する点はこの疾患においても共通していると思います。しかし

ながら、疾患によって RANKL の供給源が異なり、RANKL 制御領域も上流メカニズムも異なります。我々の腫瘍と骨膜の研究からは、RANKL や破骨細胞が登場する骨破壊フェーズの前段階を詳細に調べることの重要性も浮き彫りになったと思います。最近では脊椎、頭蓋骨、骨内膜、骨外膜など部位による骨のバイオロジーの違いも注目されています。骨破壊における RANKL/破骨細胞ドグマは各疾患で共通しつつも、疾患および時空間特異的な骨破壊メカニズムに関してまだ多くの研究課題が残されていると思います。どうもありがとうございました。

**田中栄** ありがとうございます。

では、小林先生、お願いします。

**小林泰浩** 最近、シングルセル RNA シーケンス解析が非常に盛んになり、塚崎先生が報告されているように、破骨細胞の分化系は多段階であることが分かってきました。破骨細胞分化が多段階であるということは破骨細胞に分化する破骨細胞も様々なタイプに分かれているということです。今後、骨吸収

と骨破壊に対する治療をしていく上で、RANKL、RANK 以外にも新たなターゲットが見つかる可能性があるのではないかと考えています。今日は非常に有意義な座談会に参加できたと思っております。どうもありがとうございました。

**田中栄** ありがとうございます。

破骨細胞の研究は、RANKL-RANK 経路の発見によって一段落したのではないかとされた時期もありました。しかし RANKL のシグナル伝達機構が解明されるとともに、抗 RANKL 抗体デノスマブの開発という形で、RANKL を標的にした治療の臨床応用が進みました。また、小林先生が発表されたように、LIF という新たなカップリング因子が解明され、治療標的として期待されています。さらに塚崎先生が発表されたように、RANKL の発現制御機構が分かってくるとそれを標的にした低分子 molecule も開発される可能性があります。まだまだ破骨細胞研究は終わっていないぞと私は言いたい。それが私からのまとめです。(了)



## 参考文献

- 1) Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley JM, Martin TJ, Suda T. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology*. 1988;123(5):2600-2. doi: 10.1210/endo-123-5-2600.
- 2) Tanaka S, Takahashi N, Udagawa N, Tamura T, Akatsu T, Stanley ER, Kurokawa T, Suda T. Macrophage colony-stimulating factor is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J Clin Invest*. 1993; 91(1):257-63. doi: 10.1172/JCI116179.
- 3) Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;234(1):137-42. doi: 10.1006/bbrc.1997.6603.
- 4) Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997; 89(2):309-19. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80209-3.
- 5) Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(7):3597-602. doi: 10.1073/pnas.95.7.3597.
- 6) Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998;93(2):165-76. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81569-x.
- 7) Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, Kurata K, Oh-Hora M, Feng JQ, Bonewald LF, Kodama T, Wutz A, Wagner EF, Penninger JM, Takayanagi H. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med*. 2011;17(10):1231-4. doi: 10.1038/nm.2452.
- 8) Xiong J, Onal M, Jilka RL, Weinstein RS, Manolagas SC, O'Brien CA. Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nat Med*. 2011;17(10):1235-41. doi: 10.1038/nm.2448.
- 9) Takayanagi H, Kim S, Koga T, Nishina H, Isshiki M, Yoshida H, Saiura A, Isobe M, Yokochi T, Inoue J, Wagner EF, Mak TW, Kodama T, Taniguchi T. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell*. 2002;3(6):889-901. doi: 10.1016/s1534-5807(02)00369-6.
- 10) Mizoguchi T, Muto A, Udagawa N, Arai A, Yamashita T, Hosoya A, Ninomiya T, Nakamura H, Yamamoto Y, Kinugawa S, Nakamura M, Nakamichi Y, Kobayashi Y, Nagasawa S, Oda K, Tanaka H, Tagaya M, Penninger JM, Ito M, Takahashi N. Identification of cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors in vivo. *J Cell Biol*. 2009;184(4):541-54. doi: 10.1083/jcb.200806139.
- 11) Glass DA 2nd, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, Taketo MM, Long F, McMahon AP, Lang RA, Karsenty G. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell*. 2005;5(5):751-64. doi: 10.1016/j.devcel.2005.02.017.
- 12) Maeda K, Kobayashi Y, Udagawa N, Uehara S, Ishihara A, Mizoguchi T, Kikuchi Y, Takada I, Kato S, Kani S, Nishita M, Marumo K, Martin TJ, Minami Y, Takahashi N. Wnt5a-Ror2 signaling between osteoblast-lineage cells and osteoclast precursors enhances osteoclastogenesis. *Nat Med*. 2012; 18(3):405-12. doi: 10.1038/nm.2653.
- 13) Cox TR, Rumney RMH, Schoof EM, Perryman L, Høye AM, Agrawal A, Bird D, Latif NA, Forrest H, Evans HR, Huggins ID, Lang G, Linding R, Gartland A, Erler JT. The hypoxic cancer secretome induces pre-metastatic bone lesions through lysyl oxidase. *Nature*. 2015; 522:106-110. [This article was retracted on 17 April 2023]
- 14) Tsukasaki M, Hamada K, Okamoto K, Nagashima K, Terashima A, Komatsu N, Win SJ, Okamura T, Nitta T, Yasuda H, Josef M Penninger JM, Takayanagi H. LOX Fails to Substitute for RANKL in Osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res*. 2017 Mar;32(3):434-439. doi: 10.1002/jbmr.2990. Epub 2016 Oct 3.
- 15) Tanaka S. RANKL-Independent Osteoclastogenesis: A Long-Standing Controversy. *J Bone Miner Res*. 2017;32(3):431-433. doi: 10.1002/jbmr.3092.
- 16) Mass E, Ballesteros I, Farlik M, Halbritter F, Günther P, Crozet L, Jacome-Galarza CE, Händler K, Klughammer J, Kobayashi Y, Gomez-Perdiguero E, Schultze JL, Beyer M, Bock C, Geissmann F. Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science*. 2016;353(6304):aaf4238. doi: 10.1126/science.aaf4238. Epub 2016 Aug 4.
- 17) Jacome-Galarza CE, Percin GI, Muller JT, Mass E, Lazarov T, Eitler J, Rauner M, Yadav VK, Crozet L, Bohm M, Loyher PL, Karsenty G, Waskow C, Geissmann F. Developmental origin, functional maintenance and genetic rescue of osteoclasts. *Nature*. 2019;568(7753):541-545. doi: 10.1038/s41586-019-1105-7. Epub 2019 Apr 10.
- 18) Yahara Y, Barrientos T, Tang YJ, Puvindran V, Nadesan P, Zhang H, Gibson JR, Gregory SG, Diao Y, Xiang Y, Qadri YJ, Souma T, Shinohara ML, Alman BA. Erythromyeloid progenitors give rise to a population of osteoclasts that contribute to bone homeostasis and repair. *Nat Cell Biol*. 2020;22(1):49-59. doi: 10.1038/s41556-019-0437-8. Epub 2020 Jan 6.
- 19) Hasegawa T, Kikuta J, Sudo T, Matsuura Y, Matsui T, Simmons S, Ebina K, Hirao M, Okuzaki D, Yoshida Y, Hirao A, Kalinichenko VV, Yamaoka K, Takeuchi T, Ishii M. Identification of a novel arthritis-associated osteoclast precursor macrophage regulated by FoxM1. *Nat Immunol*. 2019 Dec;20(12):1631-1643. doi: 10.1038/s41590-019-0526-7. Epub 2019 Nov 18.
- 20) Mizoguchi T, Muto A, Udagawa N, Arai A, Yamashita T, Hosoya A, Ninomiya T, Nakamura H, Yamamoto Y, Kinugawa S, Nakamura M, Nakamichi Y, Kobayashi Y, Nagasawa S, Oda K, Tanaka H, Tagaya M, Penninger JM, Ito M, Takahashi N. Identification of cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors in vivo. *J Cell Biol*. 2009;184(4): 541-554.
- 21) Kodama H, Yamasaki A, Abe M, Niida S, Hakeda Y, Kawashima H. Transient recruitment of osteoclasts and expression of their function in osteopetrotic (op/op) mice by a single injection of macrophage colony-stimulating factor. *J Bone Miner Res*. 1993;8(1):45-50. https://doi.org/10.1002/jbmr.5650080107.
- 22) 折茂 肇, 他. 日本骨代謝学会雑誌 14. 1997:219-233.
- 23) NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*. 2001;285:785.
- 24) Tanaka Y. Clinical immunity in bone and joints. *J Bone Miner Metabol*. 2019;37(1):2-8. doi: 10.1007/s00774-018-0965-5. Epub 2018 Oct 15.

- 25) Fujita T, et al. Effect of an intermittent weekly dose of human parathyroid hormone (1-34) on osteoporosis : a randomized double-masked prospective study using three dose levels. *Osteoporosis Int.* 1999;296-306.
- 26) Hartmann K, Koenen M, Schauer S, Wittig-Blaich S, Ahmad M, Baschant U, Tuckermann JP. Molecular Actions of Glucocorticoids in Cartilage and Bone During Health, Disease, and Steroid Therapy. *Physiol Rev* 2016;96:409-447.
- 27) Ferrari S, Langdahl B. Mechanisms underlying the long-term and withdrawal effects of denosumab therapy on bone. *Nat Rev Rheumatol.* 2023;19(5):307-317. doi: 10.1038/s41584-023-00935-3. Epub 2023 Apr 6.
- 28) Iki M, et al. Average daily glucocorticoid dose, number of prescription days, and cumulative dose in the initial 90 days of glucocorticoid therapy are associated with subsequent hip and clinical vertebral fracture risk: a retrospective cohort study using a nationwide health insurance claims database in Japan. *Osteoporosis Int.* 2024;35(5):805-818. doi: 10.1007/s00198-024-07023-6. Epub 2024 Jan 24.
- 29) Tanaka Y, et al. The 2023 Guidelines for the management and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2024;42(2):143-154. doi: 10.1007/s00774-024-01502-w. Epub 2024 Mar 28.
- 30) Koide M, Kobayashi Y, Yamashita T, Uehara S, Nakamura M, Hiraoka BY, Ozaki Y, Iimura T, Yasuda H, Takahashi N, Udagawa N. Bone Formation Is Coupled to Resorption Via Suppression of Sclerostin Expression by Osteoclasts. *J Bone Miner Res.* 2017;32(10):2074-2086. doi: 10.1002/jbmr.3175. Epub 2017 Jun 15.
- 31) Tanaka Y. Rheumatoid arthritis. *Inflammation and Regeneration.* 2020;40:20. eCollection 2020.
- 32) Tanaka Y. Managing Osteoporosis and Joint Damage in Patients with Rheumatoid Arthritis: An Overview. *J Clin Med.* 2021;10:1241. doi: 10.3390/jcm10061241.
- 33) Yoshiya Tanaka, Nakayama S, Okada Y. Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005;4(3):325-8. doi: 10.2174/1568010054022015.
- 34) Tanaka Y, Soen S, Ishiguro N, Yamanaka H, Yoneda T, Tanaka S, Ohira T, Nitta T, Okubo N, Genant H, Heijde DVD, Takeuchi T. Identifying the preferable rheumatoid arthritis subgroups for intervention with the anti-RANKL antibody denosumab to reduce progression of joint destruction. *RMD Open.* 2020;6:e001249. doi:10.1136/rmdopen-2020-001249.
- 35) Narisawa M, Kubo S, Okada Y, Yamagata K, Nakayama S, Sakata K, Yamaoka K, Tanaka Y. Human dendritic cell-derived osteoclasts with high bone resorption capacity and T cell stimulation ability. *Bone.* 2021;142:115616. doi: 10.1016/j.bone.2020.115616.
- 36) Tanaka S, Tanaka Y, Ishiguro N, Yamanaka H, Takeuchi T. RANKL: A therapeutic target for bone destruction in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 2018;28:9-16. doi: 10.1080/14397595.2017.1369491. Epub 2017 Sep 18.
- 37) Komatsu N, et al. Plasma cells promote osteoclastogenesis and periarticular bone loss in autoimmune arthritis. *J Clin Invest.* 2022;131(6):e143060. doi: 10.1172/JCI143060.
- 38) Yan M, Komatsu N, Muro R, Huynh NRC-N, Tomofuji Y, Okada Y, Suzuki H, Takaba H, Kitazawa R, Kitazawa S, Pluemsakunthai W, Mitsui Y, Satoh T, Okamura T, Nitta T, Im S-H, Kim CJ, Kollias G, Tanaka S, Okamoto K, Tsukasaki M, Takayanagi H. ETS1 governs pathological tissue-remodeling programs in disease-associated fibroblasts. *Nature Immunol.* 2022;23(9):1330-1341. doi: 10.1038/s41590-022-01285-0. Epub 2022 Aug 23.
- 39) Davidson S, et al. Fibroblasts as immune regulators in infection, inflammation and cancer. *Nat Rev Immunol.* 2021; 21(11):704-717.
- 40) Onal M, St John HC, Danielson AL, Pike JW. Deletion of the distal Tnfrsf11 RL-D2 enhancer that contributes to PTH-mediated RANKL expression in osteoblast lineage cells results in a high bone mass phenotype in mice. *J Bone Miner Res.* 2016;31:416-29.
- 41) Galli C, LA, Fretz JA, J QF, Pike W, Weinstein RS, Manolagas SC, O'Brien CA. Targeted Deletion of a Distant Transcriptional Enhancer of the Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand Gene Reduces Bone Remodeling and Increases Bone Mass. *Endocrinology.* 2007;149(1):146-153. doi: 10.1210/en.2007-0734.
- 42) Yan M, Tsukasaki M, Muro R, Ando Y, Nakamura K, Komatsu N, Nitta T, Okamura T, Okamoto K, Takayanagi H. Identification of an intronic enhancer regulating RANKL expression in osteocytic cells. *Bone Research.* 2023;11(1):43. doi: 10.1038/s41413-023-00277-6.
- 43) Ando Y, Tsukasaki M, Huynh NC-N, Shizao Zang, Yan M, Muro R, Nakamura K, Komagamine M, Komatsu N, Okamoto K, Nakano K, Okamura T, Yamaguchi A, Ishihara K, Takayanagi H. The neutrophil-osteogenic cell axis promotes bone destruction in periodontitis. *IJOS.* 2024;16(1):18. doi: 10.1038/s41368-023-00275-8.
- 44) Okamoto K. Role of RANKL in cancer development and metastasis. Review. *J Bone Miner Metab.* 2021;39(1):71-81. doi: 10.1007/s00774-020-01182-2. Epub 2021 Jan 2.
- 45) Jun Sun, Lingling Hu, Seoyeon Bok Alisha R Yallowitz Michelle Cung, Jason McCormick, Ling J Zheng, Shawon Debnath, Yuzhe Niu, Adrian Y Tan, Sarfaraz Lalani, Kyle W Morse, Daniel Shinn, Anthony Pajak, Mohammed Hammad, Vincentius Jeremy Suhardi, Zan Li, Na Li, Lijun Wang, Weiguo Zou, Vivek Mittal, Mathias P G Bostrom, Ren Xu, Sravish Iyer, Matthew B Greenblatt. A vertebral skeletal stem cell lineage driving metastasis. *Nature.* 2023;621(7979):602-609. doi: 10.1038/s41586-023-06519-1. Epub 2023 Sep 13.
- 46) Pollard M, and Luckert PH. Effects of dichloromethylene diphosphonate on the osteolytic and osteoplastic effects of rat prostate adenocarcinoma cell. *J Natl Cancer Inst.* 1985; 75:949-54.
- 47) Nakamura K, Tsukasaki M, et al. The periosteum provides a stromal defence against cancer invasion into the bone. *Nature.* 2024;634(8033):474-481. doi: 10.1038/s41586-024-07822-1. Epub 2024 Aug 21.

## 骨・軟骨・筋科学 Update 2025 年春号 (第 8 号)

発行日： 2025 年 4 月 1 日

発行： JSBMR 一般社団法人 日本骨代謝学会 The Japanese Society for Bone and Mineral Research

制作： 国際医学出版株式会社