～生活習慣病シリーズ～

骨粗鬆症の分子機構

田 中 清^{*,1}, 吉 澤 みな子¹

(2003年6月27日受付; 2003年7月19日受理)

要旨: 近年骨粗鬆症に関しては基礎、臨床の両面で大きな進歩がみられた。骨吸収促進分子は、骨芽細胞に作用して細胞膜上に RANKL (Receptor Activator of NF- κ B Ligand) を発現させ、RANKL は破骨細胞前駆細胞表面の RANK との相互作用によって破骨細胞形成を促進する。閉経期骨粗鬆症において、女性ホルモン欠乏により、IL-1, IL-6, TNF- α 等の骨吸収性サイトカイン骨吸収が著しく亢進し、これらが RANKL を誘導することが明らかとなった。栄養との関連に関しては、カルシウム、ビタミン D 欠乏は二次性副甲状腺機能亢進症を起こして骨量を減少させる。また最近ビタミン K 欠乏、ビタミン A 過剰が骨折の危険因子であることが示されている。治療面においては、ビスフォスフォネートのような強力な骨吸収抑制剤により、骨量が増加するだけでなく、骨折発生が著しく減少することが示され、骨粗鬆症は予防・治療可能な疾患になってきた。

キーワード: 骨粗鬆症, 骨芽細胞, 破骨細胞, RANKL

骨粗鬆症の定義は「骨量が減って、骨が脆くなって、骨折の危険が増したもの」である。すなわち「骨折の危険が増した状態」がすでに病気であり、骨折した後で治療するのではない。この考え方は高血圧・高脂血症・糖尿病などに関する考え方とまったく同じであり、骨粗鬆症は成人病・生活習慣病である。

骨粗鬆症に関しては近年基礎・臨床の両面で著しい進歩がみられた。基礎研究に関しては、骨は硬組織であるため従来の方法論ではアプローチが難しかったが、遺伝子操作動物の導入により次々と大発見がなされた。しかもこれら成果の多くは誰もが予想しないものであった。たとえば Cbfa1 は造血系の転写因子として知られており、血液学者である小守 (大阪大学) が血液系の異常を予想してこの遺伝子の欠損マウスを作ったところ、骨のまったくないマウスができ、Cbfa1 が骨を作る基本遺伝子であることが明らかとなった。

本稿では臨床的内容については少ししか触れていないが、治療によって骨量が増加し、それにより実際骨折の発生が著しく減少することが、ビスフォスフォネート系薬剤を中心とした最近の大規模臨床試験の結果確実となった。すなわち骨粗鬆症は早期診断、予防・治療の可能な病気となってきた。

紙幅の関係で、本稿において新しい知見の一部にしか触れることができなかった。稿末に最近の特集記事を挙げておいたので参照されたい。

カルシウム代謝調節機構

体内のカルシウム量はおよそ約 20 g/kg 体重であり、したがって体重 50 kg の人では約 1 kg のカルシウムが存在する。その 99% 以上は骨・歯にあり、それ以外のカルシウムについては、細胞外液の Ca^{2+} 濃度が約 1 mM に対して、非刺激時の細胞内 Ca^{2+} 濃度は約 100 nM であり、細胞内外で 1 万倍もの濃度勾配がある。この濃度勾配を保つことが細胞の興奮性維持に不可欠である。したがって血液中 (つまり細胞外) カルシウム濃度はホルモンにより厳密に調節されている。その中で最も重要なものは、カルシウムを上昇させるものとして副甲状腺ホルモン (PTH)、ビタミン D、カルシウムを低下させるものとしてカルシトニンである。

PTH の最も重要な役割は、血液中カルシウムが低下しそうになったときに、ビタミン D と協調してそれを防ぐことである。PTH は①骨吸収促進、②腎尿細管におけるカルシウム再吸収促進、③腸管からのカルシウム吸収亢進、という三つの作用によって血清カルシウム濃度を維持する (図 1)。なお③の腸管作用は、腎尿細管におけるビタミン D の活性化を介する間接作用である。PTH にはタイプ 1, 2 という複数の受容体が知られているが、PTH の作用はおもにタイプ 1 受容体を介する cAMP の活性化によって発揮される。PTH 分泌の最も重要な調節因子は細胞外 Ca^{2+} 濃度であり、細胞外 Ca^{2+} 濃度の上昇は PTH 分泌を抑制し、低下は PTH 分泌を刺激す

* 連絡者・別刷請求先

¹ 甲子園大学栄養学部 (665-0006 兵庫県宝塚市紅葉ガ丘 10-1)

図1 副甲状腺ホルモン (PTH) のカルシウム調節機構

佐藤幹二 (1995) カルシウム代謝異常：新しい診断法と治療法，中外医学社より転載。

る。副甲状腺細胞膜には G タンパク共役受容体であるカルシウム感知受容体が存在し，細胞外 Ca^{2+} はこの受容体を介して PTH 分泌を調節している。

ビタミン D は，紫外線的作用による皮膚での生成，あるいは魚などの食品からの摂取によって供給されるが，まず肝臓で 25 位の水酸化を受け 25-hydroxyvitamin D ($25(\text{OH})\text{D}$) となり，次いで腎近位尿細管で 1α 位の水酸化反応を受けて，活性型である 1,25-dihydroxyvitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) となる。このうち 1α -水酸化反応が律速段階であり，厳密な調節を受けている。

ビタミン D はビタミンという名前がついているが実際にはホルモンであり，核内のビタミン D 受容体 (VDR) に結合し，標的遺伝子のビタミン D 応答領域上で，レチノイド X 受容体 (RXR) とヘテロ 2 量体を形成し，遺伝子発現を調節する。ビタミン D の最も重要な作用は腸管からのカルシウム吸収促進であるが，骨における石灰化促進，PTH 分泌抑制に加え，種々の細胞の分化誘導をも調節している。

骨の役割

骨の中のカルシウムは二つの役割を果たしている。一つはリン酸カルシウムの形で（正確にはハイドロキシアパタイト）硬組織として体を支持する役割であり，もう一つは体のカルシウム貯蔵庫としての意義である。血清カルシウムが低下傾向になると，骨吸収により血液にカルシウムが動員されて，血清カルシウムは正常化する。基本的に骨のカルシウムを犠牲にしても，血清カルシウムを一定に守るのが原則である。

このように大量のカルシウムが骨に貯蔵されていることは，人間が陸上で生活するようになったことと深く関

わっている。海水はカルシウムを豊富に含むので，海に住む生物にはカルシウム欠乏の心配はなく，体内に大量のカルシウムを貯える必要はないが，陸上に住む生物は，カルシウム不足になりやすく，そのため多量のカルシウムを体内に貯えている。

このような環境の違いは，カルシウム調節ホルモンや骨の化学的組成の違いに反映されている。カルシウム調節ホルモンに関して，魚では血清カルシウム低下ホルモン（カルシトニン）の効力は強いが，カルシウム上昇ホルモンである PTH・ビタミン D 系は未発達である。一方陸上生物では PTH・ビタミン D 系はよく発達しているがカルシトニンはむしろ退化傾向である。すなわち魚は血清カルシウムが上がりすぎた場合，陸上生物は血清カルシウムの低下した場合の対策が重点的に施されているのである。

化学的に甲殻類の甲羅は炭酸カルシウムであるが，哺乳類の骨はリン酸カルシウムである。炭酸カルシウムの形では迅速に血液にカルシウムを供給することはできないが，リン酸カルシウムの形であれば，迅速な動員が可能であり，役割の違いが化学組成の相違にも反映されている。

骨の形成・構造

骨は二つの機構によって形成される。一つは間葉系細胞から直接骨が形成されるもので膜性骨化という。もう一つは間葉系細胞からいったん軟骨が形成され，それが骨に置換する形でできるもので内軟骨性骨化という。四肢の骨などの長管骨や椎体は内軟骨性骨化により，頭蓋骨などの扁平な骨は膜性骨化によって形成される。

生化学的には，骨はタンパク成分である骨基質に，特殊な構造をしたリン酸カルシウムであるハイドロキシアパタイト [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] が沈着したものである。骨基質には多くのタンパク・増殖因子が含まれており，最も重要なのはコラーゲンであり，骨基質の 85-90% を占める。骨由来の非コラーゲタンパクには表 1 に示すように多くの種類がある。骨には，インスリン様増殖因子 (insulin-like growth factor) やトランスフォーミング増殖因子 (transforming growth factor; TGF) β などの増殖因子がきわめて多量に含まれており，TGF- β などは体内で最も多く含まれているのは骨である。

骨はいったん形成された後も，絶えず破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成とを繰り返しており，これを骨のリモデリングという。

骨芽細胞

骨芽細胞は骨の表面で，コラーゲンなどの基質をさかんに合成・分泌する。その基質に石灰化が起これ，骨形成が進んでいくと，骨芽細胞はその石灰化組織の中に埋もれていって骨細胞 (osteocyte) になる。最近まで骨細胞の機能はよくわからなかったが，骨細胞同士は神経細

表 1 骨基質タンパク

I. コラーゲンタンパク (85-90%)
I, III, V, X型コラーゲン
II. 非コラーゲンタンパク (10-15%)
血液由来
アルブミン
α_2 HS 糖タンパク
血小板由来増殖因子
骨由来
プロテオグリカン
ヒアルロン酸
フィブロモデュリン
オステオネクチン
細胞接着活性をもつ基質タンパク
(RGD 配列を含む)
ファイブロネクチン
トロンプスポンジン
ビトロネクチン
フィブリリン
オステオポンチン
骨シアロタンパク
γ カルボキシリクタンパク
マトリックス-gla-タンパク
オステオカルシン
増殖因子

米田俊之 (2002) 新しい骨のバイオサイエンス：骨研究の HOT SPOTが疾患までまるごとわかる，羊土社より転載。

胞のようにつながっており，骨に加わった重力や負荷を感知する細胞であると考えられている。

骨芽細胞は筋細胞・脂肪細胞・軟骨細胞などと同様，間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell) 由来である。幹細胞から各細胞への分化は，筋細胞への分化は MyoD，脂肪細胞への分化は PPAR- γ 2，軟骨細胞への分化は Sox9 といった，それぞれに特異的な転写因子によって調節されている (図 2)。最近間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化には Cbfa1 (core binding factor alfa 1) が必須の転写因子であることが明らかとなった。Cbfa1 ノックアウトマウスは骨芽細胞への分化が障害され，骨が全く形成されなかった。しかし Cbfa1 トランスジェニックマウスでは骨量が低下したことから，Cbfa1 は骨芽細胞の初期分化を促進するが，後期分化は抑制していると考えられている。

骨芽細胞への分化を促進するサイトカインとして最も重要なものは BMP (bone morphogenetic protein) である。1965 年 Urist が脱灰して基質だけになった骨を筋肉内に埋め込むとその周囲に骨が形成されることを見だし，骨基質の中には骨形成を誘導する物質が存在することを示した。1998 年に BMP 2 の遺伝子がクローニングされ，TGF- β スーパーファミリーに属することが明らかとなった。BMP は間葉系細胞に対して，MyoD 発現を抑制して筋細胞への分化を抑制し，骨芽細胞への分化を促進する。BMP は局所投与によって骨を形成させるこ

図 2 未分化間葉系細胞から骨芽細胞への分化
山口 朗 (2003) 骨形成，実践骨代謝マーカー：骨疾患の診療に役立つ骨代謝マーカーの使用法，p. 27-37，メディカルレビュー社より転載。

とができることから，臨床応用に向けて研究が行われている。

骨芽細胞は分化とともに，alkaline phosphatase, I 型コラーゲン，osteocalcin などを発現し，これらは骨芽細胞の分化マーカーとして用いられる。

破 骨 細 胞

破骨細胞は巨大な多核細胞で，骨表面に密着して骨を吸収する (図 3)。破骨細胞は極性をもち，高度に分化した細胞である。破骨細胞は明帯 (clear zone) という吸盤状の構造で骨に密着し，波状縁 (ruffled border) という表面積を広げた構造から塩酸を分泌して骨吸収を行っている。これに必要な H^+ は炭酸脱水素酵素 II によって産生され，液胞型プロトンポンプによって放出される。

破骨細胞は造血幹細胞由来の，単球/マクロファージ系の細胞であり，その形成過程は骨芽細胞/骨髄間質 (ストローマ) 細胞によって調節されている。破骨細胞研究において大きな役割を果たしたのが，高橋 (現：松本歯科大学) による骨芽細胞/ストローマ細胞と造血細胞 (骨髄細胞または脾細胞) の共存培養による破骨細胞形成系の確立であった。須田・高橋らの研究から破骨細胞の形成には破骨細胞の前駆細胞 (造血細胞) と骨芽細胞/ストローマ細胞の接触が不可欠であることが明らかとなり，骨芽細胞は破骨細胞の分化を誘導する分子を発現するという仮説が提唱され，1997 年相互作用の本態が明らかとなった。破骨細胞形成を促進する因子は骨芽細胞表面に働いて，TNF リガンドファミリーである RANKL (Receptor Activator of NF- κ B Ligand) を発現させる。RANKL は破骨細胞前駆細胞表面に発現したその受容体である RANK (Receptor Activator of NF- κ B) との結合により，前駆細胞の破骨細胞への分化を誘導する。さらに第三の因子として osteoprotegerin (OPG) があり，これはデコイ (おとり) 受容体として，RANKL と RANK の結合を阻害して破骨細胞形成を抑制している (図 4)。破骨細胞への分化にはさらに M-CSF (macrophage colony stimulating factor) が必須である。破骨細胞形成を促進するホルモン・サイトカインは，作用機

図3 破骨細胞の構造

米田俊之 (2002) 新しい骨のバイオサイエンス：骨の HOTS POT が疾患までまるごとわかる，羊土社より転載。

図4 破骨細胞形成を調節する分子

高橋直之 (2003) 骨吸収，実践骨代謝マーカー：骨疾患の診療に役立つ骨代謝マーカーの使用法，p. 39-52，メディカルレビュー社より転載。

構によって五つに分類されるが，これらは結局 RANKL の誘導を介して作用する。さらに最近，RANKL 以降の作用機構も解明されつつあり，TNF 受容体ファミリーの情報伝達因子である TRAF (TNF receptor associate factors) 特に TRAF6 を介することが示されている。

骨粗鬆症発生における女性ホルモンの意義

骨粗鬆症発生の最も重要な原因は閉経に伴う女性ホルモンの欠乏である。女性ホルモンの骨作用に関しては，

骨形成促進・骨吸収抑制のいずれも報告されているが，おもな作用点は骨吸収抑制である。閉経後，女性ホルモンによる抑制がとれて骨吸収が亢進するために骨粗鬆症が起こる。*in vivo* の投与によって女性ホルモンは骨吸収を強く抑制するが，*in vitro* で細胞培養系に女性ホルモンを添加しても効果はなく，女性ホルモンの骨作用は間接作用と考えられる。しかし PTH やビタミン D などの全身性因子に対する女性ホルモンの及ぼす作用は大きなものではなく，最近ではむしろ骨の局所因子を介する作用が重要であると考えられている。IL-1 (interleukin-

1), IL-6 (interleukin-6), TNF- α (tumor necrosis factor- α) などは代表的な炎症性サイトカインであるが、これらはまた強力な破骨細胞誘導因子・骨吸収性サイトカインでもある。女性ホルモンの欠乏によって、これら骨吸収性サイトカインの骨局所での産生が亢進し、これら骨吸収性サイトカインが RANKL 産生を亢進させると考えられている。

骨の栄養と骨粗鬆症

カルシウム摂取不足の場合、血液中カルシウムの低下によって PTH 分泌が刺激され (二次性副甲状腺機能亢進症), PTH 過剰症は骨吸収を亢進させる。したがってカルシウム摂取不足によって低カルシウム血症となることはないが、骨吸収亢進によって骨量は減少する。

ビタミン D の古典的欠乏症はクル病・骨軟化症であり、骨の石灰化障害である。しかし最近、より軽度のビタミン D 欠乏症であっても、二次性副甲状腺機能亢進症を起こし、骨粗鬆症の原因となることが注目されている。英語では重症の欠乏症に対して vitamin D deficiency, より軽症のものに対して vitamin D insufficiency という言葉が用いられている。欧米では insufficiency を防ぐという観点から、高齢者に対しては 1 日 400-800 IU と、日本に比べてはるかに高いビタミン D の所要量が策定されている。

ビタミン K は血液凝固因子の活性化に不可欠の因子として見いだされた。その作用機構は凝固因子のグルタミン酸残基 (-Glu) を γ カルボキシグルタミン酸 (-Gla) に変換させる酵素 γ -carboxylase の補酵素として働くことである。従来ビタミン K は凝固因子との関連のみが注目されてきたが、骨にもビタミン K 依存性タンパクが存在し、osteocalcin がその代表である。血液中の Gla 化されていない osteocalcin (Glu-OC) 濃度の増加、すなわち骨におけるビタミン K の作用不足は骨折の危険因子であることが示されており、ビタミン K は骨にとって重要な栄養素の可能性がある。

実験的にビタミン A の過剰症は骨吸収の亢進を来すことは知られていたが、最近臨床的にもビタミン過剰摂取が骨粗鬆症・骨折の危険を増加させることが報告されている。

骨粗鬆症の治療薬とその作用機構

骨のリモデリングにおいて、正常では骨形成＝骨吸収であるが、骨形成＜骨吸収となったものが骨粗鬆症である。骨粗鬆症は概念的に 2 型に分けられる。一つは閉経後に典型的にみられるもので、閉経後女性ホルモン欠乏のため骨吸収が著しく亢進する。代償的に骨形成も亢進するが、骨吸収亢進が上回り骨粗鬆症となる。この場合、骨吸収・骨形成とも亢進しているため、高回転型という。一方より高齢者においては、骨形成・骨吸収とも低下した低回転型骨粗鬆症という病態がみられる。この考え方

図 5 窒素含有ビスフォスフォネートの作用機構
中村利孝 (2003) ビスフォスフォネート, 実践骨代謝
マーカー: 骨疾患の診療に役立つ骨代謝マーカー
の使用法, p. 237-46, メディカルレビュー社より転
載。

は治療薬の選択に重要である。すなわち高回転型であれば骨吸収抑制剤, 低回転型であれば骨の代謝回転を促進するような薬剤が効くと予想されるためである。

近年骨吸収抑制剤の進歩が著しく、特にビスフォスフォネート系薬剤が世界的に最も注目されている。ビスフォスフォネートは -P-C-P- という基本構造をもち、ピロリン酸 (-P-O-P-) の誘導体である。炭素原子の側鎖を変えることにより、多数の誘導体が開発されている。本剤は骨のハイドロキシアパタイトに強い親和性をもつため、投与後骨表面に沈着し、破骨細胞による骨吸収の際、薬剤もともに吞食してしまい、あまりに濃縮されるため破骨細胞毒となり、過剰な骨吸収が抑えられると説明されてきたが、最近その作用機構が明らかとなった。側鎖に窒素を含まないビスフォスフォネートは ATP アナログを形成してアポトーシスを誘導するのに対し、側鎖に窒素を含むものはコレステロール代謝において、ファルネシルピロリン酸 (FPP) 合成を阻害する。FPP はプレニル基の材料であり、プレニル基は細胞骨格タンパクを細胞膜に結合させ、細胞の形態を維持するので、FPP 合成阻害により破骨細胞の機能障害が起こる (図 5)。

女性ホルモン欠乏が骨粗鬆症の原因であれば、女性ホルモンを投与するのが一見最善の治療のようであるが、女性ホルモンは当然子宮や乳腺に対する作用をもち、これらに対する副作用の出る可能性がある。実際アメリカでの女性ホルモン補充療法に関する大規模研究において、乳がん・子宮がんが増加し、心筋梗塞・脳血管障害の予防効果は認められないという結果が出て、研究は途中で中止となった (2002 年)。骨に対しては agonist であるが、子宮や乳腺に対しては antagonist という SERM (selective estrogen receptor modulator) と呼ばれる化合物が開発されており、日本でも近々臨床応用される見込みである。女性ホルモンは核内受容体を介して作用するが、核内受容体が遺伝子の転写を促進する領域は 2 カ所存在する。受容体の C 末端に存在する AF-2 はリガンド結合依存性であるのに対し、N 末端に存在する AF-1 は恒常的な転写促進能をもつ。AF-1/AF-2 比は細胞の種類によって異なり、SERM は AF-2 の antagonist である

が、AF-1のagonistであり、このことがSERMによる骨に対する特異的agonist作用と関連していると考えられている。

骨吸収阻害剤の進歩にも関わらず、現在のところ純粋な骨形成促進剤は存在しない。骨粗鬆症の治療薬に関する今後の展望は、骨形成促進剤の開発であり、その一つの有力な候補はPTHである。PTHは大量・持続投与されると骨吸収促進作用を発揮するが、間欠・少量投与を行うと、著しく骨量を増加させる。すでにアメリカではPTHは制限つきながら、骨粗鬆症治療薬として承認を受けている。

骨にとって必要な栄養素についてはまだまだ未解明の点が多い。骨粗鬆症の病態・骨細胞生物学の最近の進歩を踏まえて、今後骨と栄養についての進歩を期待したい。

文 献

骨になじみの薄い読者が多いものと推察されるので、あえて原著論文は引用せず、最近の教科書、雑誌特集号のうち入手しやすいものを挙げておく。

教科書

米田俊之 (2002) 骨のバイオサイエンス. 羊土社, 東京 (この分野の第一人者が一人で書かれた非常にわかりやすい入門書).

松本俊夫編 (2002) 骨・軟骨代謝と注目の骨疾患. 羊土社, 東京 (各分野の専門家分担執筆による解説書).

中村利孝編 (2001) 骨粗鬆症ナビゲーター. メディカルレビュー社, 東京 (骨粗鬆症に関するキーワードを、各項目につき2ページ程度にまとめた本).

最近の雑誌特集号

(2003) 骨代謝の最前線. *Molecular Medicine* 40(6), 中山書店, 東京.

(2001) 骨形成・骨吸収のメカニズムと再生医療への展開. 実験医学 19(10), 羊土社, 東京.

(2002) 最新の骨研究に迫る. 実験医学 20(17) (増刊号), 羊土社, 東京.

骨粗鬆症に関する雑誌とその発行学会

American Society for Bone and Mineral Research : *Journal of Bone and Mineral Research*.

International Bone and Mineral Society : *Bone*.

International Osteoporosis Foundation : *Osteoporosis International*.

日本骨粗鬆症学会 : *Osteoporosis Japan*.

J Jpn Soc Nutr Food Sci 56 : 317-322 (2003)

Molecular Mechanism Underlying Osteoporosis

Kiyoshi Tanaka^{*,1} and Minako Yoshizawa¹

(Received June 27, 2003 ; Accepted July 19, 2003)

Summary : Recently, great advances have been made in both the basic pathophysiology and clinical management of osteoporosis. Osteoporosis is caused by an imbalance between osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation. Osteoblasts, arising from mesenchymal stem cell, form bones and regulate osteoclast formation. Osteoclasts are derived from hematopoietic stem cells. Bone-resorbing molecules act on osteoblasts to induce RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) on the osteoblast surface. RANKL, in turn, binds to its receptor RANK on an osteoclast precursor to enhance osteoclast differentiation. Osteoporosis most often affects postmenopausal women. Estrogen deficiency induces enhanced bone resorption, which is mainly due to the action of bone-resorbing cytokines, such as IL-1, IL-6 and TNF- α . Nutritional factors also contribute to the development of osteoporosis. The deficiency in calcium and vitamin D leads to secondary hyperparathyroidism and enhanced bone resorption. Recently, vitamin K deficiency and vitamin A excess are known to be the risk factors for osteoporotic fracture. For the past several years, many large-scale clinical trials have revealed that potent antiresorptive drugs such as bisphosphonates significantly increase bone mineral density and markedly decrease the incidence of fragility fracture. Based on these advances, the osteoporosis from the viewpoint of nutrition should be explored in more detail.

Key words : osteoporosis, osteoblast, osteoclast, RANKL

* Corresponding author

¹ College of Nutrition, Koshien University, 10-1 Momijigaoka, Takarazuka, Hyogo 665-0006, Japan