

主要な生体調節臓器としての骨



医療と技術

大 園 恵 一*

The bone as one of main organs for homeostasis

Key Words : calcium, phosphate, vitamin D, rickets, calcification

1. はじめに

骨は、歯とともに硬い生体組織の代表であり、重力に対抗して姿勢を維持し、支柱として働いて筋肉による運動を可能にする。さらに、骨は、このような硬性あるいは静的な機能を持つのみならず、動的な側面も持っている。すなわち、生体に必須な成分であるカルシウム(Ca)およびリン(P)を維持する機能である。陸生動物においては、Caは不足傾向にあるが、骨を貯蔵庫とすることによりCa・Pの恒常性を維持している。すなわち、骨に対して、骨形成(bone formation)を行うとともにCa・Pを取り入れ、骨吸収(bone resorption)によってCa・Pを血中に放出する。この骨を場とするCa・Pの出納は絶えず行われているので、動的な機構である。本稿では、筆者らの研究成果と方向性を示しながら、骨における代謝機構をまず、骨の側から概説し、次いで、Ca・P代謝側から概説する。その破綻した状態である疾患についても述べる。

2. 骨組織

骨を構成する細胞は3種類に大別される。骨形成を担う細胞が骨芽細胞(osteoblast)であり、骨吸収を担当するのが多核巨細胞である破骨細胞(osteoclast)である。最近では骨内に埋め込まれ、最も数の多い骨細胞(osteocyte)が、重力を感知し

骨形成と骨吸収の司令塔的役割を有することが明らかとなり、その機能調節が注目されている¹⁾。胎児から小児期にかけては、骨形成が骨吸収を上回るので骨量が増えていく。反対に閉経期では、骨吸収が骨形成を上回り、骨量が減少し骨粗鬆症となる。

骨組織はこれらの細胞成分の他、蛋白成分である骨基質から成り立つ。骨基質は、I型コラーゲンを主体とし、オステオカルシン、オステオポンチンなどを成分とする。さらに、骨基質にCa・Pを中心とするミネラル(骨塩)が沈着(石灰化)する事で、骨に強度が与えられる。I型コラーゲンは、2本の1鎖と1本の2鎖が3つ編み構造を形成し、コラーゲン細線維となる。グリシンは3アミノ酸ごとに規則正しく配置され、3本鎖の重合に重要な役割を持つ。プロリンの含有率も高く、ヒドロキシ化されている。コラーゲン細線維形成後はアミノ末端(N)とカルボキシル末端(C)の両末端は切断される。さらに、コラーゲン分子同士は相互に架橋構造を形成してより安定な線維構造をとる。骨代謝マーカーとしてI型プロコラーゲンC末端プロペプチド(P1CP)は骨形成の指標、I型コラーゲン架橋N末端テロペプチド(NTX)、架橋物質のピリジノリン、デオキシピリジノリンが骨吸収の指標として使用される。その他の骨代謝マーカーでは、骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)、オステオカルシンが骨形成の指標、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ-5bが骨吸収の指標として使われる。

骨の石灰化は、骨芽細胞から分泌された基質小胞(matrix vesicle)内にて開始される。リン酸イオンは基質小胞膜に存在するナトリウム(Na)-P共輸送体(III型)によって取り込まれる。基質小胞内のCaイオン及びリン酸イオンの濃度が高まることによりリン酸Caの結晶が析出しさらにヒドロキシアパタイト結晶に変換される。これにより、骨は強



* Keiichi OZONO

大阪大学医学部卒(1982年)
平成14年、大阪大学大学院医学系研究科
小児科学教授。専門領域は、骨代謝学と
小児内分泌学。
TEL : 06-6879-3932
FAX : 06-6879-3939
E-mail : Keioz@ped.med.osaka-u.ac.jp

度を与えられる。

発生学的には、骨芽細胞は間葉系幹細胞に由来し、破骨細胞は血液系幹細胞に由来する。骨細胞は、骨芽細胞が骨基質に埋められる事により分化していく。骨芽細胞、破骨細胞に関しては、分化を誘導する転写因子群が明らかになってきているが、骨細胞については十分には明らかではない。再生医療を目指す上でも、幹細胞からの骨細胞誘導法を確立する必要があると考えている。

3. Ca 代謝調節

Ca は生体において、神経興奮、筋肉収縮、血液凝固、細胞内シグナル、骨・軟骨石灰化に関して必須の働きを担っている。このため、血清 Ca 値は厳密に、副甲状腺ホルモン (PTH)、活性型ビタミン D により制御されている²⁾。しかし、長期的に Ca 摂取不足が続くと、歯、骨、爪等に様々な障害をもたらす。Ca は体内では 99% が歯と骨に存在し、骨格を形成するとともに、骨吸収により Ca が血液中に供給されることで、Ca の恒常性維持に役立っている。残りの 1% は血液や細胞内に存在するが、Ca は、細胞内外で大きな濃度差 (1000 倍程度) があるのが特徴である。

4. ビタミン D 代謝調節

一般にビタミンは生体内で合成されないため、外界より摂取しなければならない栄養素である。しかしビタミン D は例外で、皮膚においてプロビタミン D₃ (7-dehydrocholesterol) から紫外線のエネルギー (波長 290-315 nm の UV-B) を利用して合成されるビタミン D₃ も利用されている³⁾。

食物として摂取されたビタミン D および皮膚で生合成されたビタミン D は肝臓において 25 位が、腎臓において 1 位が水酸化され、1, 25 位水酸化ビタミン D [1, 25(OH)₂D] となる。1, 25(OH)₂D は最も強い生物活性をもつため活性型ビタミン D と呼ばれている。活性型ビタミン D は、その血中濃度が PTH や Ca 濃度により厳密にコントロールされており、また小腸における Ca 吸収、骨における石灰化促進、PTH 分泌抑制など、遠隔標的臓器において作用を発揮するため、ホルモンの一種と考えられている。さらに活性型ビタミン D がその作用を発揮するには、特異的なビタミン D

受容体 (VDR) が必要であり、標的遺伝子の調節領域にあるビタミン D 応答配列 vitamin D response element (VDRE) を介して、直接遺伝子発現調節を行うことにより大部分のビタミン D 作用は発揮されることが明らかにされている (図 1)⁴⁾。

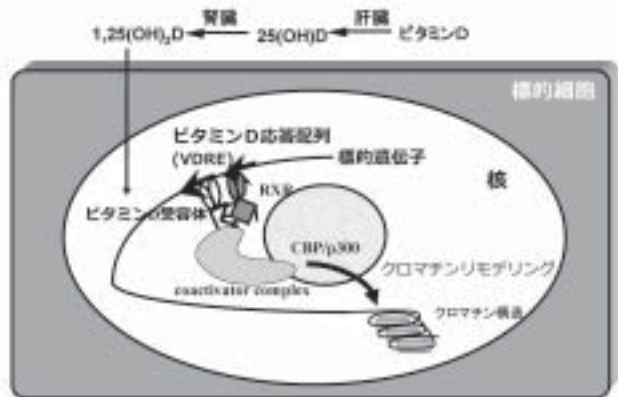


図 1 ビタミン D の遺伝子発現調節作用
 ビタミン D は肝臓において 25 位が、腎臓において 1 位が水酸化され、1, 25 位水酸化ビタミン D [1, 25(OH)₂D] となる。1, 25(OH)₂D は細胞内でビタミン D 受容体に結合し、ビタミン D 受容体は RXR (retinoid X receptor) と異種 2 量体を形成して、標的遺伝子の調節領域にあるビタミン D 応答配列 (VDRE) に結合する。CBP などを含む coactivator complex を介して、遺伝子発現調節を行う。

VDR の構造は種を越えて保存されており、DNA 結合ドメイン、リガンド結合ドメインなど、明確なドメイン構造を有する。VDR はエストロゲン受容体やグルココルチコイド受容体などと同様に、ステロイド受容体スーパーファミリーに属し、リガンド依存性転写因子として標的遺伝子の転写制御に関与する。VDR が遺伝子調節作用を発揮するためには、核に局在する必要があるが、筆者らは、いわゆる VDR 内の核局在シグナルおよび VDR と相互作用して核移行を担う分子として importin 4 を同定した⁵⁾。また、核孔構成分子の CAN/Nup214 も VDR と相互作用する。

25OHD の腎臓における活性化には、近位尿管刷子縁に局在するエンドサイトーシス受容体である megalin が必須である。急性に megalin 機能を障害してもビタミン D の活性化は障害される⁷⁾。原尿中に出現した 25OHD/ ビタミン D 結合蛋白質 (DBP) 複合体は、尿管腔内を通過する間に近位尿管上皮細胞の刷子縁に局在する megalin と結合し、受容体依存性エンドサイトーシスにより細胞内へと取り

込まれることとなる。エンドソーム内で megalin と 25OHD、DBP の複合体は乖離し、25OHD はミトコンドリアへと運ばれ、1 位の水酸化を受ける (図 2)。腎臓の発生初期よりビタミン D 代謝酵素および megalin の発現が認められることを報告した。

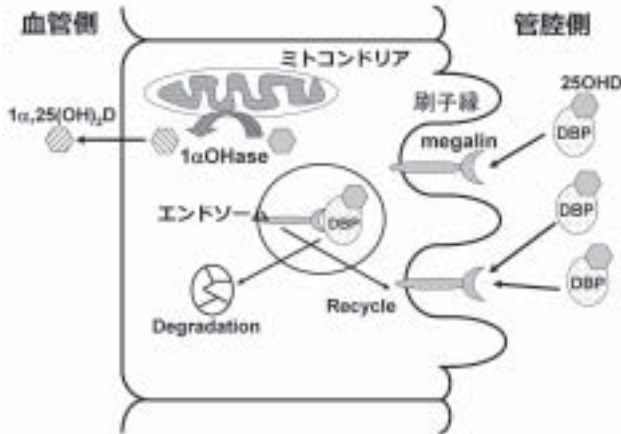


図 2 腎近位尿細管におけるビタミン D の活性化
糸球体で濾過されて管腔側に現れた 25 位水酸化
ビタミン D (25OHD)/ ビタミン D 結合蛋白質 (DBP)
複合体は、近位尿細管上皮細胞の刷子縁に局在
する megalin と結合し、受容体依存性エンドサ
イトーシスにより細胞内へと取り込まれる。エン
ドソーム内で megalin と 25OHD、DBP の複合体
は乖離し、25OHD はミトコンドリアへと運ばれ、
1 位の水酸化を受け、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ となって
血中へ放出される。

5. P 代謝調節

P は生命維持に必須のミネラルのひとつであり、無機 P 酸は細胞膜や P 蛋白質、核酸の構成成分、またアデノシン三リン酸 (ATP) に見られるような高エネルギーリン酸結合の成分として重要である。重篤な低 P 血症は、あらゆる細胞の機能障害を惹起し、組織障害を起こしうるが、低 Ca 血症に比して急性症状としてはとらえにくい。また、骨ミネラルの重要な構成成分であり、低 P 血症が持続すると骨の石灰化障害を来す。さらに、細胞外 P 酸は細胞内にシグナルを伝え、増殖やアポトーシスを引き起こす事がある。腎機能の異常により、P の蓄積、ビタミン D の活性化障害がおこり骨の石灰化障害が引き起こされる。また、近年、P 利尿の中心的役割を担う fibroblast growth factor 23 (FGF23) が骨細胞から分泌される事が判明し、骨と腎の双方向性の連関性が確立した。すなわち、Bone-Kidney axis (骨 - 腎軸) は、臓器連関の例として注目されている⁸⁾。

6. 胎児・小児期の骨形成

胎児期は羊水中にあるにもかかわらず (重力がかかりにくい) 骨量が増加していく。これは他のライフステージではみられない特殊な状況であり、骨量増加は胎盤機能により支持されていると考えられる。胎盤での能動輸送の結果、血清 Ca および P の値は胎児の方が母体より高く、胎児において PTH は抑制された状態にある^{9, 10)}。これらのことが骨形成に有利に作用すると考えられる。妊娠中の胎盤での Ca の能動輸送には PTHrP (PTH-related peptide)、TRPV6 (transient receptor potential vanilloid type 6) が関わり、授乳中の Ca の動員には PTHrP、RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) が重要とされる。しかし、胎児期の P 輸送に関してはその機序は明らかではない。筆者らは FGF23 が臍帯血で低値であることを報告し、さらに胎児期における FGF23 の作用を検討中である。活性型ビタミン D は、生後の骨発育に重要で、特に母乳中のビタミン D は不足しがちであるので、早産児では Ca、P、ビタミン D の補充を強化しなければならない。

7. 骨石灰化障害を伴う疾患

i) ビタミン D 欠乏性くる病

ビタミン D 欠乏性くる病は小児期にみられる病態で、骨基質は減少せずに石灰化していない骨すなわち類骨が増加した状態をいう。一方、成長軟骨帯が閉鎖した後の成人期にみられる同様な病態を骨軟化症と呼ぶ。臨床的には、歩行開始後に目立つ O 脚、長管骨関節部腫脹や肋軟骨部の腫脹 (肋骨念珠)、横隔膜付着部肋骨の陥凹 (Harrison 溝)、成長障害などがみられる。この他、乳児期においては低 Ca 血症に伴うテタニー・けいれん、筋緊張などがみられるのが特徴であるが、これらはまれに学童期にもみられることがある。骨 X 線学的には、くる病変化として長管骨骨幹端における骨端線の拡大 (splaying/flaring)、盃状陥凹 (cupping)、毛ばだち (fraying) などがみられる (図 3)。臨床検査では、低 Ca 血症、低 P 血症、血清アルカリホスファターゼ (ALP) 高値、血中 PTH 高値、血中 25OHD 低値が認められる。血中 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 値はビタミン D 欠乏状態の指標とならない。近年、先進諸国においても本症の発症は稀ではないと報告されており、筆者らも日本人例の報告を行った。また、本症

の実態調査を行い、1歳未満の乳児期には、重度な低Ca血症による痙攣、テタニーで発症する例が多く、幼児期にはO脚、くる病で発症し、半数で低身長を認めることを明らかにした。



図3 ビタミンD欠乏性くる病の骨X線像
重度のビタミンD欠乏性くる病患児の膝関節の骨X線像。骨端線の拡大、盃状陥凹、毛ばちなどがみられる。

ii) 低P血症性くる病

低Ca血症、ビタミンD欠乏を伴わず、低P血症によって引き起こされるくる病である。その原因は、尿細管でのP再吸収が障害されることである。P利尿因子としてFGF23が重要であり、FGF23/Klotho系がP代謝調節に大きな役割を果たす。FGF23の産生亢進などによる腎近位尿細管でのP再吸収低下を起こすものをFGF23関連性低P血症性くる病と呼び、X染色体連鎖性低P血症性くる病(XLH: X-linked Hypophosphatemic Rickets)、常染色体優性低P血症性くる病(ADHR: Autosomal Dominant Hypophosphatemic Rickets)、常染色体劣性低P血症性くる病(ARHR: Autosomal Recessive Hypophosphatemic Rickets)、腫瘍性骨軟化症(TIO: Tumor-Induced Osteomalacia)などが代表的疾患である。

iii) 低フォスファターゼ症

低フォスファターゼ症は、組織非特異的ALPの欠損により引き起こされる疾患である。骨レントゲン検査で骨の低石灰化、くる病様変化がみられ、血液検査でビタミンD欠乏性くる病では血清ALP値

が高値となるのに対して、本症では低下するのが特徴である^{1, 2)}。ALPの基質であるphosphoethanolamine, inorganic pyrophosphate(ピロリン酸) pyridoxal 5'-phosphateの上昇がみられる。通常、常染色体劣性遺伝性であるが、稀に常染色体優性遺伝性もある。

低フォスファターゼ症の中心的な病態は、骨石灰化障害であるが、ALPの活性低下が、低石灰化を引き起こす機序については、まだ完全には理解されていない。一般的には、ALPの活性低下にともない蓄積するピロリン酸が石灰化を障害することや、局所のP濃度の低下が低石灰化の原因と考えられている。しかし、ピロリン酸の蓄積は、血清ALP値が高値となるビタミンD欠乏症ではみられず、低フォスファターゼ症に特徴的である。筆者らは、日本人低フォスファターゼ症の遺伝子診断を40例以上行なっているが、日本人の本症では、310番目のフェニルアラニンがロイシンに置換されるF310Lと1559番目の塩基Tの欠失(T1559del)が比較的多く見られる¹¹⁾。T1559delは致死性周産期型との相関性が高い。他方、F310Lは比較的軽症に多く、ことに周産期に発症するにもかかわらず、致死型ではない症例に多く認められた。このような症例の存在は、出生前診断や胎内診断の際に念頭に置いておかなければならない。酵素活性の検討では、F310Lは野生型の約70%の酵素活性が残存するのに対して、T1559delはほぼ完全に酵素活性を喪失している。すなわち、残存酵素活性のないタイプは重症に、活性をある程度保持するタイプは軽症になるというような残存酵素活性と重症度の相関性がある程度みられ、他のTNSALP変異についても同様な報告がみられる。本症の診断治療法の確立に向けて、難治性疾患克服事業として班研究を行っている(<http://www.bone.med.osaka-u.ac.jp/b2/>)。

iv) 骨塩量の変化が主病態である骨系統疾患

骨塩量が低下する代表的疾患は骨形成不全症と、骨粗鬆症 偽神経膠腫症候群(Osteoporosis-pseudoglioma syndrome; OPPG)である。後者はLRP5遺伝子のloss-of-function(機能喪失型)変異による。類似したLRP6遺伝子異常症でも骨塩量の低下がみられる。wntシグナルのうち、受容体(frizzledとLRP5/6)、細胞内シグナル物質(-カテニン)転写因子(TCF/LEF)を介するcanonical pathwayと

呼ばれるシグナル経路は最も解析が進んでいて、骨代謝との関連が高い事が示されている。筆者らはIrp6異常マウスの解析から、wntシグナルは骨吸収においても重要な働きを行う事を示した¹²⁾。

骨量および骨塩量が著しく増加した状態が大理石骨病である。原因遺伝子として、carbonic anhydrase、TCIRG1、CLCN7、OSTM1、PLEKHM1などが報告されている。これらの疾患においては、破骨細胞の機能が障害されている。また、濃化異骨症(pyknodysostosis)は、破骨細胞特異的な酵素であるcathepsin Kの遺伝子異常症で頭蓋底を中心に骨硬化像が見られる。Sclerosteosisの責任遺伝子はSOST遺伝子であることが判明した。SOST遺伝子がコードするsclerostinは、wntシグナルの阻害因子として作用すると考えられている。頭蓋骨幹端異形成症はピロリン酸のトランスポーターのANKの遺伝子異常で引き起こされる。

v) 未熟児代謝性骨疾患

早産児もしくは低出生体重児(総称して未熟児とも呼ばれる)の骨病変については、必ずしも骨石灰化障害のみではないが、重要な問題なのでここで触れておきたい。未熟児における骨病変は、くる病と骨粗鬆症の病態が入り交じった状態で、metabolic bone disease of prematurity(未熟児代謝性骨疾患)と呼ばれるが、osteopenia of prematurity(未熟児骨量減少症)、neonatal rickets(新生児くる病)という用語も使われている¹⁰⁾。基本的に未熟児代謝性骨疾患は、胎盤から十分なCa、Pの供給される前に出生したことにより、これらが不足し、生後の栄養では必要量が供給されないために骨の正常な発達に妨げられる病態である。骨量の減少が見られるとともに石灰化の減少も見られるため、複雑な病態となる。また、本疾患の問題は短期的な指標による治療のみならず、例えば小児期の低身長や低骨密度の原因となるともいわれ、長期的な視点にたった対処が求められる。

8. 最後に

骨は支持組織でもあり、貯蔵組織でもあり、内分泌組織でもある。小児科医であるという立場から、骨代謝の研究をCa・P代謝を主要なテーマとして、胎児期から成人期まで一貫して行いたいと考えている。

9. 参考文献

- 1) 大園恵一．小児の骨発達とその異常 日本小児科学会雑誌, 113(12): 1779-1788, 2009.
- 2) 大園恵一．カルシウム・リン代謝調節と骨代謝 日本小児内分泌学会編, 小児内分泌学, 診断と治療社, 422-425, 2009.
- 3) Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 116: 2062-2072, 2006
- 4) 道上敏美, 大園恵一．ビタミンD研究の新展開 蛋白質核酸酵素, 51(13):1836-1846, 2006
- 5) Michigami T, Suga A, Yamazaki M, Shimizu C, Cai G, Okada S, Ozono K. Identification of amino acid sequence in the hinge region of human vitamin D receptor which transfers a cytosolic protein to the nucleus. *J Biol Chem*, 274: 33531-33538, 1999
- 6) Miyauchi Y, Michigami T, Sakaguchi N, Sekimoto T, Yoneda Y, Pike JW, Yamagata M, Ozono K. Importin 4 is responsible for ligand-independent nuclear translocation of vitamin D receptor. *J Biol Chem*, 280(49):40901-40908, 2005
- 7) Yamagata M, Ozono K, Hashimoto Y, Miyauchi Y, Kondou H, Michigami T. Intraperitoneal administration of recombinant receptor-associated protein causes phosphaturia via an alteration in subcellular distribution of the renal sodium phosphate co-transporter. *J Am Soc Nephrol*, 16(8):2338-2345, 2005
- 8) 大園恵一．注目すべき新機軸 -Bone-Kidney axis- 日本小児腎臓病学会雑誌, 23(2):105(189)-110(194), 2010.
- 9) Kovacs CS. Fetal Calcium Metabolism. In: Rosen CJ ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Am Soc Bone Mine Res 7:108-112, 2008
- 10) 大園恵一．周産期のカルシウム・リン・ビタミンD代謝 日本未熟児新生児学会雑誌, 23(1):50-54, 2011.
- 11) Michigami T, Uchihashi T, Suzuki A, Tachikawa K, Nakajima S, Ozono K. Common mutations F310L and T1559del in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene are related to distinct

phenotypes in Japanese patients with hypophosphatasia. *Eur J Pediatr*, 164(5):277-282, 2005

12) Kubota T, Michigami T, Sakaguchi N, Kokubu C, Suzuki A, Namba N, Sakai N, Nakajima S,

Imai K, Ozono K. An Lrp6 Hypomorphic Mutation Affects Bone Mass through Bone Resorption in Mice and Impairs Interaction with Mesd. *J Bone Miner Res*, 23(10):1661-1671, 2008

