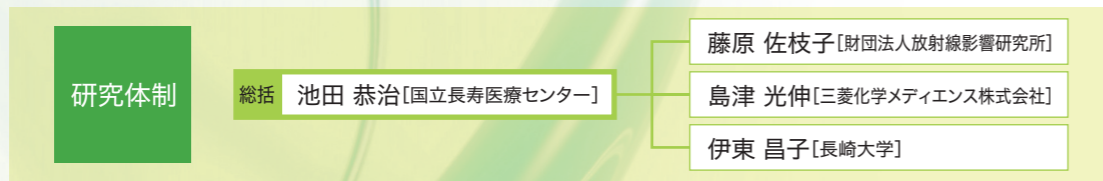


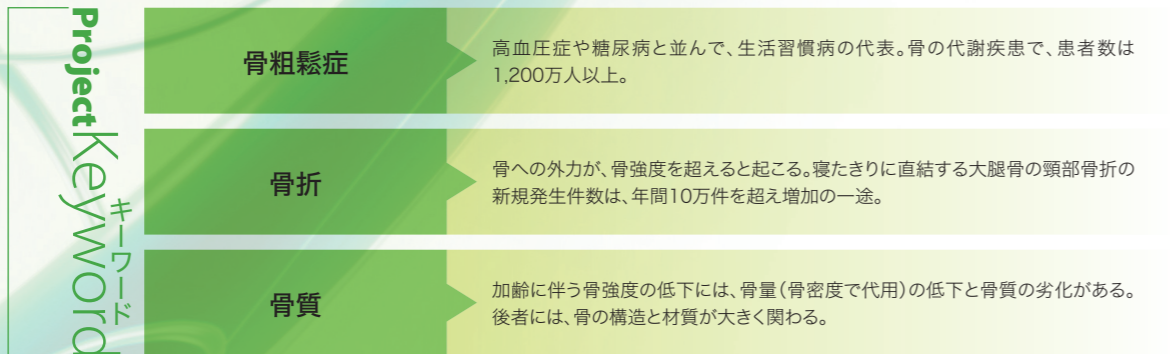
骨質を標的とした骨折予知診断および新規治療薬の開発に関する研究

研究期間 平成18年度～平成22年度(予定)



※平成21年度における研究体制

骨の自己再生力を高めて骨折を防ぐ



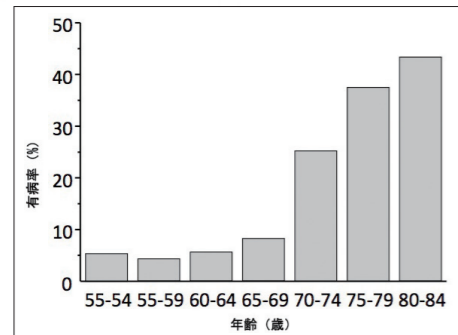
1 研究の背景・意義

骨折・寝たきりの克服に向けて

骨粗鬆症による骨折は、寝たきりや要介護の大きな原因である。ちなみに要介護者の第一位は脳血管障害であるが、麻痺などで転倒しやすいので、ベースに骨粗鬆症があると容易に骨折してしまう。

骨粗鬆症および骨折予防の代表的な治療薬であるビスフォスフォネートは、服用方法が煩雑でコンプライアンスが悪いのが難点で、骨折防止効果も最大40-50%にとどまる。欧米では、アナボリック作用のあるペプチドホルモンの投与も実用化されているが、毎日の注射が必要となる上に高価である。こうした従来の骨吸収抑制薬、骨形成促進薬は、継続によって効果が徐々に弱まり、服用を停止するとすみやかにもとの代謝状態に戻るのが特徴である。骨折予防のためには薬物治療が必要であることは論を待たないが、60-70歳以降に急激に発生頻度が増え、平均寿命の90歳に至るまでに起こる骨折をターゲットに、いつから投与をはじめ、いつまで継続すればいいのかが、については定説がない。

このような背景から、骨の代謝状態を健全にするような、新しい



▲脊椎骨折を持つ人の割合
70歳の日本人女性では、4人に1人の割合ですすでに脊椎の骨折がある。

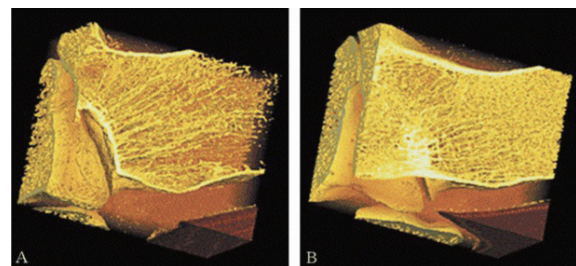
メカニズムに基づいた治療法の開発が待ち望まれている。

2 研究プロジェクトの目標

骨質改善薬の開発

骨は、ミクロの区域単位で絶え間なく代謝している。骨の代謝サイクルは、破骨細胞による骨吸収にはじまり、2週間程度続いた後に、骨芽細胞による骨形成へとリレーする。このように、数ヶ月の周期で、古い骨が新しい骨に置き換えられる。骨の代謝速度および吸収と形成のバランスは、健全な骨格を保つ上できわめて重要であり、閉経後骨粗鬆症に見られるように、骨の吸収が異常に高まったり、老人性骨粗鬆症で見られるように、骨が代謝される速度が著しく遅くなると、骨の更新が滞り、質の悪い骨が増えて強度が損なわれる。いずれの場合にも、骨は脆弱となり、骨折のリスクが一段と高まる結果になる。

骨代謝の基本原則は、ある区域のなかで骨吸収が終了すると、必ず骨形成への連携が起こり、吸収された骨とほぼ同じ量の新しい骨が付加されるというメカニズムである。我々の目標は、この吸収から形成へのカップリングを制御する因子を同定しそのメカニズムを解明することにより、生理的なカップリング機能を維持し、高齢になっても健全な骨を保つことができるような治療法の開発へと応用することである。



▲臨床用CTでみた骨内部の構造
左が骨粗鬆症で、内部が粗な状態になっている。

3 研究プロジェクトの成果

破骨細胞が分泌するタンパクの同定

我々は、骨吸収から形成へのカップリングに関わる因子を探索するにあたり、破骨細胞が分泌または膜上に提示して、骨芽細胞の分化や増殖、遊走を促進することにより、骨形成を促進する因子と定義した。破骨細胞が発現する遺伝子の網羅的解析から、ひとつの分泌タンパクを同定しカップリンと名づけた。

いろいろな検討結果から、カップリンは、骨でのみ発現し、骨のなかでもおもに破骨細胞でのみ産生されて、細胞外へと分泌されるタンパクであることが判明している。

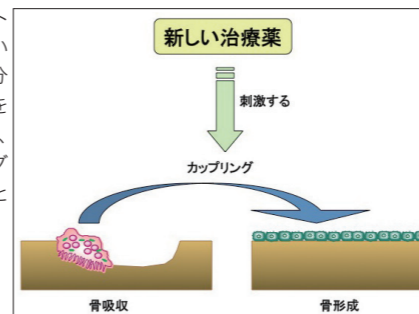


▲破骨細胞から分泌されるタンパク、カップリン

骨芽細胞への分化を促進

カップリン遺伝子を骨髄ストローマ細胞に導入したり、あるいは、カップリンのリコンビナントタンパクを作製してストローマ細胞に投与すると、脂肪細胞への分化が抑制され、骨芽細胞への分化が促進されることがわかった。また、ストローマ細胞の走化性をも高めることが判明している。

以上から、カップリンというタンパクは、骨吸収を行う破骨細胞から分泌され、骨髄ストローマ細胞に働いて、骨芽細胞への分化や骨形成機能を高める働きがあり、まさにカップリング因子の候補であると考えられる。



▲カップリンは、骨吸収から骨形成へのカップリングに機能する。この機能を刺激することによって、骨の自己再生を促進することができる。

加齢による骨量減少に防止効果

骨は20歳で完成されたあとも、代謝を繰り返し40歳代までは、量・質ともにほぼ保たれる。50歳以降になると骨の代謝バランスは乱れ、骨粗鬆症として顕在化する。

骨でのカップリンの産生は加齢とともに減少することがわかってきた。カップリング機能が低下するために、吸収された骨に見合った量の新しい骨が付加されていないと考えられる。我々の検討では、カップリンの産生を高めたマウスを作成すると、加齢に伴う骨粗鬆症から防止されていた。加齢に伴うカップリンの産生低下を防ぐことで、骨の正常な

代謝状態が維持されることを示している。



▲カップリンは、骨量増加作用がある

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

機能増強薬のスクリーニング

カップリンの発現が加齢によって低下すること、この低下を回避することで、加齢に伴う骨量減少が防止されるという成績から、我々は、カップリンの産生を増やすことで、骨の生理的な自己再生力を高め健全な骨格を維持することが可能になると考えている。

そこで、カップリング機能を高めるような薬物の開発に向けて、まずカップリンの発現を刺激するような物質の探索を行っている。培養液中に分泌された酵素の活性を測定することで、カップリンの産生を高める化合物を簡易にスクリーニングできる系を開発し、現在、この系を用いて一次スクリーニングを行っている最中である。リード化合物が同定できれば、さらに最適化を行って前臨床試験において検証する計画である。



▲96穴プレートを使った化合物スクリーニング

受容体から創薬へ

カップリング機能を増強するもうひとつの手立ては、カップリンのシグナルを受ける細胞側にある。細胞外に分泌されたカップリンタンパクは安定であり、破骨細胞から分泌されたカップリンは、細胞が掘った穴に"マーク"として蓄積し、骨芽細胞の骨形成軍団を呼び寄せるシグナルとして機能している可能性が考えられる。

我々は、カップリンの特異的抗体を用いたFACS解析によって、カップリンと結合する受容体タンパクを骨髄ストローマ細胞上に同定している。また、生化学的にも、結合活性のあるカップリン分子と特異的に共沈するタンパクが同定されている。この受容体の構造を決定し、細胞内シグナルのメカニズムを解明することにより、カップリング作用をミミックするような薬物の開発も可能になる。



▲プレートリーダーによる、化合物活性の測定。
分泌された酵素の活性を測定することによって、化合物をスクリーニングしている。

参考文献

石井清朗、池田恭治: "HOT PRESS" PGC-1 β と鉄の協調作用による破骨細胞の活性化、細胞工学 28: 584-585, 2009

池田恭治: 骨粗鬆症の治療法の限界と将来への展望、別冊・医学のあゆみ"骨粗鬆症—臨床と研究の最新動向"p124-127, 2008

池田恭治: 骨粗鬆症の成因、骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン2006年版、ライフサイエンス出版(東京)、p7-8, 2006