

Title	肥満遺伝子産物レプチンによる骨代謝の調節
Author(s)	堀内, 登
Journal	歯科学報, 110(4): 448-451
URL	http://hdl.handle.net/10130/1988
Right	

東京歯科大学創立120周年記念記事
「継承と発展」—各界の卒業生に聞く—

肥満遺伝子産物レプチンによる骨代謝の調節

堀 内 登

昭和47年卒業

奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座口腔生化学 教授

はじめに

私は1990年1月に米国カリフォルニア州ロサンゼルスUCLA医学部附属病院の一つである Cedars-Sinai Medical Center, Division of Endocrinology から奥羽大学歯学部教授として着任して以来、口腔生化学教室で骨代謝やビタミンDの研究を行ってきた。1990年代前半の骨代謝学会は、副甲状腺ホルモン受容体遺伝子のクローニングや新しいビタミンD誘導体の作用などの研究で活況を呈していた。私は奥羽大学で独自の研究を進めるために、骨代謝を制御する新たな物質を探していたところ、一つの興味深い記事が目にとまった。それは肥満遺伝子産物のレプチンの発見と抗肥満作用が1995年の世界の研究のハイライトであるというものであった¹⁾。肥満の人は運動をあまりしないにもかかわらず骨強度が高いという研究結果に注目し、私はレプチンが骨代謝に影響を及ぼすのではないかと考えた。

1. レプチンのビタミンD代謝制御機構の発見

肥満遺伝子産物のレプチンは脂肪細胞から分泌されるホルモンで、1996年当時一般に入手することはきわめて困難であった。私は米国のAmgen社に研究計画を提出しレプチンの供与を求めたところ、快く供与に応じてくれた。そこで、1998年Amgen社から供与されたレプチンを用いて骨代謝制御の研究を開始した。松沼(海野)礼子さんがレプチンの研究を行った。正常のIcrマウスにアルゼットミニポンプを用いて、レプチンを持続投与して腰椎と大腿骨の骨密度を測定したが、レプチンの骨への効果は確

認できなかった。思案のすえ、私たちはレプチンが活性型ビタミンDの $1\alpha, 25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ [$1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$]の合成を調節するのではないかと仮説を立てて、腎臓の近位尿細管細胞に局在する $1\alpha, 25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ 合成酵素の 1α -hydroxylase 発現に対するレプチンの効果を検討した。Icrマウスに $10\mu\text{g/h}$ という大量のレプチンを24時間にわたり持続注入すると、わずかではあるが有意に腎臓の 1α -hydroxylase の遺伝子発現と酵素活性を抑制することを観察した²⁾。これはレプチンの新たな作用の発見であったが、正常マウスを用いて行う実験には限界があった。その理由は脂肪細胞から分泌される内因性レプチンの作用のため、明確なレプチン作用を証明することは不可能であるという事実であった。私はこの研究プロジェクトを中止しようと考えた。その時、松沼さんは是非実験を続けたいと強く申し出てくれたので、私は研究を継続しようと決断した。今になって思うと、松沼さんが研究の継続を要望してくれなければ、以下に述べる素晴らしい研究成果は得られなかったであろう。松沼さんに感謝している。2000年に、米国のJackson Laboratoriesから、レプチン遺伝子異常をもつヘテロ接合体のobマウスのつがいを購入して、奥羽大学でホモ接合体のobマウス、すなわち、ob/obマウス、の作製を開始した。ob/obマウスは完全にレプチンが欠乏して高度の肥満を呈する(図1)。このマウスを用いることにより、内因性のレプチンの作用を除外することができレプチンの作用をより明確に示すことができると、私は考えた。ob/obマウスの繁殖、飼育や遺伝子のタイピングは松沼礼子さんを中心にして行われ、当時、大学院生であった前田豊信君と歯科薬

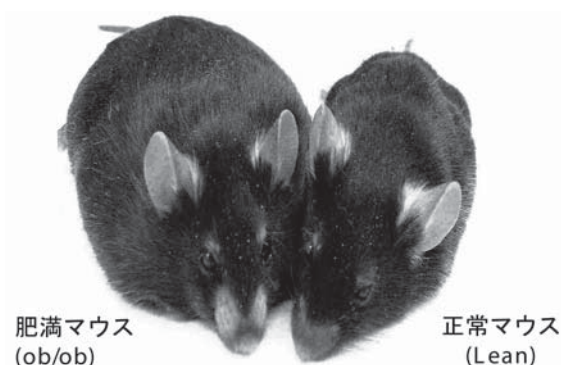


図1 肥満マウス(ob/obマウス)と正常マウスの外観。レプチンは脂肪細胞が合成・分泌するホルモンで、摂食、体内のエネルギー消費、インスリン感受性に関与する。Ob/obマウスはレプチン遺伝子に点変異を持ち、生物活性を有するレプチンを合成できない遺伝性疾患マウスである。Ob/obマウスの表現系は高度肥満のほか、過食、低体温、不妊と性腺機能低下、高血糖、II型糖尿病である。

理学の助教授であった浜田節男先生が骨身惜しまず協力してくれた。ob/obマウスの個体数を何とか確保して研究を進めたが、なかなか満足のゆく結果が得られなかった。obマウスの研究を始めて約3年、レプチンの研究を始めて約5年が経過した時、ようやく明るいきざしが見えてきた。レプチン欠乏のob/obマウスは高カルシウム血症と高 $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 血症を呈していて、レプチンの投与によりこれらの症状が完全に改善されること、ob/obマウスの 1α -hydroxylaseの遺伝子発現の亢進はレプチンの投与で正常に戻ることを私たちは世界に先駆けて明らかにした³⁾。2004年にポルトガルのリスボンで開催された第12回国際内分泌学会で、堀内がobマウスにおけるレプチンのビタミンD代謝異常の改善作用という演題で研究結果を発表した。2006年に、松沼さんが「レプチンのビタミンD代謝調節作用とカルシウム代謝」で、第18回歯科基礎医学会学術賞(生化学部門)を受賞された⁴⁾。さらに、松沼さんはレプチン受容体(ObRb)の異常をもつ糖尿病マウス(db/dbマウス)を用いて、レプチンによる 1α -hydroxylaseの遺伝子発現の抑制作用はObRbを介して発現していることを明らかにした。しかし、マウスの腎尿細管細胞の初代細胞培養系を確立し、その培養系を用いてレプチンの腎細胞への直接作用を検討したところ、仮説に反して、レプチンは 1α -hydroxylaseが局在する近位尿細管細胞に直接

作用しないことが明らかとなった⁵⁾。そこで、私たちはレプチンの作用を仲介する因子の探索を始めた。

2. 骨芽細胞での線維芽細胞成長因子合成の関与

線維芽細胞成長因子23、すなわち、Fibroblast Growth Factor23(FGF23)、は常染色体優性低リン血症性くる病/骨軟化症の原因遺伝子として、また、腫瘍性くる病(Tumor-induced Rickets)/骨軟化症の惹起因子として、2000年に同定された。FGF23は主として骨細胞により産生され、腎臓に作用してクロトー(Klotho)-FGF受容体複合体を介してリン酸利尿を引き起こす全身性因子で、ホルモンとして機能する。また、FGF23は血液リン酸濃度と $1\alpha, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 濃度を低下させる。私たちは腎臓の 1α -hydroxylaseの遺伝子発現を強力に抑制する因子としてのFGF23に着目した。松沼さんの予備的検討から、ob/obマウスにレプチンを投与すると血液中のFGF23濃度が上昇することを、私たちはすでにつかんでいた。松沼さんの後任の辻潔美さんは骨芽細胞の初代培養系を確立し、レプチンの骨芽細胞への作用をFGF23の合成に焦点を当て研究を開始した。辻さんは骨芽細胞において、レプチンがObRbを介してシグナルを伝達しFGF23の遺伝子発現とFGF23生成を増加させることを、世界に先駆けて明らかにした。また、ob/obマウスにFGF23を投与するとレプチンと同様に、腎臓の 1α -hydroxylase遺伝子発現は抑制されることを示した。レプチンによる腎臓の 1α -hydroxylase遺伝子発現の抑制はFGF23を介して発現されることが明らかになった(図2)。これらの研究結果は2010年に、骨代謝研究分野で最も権威ある雑誌のJournal of Bone and Mineral Researchに発表し、高い評価を受けた⁶⁾。2010年2月10日の福島民友新聞と福島民報新聞で大きく取り上げられ、レプチンによって骨で生成されるFGF23が亢進するという報告は世界初の発見で、「骨の健康を保つ一助に」と報じられた。しかし、クロトーの腎臓における主要な発現部位は遠位尿細管であるが、 1α -hydroxylaseの発現部位は近位尿細管である。これらの細胞間を仲介する物質についてはまだ明らかになっていない。

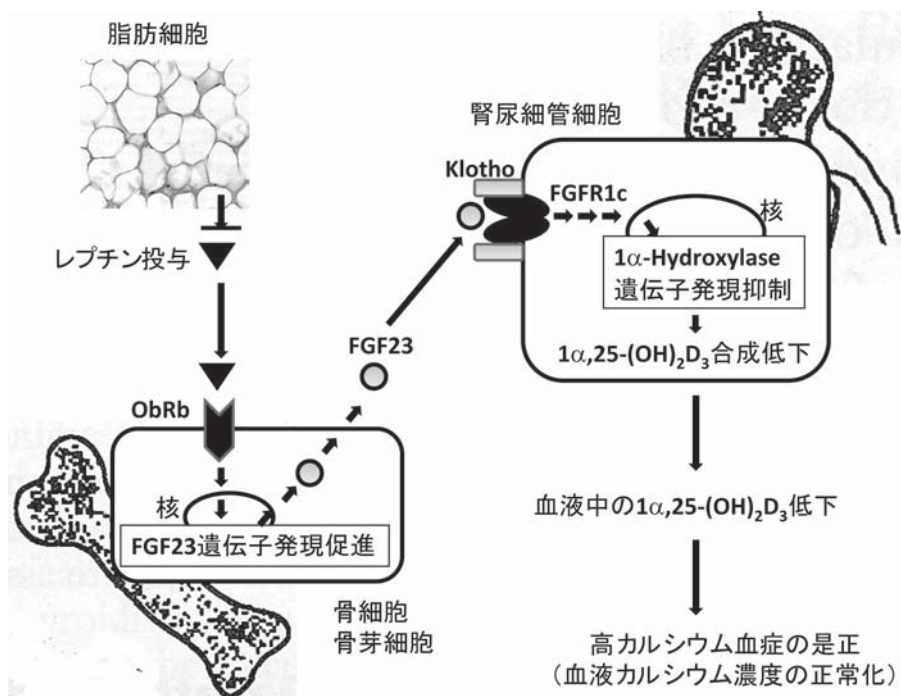


図2 レプチンのビタミンD活性化抑制機構における骨と腎臓の連関。Ob/ob マウスでは脂肪細胞から分泌されるレプチンが欠乏しており、高カルシウム血症と高ビタミンD血症(活性型ビタミンDの $1\alpha, 25-(OH)_2D_3$ 濃度の上昇)を呈している。このマウスにレプチンを投与すると、レプチンは骨組織の骨細胞や骨芽細胞のレプチン受容体(ObRb)に作用し、リン酸尿酸因子の FGF23 の遺伝子発現を亢進しその合成を高める。FGF23は腎臓の尿細管細胞に作用して、FGF 受容体 1c(FGFR 1c)とクロトー(Klotho)タンパク質の複合体からなる FGF23受容体に作用して、ビタミンD活性化酵素(1α -hydroxylase)の遺伝子発現を抑制するため、 $1\alpha, 25-(OH)_2D_3$ 合成は低下する。 $1\alpha, 25-(OH)_2D_3$ は小腸からカルシウム吸収を促進し骨吸収を亢進して、血液のカルシウム濃度を上昇させるステロイドホルモンであるため、血液中の $1\alpha, 25-(OH)_2D_3$ 濃度低下は血液のカルシウム濃度の低下をもたらす。このようにして、ob/ob マウスで見られる高カルシウム血症はレプチンにより是正される。

3. レプチンの骨代謝調節作用研究の現況

レプチンの骨代謝調節作用は極めて複雑である。閉経後骨粗鬆症患者では血中のレプチン濃度と骨量が相関する。また、ob/ob マウスにレプチンを投与すると大腿骨の成長と大腿骨量が増加することが報告され、私たちも同様の結果を観察した³⁾。レプチンは骨髓間質細胞を骨芽細胞に分化させ、脂肪細胞への分化を抑制する。従って、レプチンには骨形成促進作用のあることが示唆される。一方、レプチンが欠乏した ob/ob マウスやレプチン受容体(ObRb)が欠損した db/db マウスは肥満に加えて骨量の増加を示す。脂肪細胞の分化因子の PPAR γ 欠乏マウスは脂肪委縮症を呈し、体重や血中のレプチン濃度は低下し骨量は増加する。これらの結果は体重の増

減にかかわらず、レプチン作用の低下により骨形成が亢進し骨量が増加することを示唆している。ObRb は視床下部の弓状核と腹内側核に強く発現する。レプチンは弓状核では食欲と体重の減少に作用し、腹内側核で交感神経系と骨代謝の調節に働くと考えられている。レプチンが視床下部に作用すると交感神経系の活性が上昇し、骨芽細胞のアドレナリン β 受容体を介して骨形成を抑制し骨量が減少するという論文がある。これらの相反する報告はレプチンの中枢作用と末梢作用が異なるためと説明されている。レプチンの中枢神経を介した作用は骨形成を抑制する。この作用は少なくとも腰椎などの脊椎骨で顕著である。一方、レプチンの骨組織への直接作用は、逆に骨の成長と骨形成を促進する。この作用は大腿骨や脛骨などの長管骨で明らかである。

従って、レプチンの骨代謝制御作用は中枢神経系を介する骨量減少作用と骨組織への直接的な骨量増加作用のバランスで成り立っていると提唱されている⁷⁾。

おわりに

Kopelman は2000年のNature誌に、今後はますます多くの人々が肥満により健康を害すると論じ、肥満は21世紀病であると述べている。現在、欧米では胃のバイパス手術による肥満の治療や安全な抗肥満薬の開発が盛んに行われている。近年、脂肪細胞から分泌されるレプチンやアディポネクチンなどのアディポサイトカインが骨代謝に影響を与えることがクローズアップされている。本稿でも述べたように、肥満や生活習慣病が及ぼす骨代謝異常はますます注目されてきているが、まだ不明の点が多く今後の研究の更なる進展を期待したい。

私は1972年に東京歯科大学を卒業して、東京医科歯科大学歯学研究科に入学し、歯学部生化学教室の佐々木哲教授の指導のもとで研究を始め、5年間過ごした。1977年に昭和大学歯学部口腔生化学教室の開設に参画した。1980年代は、Boston, New York, Los Angeles と長期間アメリカで充実した研究生活を送った。1990年から、奥羽大学歯学部で口腔生化学

教室を主宰して骨代謝の研究を懸命に行ってきた。このたびは、歯科学報に私たちの研究を紹介する機会をお与えくださった歯科学報編集部の先生方に厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) Meier CA.: Leptin secretion and action: an update. Eur. J. Endocrinol. 134 : 543-545, 1996.
- 2) 松沼礼子, 原元信貴, 伊藤秀文, 堀内 登: レプチンによるビタミンD代謝の調節. 奥羽大学歯学誌, 28(3): 279-283, 2001.
- 3) Matsunuma A, Kawane T, Maeda T, Hamada S, Horiuchi N.: Leptin corrects increased gene expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase and -24-hydroxylase in leptin-deficient, *ob/ob* mice. Endocrinology. 145 : 1367-1375, 2004. DOI : 10.1210/en.2003-1010
- 4) Matsunuma A, Horiuchi N: Leptin attenuates gene expression for renal 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in mice via the long form of the leptin receptor. Arch. Biochem. Biophys. 463 : 118-127, 2007. DOI : 10.1016/j.abb.2007.02.031
- 5) Matsunuma A, Horiuchi N: Effect of leptin on regulation of renal 25-hydroxyvitamin D₃ metabolism and maintenance of calcium homeostasis. J. Oral Biosci. 49 : 97-104. 2007.
- 6) Tsuji K, Maeda T, Kawane T, Matsunuma A, Horiuchi N: Leptin stimulates fibroblast growth factor 23 expression in bone and suppresses renal 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ synthesis in leptin-deficient *ob/ob* mice. J. Bone Min. Res. in press, 2010. DOI : 10.1002/jbmr. 65
- 7) 竹田秀: 1) アディポカインと骨, CLINICAL CALCIUM19 : 1009-1014, 2009.