

糖尿病性骨症の発症とビタミンD代謝ならびにカルシウム代謝異常の 解明に関する分子生物学的研究

昭和大学歯学部生化学教室 新 木 敏 正

はじめに

近年本邦は急速に高齢化社会へと移行しカルシウム代謝が負に陥ることによって発症する骨粗鬆症患者が増加している。また、食生活の欧米化に伴って糖尿病、循環器障害が増加している。特に、糖尿病は腎症を発症して腎不全に至り人工透析導入の最大のリスクファクターになっている。糖尿病性腎症は他の腎障害と異なり、血清副甲状腺ホルモンが低値を示し、活性型ビタミンDが低下して骨の代謝回転が低下する低代謝回転化を特徴とした骨の脆弱化が問題になっており、二次性副甲状腺機能亢進症とは異なる骨障害であることが知られている。しかし、糖尿病性腎症では何故、PTHが低下して活性型ビタミンDの合成障害が起こるのか、その機序は明らかでない。そこで、本研究はストレプトゾトシン投与により発症させた糖尿病モデル動物を用いてビタミンD代謝障害が起こる機序を明らかにするために計画された。

I. ビタミンD代謝の概要

ビタミンDは抗くる病因子として発見された生理活性因子で、その後の研究でこの作用はビタミンDそのままの形で発現するのではなく、側鎖の25位ならびにA環の 1α 位が水酸化された $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 [活性型ビタミンD, $1\alpha, 25(\text{OH})_2D_3$] に代謝されて作用を発揮することが明らかになった。

ビタミンDの25位の水酸化反応は主として肝臓で起こり、この反応を司る酵素は細胞小器官を用いた代謝実験からミクロソームとミトコンドリアの2カ所に局在すると報告されている。ミトコンドリアの25位水酸化酵素はコレステロールから胆汁酸を合成する過程の律速酵素である 5β -コレストアン- $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$, トリオールの26(27)位の水酸化を司る酵素、CYP27A1と同一であることが明らかになっている。また、これまでにCYP27A1を調節する因子は報告されていないことから、本酵素は構成酵素でその活性は基質濃度に依存すると考えられている。また、遺伝子のクローニングによって本酵素遺伝子の局在は肝臓以外にも腎臓、十二指腸、脾臓、副腎、肺等の組織でも発現していることが確認され、ビタミンDの25-水酸化反応は肝臓以外の組織でも起こっている可能性が示唆されている。一方、ミクロソームの25位水酸化酵素についても酵素の精製・遺伝子のクローニングが報告されているが、血中の $25(\text{OH})D_3$ 産生における役割については未だ明らかでない。

II. 活性型ビタミンDの合成とその調節因子

ビタミンDの活性化において最も重要な段階は腎臓における $25(\text{OH})D_3$ の 1α -水酸化である。 1α -水酸化反応はビタミンDの生理作用が血液のカルシウムの恒常性にあるため、副甲状腺ホルモン (PTH)、カルシトニン (CT) ならびに血清カルシウム (Ca) によって調節されている。

① 血清カルシウムによる調節

1971年、Boyleらは、低Ca血症の際には $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は主として $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に代謝されるのに対し、正常あるいは高Ca血症の際にはCa上昇作用の弱い $24, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が合成されることを見いだした。その後、血清カルシウムによる $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の代謝調節が詳細に検討された。血清カルシウムが低下しているビタミンD欠乏ラットに $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与するとBoyleらの報告に一致して $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が合成されたのに対し、甲状腺と副甲状腺を摘出(TPTX)したラットでは $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ から $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ への代謝が起こらなかった。また、TPTXラットにPTHを投与すると偽手術群と同レベルまで回復し、cAMPの投与でもPTHの場合と同様の回復が見られた。従って、低Ca血症に伴う $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 産生の亢進は、低Ca血症の刺激が直接 1α -水酸化酵素の誘導に参与するのではなく、血清Caの低下に伴う副甲状腺からのPTHの分泌亢進を介して腎の $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - 1α -水酸化酵素遺伝子が賦活化された結果起こる機序が明らかになった。

$25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - 1α -水酸化酵素の発現調節は、本酵素の細胞内含量が極めて低く正常の状態では活性が殆ど検出できないことから、ビタミンD欠乏の動物あるいは持続的低カルシウム血症の状態にある動物を用いて調べられてきた。しかし、詳細な調節機序の解析には、遺伝情報を知る必要があり世界中のビタミンD研究者が酵素の精製を行ってきたが未だ完全精製には至っていない。そこで、これまでに遺伝子のクローニングが完了しているビタミンD代謝酵素、ビタミンD- 25 -水酸化酵素(CYP27A1)ならびに 24 -水酸化酵素(CYP24)が共にミトコンドリア型チトクロムP450であること、また、酵素の再構成実験から 1α -水酸化酵素もミトコンドリア型チトクロムP450であると推察されていたことから、遺伝子工学的な手法を用いて 1α -水酸化酵素の遺伝子のクローニングが行われ、1997年に全長cDNAの配列が明らかになった。 1α -水酸化酵素遺伝子はヒトでは第12染色体の長腕13センチモルガン付近(12q13.1-q13.3)に約6kbに亘って局在し、9個のエキソンから構成される約2.5 kbのmRNAに転写されて508個のアミノ酸より成るミトコンドリア型チトクロムP450蛋白質として合成される。ラットにおいてもヒトと同じく2469 bpのmRNAによってコードされる501個のアミノ酸から合成されることが明らかになっている。クローニングされた 1α -水酸化酵素は、これまでにクローニングが完了しているP450の内、CYP27A1ならびにCYP24と高い相同性を示し、CYP27A1とは43%の高い相同性を示したことから、CYP27A1のファミリーと考えられCYP27B1という名が委員会より与えられた。

CYP27B1遺伝子のクローニングの成功は、 1α -水酸化酵素の発現調節を分子レベルで明らかにしたと共に、遺伝病の発症の原因をも明らかにした。離乳直後よりビタミンDを含む低カルシウム食で飼育すると 1α -水酸化酵素活性が亢進するが、本動物の腎臓よりRNAを調製してCYP27B1 mRNAの発現をNorthern blot法で調べると、著しい発現の促進が観察された。一方、低リン食飼育によっても血中の活性型ビタミンD濃度が上昇するが、CYP27B1 mRNAの発現上昇は低カルシウム食飼育の場合と比較して軽度であった。従って、CYP27B1遺伝子の発現調節因子として最も重要な因子はPTHであると考えられた。そこで、甲状腺と副甲状腺を摘除したTPTXラットを用い

て、低カルシウムならびに低リン食飼育による腎臓のCYP27B1 mRNAの発現を調べた。低カルシウム食飼育により亢進するCYP27B1 mRNAの発現はTPTXにより著しく減弱した(図1)。この結果から、低カルシウム食飼育(血清カルシウムの低下)によるCYP27B1 mRNAの発現亢進には、PTHの関与が明らかになった。一方、低リン食飼育によるCYP27B1 mRNAの発現亢進は8日間の飼育では起こらないことから、血中 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の調節にはPTHが重要と考えられた。

副甲状腺ホルモンは標的細胞の膜に局在する7回膜貫通型受容体(G蛋白共役受容体); PTH/PTHrP受容体と結合してアデニル酸シクラーゼの活性化を介したATPからのcAMPの合成促進によるプロテインキナーゼA(PK-A)の活性化の他、フォスホリパーゼCを活性化してジアシルグリセロールの合成を促進させることによりプロテインキナーゼC(PK-C)を活性化することが知られている。CYP27B1遺伝子の転写開始点の上流にはcAMP依存的にリン酸化された蛋白質が結合して転写を促進する配列:cAMP応答配列(CRE)が3カ所(4箇所が存在するとの報告もある)ありこの領域を介してPTHが転写を亢進していることが明らかになっている。また、PTHによるCYP27B1遺伝子の転写はアデニル酸シクラーゼの活性化剤であるフォルスコリンによっても同様に促進されることから、cAMPの合成を介したA-kinaseの活性化を介して転写が促進される経路が遺伝情報の面からも明らかになった。

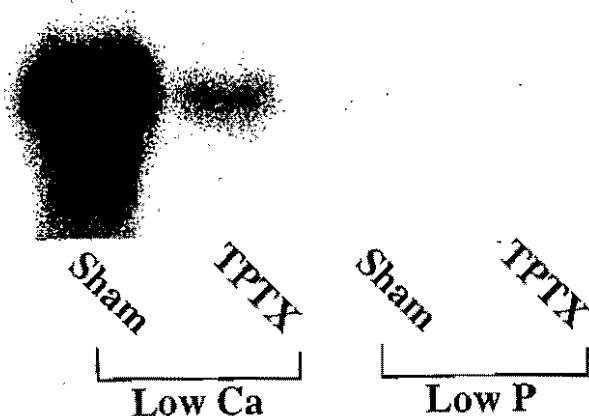


図1 低カルシウムならびに低リン食飼育による腎臓のCYP27B1 mRNAの発現促進に対する甲状腺副甲状腺摘除(TPTX)の効果。

離乳直後のラットにTPTXを施行し、ビタミンD含有低カルシウム(0.03%Ca)または低リン食(0.02%P)で8日間飼育した。

② カルシトニンによる 1α -水酸化酵素の発現調節

カルシトニンによる 1α -水酸化酵素の発現亢進に関しては、腎臓に対する直接作用と考える意見と骨吸収の抑制に伴う血清カルシウムの低下を介したPTHの分泌促進による間接作用の2つの意見がある。堀内らはビタミンD欠乏のTPTXラットにカルシウムを持続注入することにより数日間の生存を可能とした実験系を確立し、CTの 1α -水酸化酵素活性に対する効果を検討した。その結果、CTもPTH同様に $25(\text{OH})\text{D}_3$ から $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ への変換を指標とした 1α -水酸化酵素活性を

亢進できることが明らかになった。また、CTによる 1α -水酸化反応の亢進はPTHと相加性を示したことからcAMPをセカンドメッセンジャーとしない別の経路で調節されると報告している。一方、川嶋らは、腎臓をマイクロダイセクション法で種々のネフロンに分画して同様の代謝実験によりCTの効果調べた。CTは近位尿細管の直部で 1α -水酸化酵素の発現を亢進することが明らかになっている。我々は、CTによる 1α -水酸化酵素遺伝子の発現をNorthern blot法で検討し、以下の結果を得ている。正常動物にCTを筋注した後CYP27B1 mRNAの発現を調べると、CTは用量ならびに時間依存的にCYP27B1 mRNAの発現を亢進した。そこで、CTによる効果がPTHの分泌を介して起こっているか否かを明らかにするため、PTHを皮下投与後CYP27B1 mRNAの発現を同様の手法で調べた。しかし、正常動物にPTHを投与しても全くCYP27B1 mRNAの発現は促進されなかった。そこで、TPTXを施行したラットにCTあるいはPTHを投与してCYP27B1 mRNAの発現を調べたところ、PTHのみならずCTも本遺伝子の発現を促進しなかった。CTは血清カルシウムが正常範囲を超えた場合に分泌され、血清カルシウムの低下をもたらすホルモンであることから、低濃度のPTHあるいは CaCl_2 を持続投与して、血清カルシウムを正常化させたラットにCTを投与してCYP27B1 mRNAの発現を調べた。正常カルシウムの範囲にある動物にCTを投与するとCYP27B1 mRNAの発現が亢進した。このことから、持続的な低カルシウム状態にある腎臓ではPTHが強力にCYP27B1遺伝子の転写を促進するが、血清カルシウムが正常範囲にある動物ではCTがCYP27B1遺伝子の転写を促進する因子として重要な役割をしていると考えられる。

③ $25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - 1α -水酸化酵素の発現抑制機序

活性型ビタミンDは極めて強力な血清カルシウム上昇作用を有することから、その合成は厳格に調節されていなければならない。これまで、 1α -水酸化酵素活性は血清カルシウムの上昇を介したPTHの分泌抑制による間接作用と $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ によるプロダクトインヒビションの2つの機序が代謝実験の結果から報告されている。しかし、我々は 1α -水酸化酵素活性が亢進している腎臓の近位尿細管では $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の作用に必須の役割を果たすビタミンD受容体 (VDR) が消失することを見出していることから、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による 1α -水酸化酵素遺伝子の発現抑制は否定的に考えている。そこで、ビタミンD欠乏低カルシウム飼料で飼育することにより $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が低下し、 1α -水酸化酵素活性が著しく亢進している動物に $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与して経時的にCYP27B1 mRNAの発現をNorthern blot法で調べた。ビタミンD欠乏低カルシウム食で飼育したラットに活性型ビタミンDを静脈内投与して経時的に血清カルシウムとCYP27B1 mRNAの発現を調べると、投与48時間後に僅かながら血清カルシウムが上昇したが、CYP27B1 mRNAの発現は低下せずむしろ増加する傾向が示された (図2)。一方、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前に予め0.5%のカルシウムを含むビタミンD欠乏食を与え、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与によって小腸からカルシウムが吸収できる条件下で実験を行うと、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与12時間後に血清カルシウムが正常化し、CYP27B1 mRNAの発現が消失した。この結果から、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ によるCYP27B1遺伝子の発現抑制には直接 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が作用するのではなく、血清カルシウムの上昇を介したPTHの分泌

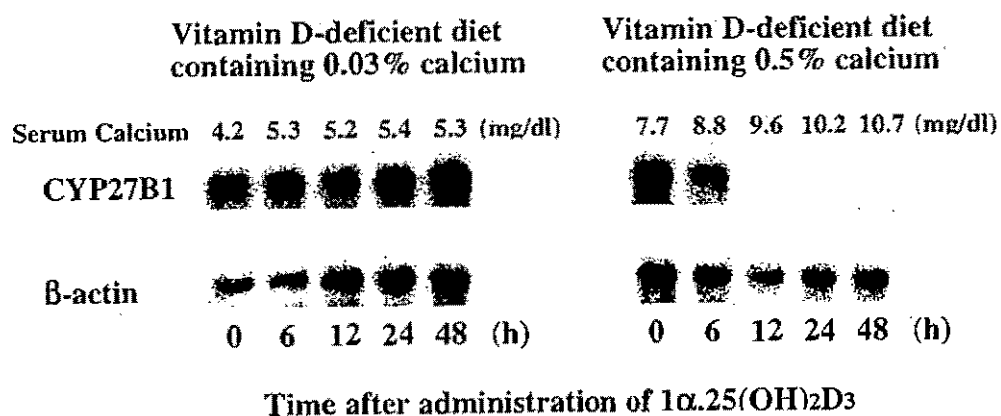


図2 活性型ビタミンDによる腎臓のCYP27B1 mRNAの発現と飼料中のカルシウム濃度との関係。
離乳直後のラットをビタミンD欠乏低カルシウム飼料 (0.03%Ca) で2週間飼育した後、ビタミンD欠乏低カルシウム (0.03%) 又は正常カルシウム (0.5%) で1週間飼育した。活性型ビタミンDは1 μ gを静脈内投与した。

抑制の間接的な機序で起こることが明らかになった。このことは、ビタミンD含有の低カルシウム飼料で飼育した場合、血中の $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 濃度は正常の10倍程度まで上昇するが、決して 1α -水酸化酵素の活性は低下せずCYP27B1 mRNAの発現も抑制されない結果とも一致する。

Ⅲ. ビタミンD代謝とメガリン

腎臓のCYP27B1遺伝子のクローニングの成功は、腎外性の 1α -水酸化酵素が腎臓の酵素と同一の酵素であるか否かの検索を可能にした。FuらはCYP27B1 mRNAの遺伝子をケラチノサイトからクローニングし腎臓の酵素と同一であることを報告している。更に興味深いことには、正常の状態ではCYP27B1 mRNAの発現はNorthern blot又はRNase protection assay等の手法では検出できないレベルであった。また、RT-PCR後Southern blottingして検索すると腎臓以外に脳、精巣にも存在することが明らかになった。しかし、胎盤に関しては酵素活性による検索から 1α -水酸化酵素の存在が示唆されていたが、遺伝子としては検出できなかった。今後も腎外性CYP27B1の発現については詳細な検討が加えられると思われるが、何故、腎外性のCYP27B1 mRNAの発現は腎臓と同レベル発現し、ケラチノサイトに関しては腎臓より発現量が多いにも拘わらず、腎不全の患者又は、腎臓を摘出した動物では著しい活性型ビタミンDの低下が起こるのであろうか？その機序解明は残された課題である。

活性型ビタミンD合成の基質である $25(\text{OH})\text{D}_3$ は脂溶性物質であるため血液中では遊離の状態で存在できず、ビタミンD結合蛋白質 (DBP) と結合して循環する。しかし、蛋白と高親和性で結合した $25(\text{OH})\text{D}_3$ がどのような機序で腎臓の細胞に取り込まれるのか長い間疑問であったが、Nykjaerらによるメガリンノックアウトの性状解析の結果からその機序が明らかになった。メガリンはLDL受容体のファミリーに属する蛋白質で腎臓の尿細管のapical membraneに局在しDBPの他アルブミン、サイログロブリン、レチノール結合蛋白質、インスリン、 β_2 -ミクログロブリン等とも結合することができる膜蛋白質である。メガリンノックアウトマウスでは野生型に比べ著しい血中 $25(\text{OH})\text{D}_3$ の低下が起こり、尿中に多量のDBPと $25(\text{OH})\text{D}_3$ が排泄され骨密度の低下を起こすことが報告された。従って、 $25(\text{OH})\text{D}_3$ は

DBPと結合したまま糸球体から濾過され、尿細管の細胞膜に局在するメガリンとの結合を介して細胞に取り込まれ、DBPの分解によって遊離した25(OH)D₃がミトコンドリアに局在する1 α -水酸化酵素の基質として利用されるため、正常状態では極めて低い発現である1 α -水酸化酵素が効率よく活性型ビタミンDを合成できると考えられた。メガリンノックアウトマウスの成果は、活性型ビタミンDの生合成に25(OH)D₃の供給が極めて重要な役割を果たすことを明確に示した結果として重要である。今後、腎外性の1 α -水酸化酵素が何故血中の1 α , 25(OH)₂D₃濃度に影響するほど合成することが出来ないのか、メガリンとの関係についても詳細な検討が必要と考えられる。

V. 糖尿病発症によるビタミンDの活性化障害機序

我々は、糖尿病性腎症の患者が腎不全に至り人工透析導入に移行した場合、他の原因で人工透析に至った患者と比較して血清PTHの上昇が起こりにくいこと、また、活性型ビタミンDの血中濃度が低下する機序の解明を目的に、ストレプトゾチン投与により発症させたI型糖尿病モデルラットを用いて解析を行った。

動物は、離乳直後のラットをビタミンDを含む低カルシウム食（0.03%Ca, 0.6%Pi）または0.5%のカルシウムを含むビタミンD含有合成飼料、あるいはビタミンD欠乏低カルシウム食または0.5%Caを含むビタミンD欠乏食で飼育したラットを用いた。

腎臓の25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素遺伝子の発現は、ビタミンD欠乏低カルシウム食飼育ならびに0.5%カルシウムを含むビタミンD欠乏食飼育によって著しく促進された（図3 A, B）。ストレプトゾチン投与によって糖尿病を発症させるとビタミンD欠乏食飼育によって亢進した25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素（CYP27B1）mRNAの発現は、0.5%カルシウムを含有した飼料で飼育した群では抑制されたが、0.03%の低カルシウム群では全く影響を受けなかった。糖尿病発症に伴って抑制されたCYP27B1 mRNAの発現は、インスリン投与によって完全に回復した。

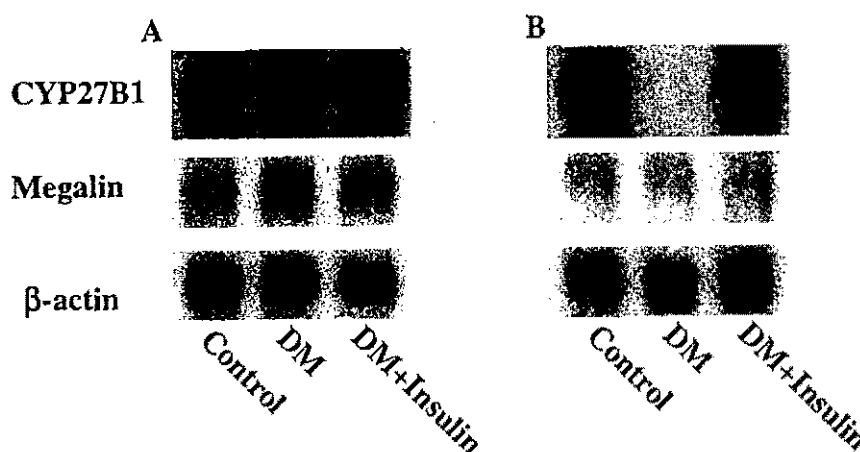


図3 腎臓のCYP27B1およびmegalin mRNAの発現に対するストレプトゾチンならびにインスリン投与の効果。

離乳直後のラットをビタミンD欠乏低カルシウム飼料（0.03%Ca）食で1週間飼育した後、ストレプトゾチン投与により糖尿病を発症させた。糖尿病発症後、ビタミンD欠乏低カルシウム（0.03%Ca；A）あるいは正常カルシウム（0.5%Ca；B）で1週間飼育した。インスリンは連日2単位を筋肉内に投与した。

ビタミンD欠乏あるいは低カルシウム食飼育による腎臓の25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素遺伝子の発現は、血清カルシウムの低下を介したPTHの分泌促進を介して起こる(図1)ことを我々は明らかにしていることから、糖尿病発症に伴うCYP27B1 mRNAの発現低下は血清カルシウムの上昇によるPTHの分泌低下が考えられた。そこで、本動物の血清カルシウムを測定した。ビタミンD欠乏食飼育により血清カルシウムは著しく低下したが、糖尿病の発症に伴い血清カルシウムが上昇した。糖尿病発症に伴う血清カルシウムの上昇は飼料中のカルシウム含量が0.5%の飼料を給餌した場合に起こり、0.03%カルシウムの低カルシウム食飼育では起こらなかった(図4)。このことから、糖尿病発症に伴う腎臓のCYP27B1 mRNAの発現低下はPTHの分泌抑制を介して起こる可能性が示唆された。そこで、血中のPTH濃度の測定を行った。血中PTH濃度は、ビタミンD欠乏食で飼育すると著しく上昇したが、ストレプトゾトシン投与によって発症させた糖尿病群のラットでは、0.5%のカルシウムを含むビタミンD欠乏食で飼育した場合には殆ど検出限界以下のレベルに低下した。一方、0.03%のカルシウムのビタミンD欠乏食飼育群ではストレプトゾトシン非投与群に比べ低下したが、未だ副甲状腺機能が亢進している状態であった(図5)。0.5%カルシウム摂取群で糖尿病発症により低下した血中PTH濃度の低下は、インスリン投与により回復した。この結果から、糖尿病発症に伴う血中PTH濃度の低下には小腸からのカルシウム吸収の亢進が関与していることが示唆された。そこで、インスリン投与が糖尿病による血糖値の上昇を抑えているか、又血中のグルコース濃度と25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素遺伝子の発現との関係を明らかにするため、血清中のグルコース濃度の測定を行った。ストレプトゾトシン投与は、0.03%低カルシウム、0.5%の通常カルシウムのビタミンD欠乏食のどちらの飼料で飼育した場合にも高血糖を呈したが、インスリン投与により正常範囲に維持されていた(図6)。

そこで、糖尿病発症により低下する25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素遺伝子の発現と血清カルシウムとの関係をより詳細に調べる目的でビタミンD含有低カルシウム食飼育ラットを用いてストレプトゾトシ

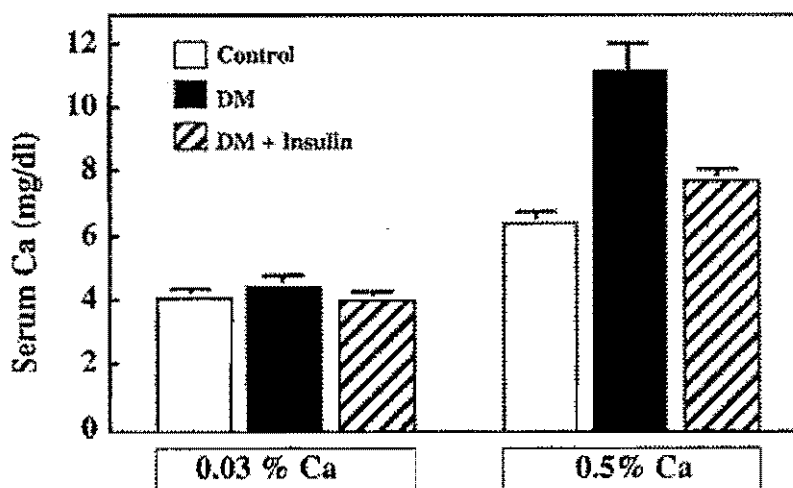


図4 血清カルシウム濃度に対するストレプトゾトシンならびにインスリン投与の効果。

離乳直後のラットをビタミンD欠乏低カルシウム飼料(0.03%Ca)食で1週間飼育した後、ストレプトゾトシン投与により糖尿病を発生させた。糖尿病発症後、ビタミンD欠乏低カルシウム(0.03%Ca)又は正常カルシウム(0.5%Ca)で1週間飼育した。インスリンは連日2単位を筋肉内に投与した。

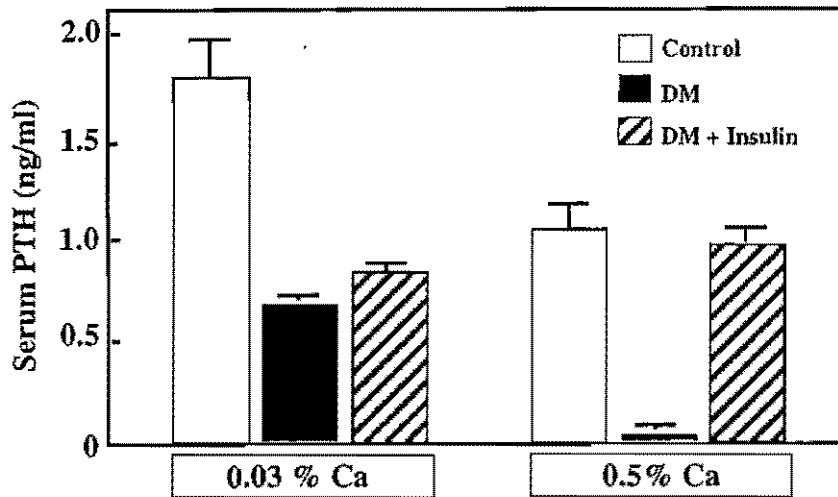


図5 血清PTH濃度に対するストレプトゾトシンならびにインスリン投与の効果。

離乳直後のラットをビタミンD欠乏低カルシウム (0.03%Ca) 食で1週間飼育した後、ストレプトゾトシン投与により糖尿病を発生させた。糖尿病発症後、ビタミンD欠乏低カルシウム (0.03%Ca) 又は正常カルシウム (0.5%Ca) で1週間飼育した。インスリンは連日2単位を筋肉内に投与した。

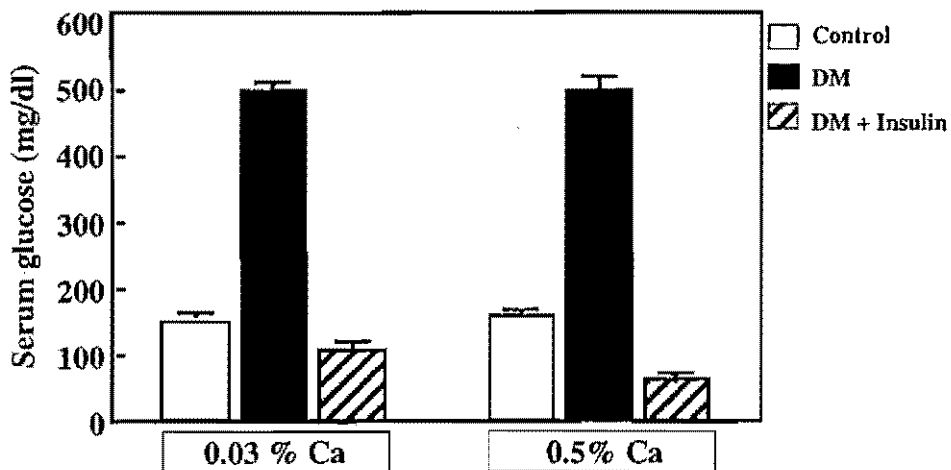


図6 ストレプトゾトシン投与により発症した糖尿病ラットの血清グルコース濃度の上昇とインスリン投与による回復。

離乳直後のラットをビタミンD欠乏低カルシウム (0.03%Ca) 食で1週間飼育した後、ストレプトゾトシン投与により糖尿病を発生させた。糖尿病発症後、ビタミンD欠乏低カルシウム (0.03%Ca) 又は正常カルシウム (0.5%Ca) で1週間飼育した。インスリンは連日2単位を筋肉内に投与した。

ンの効果を調べた。離乳直後のラットをビタミンD含有低カルシウム飼料 (0.03%Ca) で飼育すると低カルシウム血症を呈するが、ストレプトゾトシン投与によって糖尿病を発症させると高カルシウム血症を呈し、血清カルシウムの上昇はインスリン投与により改善された。血糖値についてもインスリンは正常範囲を維持した。また、25(OH)D₃-1α-水酸化酵素遺伝子の発現もビタミンD含有低カルシウム食飼育により著しく亢進したが、ストレプトゾトシン投与によって糖尿病を発症させると、腎臓の25(OH)D₃-1α-水酸化酵素遺伝子の発現は著しく抑制された。また、糖尿病による25(OH)D₃-1α-水酸化酵素遺伝子発現の低下はインスリン投与により改善された (図7)。

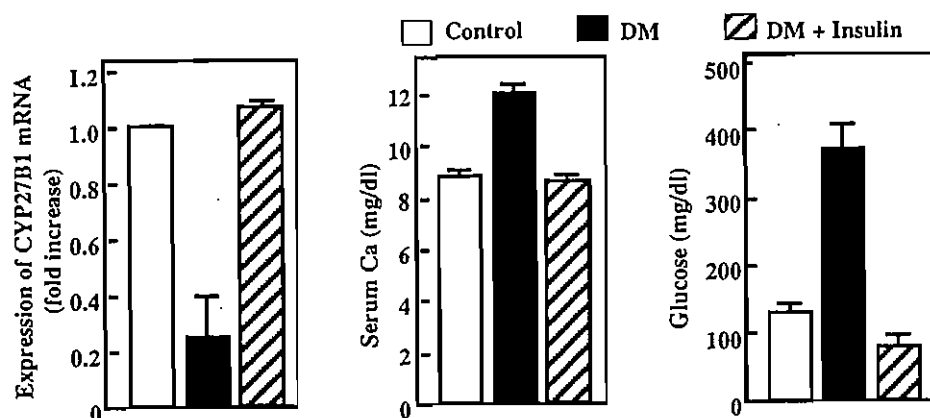


図7 腎臓のCYP27B1mRNAの発現ならびに血清カルシウム、グルコースに対するストレプトゾシンならびにインスリン投与の効果。

離乳直後のラットをビタミンD欠乏低カルシウム(0.03%Ca)食で1週間飼育した後、ストレプトゾトシン投与により糖尿病を発生させた。糖尿病発症後、更に1週間上記の飼料で飼育した後、CYP27B1mRNAの発現を調べた。血糖および血清カルシウムは屠殺時の値である。インスリンは連日2単位を1週間筋肉内に投与した。

まとめ

近年生活習慣の欧米化に伴って急増している糖尿病は腎炎を発症し、骨も脆弱化して極めてQOLが低下してくることが問題となっている。そこで我々は、骨カルシウム代謝の基礎研究に携わる研究者として、糖尿病性骨症の発症機序解明に関する研究を行った。糖尿病性骨症は二次性副甲状腺機能亢進症等と比較して血中のPTHおよび活性型ビタミンD濃度が低下することを特徴としている。

そこで、活性型ビタミンDの鍵酵素である25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素遺伝子のクローニングに成功した経験および骨代謝を分子レベルで解析する技術を応用して本研究を行った。その結果、糖尿病を発症すると糖の利用が出来なくなるため腸管の過形成が起こり、その結果カルシウム吸収が促進され、血清カルシウム濃度の上昇が起こると考えられた。血清カルシウムの上昇は副甲状腺からのPTHの分泌の低下をもたらし、骨の代謝回転が低下すると判断された。また、PTHは活性型ビタミンD合成の鍵酵素である25(OH)D₃-1 α -水酸化酵素遺伝子の発現を制御する因子であるため、PTHの分泌抑制により血清活性型ビタミンD濃度が低下したと考えられる。そこで、今後細胞の増殖・分化を制御するポリアミン合成阻害剤の効果等を解析する予定です。また、本研究期間では骨の代謝を制御する破骨細胞分化因子(receptor activator of NF κ B ligand; RANKL)ならびに破骨細胞形成を抑制する破骨細胞形成抑制因子(osteoprotegerin; OPG)の発現解析までには至らなかったが、糖尿病患者のQOLを高める目的でPTHに対する応答性の面から現在検討中である。