

- 35) Miura O, Sugahara Y, Aoki N: Hereditary α_2 -plasmin inhibitor deficiency by a transport-deficient mutation. Deletion of Glu 137 by a trinucleotide deletion blocks intracellular transport. *J. Biol. Chem.* 264: 18213-18219, 1989.
- 36) Sumi Y, Ichikawa Y, Nakamura Y, Miura O, Aoki N: Expression and characterization of pro α_2 -plasmin inhibitor. *J. Biochem.* 106: 703-707, 1989.
- 37) Miura O, Aoki N: Impaired secretion of mutant α_2 -plasmin inhibitor (α_2 -PI-Nara) from COS-7 and Hep G2 cells: Molecular and cellular basis for hereditary deficiency of α_2 -plasmin inhibitor. *Blood* 75: 1092-1096, 1990.
- 38) Kato A, Hirose S, Toyota S, Nakamura Y, Nishi H, Kimura A, Sasazuki T, Aoki N: Localization of the human α_2 -plasmin inhibitor gene (PI) to 17p13. *Cytogenet. Cell Genet.* 62: 190-191, 1993.
- 39) Aoki N, Sumi Y, Miura O, Hirose S: Human α_2 -plasmin inhibitor. *Methods Enzymol.* 223: 185-197, 1993.
- 40) Toyota S, Hirose S, Aoki N: Secretion of α_2 -plasmin inhibitor is impaired by an amino acid deletion in a small region of the molecule. *J. Biochem.* 115: 293-297, 1994.
- 41) Koyama T, Koike Y, Toyota S, Miyagi F, Suzuki N, Aoki N: Different NH₂-terminal form with 12 additional residues of α_2 -plasmin inhibitor from human plasma and culture media of Hep G2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 200: 417-422, 1994.
- 42) Aoki N: α_2 -Plasmin inhibitor. In: *Molecular Basis of Thrombosis and Haemostasis*, edited by High KA and Roberts HR, Marcel Dekker, New York, 1995, pp545-559.

歯学博士須田立雄氏の「ビタミンDと骨 に関する研究」に対する授賞審査要旨

骨組織は生涯に亘り活発に形成と吸収（破壊）をくりかえす動的な組織である。しかし、その研究対象が高度に石灰化した組織であるために、永い間その実体は明らかでなかった。須田立雄氏は骨の形成と吸収に大きな影響を与える「ビタミンD」に着目して研究を進めてきた。一九七一年、須田氏は米國留學中にビタミンD₃の活性型代謝産物1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃ [1 α , 25(OH)₂D₃]の単離と同等に成功したが、その後三〇年に亘ってビタミンDの代謝調節、作用のしくみ、その臨床応用に取り組んできた。殊に、須田氏の考案した活性型ビタミンDの合成誘導体1 α -ヒドロキシビタミンD₃ [1 α (OH)D₃]は高齢化社会への移行に伴い我が国でも激増している骨粗鬆症患者の基本的な治療薬となった。さらに一九八一年、須田氏は活性型ビタミンDが強力な細胞分化誘導作用を持つことを発見し、この研究から出発して一九九八年、活性型ビタミンDによって誘導される破骨細胞分化因子（ODF）のクローニングに成功した。須田氏の主な研究業績は次の通りである。

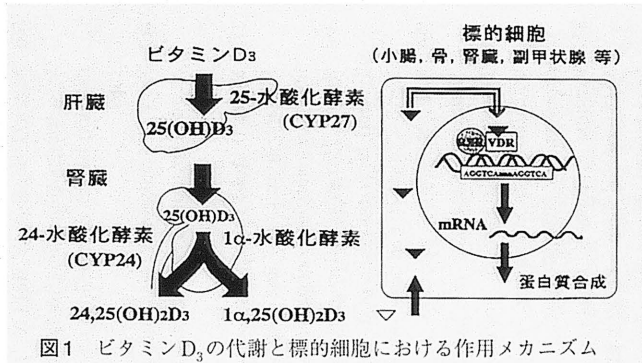


図1 ビタミンD₃の代謝と標的細胞における作用メカニズム

(1) ビタミンDの代謝経路の解明と活性型ビタミンDの単離・同定
 須田氏はウイスコンシン大学留学中にH. F. DeLuca博士の下でビタミンDの代謝研究に従事し、活性型ビタミンD [1α, 25(OH)₂D₃]の単離と構造決定に成功した。1α, 25(OH)₂D₃は肝臓(25位)と腎臓(1α位)で順次水酸化反応を受けて産生されるが、現在では活性型ビタミンDは「腎臓が合成する一種のステロイドホルモン」とする概念が定着した(図1)。

(2) 活性型ビタミンDの合成誘導体の有機合成と、その臨床応用のための基礎研究

米国より帰国後、須田氏は活性型ビタミンDの合成誘導体として1α・ヒドロキシビタミンD₃ [1α(OH)D₃]の有機合成に成功し、この合成誘導体が腎臓摘出動物でも肝臓の25水酸化酵素によって活性型ビタミンD [1α, 25(OH)₂D₃]に代謝されることを

明らかにした。1α(OH)D₃は現在、慢性腎不全患者(約20万人)のほぼ半数と、800万人にも達すると言われている骨粗鬆症患者のうち、凡そ100万人に毎日処方されている。

(3) 活性型ビタミンDの細胞分化誘導作用の発見と、その臨床応用のための基礎研究

一九八一年、須田氏は活性型ビタミンDがマウスやヒトの骨髄性白血病細胞(M1, HL60など)の増殖を抑制し、マクロファージへの分化を促す強力な作用を持つことを明らかにした。ビタミンDの分化誘導作用の発見は、ビタミンDの古典的なカルシウム代謝調節作用を細胞レベルで解明しただけでなく、難治性の皮膚疾患である乾癬(psoriasis vulgaris)の治療薬としての道を拓いた。

(4) 活性型ビタミンD合成酵素(1α水酸化酵素)のクローニング
 一九九七年、須田氏はビタミンDの代謝研究で最後に残されていた大きな課題であった腎臓の活性型ビタミンD合成酵素(1α水酸化酵素)の遺伝子クローニングに成功した。この成功により、低Ca血症↓副甲状腺ホルモン(PTH)の分泌亢進↓腎臓の近位尿管細胞のcAMP産生の亢進↓Aキナーゼの亢進↓Aキナーゼの基質となるCREBのリン酸化↓リン酸化されたCREBのCREKの結合↓1α-

水酸化酵素の誘導という順序で、腎臓における活性型ビタミンDの合成が促進されることが明らかになった。

(5) 破骨細胞分化因子 (Osteoclast differentiation factor, ODF)

のクローニングと、破骨細胞形成の分子メカニズムの解明

須田氏は一九八八年以来、骨組織にしか存在しない破骨細胞が身体中至るところに存在する単球・マクロファージ系の造血細胞から形成される理由を説明するために、「活性型ビタミンDによって骨芽細胞の細胞膜上に発現誘導される破骨細胞分化因子 (ODF) を破骨細胞前駆細胞が認識することによって破骨細胞が形成される」という理論を提唱してきた。この因子は一九九八年、雪印乳業生物科学研究所との共同研究により最終的にクローニングされた。ODFはRANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) と呼ばれ、骨芽細胞や骨髄間質細胞が発現する腫瘍壊死因子 (TNF) リガンドファミリーに属する膜結合型タンパク質であった (図2)。ODFの発現は活性型ビタミンDのみならず、他のさまざまな骨吸収因子によっても共通して誘導された。ODF/RANKLは破骨細胞前駆細胞が持つODF受容体 (RANK) に結合し、マクロファージ系の造血細胞を破骨細胞に分化させた (図2)。RANKの細胞外ドメインのアミノ酸配列と有意の相同性を持つ血中に存在する破骨細胞形成阻

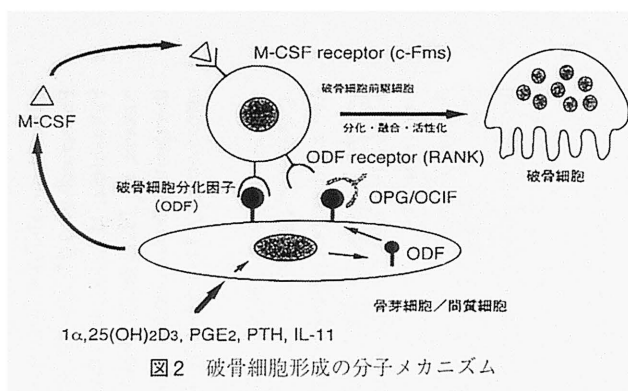


図2 破骨細胞形成の分子メカニズム

害因子 (Osteoclastogenesis inhibitory factor/Osteoprotegerin, OICF/OPG) はODFとRANKの結合を競合的に阻害し、おとりの受容体 (decoy receptor) として働くことも明らかになった (図2)。ODF/RANKLの発見は、今後、慢性関節リウマチ、骨粗鬆症、癌の骨転移などの際に認められる骨破壊の発症機構の解明と、その治療方針の確立に大きな役割を演ずることが期待される。

三〇年以上に亘り続けられた須田立雄氏のこれら一連の研究に対して、日本ビタミン学会賞 (一九九六年)、米国骨代謝学会 (ASBMR) の最高の荣誉であるニューマン賞 (一九九七年)、紫綬褒章 (一九九八年)、朝日賞 (二〇〇〇年) などが授与されており、須田氏の研究成果は我が国の骨代謝研究の端緒を切り開いたものとして高く評価される。

井原 登 論文

- (一) ビタミンDの代謝経路の解明と活性型ビタミンDの単離・同定に関する研究
1. Suda, T., Deluca H. F., Schnoes, H. K., Blunt, J. W.: The isolation and identification of 25-hydroxyergocalciferol. *Biochemistry*, **8**: 3515-3520, 1969.
 2. Holick, M. F., Schnoes, H. K., Deluca, H. F., Suda, T., Cousins, R. J.: Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry*, **10**: 2799-2804, 1971.
 3. Holick, M. F., Schnoes, H. K., Deluca, H. F., Gray, R. W., Boyle, I. T., Suda, T.: Isolation and identification of 24,25-dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D₃ made in the kidney. *Biochemistry*, **11**: 4251-4255, 1972.
- (二) 活性型ビタミンDの合成誘導剤 [α (OH)D₃] の有機合成による合成と臨床応用のための基礎研究に関する研究
4. Kaneko, C., Yamada, S., Sugimoto, A., Eguchi, Y., Ishikawa, M., Suda, T., Suzuki, M., Kakuta, S., Sasaki, S.: Synthesis and biological activity of 1 α -hydroxyvitamin D₃. *Steroids*, **23**: 75-92, 1974.
 5. Fukushima, M., Suzuki, Y., Tohira, Y., Matsumaga, I., Ochi, K., Nagano, H., Nishii, Y., Suda, T.: Metabolism of 1 α -hydroxyvitamin D₃ to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ in perfused rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **66**: 632-638, 1975.
 6. Fukushima, M., Nishii, Y., Suzuki, M., Suda, T.: Comparative studies on the 25-hydroxylations of cholecalciferol and 1 α -hydroxycholecalciferol in perfused rat liver. *Biochem. J.*, **170**: 495-502, 1978.
 7. Nishii, Y., Ono, M., Fukushima, M., Shimizu, T., Niki, R., Ohkawa, H., Takagaki, Y., Okano, K., Suda, T.: Osseous changes and abnormalities of mineral metabolism in rats with glycopeptide-induced nephritis. *Endocrinology*, **107**: 319-327, 1980.
 8. Fukushima, M., Niki, R., Ohkawa, H., Shimizu, T., Matsumaga, I., Nakano, H., Takagaki, Y., Nishii, Y., Okano, K., Suda, T.: Comparative therapeutic effects of vitamin D₃ and its derivatives on experimental renal osteodystrophy. *Endocrinology*, **107**: 328-333, 1980.
- (三) 活性型ビタミンDの細胞分化誘導作用の発見とその臨床応用のための基礎研究に関する研究
9. Abe, E., Miyaura, C., Sakagami, H., Takeda, M., Konno, K., Yamazaki, T., Yoshiki, S., Suda, T.: Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**: 4990-4994, 1981.
 10. Honma, Y., Hozumi, M., Abe, E., Konno, K., Fukushima, M., Hata, S., Nishii, Y., Deluca, H. F., Suda, T.: 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 1 α -hydroxyvitamin D₃ prolong survival time of mice inoculated with myeloid leukemia cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 201-204, 1983.
 11. Abe, E., Miyaura, C., Tanaka, H., Shiina, Y., Kurabayashi, T., Suda, S., Nishii, Y., Deluca, H. F., Suda, T.: 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ promotes fusion of mouse alveolar macrophages both by a direct mechanism and by a spleen cell-mediated indirect mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 5583-5587, 1983.
 12. Hosomi, J., Hosoi, J., Abe, E., Suda, T., Kuroki, T.: Regulation of terminal differentiation of cultured mouse epidermal cells by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology*, **113**: 1950-1957, 1983.
- (四) 活性型ビタミンD合成酵素 (1 α -水酸化酵素) のクローニングに関する研究

13. Horiechi, N., Suda, T., Takahashi, H., Shimazawa, E., Ogata, E.: In vivo evidence for the intermediary role of 3',5'-cyclic AMP in parathyroid hormone-induced stimulation of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ synthesis in rats. *Endocrinology*, **101**: 969-974, 1977.
14. Kawaguchi, Y., Kimura, Y., Yamamoto, M., Imamura, N., Endo, T., Horiechi, N., Suda, T., Sasaki, S., Ogura, Y., Ueda, Y.: Effects of parathyroid hormone and dietary phosphorus on the decreased synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in rats with graded reduction of nephron mass. *Homeostasis of Phosphate and Other Minerals*, 505-507, 1978.
15. Iida K., Shinki, T., Yamaguchi, A., Deluca, H. F., Kurokawa, K., Suda, T.: A possible role of vitamin D receptors in regulating vitamin D activation in the kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**: 6112-6116, 1995.
16. Shinki, T., Shimada, H., Wakino, S., Anazawa, H., Hayashi, M., Saruta, T., Deluca, H. F., Suda, T.: Cloning and expression of rat 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 12920-12925, 1997.
17. Brenza, H. L., Kimmel-Jehan, C., Jehan, F., Shinki, T., Wakino, S., Anazawa, H., Suda, T., Deluca, H. F.: Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase gene promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 1387-1391, 1998.
18. Takahashi, N., Akatsu, T., Udagawa, N., Sasaki, T., Yamaguchi, A., Moseley, J. M., Martin, T. J., Suda, T.: Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology*, **123**: 2600-2602, 1988.
19. Udagawa, N., Takahashi, N., Akatsu, T., Tanaka, H., Sasaki, T., Nishihara, T., Koga, T., Martin, T. J., Suda, T.: Origin of osteoclasts: Mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 7260-7264, 1990.
20. Tamura, T., Udagawa, N., Takahashi, N., Miyaaura, C., Tanaka, S., Yamada, Y., Koishihara, Y., Ohsugi, Y., Kumaki, K., Taga, T., Kishimoto, T., Suda, T.: Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin 6. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**: 11924-11928, 1993.
21. Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., Yamaguchi, K., Kinoshita, M., Mochizuki, S., Tomoyasu, A., Yano, K., Goto, M., Murakami, A., Tsuda, E., Morinaga, T., Higashio, K., Udagawa, N., Takahashi, N., Suda, T.: Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and identical to TRANCE/RANKL. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 3597-3602, 1998.
22. Suda, T., Takahashi, N., Udagawa, N., Jimi, E., Gillespie, M. T., Martin, T. J.: Modulation of osteoclast differentiation and function by osteoblasts/stromal cells. *Endocrine Rev.*, **20**: 345-357, 1999.

(5) 破骨細胞分化因子 (Osteoclast differentiation factor, ODF) のローリー