

## 白血病の研究のなかで 新たな遺伝子を発見

私は長崎大学に来て十一年目ですが、それまでは、大阪大学医学部第3内科（現免疫・呼吸器内科）にいました。長崎大学では、歯学部細胞生物学教室で骨・軟骨の研究を行っています。まず、その経緯をお話します。

大阪大学では、骨髄移植を中心にして、血液の悪性疾患（白血病、悪性リンパ腫等）の治療を行っていました。米国の六施設をまわって、骨髄移植の最新の知識を取り入れ、大阪大学で第一例目の骨髄移植を施行しました。新しく血液グループを立ち上げましたので、臨床はとも過酷でしたが、その合間に免疫関連の研究をしていました。その後、人手も増えてきたので、ハーバード大学に二年八月ほど留学し、研究三昧の生活を送りました。ハーバードでは、免疫グロブリン・T細胞レセプター遺伝子の再構成の研究をしていましたが、今後何をしようかと考えながら帰国しました。そのころ第3内科を主宰する岸本忠三教授より、自分の研究グループを作って好きな研究をしろと言われ、白血病の原因を探り骨髄移植に変わる新たな治療法を見つければ、白血病の染色体異常から見つかった遺伝子のノックアウトマウス

し、Runx2が軟骨細胞の後期分化に必須であることを証明しました。

## 一度あきらめた実験を 長崎大学で再チャレンジ

さて、次のステップは、Runx2を用いて骨粗鬆症や、関節軟骨が摩耗し関節に痛みが出る変形性関節症を治療できないかということ。変形性関節症は、関節が圧力を長年受けることにより、軟骨細胞の成

（目的の遺伝子を壊したマウス）の作製を行うことにしました。

その頃、急性骨髄性白血病で最も頻度の高い染色体異常からはRunx1とc-myc遺伝子が見つかりました。これは、DNAに結合して他の遺伝子の発現のオンオフを制御する転写因子です。このRunx1の他に、DNAに結合する部位が似通った二つのファミリー遺伝子（Runx2、Runx3）も見つかりました。Runx1は、白血病を引き起こす遺伝子の可能性がありましたので、そのノックアウトマウスを作製することにしました。ファミリー遺伝子間では、機能の重複がよく見られるので、この三つの遺伝子のノックアウトマウスを作製することにしました。Runx1のノックアウトマウスでは造血が全くできず、Runx1は造血幹細胞の分化に必須な遺伝子であることがわかりました。ただ、この研究はアメリカの研究室に先にCell誌に出されてしまい、論文として発表することはできませんでした。同時に作製していたRunx2のノックアウトマウスは、血液が免疫系の異常が出ると予想していましたが、意外にも、全く骨が形成されないマウスでした。しかし、骨ができていないことになかなか気づきませんでした。その頃、大学院生に与えたテーマで、やはり頻度の高い白血病の染色体異常に見つかったMLL遺伝子のノックアウトマウスを解析していました。このマウスでは、ホメオテイクトランスフォーメーションといって、脊椎骨の形が前方や後方に変異する異常が出る可能性があり、骨格標本を作ることになりました。Runx2ノックアウトマウスもついでに作ることにしたのですが、意外にも全く骨ができていなかったのです。

熟が引き起こされ、軟骨細胞自身が軟骨を破壊して行く状態です。ここで問題になるのは、Runx2の発現を刺激すると、確かに骨芽細胞が増えて骨形成が誘導されますが、同時に軟骨細胞の成熟が促され、関節軟骨が破壊され変形性関節症を起こすリスクがあることです。逆に、Runx2を抑制し変形性関節症を治療できても、骨が減ってしまうリスクがあります。そこで、Runx2の発現を骨芽細胞にだけ誘導する、あるいは軟骨細胞にだけ抑制すること

# 骨を作る 遺伝子を 治療に活かす

骨芽細胞、筋芽細胞、軟骨細胞、腱・靭帯細胞、脂肪細胞等は、共通の間葉系幹細胞から分化します。Runx2は間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化に必須な転写因子であることがわかりました。それまで、骨形成に関しては、その元となる分子が全く不明でしたので、Runx2の発見で、初めて骨形成の分子の機序解明の道が開かれました。この発見が非常に興味深かったため、その後Runx2を中心とした骨形成の研究に没頭しました。四肢、椎骨、肋骨等は、まず軟骨で形成されそれが骨に置換され、骨への置換はおきません。Runx2ノックアウトマウスでは、骨を形成する骨芽細胞が全くありませんが、軟骨細胞の成熟も阻害されていることに気づきました。そこで、Runx2を軟骨細胞特異的に発現させる、あるいはRunx2を軟骨細胞特異的に阻害するトランスジェニックマウス（特定の遺伝子を過剰発現させたマウス）を作製

ができなかと考えました（図）。これには、Runx2の発現がどのように調節されているか明らかにしなければなりません。

これは、なかなか容易ではありませんでした。遺伝子には、その発現を制御するDNA領域（プロモーター）があり、そこで遺伝子のオンオフが調節されています。Runx2のプロモーターに緑色蛍光蛋白質（GFP）をつないだトランスジェニックマウスを作製しましたが、全くRunx2の発現を再現できませんでした。これは、Runx2の発現を調節しているDNA領域が、プロモーター以外にあることを示しています。一度この実験はあきらめたのですが、数年後に長崎大学に移った後、また再開しました。今度は、発現調節領域を広範囲かつ徹底的に探すことにしました。そしてやっと、Runx2の骨芽細胞発現に必要なDNA領域（エンハンサー）を見つけました。今年初め、この研究を発表しましたが、阪大でこの実験を始めてから論文発表まで十数年かかりました。

現在は、このエンハンサーを用いて、Runx2を誘導し、骨形成を促進させる化合物を探しています。また、Runx2の軟骨細胞での発現を制御するDNA領域の特定にも、めどが立ちました。今後これを利用して、軟骨細胞でRunx2の発現を抑制する化合物を探し、変形性関節症の治療薬を開発していきます。

これらの研究は、研究室の全員が協力して初めて成し遂げられたこと。今後も研究室の皆さんといっしょに、骨粗鬆症、変形性関節症治療薬の開発に邁進していく所存です。

## Runx2 2つの働き

Runx2は骨を作る分子であるが、軟骨を破壊する作用も持っている。したがって、Runx2を骨粗鬆症や変形性関節症の治療に応用するためには、骨と軟骨でRunx2を別々に発現させる必要がある。すなわち、骨芽細胞でRunx2を誘導し、軟骨細胞ではRunx2を抑制しなければならない。骨格標本で骨は赤に、軟骨は青に染色される。



ついでに作ろうとした骨格標本。  
ところがそのマウスには、骨がなかった。

Text by Komori Toshihisa

### 小守壽文 教授

長崎大学歯学部総合研究科教授（副学長）、大阪大学医学部卒業。一九八九年医学博士取得。米国コロネリア大学生化学教室及び米国ハーバード大学歯学部教室博士研究員を経て、大阪大学先端科学技術共同研究センター教官、科学技術振興事業団、さかひ研究員兼任。二〇〇四年より現職。ベルツ賞、日本骨代謝学会賞、バルテスリウチ医学賞受賞。主たる研究テーマは骨芽細胞・軟骨細胞分化・骨細胞ネットワークによる骨量制御・骨形成・軟骨形成。

