

がんの骨転移とその予防の研究

《研究の概要》

癌の骨転移の研究は、乳癌、前立腺癌、及び肺癌など、高頻度に骨転移を来す癌患者の QOL の維持にとり重要であり、また基礎的にも、臓器特異的転移における細胞間相互作用等の機構を解明する上で breakthrough をもたらす可能性がある。我々は骨転移において、癌細胞・骨組織（骨基質、骨細胞系）・血管内皮系の相互作用による骨破壊の亢進および骨形成の抑制の機序の解明、さらに臨床においてこれらを反映する骨代謝マーカーの利用による担癌患者における骨転移の早期検出および骨転移患者の治療経過の評価、等の研究をおこなった。1) 癌細胞による破骨細胞形成誘導機序の解明とその抑制法の開発（竹内）：マウス骨髄細胞と癌細胞の共存培養系において、癌細胞が骨髄細胞に直接接着することによって Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) の発現が誘導され prostaglandins がこれに関与していること、同時に osteoprotegerin (OPG) 分泌が抑制されること、接着分子である VCAM-1 が RANKL とは異なる機序で癌細胞による破骨細胞形成に関与していることを明かにした。また、in vitro で破骨細胞形成を抑制する物質として知られているビタミン K2 が RANKL 発現を抑制することを明かにした。さらにマウス血管内皮細胞より破骨細胞形成を抑制する液性因子が分泌され、その物質が TGF- β 、IFN- γ 、IL-4、IL-18、endothelin とは異なることが明かとなった。2) 骨転移の臨床的評価と治療（小泉）：乳癌術後経過のデータベース解析により、乳癌骨転移の頻度は、腫瘍の大きさ、リンパ節腫大に関連することが明らかになり、臨床病期により骨シンチ等の follow-up を行うべき患者群と行わなくても良い患者群の選別が可能となった。骨代謝マーカーについては、乳癌、前立腺癌、肺癌患者の骨転移診断の補助としての使用の有用性が証明されつつあり、特に骨転移に対する治療の経過観察においては骨代謝マーカーの有用性が明確になった。また、骨転移における骨吸収マーカー間（ICTP と DPD、TRAP 5b、NTx）あるいは骨形成マーカー間（PINP、Bone Al-p と osteocalcin）の乖離が明らかになり、骨転移と骨粗鬆症とで骨吸収において異なる酵素の関与が考えられること、骨転移による骨形成においてはマトリックス形成とミネラル化の間ギャップのあることが示された。3) Bone morphogenetic protein (BMP) と乳癌骨転移との関係（高橋）：乳癌の骨転移と最も強力な骨形成因子である BMP との関連について検討し、ほぼ全ての乳癌組織において複数の BMPs の発現および BMP receptors の発現が認められ、乳癌原発巣の BMP-6 発現と骨転移頻度との間に正の相関が認められた。さらに乳癌細胞株にたいする BMP-2 の影響を検討し、estrogen receptor (ER) 陽性株においてのみ増殖抑制効果が認められた。

以上の研究により、骨転移の機序について新たな知見（癌細胞・骨髄細胞の接着による RANKL 発現と骨吸収の促進、内皮細胞の関与、BMP の関与、正常な骨吸収・骨形成と異なる酵素の関与等）が得られるとともに、骨転移の治療について新たな可能性（OPG、ビタミン K、BMP、骨代謝マーカーの有用性等）が示唆された。

竹内 靖博	東大・医・分院内科助手	癌細胞による破骨細胞形成誘導機序の解明とその抑制法の開発
小泉 満	(財) 癌研究会癌研究所 研究員	骨転移の臨床的評価と治療
高橋 俊二	(財) 癌研究会癌化学療法センター 研究員	Bone morphogenetic protein (BMP)と乳癌骨転移との関係

研究報告

I 研究目的

乳癌、前立腺癌、及び肺癌は、高頻度で骨に転移を来す。これらの癌は、転移し易いという一般的な性質の他に、特に骨に転移を来すための特性を備えているはずである。本研究計画は、次の3点の解明を目的とする。

1) 骨の転移巣にあっては、癌細胞・骨組織（骨基質、骨細胞系）・血管内皮系及び免疫系細胞の相互作用のもとに、骨破壊の亢進および骨形成の抑制が起こる。これは最終的には、破骨細胞の形成および機能の賦活、それに骨芽細胞の分化および機能の抑制によるものと思われる。そこで、この間の機構、特に癌細胞を中心とする cell-cell interaction、humoral factor 等の関与の実態を明らかにする。

2) 骨転移にあっては、骨転移に特徴的な破骨細胞機能の賦活、骨芽細胞機能の抑制が見られる。これらを反映する骨代謝マーカーを絞り出し、次いで、これら骨代謝マーカーの利用が、担癌患者における骨転移の早期検出および骨転移患者の治療経過の評価に利用できることを示す。

3) 骨転移においては、骨破壊の亢進と骨修復の低下が病態の中心となっている。これらの過程を特異的に阻害する薬物の開発が、骨転移の予防および治療につながることを示す。

意義

1) 臨床上の必要性

骨転移は、疼痛・神経麻痺さらには骨折を来し、癌患者の QOL を著しく低下させる。一方で、乳癌を例にとると、例えば肝に転移した場合の平均生存期間が数カ月であるのに対し、骨転移の場合は2年弱である。すなわち、骨転移の病態が比較的長く持続するわけである。従って、骨転移の早期発見、適切なる治療法の開発および治療効果の正確なモニター法の確立は、骨転移を来し易い癌患者の管理にとって極めて重要である。

2) 基礎医学としての必要性

癌の転移には、転移の場所に関係なく、転移という現象に共通の過程と、その転移が特定にある特定の臓器に起こるための過程とに分けて考えることができる。後者については、seed and soil concept として、その存在が古くから知られているが、実態はなお明らかでなかった。骨に特に転移をしやすい癌があり、一方、骨は硬組織として特徴的な細胞系および細胞間質を有している。また、近年、骨をめぐる多くの細胞生物学的知見が得られた。そこで、癌転移の soil としての骨の関与が具体的な研究の対象となり、この問題の breakthrough に繋がるものと期待される。またこのことから、他の臓器における seed and soil concept の理解へと発展する可能性がある。

II 研究計画および材料と方法

1. 癌細胞による破骨細胞形成誘導・骨芽細胞抑制機序

1) 癌細胞による破骨細胞形成誘導機序：Cell-cell interaction を介する癌細胞による破骨細胞形成誘導の機序を明らかにするため、破骨細胞形成を直接指示する骨髄間質細胞と癌細胞の表面に発現する細胞接着分子の関与を *in vitro* の細胞培養系で検討する。マウス長管骨由来の骨髄細胞を骨転移能をもつ種々の癌細胞と共存培養し、形成される酒石酸抵抗性多核細胞の数で破骨細胞形成能を評価する。この系にそれぞれの細胞接着分子の機能を阻害する特異的抗体を添加することにより、各接着分子の関与を検討する。Cell-cell interaction を介する癌細胞による破骨細胞形成誘導には、最近クローニングされた骨髄間質細胞に発現する Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) が重要な役割を果たす可能性がある。そこで、癌細胞の接着により骨髄間質細胞での RANKL 発現が誘導・促進される可能性を、northern blot 法や western blot 法を用いて検討するとともに、RANKL 発現を抑制する薬剤を検索する。また osteoprotegerin (OPG) は、骨転移における骨融解の主役である破骨細胞活性を抑制することが知られている。この OPG の骨転移における役割を解明することにより骨転移の治療薬としての OPG の可能性を検討する。

2) 癌細胞による破骨細胞形成における血管内皮細胞の役割：破骨細胞の形成は血管の侵入に伴って起こる。また、転移において標的臓器に到達した癌細胞が最初に接するのは血管内皮細胞である。そこで、マウス骨髄および骨皮質から樹立された血管内皮細胞株を用い、血管内皮細胞と癌細胞との cell-cell interaction が破骨細胞形成に及ぼす影響を、細胞培養系を用いて検討する。

2. 骨転移の臨床的評価と治療 (小泉)

1) 骨転移の頻度の高い乳癌、前立腺癌、肺癌患者において種々の骨吸収および骨形成の骨代謝マーカーを測定する。骨転移の有無、骨転移のタイプ(骨硬化型、骨溶解型、混合型)、骨転移の程度で分類し、骨代謝マーカーの動きを検討する。また、各々のマーカーのもつ特性と生物学的意義を勘案し、骨転移巣での骨代謝異常の実態を明らかにする。

2) 骨転移を有する患者での治療経過中に骨代謝マーカーを測定し、治療の効果と骨代謝マーカーと動きとを対比検討する。

3) 乳癌患者で骨転移の高リスク患者群で骨代謝マーカーを定期的に測定することにより骨代謝マーカーでの骨転移の早期検出の可能性を検討する。

3. Bone morphogenetic protein (BMP) と乳癌骨転移との関係 (高橋)

乳癌の造骨性転移と最も強力な骨形成因子である BMP との関連について検討するとともに、乳癌細胞に対する BMP の効果を増殖、分化、形態、遺伝子発現レベルについて詳細に検討する。

1) 乳癌手術材料における BMP の発現：乳癌組織における BMPs 及び BMP-receptor の発現を RT-PCR を用いて多数例で検討し、臨床的な骨転移および微小石灰化との相関を検討する。また、骨転移患者の手術または剖検サンプルを用い免疫組織染色により、骨転移巣における BMP、BMP-receptor の発現とその腫瘍細胞、破骨細胞との関係を明らかにする。

2) 乳癌細胞株に対する BMP の影響：乳癌細胞株に対する BMP の効果を詳細に検討する。まず BMP-2 による増殖抑制の有無を TGF- β 、Activin と比較して検討し、また BMP による分

化、形態変化等につき検討する。さらに PTHrP、TGF- β receptor 等、骨転移に影響を及ぼすことが知られている遺伝子発現レベルについて検討する。

3) *in vivo* 骨転移モデルでの BMP と骨転移形成能との関係：マウス左心室に乳癌細胞株を注入する骨転移モデルを用い、BMP 発現レベルの違いによる骨転移能の差、BMP 発現抑制による骨転移抑制の有無を検討する。

4) ヒト乳癌による risk factor としての意義：乳癌における BMPs の発現が再発率、骨転移の発生率に影響を与える risk factor となりうるかを検討する。

III 研究成果

1. 癌細胞による破骨細胞形成誘導機序の解明とその抑制法の開発（竹内）

1) 癌細胞と骨髄細胞の共存が、RANKL の発現および OPG の分泌におよぼす影響と、接着分子の関与について明らかにすることを目的に、まずマウスより骨髄細胞を採取し、マウス B16 黒色腫細胞と Balb/c-MC 乳癌細胞を骨髄細胞と 7 日間共存培養して破骨細胞の形成数を測定した。同様に癌細胞を transwell 上にまいて共存させた場合の破骨細胞形成を検討した。B16 および Balb/c と骨髄細胞との共存により破骨細胞形成が直接接着依存性に誘導された。この時、骨髄細胞または癌細胞単独ではほとんど RANKL mRNA の発現は認められないのに対し、共存培養により RANKL の発現が著しく誘導され、また培養液中の OPG のレベルは有意に低下した。以上の結果から、癌の骨転移による骨病変の発生、進展に RANKL-OPG が密接に関与する可能性があると考えられた。

続いて、この過程にかかわる局所因子を明らかにするために、プロスタグランジン合成阻害薬や NO 合成阻害薬、あるいは VCAM-1 抗体が破骨細胞形成や RANKL 発現に及ぼす効果を検討した。プロスタグランジン (PGs) 合成阻害薬処理により癌細胞による破骨細胞形成の誘導及び RANKL 発現が阻害され、NO 合成阻害薬では同様の阻害は認められなかった。また、抗 VCAM-1 抗体により破骨細胞形成は抑制されるが RANKL の発現および OPG 濃度は有意な変化を示さなかった。さらに、抗 VCAM-1 抗体下での破骨細胞形成は可溶性 RANKL にて回復しなかった。以上より、癌細胞による RANKL 発現の誘導は PGs により媒介され、NO はこの過程に関与しないこと、VCAM-1 は RANKL とは異なる機序で癌細胞による破骨細胞形成に関与している可能性が示された。

続いて、骨髄細胞における RANKL の発現を制御する薬物の探索を行った。骨髄細胞としてはマウス長管骨より採取した初代培養細胞およびマウス骨髄間質細胞株 ST2 を用い、RANKL mRNA の発現を抑制する物質を検討した。ビタミン K2 (VK) は破骨細胞形成を抑制することが今までに報告されているがその機序は不明であった。VK が骨髄間質細胞に直接作用し、その RANKL 発現を抑制することを明らかになった。VK には有害な作用がないことから、その関連薬剤が癌による骨病変に対する併用療法のひとつとなる可能性が明らかとなった。

2) 癌転移巣の周辺には血管新生が認められる。これまでの研究から血管内皮細胞が破骨細胞形成を抑制する因子を分泌する可能性が明らかにされている。そこで、マウス血管内皮細胞を用い、内皮細胞より分泌される破骨細胞形成を抑制する液性因子の同定を試みた。血管内皮細胞の培養上清に破骨細胞形成抑制作用の知られている各種生理活性物質に対する中和抗体を添加した後に、その培養上清を 1-10% の濃度でマウス骨髄細胞培養系に添加

し、破骨細胞形成に対する影響を検討した。マウス血管内皮細胞から分泌される破骨細胞形成抑制因子は TGF- β 、IFN- γ 、IL-4、IL-18、endothelin とは異なることが明らかとなった。

2. 骨転移の臨床的評価と治療 (小泉)

1) 新規骨吸収マーカーである酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 5b および血清 NTx の測定を癌患者で行い、既存のマーカーと比較し、骨転移での有用性を検討した。骨吸収マーカーの中で、ICTP は閉経で上昇せず骨転移で上昇し、他の骨吸収マーカー (DPD、TRAP 5b、NTx) は閉経および骨転移で上昇した。

2) 骨転移の治療効果判定は主に画像診断法により行われているが、判定は困難なことが多い。乳癌骨転移患者に於いて、化学療法を行った患者の治療前および治療開始後経時的に骨吸収マーカーおよび腫瘍マーカーの測定を行い、治療効果判定に有用なマーカーの同定をおこなった。乳癌骨転移の治療効果判定において、増悪例は骨吸収マーカーの上昇により明らかに分離する事が可能で、治療法の早期変更の重要な参考データとなることが示された。

3) 骨形成マーカーである PINP、Bone Al-p、osteocalcin を新鮮例、増悪例、改善例、完全寛解例の様々な状態の前立腺癌骨転移患者で測定し、増悪例では PINP、Bone Al-p は著明に上昇するも osteocalcin は上昇せず、骨形成マーカーの乖離が認められたが、著明改善例の早期には総てのマーカーが軽度上昇し、正常・悪性の造骨過程の差異が示唆された。これを利用し治療効果を示すことが可能と考えられた。また、前立腺癌での発現や、骨転移動物モデルでの造骨性骨転移との関連が報告されているエンドセリン 1 (ET-1) について、骨転移の患者の血漿中の濃度を測定した。ET-1 は検討した範囲では造骨性骨転移との関連は認められなかった。

4) 乳癌骨転移の統計的解析の研究を開始し、乳癌患者初診時の骨転移の頻度と病期、腫瘍の大きさ、リンパ節、病理組織との関連を明らかにした。このデータベースを基に乳癌骨転移高リスク群のプロスペクティブ研究を開始した。

5) 骨転移の治療法であるストロンチウム療法の排水基準の妥当性について検討し、アイソトープ施設の排水基準は現行では 1/100 が混入するとされるが、1/1000 が妥当と考えられた。

3. Bone morphogenetic protein (BMP) と乳癌骨転移との関係 (高橋)

1) 乳癌組織における BMPs 及び BMP-receptor mRNA の発現を RT-PCR を用いて多数例で検討し、臨床的な骨転移および微小石灰化との相関を検討した。ほぼ全ての乳癌組織において RT-PCR による検討で複数の BMPs の発現および BMP receptors の発現が認められた。臨床的な骨転移との相関の検討では、乳癌原発巣の BMP-6 発現と骨転移頻度との間に正の相関が認められた。石灰化との相関は認められなかった。

2) 乳癌細胞株 6 株について、BMP-2 による増殖制御の有無を TGF- β 、Activin と比較して検討し、骨転移に影響を及ぼす遺伝子の発現レベルに対する検討を開始した。BMP-receptor は全ての乳癌細胞株に発現しているが、BMP-2 は estrogen receptor (ER) 陽性株においてのみ増殖抑制効果が認められた。BMP-2 の乳癌細胞株における PTHrP 発現への影響は明らかではなかった。

3) マウス左心室に乳癌細胞株を注入する、あるいはマウス乳房に乳癌細胞株を注入する骨

転移モデルを確立し、BMP または BMP receptor 発現レベルの違いによる骨転移能の差、BMP 発現抑制による骨転移抑制の有無の検討を開始した。

IV 考察

1. 癌細胞による破骨細胞形成誘導機序の解明とその抑制法の開発 (竹内)

1) 癌細胞により破骨細胞形成が誘導されることが骨転移病巣形成にとって必須の過程であるが、破骨細胞の形成には、骨髄間質細胞における RANKL の発現が重要であることが示唆されている。本研究では、PTHrP などの骨吸収促進に作用する生理活性物質を癌細胞が分泌する場合のみならず、癌細胞が骨髄細胞に直接接着することによっても RANKL の発現が誘導されることを明かとした。従って、その発現誘導の機序は多様であっても、RANKL が骨転移病巣形成の鍵となる分子であり、その作用を阻害することにより、骨転移の成立や骨破壊を阻害できる可能性が明かとなった。本年になり RANKL の decoy 受容体である OPG が実験的骨転移を抑制することが報告されており、我々の仮説を裏付けるものである。

骨髄間質細胞における RANKL の発現を抑制する因子にはエストロゲンなどが知られている。本研究では、*in vitro* で破骨細胞形成を抑制する物質として知られているビタミン K2 が RANKL 発現を抑制することを明かにした。ビタミン K2 の作用における構造・活性相関の検討を進めることにより、経口投与可能で毒性の少ない破骨細胞形成抑制薬の開発が可能となることが期待される。

2) 癌転移巣の周辺には血管新生が認められる。本研究では、マウスの血管内皮細胞から破骨細胞形成抑制因子が分泌されていることを見出し、血管内皮細胞が骨転移治療の新たなターゲットとなる可能性を明かにした。

2. 骨転移の臨床的評価と治療 (小泉)

1) 骨転移の臨床例において、乳癌骨転移の頻度を明らかにした。乳癌骨転移の頻度は、腫瘍の大きさ、リンパ節腫大に関連することが明らかになった。臨床病期により画像診断法を行うべき患者群と行わなくても良い患者群の選別が可能となった。

2) 乳癌、前立腺癌、肺癌患者の骨転移診断の補助として骨代謝マーカーの使用の有用性が証明されつつあると考えられる。特に、骨転移に対する治療の経過観察においては骨代謝マーカーの有用性が証明されてきたと考える。スクリーニング検査としては現在データを集積しつつある。

3) 癌の骨転移における骨代謝異常は、骨粗鬆症などの過程と異なる機序で行われることが判明してきた。すなわち、骨吸収においては、骨転移の骨吸収では異なる酵素の関与が考えられる。骨形成においても、骨転移による骨造成はマトリックス形成とミネラル化の間ギャップのあることが示された。今後の骨転移巣における骨代謝異常の解明に寄与すると考えられる。

3. Bone morphogenetic protein (BMP) と乳癌骨転移との関係 (高橋)

1) 前立腺癌、乳癌などにみとめられる造骨性転移の機序については未だ明らかになっていない。最近乳癌の造骨性転移のモデルが開発されつつあり、endothelin や PDGF-B などが原因物質として提唱されているが、実際の臨床での骨転移との関係は明かでない。我々の研究で初めて乳癌における BMP の発現と骨転移との相関を認め、状況証拠ではあるが実際の骨転移との関係を示唆するデータを明らかにした。さらに骨転移モデルにおける検討を

施行中である。

2) 一方乳癌細胞に対する直接作用では、BMP は ER 陽性乳癌細胞の増殖を抑制することが明らかになった。同様の増殖抑制は前立腺癌、多発性骨髄腫細胞でも認められており、骨特異的な治療の一つとして BMP の直接投与、あるいは骨における BMP 産生を刺激する薬物による治療の開発が期待される。

V 研究成果の発表

Yumiko Nagai, Hideyuki Yamato, Keiko Akaogi, Kunitaka Hirose, Yoshito Ueyama, Kyoji Ikeda, Toshio Matsumoto, Toshiro Fujita, and Etsuro Ogata. Role of Interleukin-6 in Uncoupling of Bone In Vivo in a human Squamous Carcinoma Coproducing Parathyroid Hormone-Related Peptide and Interleukin-6. J. Bone Min. Res. 13(4):664-672, 1998

Etsuro Ogata. Introduction:Cancer-Induced Bone Diseases. Eur. J. Cancer 34(2):209, 1998

Mitsuru Koizumi, Etsuro Ogata. Bone metabolic markers in metastatic bone tumors. Cancer Journal 11(3):137-140, 1998

Toshihide Nishishita, Tomoki Okazaki, Toshio Ishikawa, Tetsuya Igarashi, Keishi Hata, Etsuro Ogata, and Toshiro Fujita. A Negative Vitamin D Response DNA Element in the Human Parathyroid Hormone-related Peptide Gene Binds to Vitamin D Receptor Along with κ Antigen to Mediate Negative Gene Regulation by Vitamin D. J. Biol. Chem. 273(18):10901-10907, 1998

Koichi Endo, Kyoko Katsumata, Haruo Iguchi, Noboru Kubodera, Tamio Teramoto, Kyoji Ikeda, Toshiro Fujita, and Etsuro Ogata. Effect of Combination Treatment with a Vitamin D Analog (OCT) and a Bisphosphonate (AHPrBP) in a Nude Mouse Model of Cancer-Associated Hypercalcemia. J. Bone Min. Res. 13(9):1378-1383, 1998

Etsuro Ogata. Estrogen-Dependent Tumors (Overview). Oncology 55(suppl 1):3-4, 1998

Masafumi Menjo, Yoko Kaneko, Etsuro Ogata, Kyoji Ikeda and Makoto Nakanishi. Critical role for p27^{kip1} in cell cycle arrest after androgen depletion in mouse mammary carcinoma cells (SC-3). Oncogene 17:2619-2627, 1998

Kumie Kage, Naoya Fujita, Tomoko Oh-hara, Etsuro Ogata, Toshiro Fujita, and Takashi Tsuruo. Basic Fibroblast Growth Factor Induces Cyclooxygenase-2 Expression in Endothelial Cells Derived from Bone. Biochemical and Biophysical Research Communication 254:259-263, 1999

Kyoji Ikeda, Etsuro Ogata. The effect of vitamin D on osteoblasts and osteoclasts. Current Opinion in Orthopedics 10:339-343, 1999

Nobuo Koike, Koichi Endo, Noboru Kubodera, Kenji Kumaki, Kyoji Ikeda, Etsuro Ogata and Walter E. Stumpf. In Vivo Nuclear Uptake of a Vitamin D Analog (OCT) in Different Tumor Cell Populations of FA-6 Cancer Xenograft in Nude Mice by Receptor Autoradiography. Anticancer Research 19:4955-4958, 1999

K. Endo, K. Katsumata, T. Masaki, N. Kubodera, T. Nakamura, K. Ikeda, E. Ogata. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 as well as its Analog (OCT) Lowers Blood Calcium through Inhibition of Bone Resorption in Hypercalcemic Rats with Continuous PTHrP Infusion. *Journal of Bone and Mineral Research* 15(1):175-181, 2000

Shiraishi A, Takeda S, Masaki T, Higuchi Y, Uchiyama Y, Kubodera N, Sata K, Ikeda K, Nakamura T, Matsumoto T, Ogata E. Alfacalcidol Inhibits Bone Resorption and Stimulates Formation in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis: Distinct Actions from Estrogen. *Journal of Bone and Mineral Research* 15(4):770-779, 2000

Philippe Orcel, Hirohisa Tajima, Yoshitake Murayama, Toshiro Fujita, Stephen M. Krane, Etsuro Ogata, Steven R. Goldring, and Ikuo Nishimoto. Multiple domains interacting with Gs in the porcine calcitonin receptor. *Molecular Endocrinology* 14(1):170-182, 2000

A. Shiraishi, S. Higashi, H. Ohkawa, N. Kubodera, T. Hirasawa, I. Ezawa, K. Ikeda, E. Ogata The Advantage of Alfacalcidol Over Vitamin D in the Treatment of Osteoporosis. *Calcified Tissue International* 65:311-316, 2000

Etsuro Ogata Parathyroid Hormone-Related Protein as a Potential Target of Therapy for Cancer-Associated Morbidity. *Cancer Supplement* 88(12):2909-2911, 2000

Ayako Yamamoto, Yoshihiro Hashimoto, Kenjiro Kohri, Etsuro Ogata, Shige-aki Kato, Kyoji Ikeda, and Makoto Nakanishi Cyclin E As a Coactivator of the Androgen Receptor. *The Journal of Cell Biology* 15(4):873-879, 2000

Kyoji Ikeda, Etsuro Ogata Modulation of bone remodeling by active vitamin D: its role in the treatment of osteoporosis. *Mechanisms of Ageing and Development* 116:103-111, 2000

Tetsuya Igarashi, Etsuro Ogata, Kazunobu Maruyama, Tsuyoshi Fukuda, and Junichi Azuma. Effect of Calcimimetic Agent, KRN568, on Gastrin Secretion in Healthy Subjects. *Endocrine Journal* 47(5):517-523, 2000

Michiko Yamamoto, Etsuro Ogata. Comparison of Hypocalcemic Hypercalciuria between Patients with Idiopathic Hypoparathyroidism and Those with Gain-of-Function Mutations in the Calcium-sensing Receptor: Is It Possible to Differentiate the Two Disorders? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85(12):4583-4591, 2000

Chikatsu, N., Takeuchi. Y., Tamura, Y., Fukumoto, S., Yano, K., Tsuda, E., Ogata, E., and Fujita T. Interactions between cancer and bone marrow cells induce osteoclast differentiation factor expression and osteoclast-like cell formation *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 267(2):632-637, 2000.

Koizumi M, Matsumoto S, Takahashi S, T Yamashita, Ogata E: Bone metabolic markers are useful in the diagnosis of bone scan flare phenomenon in bone metastases from breast cancers. *Clin. Nucl. Med.* 24:15-20, 1999

Koizumi M, Takahashi S, Ogata E. Bone metabolic marker in bone metastasis of breast cancer. *Int. J Clin Oncol* 4:331-337, 1999

Koizumi M, Kobayashi M, Furukawa M, Yamashita T, Ogata E. The Bisphosphonate Incadronate for Bone Metastases of Breast Cancer. *Int. J Clin Oncol* 5:241-246, 2000

Takahashi, S., Yoshida, N., Koizumi, M., Horikoshi, N., and Ogata, E. Biochemical markers of bone metabolism predicts prognosis in patients with bone metastases of breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 64:97, 2000

Koizumi M, Suzuki T, Takahashi S, Ogata E. A transient splenic accumulation of Tc-99m HMDP caused by megaloblastic anemia. *Clin. Nucl. Med.* 25:1024-1027, 2000

Koizumi M, Yonese J, Fukui I, Ogata E. Serum PINP level is a sensitive marker of prostate cancer metastasis to bone. *BJU International* 87:348-351, 2001

Koizumi M, Yoshimoto M, Kasumi F, Ogata E. What breast cancer patients benefit from staging bone scintigraphy? *Jpn J Clin Oncol* 31: in press 2001

Koizumi M, Takahashi S, Ogata E. Bone metabolic markers and metastatic bone tumors. *Res. Adv. in Cancer* 1:33-46, 2001

Shunji Takahashi, Moto-o Hakuta, Keisuke Aiba, Yoshinori Ito, Noboru Horikoshi, Masakazu Miura, and Etsuro Ogata. Elevation of Circulating Plasma Cytokines in Cancer Patients with High Plasma Parathyroid Hormone-like Peptide (PTHrP) Levels. Submitted.

Etsuro Onuma, Koh Sato, Toshiaki Tsunenari, Kimie Ishii, Hidemi Saito, Shunji Takahashi, and Etsuro Ogata Resolution of hypercalcemia and cachexia using humanized anti-parathyroid hormone-related protein antibody in a malignancy-associated hypercalcemia animal model. Submitted.

Takahashi, S., Nagamine, T., Ito, Y., F. Kasumi, N. Horikoshi and E. Ogata. Bone morphogenetic proteins (BMPs) expression and their role as autocrine/paracrine inhibitory factor in breast cancer cells. Submitted.

小泉 満、尾形 悦郎：骨形成マーカーによる治療効果判定の実用性 乳癌の臨床 14:187-192、1999

小泉 満、尾形悦郎：癌の骨転移の診断とビスフォスフォネートの効果判定 CLINICAL CALCIUM 44:1408-1413、1999

高橋俊二、吉田敦行、堀越昇、白田基夫、三浦雅一、尾形悦郎 高副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) 血症患者における血中サイトカインレベルの上昇. 臨床内分泌代謝 Update:Proceeding. 1:40-43, 2000

小泉 満、野村 悦司、山田 康彦、滝口 智洋、高橋 かおる、多田 隆士、斉藤 光江、内田 恵博、蒔田 益次郎、吉本 賢隆、霞 富士雄、高橋 民雄、関根 七巳江、尾形 悦郎：乳癌センチネルリンパ節の核医学的検出法における医療従事者の被ばくの検討 核医学 38:47-52、2001

Takeuchi, Y., Suzawa, M., Fukumoto, S., and Fujita, T. Vitamin K2 inhibits adipogenesis, osteoclastogenesis, and ODF/RANK ligand expression in murine bone marrow cell cultures. *Bone* 27(6):769-776, 2000.

Watanabe, S, Fukumoto, S, Takeuchi, Y, Fujita, H, Nakano, T, Fujita, T. Effects

of 1-year treatment with fluvastatin or pravastatin on bone. *Am. J. Med.* 110:584-587, 2001.

Shimada, T, Mizutani, S, Muto, T, Yoneya, T, Hino, R, Takeda, S, Takeuchi, Y, Fujita, T, Fukumoto, S, Yamashita, T. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98:6500-6505, 2001.

Tamura, Y, Takeuchi, Y, Suzawa, M, Fukumoto, S, Kato, M, Miyazono, K, Fujita, T. Focal adhesion kinase activity is required for BMP-Smad1 signaling and osteoblastic differentiation in murine MC3T3-E1 cells. *J. Bone Miner. Res.*, in press.

Suzawa, M, Tamura, Y, Fukumoto, S, Fujita, T, Kato, S, Takeuchi, Y. Stimulation of Smad1 transcriptional activity by Ras-ERK pathway. Submitted for publication.
Chikatsu, N, Takeuchi, Y, Fukumoto, S, Yano, K, Fujita, N, Tsuruo, T, Fujita, T. Endothelial cells inhibit osteoclast-like cell formation in vitro. Submitted for publication.

Takeuchi, Y, Fukumoto, S, Nakayama, K, Tamura, Y, Fujita, T. Parathyroid hormone-related protein induces coupled increases in bone formation and resorption markers for seven years in a patient with malignant islet cell tumors. Submitted for publication.

Watanabe, S, Takeuchi, Y, Fukumoto, S, Fujita, H, Nakano, T, Fujita, T. Decrease in serum leptin by troglitazone is associated with preventing bone loss in type 2 diabetic patients. Submitted for publication.

竹内靖博 高齢者における骨代謝の特徴 *クリニカ* 27(2):104-108, 2000.

竹内靖博 副甲状腺ホルモンとカルシトニン *Annual Review 内分泌・代謝* 2000pp. 233-238, 2000.

竹内靖博 (編集) 骨粗鬆症マネージメントのすべて *医学の世界社*、東京、2000.

渡邊秀美代、竹内靖博 続発性骨粗鬆症 *今月の治療* 8(8):873-878, 2000.

竹内靖博 骨芽細胞の成熟と骨基質の石灰化. *新・分子骨代謝学と骨粗鬆症* (松本俊夫編) *メデイカルレビュー社*、東京 pp. 133-144, 2001.

竹内靖博 尿路結石 update/内科的治療と患者指導. *ホルモンと臨床*、49(1):83-88, 2001.

竹内靖博 副甲状腺ホルモンとカルシトニン. *Annual Review 内分泌・代謝* 2001, 214-220, 2001.

竹内靖博 癌の骨転移と接着分子 *Clinical Calcium*, 8(6):814-816, 1998

竹内靖博 癌の骨転移の治療法の進歩 *腎と骨代謝* 12(1):61-69, 1999

竹内靖博 癌の骨転移における骨吸収促進機序 *CLINICAL CALCIUM* 9(11):1374-1379, 1999.

竹内靖博 悪性腫瘍に伴う骨病変の治療 *ホルモンと臨床* 48(7):655-661, 2000.

小泉 満 : 前立腺癌骨転移に対するビスフォスフォネート療法 *医学のあゆみ* 189:111-115, 1999

小泉 満 : 骨転移の診断 第3回 NMTCC 記録集 18-20, 1999

- 小泉 満：骨転移と骨シンチグラフィ Radioisotopes 48:732-735、1999
- 遠藤 啓吾、小泉 満、木下 富士美、中沢 圭治：放射線管理状況の核医学診療施設へのアンケート調査。特に排水設備への放射性同位元素混入率について 核医学 36:1023-31、1999
- 小泉 満：癌の骨転移の診断 ホルモンと臨床 48:649-654、2000
- 小須田 茂、吉村 一良、相沢 卓、小泉 潔、赤倉 功一郎、久山 順平、市原 清志、米瀬 淳二、小泉 満、中島 淳、藤井 博史、堀池 重治：前立腺癌における骨シンチグラフィと医療経済学：中間報告 核医学 37:259-261、2000
- 山田 恵子、林 敏彦、有賀 明子、沢野 誠志、小泉 満、山下 孝 頸部リンパ節 臨床画像 16:154-161、2000
- 成田 雄一郎、幡野 和男、木下 富士美、戸川 貴史、油井 信春、遠藤 啓吾、小泉 満：核医学治療用放射性医薬品 ^{89}Sr の排水基準に関する検討 核医学 37:227-236、2000
- 福永 仁夫、隅谷 寿、福本 光孝、岡村 光孝、竹田 芳弘、日野 恵、小泉 満、青木 純、大塚 信昭：「骨シンチグラフィ検査のガイドラインの作成」成果報告 核医学 37:257-258、2000
- 小泉 満：乳癌センチネルリンパ節の核医学的検出法を行った1例 第5回レイクサイドカンファランス記録集 8:28-29 2001
- 白山裕士、小泉 満、山下 孝：ガリウムシンチグラフィが有用であった膿胸関連リンパ腫の2例 核医学 38:223-228、2001
- 小泉 満：核医学検査、診断の落とし穴 骨イメージング 診断のポイント インナービジョン 16:81-84、2001
- 小泉 満：前立腺癌骨転移に対するビスホスホネート療法 痛みと臨床 1:109-114、2001
- 小泉 満：骨転移の診断 臨床解剖研究会記録 1:64-65、2001.
- 小泉 満：骨転移を探る - 骨シンチグラフィ. 遠藤啓吾編 MEDICULTURE 社 2000 (書籍)
- 高橋俊二 癌の骨転移へのビスホスホネートの効果 Clinical Calcium, 8(12):1631-1635, 1998.
- 高橋俊二 癌の骨転移 ホルモンと臨床 48:619, 2000
- 高橋俊二 癌に伴う骨疾患 カルシウムと骨 西井易穂 他編、朝倉書店、2001