

学位論文の内容の要約

氏名	松本 茂
学位の種類	博士 (生命科学)
学府又は研究科・専攻	大学院生物システム応用科学府 共同先進健康科学専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	ポリメトキシフラボノイド類による骨代謝性疾患モデルへの効果検証

【論文の内容の要約】

ポリメトキシフラボノイドには、これまでに、抗腫瘍効果、脂質代謝改善効果、高血糖改善効果、抗炎症効果、記憶障害改善効果等の薬理作用が報告されている。また、骨代謝系に対する作用については、骨芽細胞機能、破骨細胞形成に対する抑制効果、並びに、閉経後骨粗鬆症モデル、歯周病モデルの有効性が報告されている。これまで当研究室では、柑橘類特有のフラボノイドであるポリメトキシフラボノイドの一種、ノビレチンが閉経後骨粗鬆症モデルマウスの骨量を回復し、エストロゲン欠乏性の骨量減少に対して有効であることを明らかにしてきた。しかし、ポリメトキシフラボノイドの炎症性骨吸収に対する作用は未だ不明な点が多い。そこで本研究では、ポリメトキシフラボノイドの骨代謝疾患に対する予防成分としての可能性について評価することを目的に、疾患モデルにおける有効性評価、並びに、作用機序について検討を行った。

最初の検討では、ポリメトキシフラボノイド複合標品（以下、PMF）を用いて、IL-1 刺激による骨芽細胞/骨髄細胞共培養系での破骨細胞形成抑制作用、頭頂骨培養系での骨吸収抑制作用、マウス卵巣摘出骨粗鬆症モデル（OVX モデル）での有効性評価を行った。また、歯周病治療を想定し、刺激剤に LPS を用いた破骨細胞形成抑制作用、頭頂骨及び歯槽骨培養系における骨吸収抑制作用の評価も行った。

PMF は、IL-1 刺激による骨芽細胞/骨髄細胞共培養系での破骨細胞形成、頭頂骨培養系での骨吸収について有意な抑制効果を示した。なお、破骨細胞形成抑制作用に関しては、天然由来のノビレチン、タンゲレチンと PMF とを同一濃度（10 μ g/mL）で比較したところ、PMF が最も強力な作用を示した。また、PMF は、マウス OVX モデルにおいても骨密度の低下を有意に抑制した。更に、LPS 刺激による骨芽細胞/骨髄細胞共培養系での破骨細胞形成、並びに、頭頂骨あるいは歯槽骨培養系における骨吸収についても有意な抑制効果を示した。

複数のポリメトキシフラボノイドを含有する PMF は、ポリメトキシフラボノイドの単一成分であるノビレチンやタンゲレチンよりも破骨細胞形成抑制効果が強力であったが、PMF はその純度が 90% に満たないことから作用機序解析には不向きであること、また、大量調製が困難であるために産業応用も困難である可能性が考えられた。そのため次の検討では、ポリメトキシフラボノイドの骨吸収抑制作用のメカニズムを明確にすることを目的に、合成品であるノビレチン及びヘプタメトキシフラボノイド（HMF）を用いて、細胞内活性酸素種（ROS）産生やシグナル伝達への影響について解析を行った。

合成品のノビレチン及び HMF は、IL-1 刺激による骨芽細胞/骨髄細胞共培養系での破骨細胞形成、並びに、細胞内活性酸素種 ROS 産生に対して有意な抑制効果を示した。また、破骨細胞前駆細胞と位置付けられる骨髄細胞あるいは RAW264.7 細胞の培養系においても、ノビレチン及び HMF は、sRANKL 刺激による破骨細胞形成を抑制した。更に、RAW264.7 細胞培養系でも、ノビレチン及び HMF は、ROS 産生、NFATc1 発現に対して有意な抑制効果を示し、更に、カタラーゼの mRNA 発現を増強させることが確認された。

以上の結果から、ポリメトキシフラボノイドは、各種骨代謝疾患モデルに対して抑制効果を示すことが確認できたことから、骨代謝疾患に対する予防成分として有用である可能性が考えられた。また、ポリメトキシフラボノイドの合成品であるノビレチン及び HMF を用いた検討から、ポリメトキシフラボノイドの骨吸収抑制効果は、自身の抗酸化作用、並びに、カタラーゼの発現増強による細胞内 ROS 産生抑制を介した NFATc1 の発現抑制に起因している可能性が示唆された。