

(様式11)

論文審査の要旨 (課程博士)

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 宮浦 千里 ㊞
副査 松田 浩珍 ㊞
副査 田中 あかね ㊞
副査 大島 登志男 ㊞
副査 稲田 全規 ㊞

学位申請者	平成 <u>23</u> 年度入学 学籍番号 <u>11702105</u> 氏名 <u>竹田 博史</u>
申請学位	博士 (生命科学)
論文題目	骨系統疾患に対するキサントフィルの作用の研究 (The Effects of Xanthophyll on Bone Diseases)

論文審査要旨 (2,000 字程度)

【第一章 緒言】

キサントフィルは植物等に含まれるカロテノイド由来の色素であり、強い抗酸化作用を持つことが明らかとなっている。当研究室では、これまでに、植物や食品等に含まれる成分の中から、骨粗鬆症や歯周病を含む骨系統疾患の治療に応用可能な物質を探索し、柑橘類に含まれるフラボノイド色素やカロテノイド色素が、閉経後骨粗鬆症や歯周病のモデルマウスにおいて骨量減少を予防することを明らかにしてきた。特に、キサントフィルの一種であるβ-クリプトキサニンが、マウス歯肉繊維芽細胞のPGE₂産生を抑制することで、リポ多糖 (LPS) による炎症性骨破壊の改善に寄与することを明らかにした。また、キサントフィルの一種であるルテインが、破骨細胞分化誘導因子であるRANKL (receptor activator of NF-κB ligand) 発現を抑制することで骨吸収を抑制し、さらに骨形成因子BMP2の発現亢進および骨形成阻害因子スクレロスタチンの発現抑制によって骨形成を促す事が明らかとなり、骨粗鬆症や歯周病などの治療に応用できる可能性を見出した。そこで本研究では、骨吸収抑制作用と骨形成促進作用を併せ持ったキサントフィルであるルテインに注目し、その骨代謝経路に及ぼす影響を*in vitro* および*in vivo* で検討した。また、*in vivo* モデルとして、骨粗鬆症及び歯周病のモデルマウスにおけるキサントフィルの効果を基礎的に検討し、キサントフィルが骨系統疾患の予防あるいは治療に応用可能か検証した。

【第二章 *in vitro* の骨代謝応答に及ぼすキサントフィルの作用】

閉経後骨粗鬆症とは、閉経に伴う女性ホルモンの欠乏によって全身の骨量が減少する疾患である。新生マウスの頭頂骨から単離培養した骨芽細胞に骨誘導因子であるアスコルビン酸 (50 μg/mL) 及びβ-グリセロリン酸 (10 mmol/L) を添加して14日間培養すると、骨の石灰化が認められた。本系に、ルテインを3~30 μmol/L で添加すると濃度依存的に骨芽細胞分化が促進し、骨石灰化が増大した。また、骨髄細胞と骨芽細胞の共培養系において、ルテインは、3~30 μmol/L で破骨細胞形成を濃度依存的に抑制した。

歯周病の原因因子であるグラム陰性細菌由来の内毒素 (LPS) は、歯周炎および歯槽骨吸収を惹起することで、歯牙喪失リスク増大およびQOL低下を招く。当研究室の先行研究で、LPSによる炎症性骨破壊には骨芽細胞が産生するPGE₂の関与が明らかとなっている。マウス初代培養骨芽細胞にLPSを添加すると、シクロオキシゲナーゼ (COX) -2 及び膜結合型PGE合成酵素 (mPGES-1) のmRNA発現が亢進し、PGE₂産生が増大した。また、破骨細胞分化誘導因子であるRANKL発現も亢進した。ルテインは、これら破骨細胞

分化に関わる因子をいずれも抑制した。マウスの頭頂骨及び歯槽骨の器官培養系において、ルテインは、3～30 μ M 処理により LPS による骨吸収を濃度依存的に抑制した。

【第三章 骨系統疾患モデルを含む *in vivo* での骨代謝に及ぼすキサントフィルの作用】

成長期のマウスに、混餌によりルテインを約 60 mg/day で経口摂取させたところ、ルテインは、大腿骨の近位、中央、遠位のいずれの部位においても骨密度が増加させ、対照群と比較して大腿骨全体での骨密度を有意に増加させた。また、ルテインは、海綿骨及び皮質骨の骨密度も有意に増加させた。

卵巣摘出術 (OVX) を施した骨粗鬆症モデルマウスにルテインを約 60 mg/day で 4 週間経口摂取させたところ、対照群で低下した大腿骨骨密度を有意に回復させた。

当研究室にて確立した歯周病モデルマウスにおいて、ルテインは、7 日間の経口摂取により LPS による歯槽骨破壊を有意に改善させた。

【第四章 結論】

カロテノイドの一種であるキサントフィルは、強い抗酸化作用を持つことから生活習慣病の予防因子として注目されている。当研究室の先行研究においてルテインは、フラボノイド類や他のキサントフィルである β カロテンや β クリプトキサンチンと比較して、強力な骨形成促進作用を持つことが明らかとなり、骨吸収抑制作用および骨形成促進作用の両作用を併せ持つ天然因子であることが示唆された。本論文では、*in vitro* 及び *in vivo* 骨代謝実験系におけるルテインの作用を検討した。健常マウスに対して、ルテインは、大腿骨の骨量を有意に増加させた。これにより、ルテインは健常な骨の最大骨量を増加させることで、骨系統疾患の予防に有用である可能性が示唆された。骨粗鬆症及び歯周病に対して、ルテインは、*in vitro* で破骨細胞分化や骨吸収を抑制した。また、OVX した骨粗鬆症モデルや歯周病モデルにおいて、ルテインは、大腿骨の骨密度を有意に増加させた。

以上の結果から、天然の食品に含まれるルテインは、骨形成促進作用と骨吸収抑制作用を併せ持つことで、骨密度を改善する可能性が示唆された。今後、ルテインが、これら骨系統疾患の予防や治療に応用できることが期待された。