

カワラケツメイ由来フラバノンの卵巣切除マウスの骨量減少に対する効果と作用機序の解明

○高橋 達雄^{1,2)}, 鈴木 宏一^{1,2)}, 川田 幸雄¹⁾, 大本 まさのり¹⁾, 佐藤 友紀¹⁾,
亀井 敬^{1,2)}, 高橋 寿明^{1,2)}, 松尾 由理¹⁾, 野村 政明¹⁾, 三浦 雅一^{1,2)}

1) 北陸大学薬学部, 2) 北陸大学健康長寿総合研究グループ

【目的】

我々は、石川県内に自生する「カワラケツメイ (河原決明 学名: *Chamaecrista nomame*)」からフラバノン butin-7-O-β-D-glucopyranoside の単離に成功した。マウスの骨髄細胞初代培養系を用いて骨芽細胞の分化に与える butin-7-O-β-D-glucopyranoside およびそのアグリコンである butin の作用を検証したところ、骨芽細胞の分化を促進することが明らかとなった。本研究の目的は、butin の卵巣切除 (OVX) マウスの骨量減少に対する作用ならびに骨芽細胞の分化促進に関わる作用機序を解明することである。

【方法】

Butin の骨粗鬆症に対する治療効果を検証するため、OVX マウスに butin を 1、3、10、30 mg/kg の投与量で連日経口投与した。4週間後に椎体の薄切切片を Von Kossa 染色して骨形態計測を行った。また、ALP 染色と TRAP 染色により石灰化部表面における骨芽細胞数と破骨細胞数をそれぞれ評価した。骨芽細胞の分化に対する butin の作用を検証するため、無菌下でマウス的大腿骨と脛骨から骨芽前駆細胞である骨髄間質細胞を採取して実験を行った。骨髄間質細胞を 0.2 mM アスコルビン酸と 2.5 mM β-グリセロリン酸存在下で培養し、骨芽細胞の分化に関わる遺伝子およびタンパク質の発現をそれぞれ定量的 PCR 法およびウェスタンブロッティング法によって検証した。

【結果】

OVX マウスに 3 mg/kg 以上の butin を投与することによって海綿骨量の減少が有意に抑制され、さらに骨表面における骨芽細胞数と破骨細胞数の増加が認められた。Butin は骨形成と骨吸収をいずれも促進し、骨のリモデリングを促すことによって骨量を増加させたと考えられた。骨髄間質細胞を用いた実験により、butin は骨芽細胞の分化マーカーである Tnsalp と Osteocalcin の遺伝子発現を濃度依存的に増大させ、さらに骨芽細胞による石灰化も促進したことから、butin は骨髄間質細胞に直接作用して骨芽細胞への分化を促進することが示された。Wnt および BMP は代表的な骨芽細胞の分化促進因子として知られており、そのシグナルは細胞内 β-catenin とリン酸化 Smad1/5/9 の増加によって伝達される。ウェスタンブロッティング法による検討の結果、細胞内 β-catenin は butin 処置 24 時間後において約 2 倍の増加を認めたが、リン酸化 Smad1/5/9 は変化を認めなかった。

【結論】

Butin は、β-カテニンを介して骨芽前駆細胞から骨芽細胞への分化を促進し、OVX マウスの骨量減少を抑制することが明らかとなった。本研究の結果は、butin が骨吸収抑制を伴わない経口投与可能な骨形成促進薬として骨粗鬆症の治療もしくは予防に有用であることを示唆するだけでなく、β-カテニンが骨粗鬆症治療の新たな創薬ターゲットとなる可能性を示すものである。