



Title	エダラボンは破骨細胞の分化誘導を抑制する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大西, 香織
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13859号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78200
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kaori_Onishi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 大 西 香 織

審 査 担 当 者	主査	教授	飯村	忠浩
	副査	教授	網塚	憲生
	副査	教授	田村	正人
	副査	准教授	吉村	善隆

学 位 論 文 題 名

エダラボンは破骨細胞の分化誘導を抑制する

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

超高齢社会において、骨粗鬆症などの骨疾患の患者数は増加しており、骨折による寝たきりなどといったQuality of life (QOL) の低下が問題となっている。骨は破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成を繰り返し、骨のリモデリングを営むことにより形態や機能を維持している。しかし、骨のリモデリングのバランスが様々な因子の原因で崩れることにより、破骨細胞による骨吸収が骨芽細胞による骨形成を上回り、骨粗鬆症などの骨量が減少する疾患へとつながる。そのため、破骨細胞は骨疾患の治療における標的細胞として注目されており、破骨細胞抑制の機能を有する安全性の高い治療薬の開発が期待されている。一方、エダラボンは、抗酸化剤であり強力なラジカル捕捉剤すなわちフリーラジカルスカベンジャーである。そのため、急性期の脳梗塞や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に対して臨床応用されている。抗酸化剤は、一般に、破骨細胞の分化・機能に対する抑制効果があり、骨粗鬆症治療薬としての応用が注目されている。しかしながら、ラジカル捕捉剤であるエダラボンの骨代謝調節への薬理効果は報告がない。そこで、本実験ではRAW264.7細胞 (RAW細胞) を用いたRANKL誘導性の破骨細胞分化誘導系におけるエダラボンの影響について検証した。

50 ng/ml RANKL を添加した RAW 細胞は破骨細胞へ分化誘導され、RANKL 添加日を 1 日目とした場合、総破骨細胞数、核数別におけるいずれの核数の破骨細胞数とともに 4 日目から顕著に増加、5 日目を最大とし、その後減少した。破骨細胞は分化・融合が完了した後はアポトーシスにより消滅することが報告されているため、本実験では破骨細胞の分化・融合が最大となった 5 日目を上限とした。

次に、RANKL 無添加の RAW 細胞に各濃度のエダラボン（最終濃度：10、25、50、75、100 μ M）を添加し、生存細胞率の測定を行った。エダラボンの濃度が 75 μ M 以下ではエダラボン無添加対照群（Control 群）と比較し RAW 細胞の生存細胞率に有意差を示さなかったため、濃度を 50 μ M、75 μ M に設定し実験を進めた。

エダラボン添加時期を、1 日目と 3 日目の両日 (A 群)、1 日目のみ (B 群)、3 日目のみ (C 群)、の 3 群に分け、破骨細胞の分化への影響を検証した。エダラボン 50 μ M 及び 75 μ M 添加の比較実験では、50 μ M エダラボンを添加した方が、総破骨細胞数、少数核 (2~7 核) の破骨細胞数、8 核以上の巨大破骨細胞数とともに顕著に抑制した。この実験結果から、以下の実験ではエダラボンの濃度を 50 μ M に設定した。

50 μ M エダラボンの添加により、A、B 群では少数核の破骨細胞数と巨大破骨細胞数とともに有意な減少を認め、C 群では巨大破骨細胞数においてのみ有意差を認めた。したがって、RANKL 添加後、48 時間以内にエダラボンを添加した場合、破骨細胞分化誘導過程の初期から後期にかけて分化誘導の抑制作用が発現すること、一方、48 時間以降であった場合には、既に分化誘導されつつある破骨細胞の巨大化のみの抑制が認められることが明らかとなった。

Real time RT-PCR 法により破骨細胞関連遺伝子の mRNA 発現量を検証した。融合因子である DC-STAMP、OC-STAMP、Syncytin-A は各時間で遺伝子発現の差が認められた。しかし、これは破骨細胞数の顕著な減少に対して遺伝子発現の抑制はわずかであり、mRNA 発現量の検討では詳細は不明であった。これにより、これら以外の因子により破骨細胞同士の融合が抑制されている可能性が示唆された。

以上より、エダラボンによる破骨細胞の分化・機能に対する抑制効果が明らかになり、エダラボンによる骨粗鬆症治療薬としての薬理作用すなわちドラッグ・リポジショニングの可能性が示唆された。

引き続き論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

- 1) エダラボンが脳に作用する時点での濃度と破骨細胞に作用する時点での濃度との違いについて
- 2) スダチチンが破骨細胞に作用する濃度とエダラボンが破骨細胞に作用する濃度との差について
- 3) エダラボンの半減期について
- 4) エダラボンの作用の強弱が濃度依存性ではないことについて
- 5) TRAP と Cathepsin K の mRNA 発現量の関連について
- 6) 本実験で使用したエダラボン粉剤について
- 7) スダチチンとの結果の違いについて
- 8) ALS に対するエダラボンの作用機序について
- 9) パーキンソン病とフリーラジカルの関係について
- 10) 血管系に対するエダラボンの作用について

以上の質問に対して申請者からは適切かつ明快な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて、申請者が本研究ならびに関連分野に対して十分理解し、幅広い知識を有していると考えられ、本研究のさらなる発展、進展が期待された。

以上のことから、審査委員会は全員、本研究が学位論文に十分値し、申請者が博士(歯学)の学位を授与される資格を有するものと認めた。