The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A novel anti-rheumatic drug, T-614, stimulates osteoblastic differentiation in vitro and bone morphogenetic protein-2-induced bone formation in vivo
Author(s)	栗山, 幸治
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43812
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【130】

氏　　名	栗山幸治（くりやま こうじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　17700　号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	A novel anti-rheumatic drug, T-614, stimulates osteoblastic differentiation in vitro and bone morphogenetic protein-2-induced bone formation in vivo （新規抗リウマチ薬T-614はin vitroにおける骨分化、およびin vivoにおけるBMP-2誘導性骨形成を促進する）
論文審査委員	（主査） 教　授　吉川　秀樹 （副査） 教　授　越智　隆弘　　教　授　大薗　恵一

論文内容の要旨

【目的】

高齢化社会をむかえ、骨粗鬆症に対する治療は重要な問題である。骨形成を促進する薬剤、また将来臨床応用が期待されるbone morphogenetic proteinの作用を増強する薬剤は骨粗鬆症に対する有効な治療になりうると考えられる。いくつかの薬剤を骨芽細胞の早期のマーカーであるアルカリフォスファターゼ（ALP）の活性によりスクリーニングした結果、T-614（*N*-[3-(formylamino)-4-oxo-6-phenoxy-4*H*-chromen-7-yl] methanesulfonamide）が骨芽細胞のALP活性を上昇させることを見出した。T-614は新規に開発された抗リウマチ薬であり、炎症性サイトカインの産生抑制作用を有し、ラットの関節炎モデルにおいて、関節破壊抑制作用が報告されている。

そこで、本研究ではin vitroおよびin vivoの系を用い、T-614が骨芽細胞分化および骨形成に及ぼす影響を検討し、その作用機序を明らかにすることを目的とした。

【方法】

in vitroにおいては、マウス骨髄間質細胞株ST2および骨芽細胞株MC3T3-E1を用い、T-614、リコンビナントヒトBMP-2（rhBMP-2）存在、非存在下に骨芽細胞分化のマーカーであるALP活性、オステオカルシン分泌、細胞外器質石灰化を測定した。さらに、BMPの細胞内シグナル伝達物質であるsmad5のリン酸化をWestern blotで、またBMPに直接その発現が制御されているId1の発現をNorthern blotにより検討した。また、骨芽細胞の分化に必須の転写因子であるCbfa1とOsterixの発現についてもNorthern blotにより検討した。さらに構造活性相関を検討するため、炎症性サイトカインの産生抑制作用を有さない不活性な化合物を用いて、ALPの活性に及ぼす影響を検討した。in vivoにおいては、rhBMP-2を含浸させたコラーゲンペレットをマウス広背筋筋膜下に移植し、T-614を経口投与群と非投与群とで、異所性に形成された骨をX線、カルシウム含量、組織学的に検討した。

【成績】

in vitroにおいては、T-614は、rhBMP-2存在、非存在下において、ST2、MC3T3-E1ともにALP活性、オステオカルシン分泌を上昇させた。その効果はST2の方でより強く認められた。またST2では、rhBMP-2存在下にT-614は細胞外器質石灰化を約14倍促進した。T-614はsmad5のリン酸化、Id1およびCbfa1の発現には影響を及ぼさなかった。一方でT-614はST2において、rhBMP-2存在下にosterixの発現を約3倍上昇させた。炎症性サイトカインの産生抑制に対し不活性な化合物でもALP活性の上昇が認められた。in vivoにおいては、T-614経口投与群では、コントロール群に比べ、カルシウム含量が約1.7倍の大きな骨が形成された。新たに形成された骨の組織学的な差は認めなかった。

【総括】

本研究により、T-614が骨芽細胞分化、およびBMP-2誘導性骨形成を促進していることを見出した。その作用幾序として、炎症性サイトカインやBMPのシグナル伝達に直接関与するのではなく、骨芽細胞分化に必須の転写因子であるosterixの発現を上昇させることによるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は新規に開発された抗リウマチ薬であるT-614（*N*-[3-(formylamino)-4-oxo-6-phenoxy-4*H*-chromen-7-yl] methanesulfonamide）が骨芽細胞分化、骨形成促進作用を有することを新たに見出した。その作用幾序はについて検討したところ、T-614はsmad5のリン酸化やId1の発現を変化させず、Bone Morphogenetic Protein（BMP）のシグナル伝達には直接関与していないと考えられた。一方、骨芽細胞の分化に必須の転写因子であるCbfa1、Osterixの発現の検討では、T-614はCbfa1の発現は変化させなかったが、Osterixの発現は有意に上昇させた。このようにT-614はOsterixの発現を上昇させることにより、骨芽細胞分化、骨形成を促進したと考えられた。T-614は炎症性サイトカイン産生抑制作用や、cyclooxygenase-2（COX-2）阻害作用、関節炎モデルでの関節破壊抑制作用などが報告されているが、骨形成促進作用を示した本研究結果は全く新しい知見である。このようにT-614は骨吸収抑制作用と同時に骨形成促進作用も有する可能性がある。今後の十分な検討を要するが、T-614がリウマチ患者を含め、骨粗鬆症患者に対して有効な治療薬となり得る可能性を示唆するものであり、臨床応用においても非常に興味深い研究結果であり、本研究は学位論文に値するものと認める。