



Title	Iguratimod suppresses sclerostin and receptor activator of NF- κ B ligand production via the extracellular signal-regulated kinase/early growth response protein 1/tumor necrosis factor alpha pathway in osteocytes and ameliorates disuse osteoporosis in mice
Author(s)	三浦, 泰平
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/98610
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	三浦 泰平
論文題名 Title	Iguratimod suppresses sclerostin and receptor activator of NF- κ B ligand production via the extracellular signal-regulated kinase/early growth response protein 1/tumor necrosis factor alpha pathway in osteocytes and ameliorates disuse osteoporosis in mice (イグラチモドは骨細胞のERK/EGR1/TNF α 経路を介し、スクレロスチン・RANKLの産生を抑制し、マウスの不動性骨粗鬆症を改善する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 骨細胞は、力学的負荷による骨代謝において、骨芽細胞を介した骨形成と破骨細胞による骨吸収の間の相互作用を調節する上で重要な役割を果たしている。骨への力学的負荷の減少は不動性骨粗鬆症の要因になることが知られており、不動性骨粗鬆症は関節リウマチ(RA)などの筋骨格系疾患を持つ患者によく見られる合併症である。抗リウマチ薬イグラチモド(IGU)はRA患者の骨粗鬆症を改善することが報告されているが、骨細胞に対する効果の詳細は不明である。本研究では不動性骨粗鬆症モデルマウスを用いて、骨細胞に焦点を当て、IGUの効果を調べることを目的とした。 〔方法(Methods)〕 8週齢C57BL/6J雄マウスを3週間尾懸垂して不動性骨粗鬆症モデルを作成した。生食投与群(NS)、尾懸垂による後肢免荷+生食投与群(HLU+NS)、後肢免荷+IGU(30mg/kg/回で週5回腹腔内)投与群(HLU+IGU)の3群に分け、3週後に大腿骨サンプルを回収した。骨粗鬆症の進行についてμCTで評価を行い、また組織学的解析を行った。In vitroでは骨細胞に対するIGUの効果と骨代謝に対するIGUの効果を評価した。 〔成績(Results)〕 μCTより大腿骨遠位の骨量はNSよりHLU+NSで低値であったが、HLU+IGUで高値を示した。組織学的解析では破骨細胞数やスクレロスチン陽性骨細胞率はNSよりHLU+NSで高値であったが、HLU+IGUで低値を示した。一方で骨芽細胞数はNSよりHLU+NSで低値であったが、HLU+IGUで高値を示した。In vitroではIGUはヒト臨床血中濃度(3μg/ml)で骨細胞様細胞MLO-Y4細胞およびSaos-2細胞のreceptor activator of NF-κB ligand (RANKL)やスクレロスチンの遺伝子発現を抑制し、破骨前駆細胞との共培養で間接的な破骨細胞分化を抑制した。さらに、IGUはスクレロスチン存在下でも骨芽細胞分化を促進した。骨細胞ではIGUによるNuclear factor-κB (NF-κB)の核内移行の抑制は認めず、またNF-κBの転写活性の抑制も認めなかった。そこで、Saos-2細胞にIGUを投与し変動した遺伝子の網羅的解析(RNA-seq)を行った所、メカニカルストレス関連因子early growth response protein 1 (EGR1)の発現が低下していることを見出した。実際、EGR1およびtumor necrosis factor alpha (TNFα)の免疫組織染色にてEGR1・TNFα陽性骨細胞率は、NSよりHLU+NSで高値であったが、HLU+IGUで低値を示した。さらに、Western BlottingによりERKのリン酸化をIGUは抑制することを確認した。EGR1の過剰発現は、骨細胞におけるTNFα・RANKLおよびスクレロスチンの遺伝子発現を上昇させたが、これらはIGUにより抑制されていた。反対に、骨細胞のRANKLとスクレロスチンの遺伝子発現は、small interfering RNAによるEGR1の発現抑制で抑制された。 〔総括(Conclusion)〕 IGUが骨細胞のERK/EGR1/TNFα経路を介して、RANKLとスクレロスチンの産生を阻害したと考えられ、IGUは骨細胞を標的とすることで、不動性骨粗鬆症に対する新たな治療選択肢となる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 三浦 泰平			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	岡田 誠司
	副 査	大阪大学教授	妻木 乾行
	副 査	大阪大学特任教授	田中 啓之

論文審査の結果の要旨

不動態骨粗鬆症は骨への力学的負荷の減少により生じ、関節リウマチ(RA)患者によく見られる合併症である。イグラチモド(IGU)はRA患者の骨粗鬆症を改善することが報告されているが、不動態骨粗鬆症に対する効果は不明である。本研究の目的は不動態骨粗鬆症に対するIGUの効果と作用機序を検証することである。

8週齢雄マウスを尾懸垂し不動態骨粗鬆症モデルを作製し、IGUを腹腔内投与したところ、尾懸垂による骨量低下が改善された。組織染色では破骨細胞数の減少や骨芽細胞数の増加、スクレロステンを分泌する骨細胞の減少を認めた。In vitroではIGUにより骨細胞からのRANKLやスクレロステンの産生は抑制され、破骨細胞分化の抑制・骨芽細胞分化の促進を認めた。この効果は骨細胞でのERK/EGFR/TNF α 経路を介することを見出した。

IGUの骨細胞における新たな作用機序を解明し、IGUが不動態骨粗鬆症に対する新たな治療選択肢となる可能性を示せたことは学位の授与に値すると思われる。