Effects of novel bromomelatonin derivatives on osteoclasts and osteoblasts

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/42960

新規ブロモメラトニン誘導体の破骨細胞及び骨芽細胞に対する影響

鈴木信雄[1]，染井正徳[2]，北村敬一郎[3]，服部淳彦[4]

[1]〒927-0553　鳳珠郡能登町小木　金沢大学環日本海域環境研究センター，臨海実験施設；[2]〒920-1192　金沢市角間町　金沢大学大学院自然科学研究科；[3]〒920-0942 金沢市小立野　金沢大学大学院医学系研究科；[4]〒272-0827　千葉県市川市国府台　東京医科歯科大学　教養部

Nobuo SUZUKI[1], Masanori SOMEI[2], Kei-Ichiro KITAMURA[3], Atsuhiko HATTORI[4]: Effects of novel bromomelatonin derivatives on osteoclasts and osteoblasts

前報告のように、ウロコは石灰化した骨基質の上に骨芽細胞と破骨細胞が共存しており、骨のモデルとして使用可能である。そこで本研究では、骨粗鬆症等の骨疾患の治療薬の開発を行うため、新規ブロモメラトニン誘導体を合成し、骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用を解析した。

材料としてキンギョ（*Carassius auratus*）を用い、 以下の実験を行った。

実験１：新規ブロモメラトニン誘導体の破骨細胞及び骨芽細胞に及ぼす影響

材料としてキンギョ（メス、体重50-80 g）を用いた。これらのキンギョをMS222で麻酔し、キンギョからウロコを取った。そのウロコをHEPES（20 mM）（pH 7.0）及び抗生物質（1%）を含む培地（MEM、ICN Biomedicals Inc.）に加え、メラトニン、2-ブロモメラトニン、2,4,6-トリブロモメラトニン、1-アリル-2,4,6-トリブロモメラトニン、1-プロパルギル-2,4,6-トリブロモ-メラトニン、1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニン及び2,4,6,7-テトラブロモメラトニン（Figure 1）の破骨細胞及び骨芽細胞に対する作用を評価した。培養時間は6 時間で、濃度は10^{-8}, 10^{-6}, 10^{-4} Mでその作用を解析した。骨芽細胞及び破骨細胞の活性の測定方法はSuzuki and Hattori（2002）により行った。

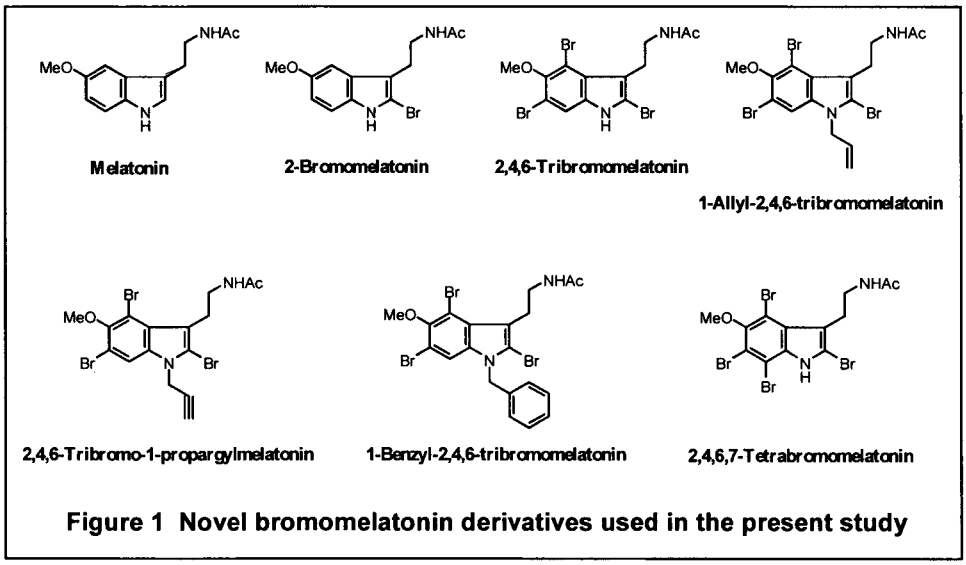

Figure 1 Novel bromomelatonin derivatives used in the present study

次に最も効果があった化合物において、6時間及び18時間培養で、10^{-11}, 10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7} Mにおいて、骨に対する作用をメラトニンと比較し、詳細に調べた。

実験２：1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンのエストロゲン受容体mRNA発現に及ぼす影響

キンギョ（メス5匹）のウロコを取り、実験１と同様に1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンを加えて6 時間培養した。そのウロコからアイソゲン（ニッポンジーン）によりmRNAを抽出し、タカラのキットを用いてcDNAを合成した。その後、骨芽細胞のマーカーであるestrogen receptor（ER）mRNAの発現に対する影響をSuzuki et al.（2004）の方法に従い、解析した。さらにこの化合物の骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用を確認するため、10^{-7} Mのメラトニンと1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンを培地に添加し、実験１の結果の再現性を確認した。

その結果、Br原子を3個導入した誘導体では、破骨細胞の活性抑制作用は強く、メラトニンと同程度であった。しかしBr原子を1及び4個入れた誘導体は、メラトニンの方が破骨細胞の活性抑制作用は強かった。一方、メラトニンは骨芽細胞の活性を低下させたが、Br原子を導入した全ての誘導体は、骨芽細胞の活性を上昇させることが判明した。特に、1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンの作用は強く、この化合物を用いて、詳細に調べた。

1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンの破骨細胞の活性抑制作用は、メラトニンのそれよりも強く、6時間培養で10^{-10} Mでも効果がみられた。また1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンはメラトニンとは異なり、骨芽細胞の活性を上げ、その作用は18時間でも持続しており、10^{-8} Mでも効果がみられた。

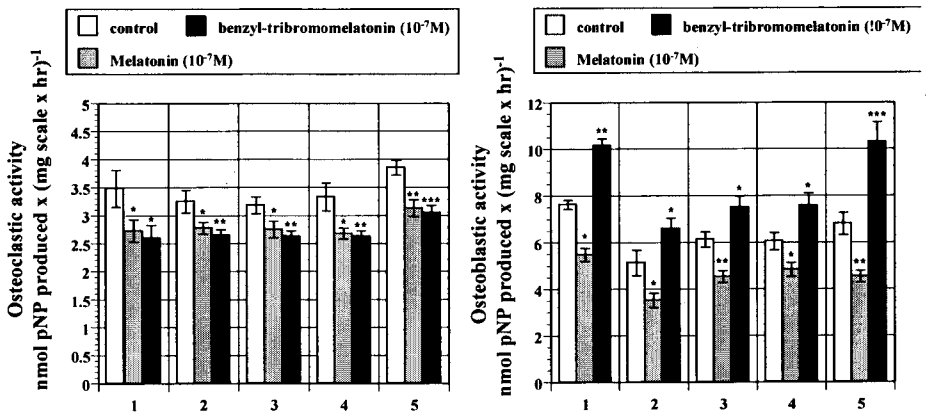

Figure 2. Effects of melatonin (10^{-7} M) and 1-benzyl-2,4,6-tribromomelatonin (benzyl-tribromomelatonin) (10^{-7} M) on the osteoclastic and osteoblastic activities of goldfish scales in the 6 h of incubation. All results are expressed as means±SEM (N=8). *, **, and * indicate statistically significant differences at P<0.05, P<0.01, and P<0.001, respectively, from the values in the control scales. Nos. 1 to 5 correspond to each of five goldfish used in this experiment.**

骨芽細胞のマーカーであるER mRNAの発現は、1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニン処理で有意に上昇することも判明した。さらに実験1と同様にして、メラトニンは破骨細胞及び骨芽細胞の両方の活性を低下させた（Figure 2）。しかし、1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンは破骨細胞の活性を低下させ、骨芽細胞の活性を上昇させた（Figure 2）。

したがって、この新規ブロモメラトニン誘導体は骨疾患の治療薬として有望である。現在、骨疾患のモデルとして用いられている卵巣除去ラットや低カルシウム食を与えたラットを使用した動物実験により、この化合物の作用を確認中である。

引用文献

1) Suzuki, N. and Hattori, A.: Melatonin suppresses osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish. J. Pineal Res., 33: 253-258 (2002)

2) Suzuki, N., Yamamoto, M., Watanabe, K., Kambegawa, A. and Hattori, A.: Both mercury and cadmium directly influence calcium homeostasis resulting from the suppression of scale bone cells: the scale is a good model for the evaluation of heavy metals in bone metabolism, J. Bone Miner. Metab., 22: 439-446 (2004)

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金（基盤研究（C）No. 18500375、代表：鈴木信雄）及び（財）日本宇宙フォーラム（第8回選定　宇宙環境利用に関する公募地上研究、代表：鈴木信雄）の援助により行われた。