

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

N. Suzuki, M. Somei, K. Kitamura, and A. Hattori

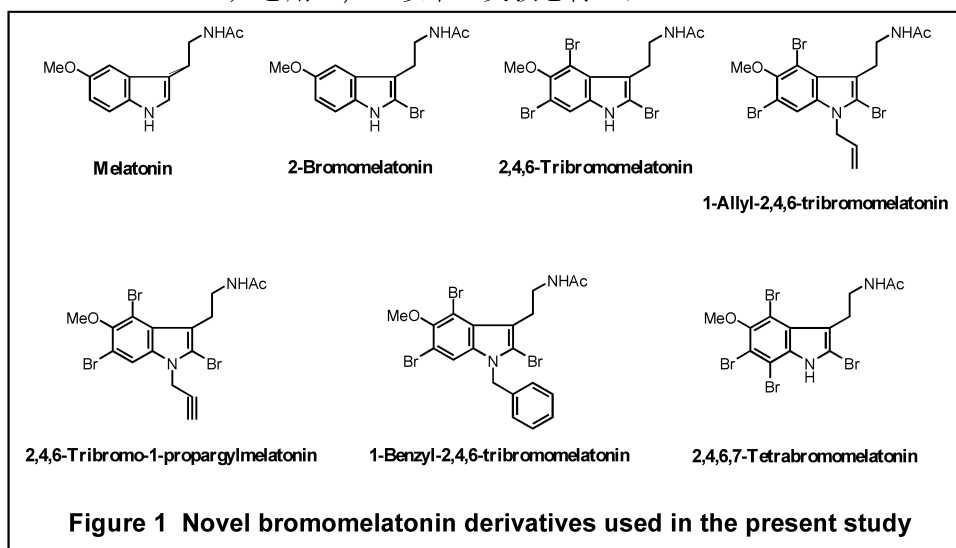
Effects of novel bromomelatonin derivatives on osteoclasts and osteoblasts

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.

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.

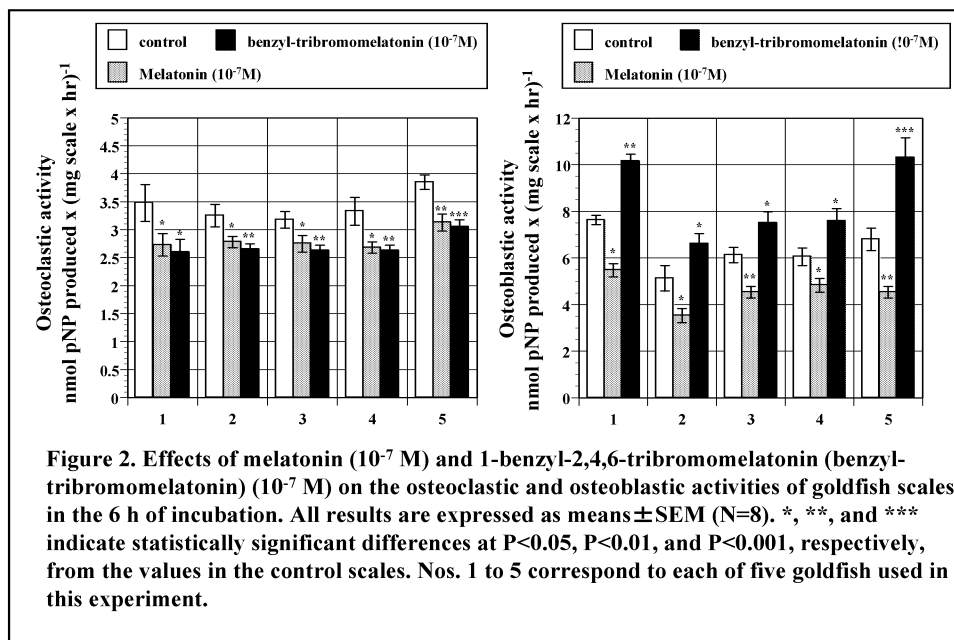
実験 2: 1-ベンジル-2,4,6-トリブロモメラトニンのエストロゲン受容体 mRNA 発現に及ぼす影響

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。



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用いた動物実験により、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) の援助により行われた。