

論文内容要旨(甲)

論文題名 リアルタイム細胞分析システムによる破骨細胞定量法を用いたエピガロカテキンガレートの細胞分化抑制効果

掲載雑誌名 昭和学会雑誌 第74巻・第1号2014年 掲載予定

病理系 薬理学(医科薬理学分野)専攻 江守 永

骨密度の低下は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成のバランスが崩れ、骨吸収が過度になっていることによってもたらされる。骨粗鬆症は骨密度の低下が原因である代表的な骨代謝疾患である。従って、破骨細胞は骨粗鬆症の治療における、重要な標的細胞の一つである。最近リアルタイム細胞分析システム(RTCA)が、生体外における細胞形態と細胞接着の定量のために開発された。RTCAは、プレート上電極の電子インピーダンス(Cell Index ; CI)を測定することで定量する。また、我々は、茶に多く含まれるエピガロカテキンガレート(EGCG)によるラットの破骨前駆細胞を用いた破骨細胞への融合阻害効果およびマウスの骨髄細胞を用いた破骨細胞への分化誘導に対するEGCGの阻害効果の報告を行ってきた。本研究は、この新しい定量法を用いて破骨細胞分化に対するEGCGによる抑制効果の定量を試みることを目的とした。

雄性 ddy マウス(5~8 週齢)の大腿骨および脛骨より、骨髄細胞を採取した。RTCA 専用の E-plate に骨髄細胞を 100,000/well 播種させた。EGCG を 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M の濃度になるように培地内に添加した。また、E-plate と同じ底面積である 96 穴 plate でも同様に骨髄細胞を培養した。24 時間後および 72 時間後に培地の交換を行い、計 8 日間の測定を行った。

また、96 穴プレートで培養したものは、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色を行い、TRAP 陽性かつ核が 3 個以上の多核破骨細胞数を測定した。

本研究の結果、EGCG 添加により濃度依存的に CI 値の抑制を定量することができた。および多核破骨細胞数は抑制された。さらに CI 値と多核破骨細胞数は強い相関を示していた。また、RTCA は連続して測定が可能であり染色等の必要もなく比較的簡便に破骨細胞に対する薬物のスクリーニングが可能となることが示唆された。

1 μ M の低濃度 EGCG でも破骨細胞の成熟への抑制が認められた。カテキン 400 mg 含有の緑茶を 1 杯ほど飲用すると、EGCG の最高血漿濃度が 2 μ M 程度になるという報告がある。本研究において、1 μ M の EGCG 濃度においても破骨細胞形成抑制効果が認められたことから、EGCG は生体内においても骨粗鬆症予防効果が期待できる。

本研究により、新しい破骨細胞定量法である RTCA を用いることで EGCG の抑制効果を定量できることが、明らかにされた。