

論文審査の結果の要旨

氏名：前田 美咲

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名： 琉球弧植物に着目した骨代謝に影響を与える天然薬物の探索

審査委員：(主査) 教授 松崎 桂一

(副査) 教授 内山 武人 教授 小菅 康弘

本研究は、天然物より骨代謝に影響を与える天然薬物の探索研究である。

骨は骨芽細胞による骨形成と、破骨細胞による骨吸収との骨リモデリングによってその形態を維持しており、骨吸収が骨形成を上回る状態が続くことにより骨粗しょう症が発症することが知られている。また、本症の多くが女性の閉経による低エストロゲン状態によって引き起こされる閉経後骨粗しょう症である。その治療には選択的エストロゲン受容体モジュレーターが用いられることもあるが、更年期様症状や深部静脈血栓症を誘発する不都合な状況を生じる可能性がある。以上のことから、申請者は、骨粗しょう症の予防・改善において新たな選択肢の必要性を感じ、骨形成促進とエストロゲン受容体活性化の2つの作用を示す化合物が見出されれば、骨粗しょう症の治療改善に役立つと着想し、これまで殆ど創薬の研究対象とされていなかった希少な植物体系を有する琉球弧で採集した植物より探索した。このエストロゲン受容体転写活性化作用についてエストロゲン受容体発現プラスミドを導入したヒト胎児腎細胞 HEK293 を用い、ルシフェラーゼレポーターアッセイで評価した。

作成した琉球弧植物エキスイブラリー1531種についてスクリーニングを実施した結果、沖縄および奄美大島固有植物で成分未詳のアカボシタツナミソウ *Scutellaria rubropunctata* var. *rubropunctata* 全草の80% MeOH エキスに活性を見出した。このアカボシタツナミソウのエキスについて、骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を用いたアルカリホスファターゼ (ALP) 活性試験およびアリザリン染色試験を行ない、アカボシタツナミソウエキスは、主に骨芽細胞の分化初期に影響を与える可能性を見出した。また、骨形成に着目した試験では、アカボシタツナミソウは破骨細胞の分化を抑制することなく、BMP/Smad 経路を介して骨芽細胞の分化初期における分化促進作用を有することを明らかにした。

更にアカボシタツナミソウの成分探索を行なった。すなわち、ALP 活性試験の認められたアカボシタツナミソウ 80%MeOH エキスの CHCl₃ 可溶性画分を各種クロマトグラフィーにより分離・精製を行なうことにより、2 種の新規化合物 5,8,2',6'-tetramethoxy-6,7-methylenedioxyflavone (**1**) および 5,2',6'-trimethoxy-6,7-methylenedioxyflavone (**2**) を含む 10 種の methoxyflavone (**1**—**10**) を単離・構造決定した (Figure 1)。

これらの化合物のうち、**1**、**2** および 5,6,7-trimethoxyflavone (**9**) に ALP 活性を認め、骨芽細胞分化を促進する可能性を見出した。また、**1** および **9** に骨形成関連遺伝子である *Runx2*、*Osx*、*Opn* および *Ocn* の mRNA 発現量を増加させたことから、骨芽細胞分化促進作用はこれら遺伝子の発現が関与している可能性を明らかにした。しかしながらこれらの化合物にはエストロゲン受容体転写活性化作用は認められなかったことから、アカボシタツナミソウエキスが示したエストロゲン受容体転写活性化作用は、methoxyflavone 以外の成分が活性発現に寄与している可能性を示唆する結果となった。

超高齢社会となっている現代社会において、骨粗しょう症の予防・改善が健康寿命を延伸につながると考えられている。その骨粗しょう症に有効な成分を、希少な琉球弧植物のエキスイブラリーを用いて探索研究を実施し、琉球弧固有植物であるアカボシタツナミソウを見出し、80%MeOH エキスより得られた新規化合物 2 種を含む計 3 種の methoxyflavone について遺伝子レベルで骨リモデリングに対して評価し、これらが骨粗しょう症を改善する可能性を示した。以上の結果は、アカボシタツナミソウの成分が骨粗しょう症の予防・改善に対する創薬研究の発展と新たな医薬品開発を期待させるものである。

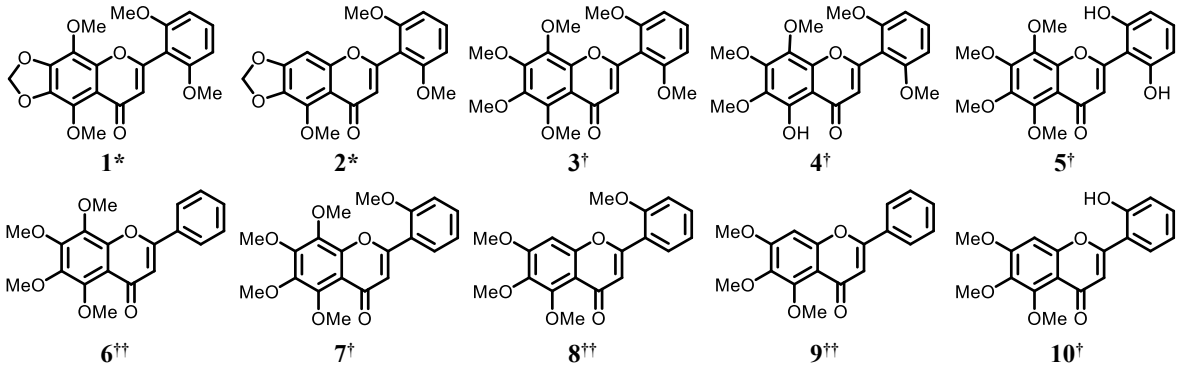


Figure 1. Structures of **1**–**10** from the whole plant of *Scellaria rubropunctata* var. *rubropunctata*. *: new compound, † : naturally first isolation, † † : new component

よって本論文は、博士（薬学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和5年1月16日