

# 28PA-am010

イソラムネチンはRANKLによるTGF- $\beta$ 1のmRNA発現抑制を介して破骨細胞分化を阻害する

○桐生 道明<sup>1</sup>, 熊谷 祐樹<sup>1</sup>, 山本 千夏<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東邦大薬)

【目的】イソラムネチンはハーブなどに多く含まれているフラボノイドの一種である。イソラムネチンは強力な抗炎症および抗酸化作用により、様々な疾患での予防効果が報告されているが、その一方で骨粗鬆症など骨疾患に関する影響についてはよくわかっていない。そこで本研究では、イソラムネチンによる骨代謝への影響について調べる目的で、骨吸収を行う破骨細胞の前駆細胞であるRAW264細胞を用いて、イソラムネチンが破骨細胞の分化に及ぼす影響について検討を行った。【方法】①RAW264細胞を $3 \times 10^3$  cells/wellで96-well dishに播種し、24時間後、破骨細胞分化誘導因子であるRANKL (50 ng/ml) 存在下でイソラムネチン (1~10  $\mu$ M) を添加し4日間培養した。破骨細胞分化の指標として、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ陽性多核細胞 (MNC) を顕微鏡下でカウントした。②破骨細胞分化マーカーのmRNAの発現についてリアルタイムPCR法を用いて検討を行った。【結果及び考察】イソラムネチンは、RANKLによるMNC形成を濃度依存的に阻害し、10  $\mu$ Mにおいて、約90%阻害した。また、破骨細胞の分化マーカーであるc-fos、NFATc-1、DC-STAMPおよびカタレプシンKのmRNA発現に対して、10  $\mu$ Mのイソラムネチンは有意に抑制することが明らかとなった。近年、RANKLによる破骨細胞分化には、内因性のTGF- $\beta$ 1の存在が重要であるとの報告がある。そこでRAW264細胞にTGF- $\beta$ 1のレセプター阻害剤であるSB431542で前処理後RANKLを添加すると、有意なMNC形成の阻害がみられた。次に、イソラムネチンがRANKLによるTGF- $\beta$ 1のmRNAの発現に及ぼす影響について検討した結果、TGF- $\beta$ 1のmRNA発現の有意な抑制がみられた。以上の結果から、イソラムネチンはRANKLによるTGF- $\beta$ 1のmRNA発現の抑制を介して破骨細胞分化を阻害していることが示唆された。