

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名 Thira Rojasawasthien (ティーラ ロアサワアティエン)

学位論文題目 Nobiletin, a NF- $\kappa$ B signaling antagonist, promotes BMP-induced bone formation.

審査委員 (主査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内 弘

(副査氏名) 有吉 渉 (署名) 有吉 渉

(副査氏名) 吉賀 大午 (署名) 吉賀 大午

### 学位審査結果の要旨

免疫反応において中心的な役割を果たす転写因子 NF- $\kappa$ B は、炎症反応や細胞増殖、アポトーシスなどの生理現象や種々の病態形成に関与する。NF- $\kappa$ B シグナルは骨芽細胞や破骨細胞の生存や増殖、分化を制御し、骨格形成や骨のホメオスタシスにも重要な役割を担うことが知られている。また、NF- $\kappa$ B シグナルを薬理的に抑制すると、骨芽細胞の分化や骨形成が促進されたことから、NF- $\kappa$ B は骨量増加のための治療標的として有望視されている。申請者の Rojasawasthien 氏らは、フラボノイドの一種で NF- $\kappa$ B シグナルを阻害することが知られているノビレチンに着目し、本研究においてノビレチンが骨芽細胞の分化と石灰化に及ぼす影響を検討した。

まず、骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を用いた実験を行った。ノビレチンは、TNF- $\alpha$  刺激により誘導される p65 のリン酸化と I $\kappa$ B $\alpha$  の分解、NF- $\kappa$ B 標的遺伝子の発現、および NF- $\kappa$ B 応答性ルシフェラーゼ活性のいずれも抑制した。次に BMP4 刺激下流シグナルにおけるノビレチンの効果を検討した。TNF- $\alpha$  によって抑制される BMP4 誘導性の Smad1/5 のリン酸化、Smad 標的遺伝子の発現、および Smad 応答性ルシフェラーゼ活性は、いずれもノビレチンにより回復した。また、MC3T3-E1 細胞および初代培養マウス頭蓋骨由来骨芽細胞を用いて骨芽細胞の分化マーカー遺伝子の発現、アルカリホスファターゼ活性、カルセイン染色性を指標に骨芽細胞分化へのノビレチンの影響を確認した。BMP4 により誘導される骨芽細胞の分化と石灰化は TNF- $\alpha$  により抑制されたが、この抑制はノビレチンによって解除された。さらにマウスを用いた BMP2 誘発性異所性骨形成実験を行ったところ、ノビレチン添加により骨形成量は顕著に増加していた。

以上の結果は、ノビレチンが TNF- $\alpha$  などで誘導される NF- $\kappa$ B シグナルによる BMP シグナルの抑制を解除し、骨芽細胞の分化能を高めて骨形成を促進しうることを示唆している。

本研究内容について申請者の Rojasawasthien 氏に対し、ノビレチンに着目した経緯、実験の手法や結果の解釈、臨床における意義や今後の展望等について主査と2名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。本研究成果は、骨代謝領域における新規の NF- $\kappa$ B シグナル阻害薬としてのノビレチンの役割を明らかにし、骨形成誘導の有用な手段としての応用が期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。