

AhR リガンドメチルコランスレンによる骨代謝の阻害

萩原啓実¹、成瀬雅衣¹、塚本優¹、石原陽子²

¹東京工業大学大学院生命理工学研究科、²東京女子医科大学医学部公衆衛生

内分泌攪乱物質の一種であるダイオキシンの生体作用の一つに骨形成不全があげられる。本研究では内分泌攪乱物質の骨代謝への影響を調べるために、AhRのリガンドの一つであり、ダイオキシン同様にAhRとの親和性が強いメチルコランスレン(MC)を使用し、骨吸収に関わる破骨細胞の形成と骨形成に関わる骨芽細胞の増殖・分化への影響を培養細胞を用いて調べた。PCRの結果、AhRはST2、脾臓細胞、成熟破骨細胞、骨芽細胞のいずれにも発現しており、MCあるいはダイオキシンが骨代謝系に作用する可能性が示された。MCは濃度依存的に破骨細胞の形成を阻害した。その阻害効果は培養初期に強く観察された。PCR-Southernの結果、MCの作用により破骨細胞分化誘導因子RANKLのmRNA量が減少することが示された。RANKLの転写調節領域にはXRE配列が存在しているため、RANKL mRNAの発現量の減少がXRE配列に依存したものであるか luciferase assay により調べている。MCは成熟破骨細胞のアクチンリングの形成と骨吸収孔の形成には影響を与えなかったため、成熟破骨細胞の機能へは影響しない可能性が示された。MCは骨芽細胞の増殖を顕著に抑制すると共に分化の指標であるアルカリホスファターゼの活性を阻害し、石灰化も抑制した。本研究により、ダイオキシン受容体リガンドであるMCがRANKLの発現を阻害し、破骨細胞の形成を抑制することが示された。また、骨芽細胞でも増殖・分化を強く阻害することがわかった。これらのことから、ダイオキシンが骨代謝の調節に影響する可能性が強く示唆された。

Inhibition of bone metabolism by AhR ligand methylcholanthrene

Hiromi Hagiwara^{1}, Masae Naruse¹, Yu Tsukamoto¹, Yoko Ishihara²*

¹Department of Biological Sciences, Tokyo Institute of Technology and ²Department of Medicine, Tokyo Women's Medical University, Japan

The effect of 3-methylcholanthrene (3MC), that is a ligand for arylhydrocarbon receptor (AhR), on the metabolism of osteoclasts and osteoblasts were examined. PCR analysis revealed that mRNA for AhR is expressed in osteoclasts and osteoblasts. 3MC decreased formation of osteoclasts by the action at early stage of culture. The formation of actin ring and of pits on slices of dentine by osteoclasts, both of which are typical index of osteoclastic activity, did not change by the exposure of osteoclast-like cells to 3MC. 3MC inhibited the expression level of mRNA for osteoclast differentiation factor (RANKL). Furthermore, the inhibitory effect of 3MC was attenuated by the addition of soluble RANKL to the medium. On the other hand, the proliferation and DNA synthesis of osteoblasts were markedly inhibited by the exposure to 3MC. 3MC also reduced the rate of the alkaline phosphatase activity and deposition of Ca²⁺ osteoblasts. The expression levels of mRNAs for osteocalcin that are osteoblastic differentiation markers were also inhibited by 3MC. Our results suggest that 3MC might have critical effects on bone metabolism.