

氏名	野口 憲一		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	薬学		
学位記授与番号	博甲第 4104 号		
学位授与の日付	平成 22 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 1 項該当)		
学位論文の題目	新規 diarylpyrazole 系化合物 4-[4-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-1H-pyrazol-3-yl]benzene-1,3-diol の軟骨細胞分化誘導作用に関する研究		
論文審査委員	教授 亀井 千晃	教授 川崎 博己	教授 檜垣 和孝 准教授 高山 房子

### 学位論文内容の要旨

軟骨細胞分化誘導を薬効メカニズムとする軟骨修復薬の創製を目的として、本研究を行った。第一章では、浮遊培養を行った軟骨前駆細胞株 ATDC5 が、従来の単層培養よりも早期から、生体内の軟骨細胞分化をよく模した軟骨細胞分化を開始することを見い出した。この知見を応用して、ATDC5 細胞の浮遊培養系での軟骨細胞分化誘導化合物のスクリーニング系を構築した。第二章では、構築したスクリーニング系を用いて化合物の探索を行い、diarylpyrazole 系化合物 4-[4-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-1H-pyrazol-3-yl] benzene-1,3-diol (Compound-1) の軟骨細胞分化誘導作用を見い出した。Compound-1 は、ATDC5 細胞に生体内の軟骨細胞分化を模した分化を誘導した。また、Compound-1 は、間葉系幹細胞株 C3H10T1/2 の軟骨細胞分化を細胞凝集領域に誘導すると同時に脂肪細胞分化を抑制し、分化決定段階に作用することが判明した。さらに、Compound-1 は、初代骨髄間質細胞の軟骨細胞分化を誘導し、*in vivo* でも軟骨細胞分化誘導作用をもつことが示唆された。一方、Compound-1 は、脱分化誘導で低下した初代軟骨細胞の軟骨基質産生を増加させ、変形性関節症などの病態下でも軟骨再生促進作用を示す可能性があることも判明した。

第三章では、Compound-1 が軟骨細胞分化に重要な役割を果たしている L-SOX5、SOX6 および SOX9 (SOX trio) 遺伝子の発現を増加させることを見い出した。Compound-1 による軟骨特異的遺伝子の発現増加には、Protein kinase A を介した L-SOX5 および SOX6 遺伝子の発現増加が関与していた。これらの知見から、SOX trio 遺伝子の発現増加が Compound-1 の軟骨細胞分化誘導の機序の一部である可能性が示唆された。一方、軟骨細胞分化を誘導する骨形成因子(BMP)-2 の Sox trio 遺伝子の発現増加作用は、Compound-1 と比較して弱く、また、その作用に Protein kinase A は関与せず、Compound-1 と BMP-2 の作用機序が異なることが示された。

以上の成績より、Compound-1 は、BMP-2 と異なる SOX trio 遺伝子の発現増加作用を有し、その作用を少なくとも一部介して、分化決定段階から軟骨細胞分化を誘導する新規の化合物で、*in vivo* で軟骨を再生し、損傷軟骨を修復する可能性を有することが明らかになった。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、軟骨細胞分化誘導を薬効メカニズムとする軟骨修復薬の創製を目的として行われた。その結果、浮遊培養を行った軟骨前駆細胞株 ATDC5 が、従来の単層培養よりも早期から、生体内の軟骨細胞分化をよく模した軟骨細胞分化を開始することを見出した。このスクリーニング系を用いて化合物の検索を行い、diarylpyrazole 系化合物 4-[4-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-1H-pyrazol-3-yl]benzene-1,3-diol (Compound-1) の軟骨細胞分化誘導作用を見出した。また、Compound-1 は間葉系幹細胞株 C3H10T1/2 の軟骨細胞分化を細胞凝集領域に誘導すると同時に脂肪細胞分化を抑制し、分化決定段階に作用することが判明した。さらに、Compound-1 は、初代骨髄間質細胞の軟骨細胞分化を誘導し、*in vivo* でも軟骨細胞分化誘導作用をもつことが示唆された。一方、Compound-1は、脱分化誘導で低下した初代軟骨細胞の軟骨基質産生を増加させ、変形性関節症などの病態下でも軟骨再生促進作用を示す可能性があることも判明した。

さらに、Compound-1 が軟骨細胞分化に重要な役割を果たしている L-SOX5, SOX6 および SOX9 (SOX trio) 遺伝子の発現を増加させることを見出した。一方、軟骨細胞分化を誘導する骨形成因子 (BMP)-2 の Sox trio 遺伝子の発現増加作用は、Compound-1 と比較して弱く、また、その作用に Protein kinase A は関与せず、Compound-1 と BMP-2の作用機序が異なることが示された。

以上、Compound-1 は、BMP-2 と異なる SOX trio 遺伝子の発現増加作用を有し、その作用を少なくとも一部介して、分化決定段階から軟骨細胞分化を誘導する新規の化合物であることが見出された。これらの知見は新規薬物開発のための検索研究であり、非常に有意義な研究であり、博士（薬学）の学位に値すると判断した。