



Testosterone inhibits osteoclast formation stimulated by parathyroid hormone through androgen receptor

陳, 慶祥

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2003-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2689

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002689>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 83 】

氏 名 ・(本 籍) 陳 慶祥 (兵庫県)

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博い第1478号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成15年3月31日

【 学位論文題目 】

Testosterone inhibits osteoclast formation stimulated by parathyroid
hormone through androgen receptor
(テストステロンはアンドロゲン受容体を介して副甲状腺ホルモンにより
促進された破骨細胞形成を抑制する)

審 査 委 員

主 査 教 授 千原 和夫

 教 授 丸尾 猛

 教 授 前田 盛

動物やヒトでアンドロゲンは骨代謝の制御機構において重要な役割を担っている。高齢化社会において女性のみならず男性の骨粗鬆症も問題となっており、男性における骨密度の低下とアンドロゲンの減少は相関があるとされている。さらに、男性における性腺機能低下症と骨粗鬆症は強い関連があり、アンドロゲンが男性の性腺機能低下症患者の骨量減少の治療に有効であると報告されている。一方、*in vitro* においてテストステロンを含むアンドロゲンは骨芽細胞の成熟と分化を促進し、アンドロゲン受容体に結合して骨芽細胞に直接作用する。また、骨吸収に関してはアンドロゲン受容体がマウス破骨細胞様細胞でも発現しており、近年アンドロゲンが破骨細胞における骨吸収活性を制御していることが明らかとなっている。しかし、テストステロンの破骨細胞形成に及ぼす作用および作用様式の詳細は不明である。副甲状腺ホルモン(PTH)は破骨細胞形成と成熟破骨細胞における骨吸収活性を促進することによって骨吸収を促進する。マウス全骨細胞においてはエストロゲンが PTH により促進された破骨細胞形成を cAMP 系に作用することにより阻害する。一方、アロマターゼ欠損症やエストロゲン受容体変異男性では著明な骨量減少がみられるなど、アンドロゲンはアロマターゼを介しエストロゲンに変換されて骨細胞に作用することも明らかとなっている。しかし、テストステロンの骨吸収系への作用がアンドロゲン受容体を介するか、アロマターゼによりエストロゲンへの変換された後にエストロゲン受容体を介するかは未だ不明である。そこで今回私共はマウス全骨細胞を用いて PTH により促進された破骨細胞形成に対するテストステロン及びテストステロンの活性型である α -dihydrotestosterone(DHT)のアンドロゲンの作用及びその機

序について解析した。

10-15 日齢 ICR マウスの大腿骨及び脛骨を摘出し、骨幹端部と骨幹部組織を α -MEM 培養液中で、無菌的に細切し、骨髓細胞及び骨由来細胞を含む上清画分を 96 穴プレート上で 5 日間培養し、既存の破骨細胞の消失を確認後、各種物質存在下に一週間培養し、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色を行い、3 核以上の TRAP 陽性多核細胞 (MNC) 数を計測した。この新しく形成された TRAP 陽性 MNC がカルシトニンとの反応や骨吸収活性など破骨細胞の種々の特徴を有するものである。

はじめにマウス全骨細胞においてアンドロゲンが PTH や $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ により促進された破骨細胞形成にどのような影響を及ぼすかを検討した。テストステロンは 10^{-8}M PTH-(1-34)により促進された TRAP 陽性 MNC 形成を濃度依存性に阻害したが、 10^{-8}M $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ により促進された TRAP 陽性 MNC 形成には影響を及ぼさなかった。これはエストロゲンの PTH により促進された TRAP 陽性 MNC 形成抑制作用と同様である。DHT はアロマターゼによりエストロゲンに変換されず、アンドロゲン受容体に強い親和性を持つ。DHT は 10^{-8}M PTH-(1-34)により促進された TRAP 陽性 MNC 形成を濃度依存性に阻害し、DHT のこの作用はテストステロンのその作用よりも幾分強かった。次にテストステロンの破骨細胞形成抑制作用がエストロゲン受容体やアロマターゼを介するのかを検討するために、エストロゲン受容体の拮抗剤である ICI182780 及びアロマターゼ阻害剤である 4-androsten-4-ol-3,17-dione を用いて検討した。ICI182780 は 17β エストラジオールの PTH により誘導された TRAP 陽性 MNC 形成への抑制作用を完全に阻害したが、エストロゲンのテ

テストステロンのその作用には影響を及ぼさなかった。このことからテストステロンはエストロゲン受容体を介さない機序により、PTH により促進された破骨細胞形成を抑制することが示唆された。さらに $3\mu\text{M}$ の 4-androsten-4-ol-3,17-dione はテストステロンの PTH により促進された TRAP 陽性 MNC 形成抑制作用には影響を及ぼさなかった。このことよりテストステロンはアロマターゼを介さない機序により、PTH により促進された破骨細胞形成を阻害することが示唆された。これらの結果よりテストステロンは全骨細胞において内因性エストロゲンの産生を介さずに、PTH により促進された破骨細胞形成を抑制することが証明された。次にマウス全骨細胞においてテストステロンがアンドロゲン受容体を介して破骨細胞形成を抑制するか検討した。アンドロゲン受容体拮抗剤である hydroxyflutamide は濃度依存性にテストステロンの PTH により促進された TRAP 陽性 MNC 形成抑制作用を阻害した。さらに 10^{-7}M hydroxyflutamide は 10^{-9}M DHT の PTH により促進された TRAP 陽性 MNC 形成抑制作用を阻害した。これらの結果よりテストステロンの破骨細胞形成阻害作用にはアンドロゲン受容体が関与するものと考えられた。

今回の研究でマウス全骨細胞において、テストステロンもエストロゲンと同様 PTH により促進された破骨細胞分化を抑制すること、そしてこの作用にはエストロゲンへの変換ではなくアンドロゲン受容体が関わっていることが初めて明らかとなった。今回の研究におけるマウス全骨細胞は骨芽細胞、破骨細胞前駆細胞及び成熟破骨細胞を含む。今回の研究ではどの細胞がテストステロンによる破骨細胞形成抑制作用の主体となっているかは明らかにされなかった。今後さらなる検討が必要であろう。

神戸大学大学院医学系研究科 (博士課程)

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 1479 号	氏名	陳 慶祥
論文題目	Testosterone inhibits osteoclast formation stimulated by parathyroid hormone through androgen receptor (テストステロンはアンドロゲン受容体を介して副甲状腺ホルモンにより促進された破骨細胞形成を抑制する)		
審査委員	主 査 千原和夫 副 査 丸尾 猛 副 査 前田 茂		
審査終了日	平成 15 年 2 月 3 日		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

骨塩量に性ステロイドは重要な働きをしており、その最もよく知られた事実が女性の閉経後の骨粗鬆症である。女性だけでなく男性においても、アロマターゼ欠損症やエストロゲン受容体変異男性で著明な骨量減少がみられることより、アンドロゲンはアロマターゼの働きによりエストロゲンに変換されて骨細胞に作用することが明らかとなってきた。しかしアンドロゲンは、すべてアロマターゼによりエストロゲンへの変換された後にエストロゲン受容体を介してその作用は発揮されるのか、それともアンドロゲンは、独自のアンドロゲン受容体を介してその作用を発揮しうるのは明らかではない。事実、テストステロンを含むアンドロゲンは骨芽細胞のアンドロゲン受容体に直接結合し、骨芽細胞の成熟と分化を促進すること、また、骨吸収に関してアンドロゲン受容体がマウス破骨細胞様細胞にも発現し、アンドロゲンが破骨細胞における骨吸収活性を制御していることも報告されている。そこで申請者はアンドロゲンの直接作用の有無を調べる目的で、マウス全骨細胞を用いてPTHにより促進された破骨細胞形成に対するテストステロン及びテストステロンの活性型である α -dihydrotestosterone (DHT) の作用及びその機序について解析した。10-15日齢ICRマウスの大腿骨及び脛骨を摘出し、骨幹端部と骨幹部組織を α -MEM培養液中で細切、遠心分離し、骨髄細胞及び骨由来細胞を含む上清画分を5日間培養し既存の破骨細胞の消失を確認後、各種物質存在下に一週間培養し酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色を行い3核以上のTRAP陽性多核細胞 (MNC) 数を計測した。テストステロンはPTH-(1-34)により促進されたTRAP陽性MNC形成を濃度依存性に阻害したが1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ により促進されたTRAP陽性MNC形成には影響を及ぼさなかった。アロマターゼによってエストロゲンには変換されず、またアンドロゲン受容体に強い親和性を持つDHTはPTH-(1-34)により促進されたTRAP陽性MNC形成を濃度依存性に阻害し、DHTのこの作用はテストステロンの作用よりも強力であった。次にテストステロンの破骨細胞形成抑制作用がエストロゲン受容体やアロマターゼを介するかどうかを検討するためにエストロゲン受容体の拮抗剤であるICI182780及びアロマターゼ阻害剤である4-androsten-4-ol-3, 17-dioneの効果をみたら、ICI182780は17 β -エストラジオールのPTHにより誘導されたTRAP陽性MNC形成への抑制作用を完全に阻害したが、テストステロンの作用には影響を及ぼさなかった。すな

わちテストステロンはエストロゲン受容体を介さない機序により、PTHにより促進された破骨細胞形成を抑制することが示唆された。さらに4-androsten-4-ol-3, 17-dioneはテストステロンのPTHにより促進されたTRAP陽性MNC形成抑制作用には影響を及ぼさなかったことより、テストステロンはアロマターゼを介さない機序によりPTHにより促進された破骨細胞形成を阻害すると考えられた。これらの成績より、テストステロンは全骨細胞において内因性エストロゲンの産生を介さずに、PTHにより促進された破骨細胞形成を抑制することが明らかになった。次にマウス全骨細胞においてテストステロンがアンドロゲン受容体を介して破骨細胞形成を抑制するかを、アンドロゲン受容体拮抗剤であるhydroxyflutamideで検討した。Hydroxyflutamideは、テストステロン及びDHTそれぞれのPTHにより促進されたTRAP陽性MNC形成抑制作用とともに阻害したことより、テストステロンの破骨細胞形成阻害作用にはアンドロゲン受容体が関与すると考えられた。

以上、本研究は、アンドロゲンの骨細胞に対する作用について、その作用がアロマターゼで変換されたエストロゲンの作用であるのか、それともアンドロゲン受容体に直接働いて発揮される作用であるのかを明らかにするために成された研究であるが、マウス全骨細胞系において、テストステロンはエストロゲンへの変換ではなくアンドロゲン受容体に直接働いて作用することを明らかにした価値ある知見の集積であると認める。よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。