

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18455

研究課題名（和文）骨の健康寿命の延伸につながるフードケミカルエピジェネティクス研究

研究課題名（英文）Food science based novel approach, food chemical epigenetics, toward prevention and treatment of osteoporosis

研究代表者

西川 恵三（Nishikawa, Keizo）

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任准教授（常勤）

研究者番号：30516290

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、破骨細胞分化の制御にかかわる新規エピジェネティック制御因子Ochdを同定した。破骨細胞特異的にOchdを欠損したマウスにおいては、有意な骨量増加ならびに破骨細胞数の減少が観察された。この結果から、Ochdは骨粗鬆症の創薬標的となることが期待される。そこで、Ochdに対して結合能をもつ候補化合物をin silico解析で探索した。そして、得られた候補化合物14種を用いて、破骨細胞分化に及ぼす効果を検討した。その結果、破骨細胞分化を顕著に阻害する効果をもつ化合物を3種、促進効果をもつ化合物を1種類同定することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

未曾有の超高齢化が進行しつつある我が国において、高齢者の健康寿命の延伸は喫緊の課題に挙げられる。本研究では、高齢者の身体的フレイルの要因となる骨粗鬆症に注目し、研究代表者が取り組むエピゲノム創薬と食品科学研究を融合したフードケミカルエピジェネティクスを活用することで、骨粗鬆症を予防するための候補化合物の同定に成功を収めたことから、今後当該化合物によって、骨粗鬆症を未病の段階で食い止める新たな予防法の開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we identified a novel epigenetic regulator Ochd involved in the regulation of osteoclast differentiation. A significant increase in bone mass and a decrease in the number of osteoclasts were observed in mice lacking osteoclast-specific Ochd. From these results, Ochd is expected to be a drug target for osteoporosis. Therefore, we searched for candidate compounds capable of binding to Ochd by in silico analysis. Then, using the obtained 14 candidate compounds, the effect on osteoclast differentiation was examined. As a result, we succeeded in identifying 3 kinds of compounds having an effect of significantly inhibiting osteoclast differentiation and 1 kind of compound having an promoting effect.

研究分野：生化学

キーワード：破骨細胞 骨芽細胞 エピジェネティクス フードケミカルエピジェネティクス 骨粗鬆症 機能性食品 運動器障害 食品化合物

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

未曾有の超高齢化が進行しつつある我が国において、高齢者の健康寿命の延伸は喫緊の課題に挙げられる。本研究では、高齢者の身体的フレイルにかかわる骨粗鬆症に注目する。骨は、破骨細胞によって古い部分が壊され、新しい骨が骨芽細胞によって形成されることで新陳代謝される組織である。骨粗鬆症とは、骨破壊が骨形成を上回ることで、骨量の低下を生じる病態である。本研究では、運動器障害の主な要因となる骨粗鬆症に注目し、新規の予防手段の開発に取り組む。これまで国内外では骨粗鬆症の創薬研究が精力的に取り組まれており、様々な候補治療薬が生み出されている一方で、申請者らも新薬の開発において先導的な役割を果たしてきた(*Science* 319, 624-7, 2008, *J.Clin.Invest.* 120, 3455-65, 2010)。このため、昨今では、骨粗鬆症治療薬の充足感が高まりつつある。これに対して、近年では、骨粗鬆症を未病の段階で食い止める予防法にも注目が集まっているが、効果的な方法が確立しているとは言い難い現状にある。

2. 研究の目的

骨粗鬆症をはじめとした多くの慢性疾患の発症・病態進行には、DNA やヒストンのメチル化修飾などで知られるエピゲノムの異常が深く関係する。従って、エピジェネティック制御を操作する小分子化合物を探索する「ケミカルエピジェネティクス」は、エピゲノムの異常を取り除くことで病態の改善につながる有効な創薬アプローチと考えられる。しかしながら、これまで骨代謝にかかわるエピジェネティック制御の実体やその創薬標的としての有用性については不明な点が多かった。これに対して、我々は、破骨細胞分化において DNA メチル化制御が重要な役割を担うことを見出し、破骨細胞のエピジェネティック制御の一端を世界に先駆けて解き明かした。さらに、Dnmt3a の酵素活性を阻害する化合物を紅茶成分から同定し、当該化合物が破骨細胞を抑制することで骨粗鬆症に対して治療効果をもつことを見出した(*Nature Med.* 21, 281-7, 2015)。このように食品化合物を利用したエピゲノム創薬は、骨粗鬆症の改善効果をもつ候補化合物の探索において有効なアプローチであるだけでなく、得られる化合物の安全性や毒性の観点からも優れたリード化合物を同定できる高い利点がある。本研究では、この「フードケミカルエピジェネティクス」を駆使することで、骨粗鬆症に対する新しい予防薬を探索することを目的とする。具体的には、破骨細胞で重要な役割をもつことを申請者が見出しているエピジェネティック制御因子 Ochn に注目する。Ochn に阻害効果をもつ食品化合物を探索することで、骨粗鬆症を予防する新たな手段の確立を目標に掲げる。

3. 研究の方法

以下の2点の研究計画を実施した。

(1)破骨細胞特異的に Ochn を欠損したマウスを作出することで、破骨細胞形成における Ochn の重要性を検討した。具体的には、Ochn2 ならびに Ochn3 遺伝子座に loxp 配列をもつ flox マウスと破骨細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウスの系統を交配し、破骨細胞特異的な遺伝子欠損マウス(Ochn2KO および Ochn3KO)を作出した。そして、当該マウスから大腿骨ならびに脛骨を摘出し、 μ CT や病理標本を用いることで、骨組織に対する形態学的影響を解析した。

(2) *in silico* 解析によって同定された Ochn に対して高い結合能をもつ候補化合物を用いて、破骨細胞分化に対する阻害効果を検討した。

4 . 研究成果

(1)破骨細胞特異的に Ochd を欠損したマウスの解析。

Ochd による骨代謝制御の是非を明らかにするために、*Ochd2* ならびに *Ochd3* 遺伝子座に loxp 配列をもつ flox マウスと破骨細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウスの系統を交配し、破骨細胞特異的な遺伝子欠損マウス *Ochd2*KO および *Ochd3*KO を作出した。しかしながら、*Ochd2*KO ならびに *Ochd3*KO マウスの骨量や破骨細胞数は、野生型コントロールと比較した場合においても大きな差は観察されなかった。これらの結果は、生体内における破骨細胞形成ならびに骨代謝に関して、破骨細胞内の *Ochd2* ならびに *Ochd3* は重要でないことが示唆される。一方で、*Ochd2* ならびに *Ochd3* は相同性が高く、互いの機能を代償する可能性が考えられる。そこで、次に、この可能性を検証するために、*Ochd2* と *Ochd3* の両方を欠損した二重欠損マウスの作出を行った。その結果、*Ochd2*KO;*Ochd3*Het および *Ochd2*Het;*Ochd3*KO マウスでは有意な骨量増加ならびに破骨細胞数の減少が観察された。さらに、*Ochd2*KO;*Ochd3*KO においては、重度の大理石骨病態を呈することが明らかとなった。これらの結果から、*Ochd2* と *Ochd3* は協調的に破骨細胞制御を担う重要な働きをもつことが示唆される。そして、*Ochd2* と *Ochd3* の両遺伝子の機能を抑制することで、顕著な骨量増加を生じることから、*Ochd* は破骨細胞の異常によって生じる骨粗鬆症の創薬標的になることが考えられる。

(2) Ochd を標的とした化合物探索

Ochd の立体構造情報をもとに候補ポケット(酵素活性部位)を探索し、天然化合物ライブラリー(1.5 万種)のドッキング計算・スコアリングによる *in silico* 解析を行った。そして、*Ochd* の内因性の基質である ケトグルタル酸とのドッキングスコアよりも優れた結合能を示した 14 種の化合物を用いて、破骨細胞分化に及ぼす効果を検討した。その結果、3 種の化合物に関しては破骨細胞分化を顕著に阻害する効果が観察されたのに対して、1 種類の化合物に関しては促進効果をもつことが明らかとなった。以上の結果から、*Ochd* を標的とする破骨細胞阻害効果をもつことが期待される、骨粗鬆症治療薬候補を 3 種類同定することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 3.Sakaguchi Y, Nishikawa K, Seno S, Matsuda H, Takayanagi H and Ishii M	4. 巻 14
2. 論文標題 Roles of enhancer RNAs in RANKL-induced osteoclast differentiation identified by genome wide cap analysis of gene expression using CRISPR/Cas9.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7504
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-25748-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 4.Baba M, Endoh M, Ma W, Toyama H, Hirayama A, Nishikawa K, Takubo K, Hano H, Hasumi H, Umamoto T, Hashimoto M, Irie N, Esumi C, Kataoka M, Nakagata N, Soga T, Yao M, Kamba T, Minami T, Ishii M and Suda T	4. 巻 33
2. 論文標題 Foliculin regulates osteoclastogenesis through metabolic regulation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 1785-98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jbmr.3477	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 西川恵三
2. 発表標題 破骨細胞の酸素生物学
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西川恵三
2. 発表標題 骨粗鬆症の改善を目指したフードケミカルエピジェネティクスの研究
3. 学会等名 第22回日本フードファクター学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishikawa K
2. 発表標題 Immunometabolism: role of metabolic reprogramming in osteoclastogenesis
3. 学会等名 15th Bone Biology Forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西川恵三
2. 発表標題 骨吸収マクロファージ「破骨細胞」における代謝制御の重要性
3. 学会等名 第37回日本炎症・再生医学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 榑崎綾子、西川恵三、吉原利忠、坂口怜子、飛田成史、森泰生、石井優
2. 発表標題 Quantification of oxygen tension in bone marrow using intravital two-photon phosphorescence lifetime imaging
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 榑崎綾子、西川恵三、吉原利忠、坂口怜子、飛田成史、森泰生、石井優
2. 発表標題 二光子リン光寿命イメージングを活用した骨髓内細胞における酸素分圧の定量解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----