

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：32403

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10060

研究課題名（和文）骨吸収抑制と骨形成促進作用を持つゲラニルゲラニオールの骨代謝疾患への有効性の検討

研究課題名（英文）Efficacy of geranylgeraniol, which inhibits bone resorption and promotes bone formation, in metabolic bone diseases

研究代表者

友村 美根子 (Tomomura, Mineko)

城西大学・薬学部・客員研究員

研究者番号：30217559

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：健康な骨は骨吸収を担う破骨細胞と骨形成を担う骨芽細胞の相反する機能のバランスの上に維持されている。加齢や炎症などにより破骨細胞が優位になると骨破壊が進み骨粗鬆症を引き起こす。我々はゲラニルゲラニオール（GGOH）が破骨細胞の分化は抑制するが、骨芽細胞の分化は促進することを見出した。本研究ではGGOHの骨代謝疾患への有効性についてさらに検討した。その結果、GGOHは卵巣摘出による骨粗鬆症モデルマウスにおける骨吸収を緩和した。また、型コラーゲン抗体とLPS投与による関節リウマチモデルマウスにおいて炎症性骨吸収を緩和した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢にともない骨粗鬆症に罹患する割合が高くなり、人々の健康や社会に影響を与えている。疾患成因に根差した予防や治療法が望まれている。培養細胞系を用いて抗炎症作用を持つGGOHは骨吸収を止めるだけでなく、同時に骨形成を促す有効的な天然化合物であることを示した。実際に骨粗鬆症や関節リウマチモデル動物を用いてGGOHの骨吸収抑制効果が観察され、GGOHの有効性が確認できた。今後、骨粗鬆症および関連する種々の代謝疾患の改善薬の開発に繋がる可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：Healthy bones are maintained on the balance between the conflicting functions of osteoclasts, which are responsible for bone resorption, and osteoblasts, which are responsible for bone formation. When osteoclasts become dominant due to aging or inflammation, bone destruction progresses, leading to osteoporosis. We found that geranylgeraniol (GGOH) inhibits osteoclast differentiation but promotes osteoblast differentiation. In this study, we further investigated the efficacy of GGOH in bone metabolism diseases. The results showed that GGOH alleviated bone resorption in a mouse model of osteoporosis induced by ovariectomy. GGOH also alleviated inflammatory bone resorption in a mouse model of rheumatoid arthritis treated with type II collagen antibody and LPS.

研究分野：生化学

キーワード：ゲラニルゲラニオール 骨粗鬆症 関節リウマチ 炎症 骨芽細胞 破骨細胞

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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

骨組織は間葉系幹細胞から分化する骨芽細胞と血球系幹細胞から分化する破骨細胞が連携して働き、骨の吸収と再生のバランスを保っている。そのバランスが崩れると骨粗鬆症などの骨疾患を招く。多くの内因性および外因性因子が関わり、破骨細胞や骨芽細胞のバランスを調節している。骨吸収が優位になって骨折のリスクが高くなる疾患は、閉経後骨粗鬆症だけでなく関節リウマチなどの慢性炎症、加齢（老化）や生活習慣病（糖尿病、脂質代謝異常症）、サルコペニア、アルツハイマー病にも多く併存することから、骨組織だけの問題ではなく全身の代謝との関係から捉えられるようになってきた。破骨細胞と骨芽細胞を制御するそれぞれのシグナル分子、転写因子が明らかになってきたが、両者のバランスを統合制御する分子メカニズムや全身の恒常性との関係はまだ明らかでない。また骨粗鬆症の治療薬は骨吸収を止める点にフォーカスされており、副作用も問題となっている。骨吸収抑制のみならず、同時に骨形成も促す治療薬の開発が期待される。

我々は培養細胞を用いて破骨細胞の分化を抑制する天然化合物の探索過程でゲラニルゲラニオール(GGOH)が破骨細胞の分化を抑制するが骨芽細胞の分化は促進することを見出した。GGOHはジテルペンアルコールの1種で植物油に含まれるが、生体ではメバロン酸代謝のイソプレノイド合成経路からも産生される。またビタミンK2の側鎖構造体である。GGOHの骨代謝におけるアナボリックな役割が期待されるが、詳細は不明である。

## 2. 研究の目的

我々は培養細胞を用いてGGOHが破骨細胞の分化マーカーの遺伝子発現を抑制すること、および骨芽細胞の分化マーカーの遺伝子発現を促進することを見出した。本研究ではそのメカニズムについて検討する。以上の実験は培養細胞を用いた結果である。実際にGGOHがin vivoでの骨吸収を抑えるかどうか、閉経後骨粗鬆症もモデルマウスと関節リウマチモデルマウスを作製し、GGOHの有効性を確かめる。

## 3. 研究の方法

### (1) 核内受容体解析

各種核内受容体のアゴニスト、アンタゴニストを用いてGGOHの効果がどのように影響をうけるか培養細胞を用いて検討する。骨芽細胞の分化は生後1日齢のマウスの頭蓋骨から調製した骨芽前駆細胞をチャコール処理済み血清下でアスコルビン酸(50 µg/mL)とグリセロリン酸(10 mM)を添加培養後、アルカリホスファターゼ(ALP)活性染色で分化を評価した。破骨細胞の分化は単離したマウス骨髄細胞(BMC)にM-CSF(10 ng/mL)を加え3日間培養したマクロファージ(BMM)に、RANKL(10 ng/mL)を添加して酒石酸耐性酸ホスファターゼ(TRAP)活性で分化誘導を評価した。

### (2) 閉経後骨粗鬆症モデルマウス

卵巣摘出(OVX)により女性ホルモンを欠乏させ骨塩減少モデルマウスを作製する。野生型マウス、OVXマウスに無投与あるいは2濃度(10 mg, 30 mg/kg 体重)のGGOHを2週間隔日腹腔投与し大腿骨をµCTで解析する。

### (3) 関節リウマチモデルマウス(炎症性骨吸収モデル)

野生型DBA/1マウスにII型コラーゲン抗体カクテル(2 mg)を腹腔投与し3日目にLPS(50 µg)を追加投与する。GGOHは2種類の濃度で抗体投与時から2週間隔日投与を行い、2週目の関節をµCT解析する。

## 4. 研究成果

### (1) 核内受容体解析

GGOHによる骨芽細胞分化促進作用はFXRのアнтаゴニストであるguggulsteroneでキャンセルされた。一方、FXRのアゴニストGW4064はGGOHの促進効果をミミックすることから、GGOHの骨芽細胞分化促進作用にFXR核内受容体の関与が示唆された。一方、GGOHによる破骨細胞の分化抑制作用はLXRのアнтаゴニスト5cpps-50でキャンセルされ、アゴニストGW3965は破骨細胞の分化を抑制することから、GGOHの破骨細胞分化抑制にLXRの関与が示唆された。プロモーターアッセイ等を用いてさらなる検討が必要である。

### (2) 閉経後骨粗鬆症モデルマウスを用いた解析

閉経後骨粗鬆症モデルマウスを作製し、GGOHの骨吸収抑制効果について検討した。閉経後骨粗鬆症モデルマウスは両側卵巣摘出(OVX)により作製し、GGOHは摘出後2日目から1日置きにGGOHを3週間腹腔(50 mg/kg BW)に投与した。マイクロCTを用いて大腿骨の形態、骨量を計測した(図1)。OVX群はsham control(偽手術)群に対して骨密度(BV/TV: %), 骨梁数(Tb.N: 1/mm), 骨梁幅(Tb.Th: mm)は優位に低値を示すが、GGOH投与により、緩和された。一方、骨表面積/体積比(BS/TV: 1/mm), 骨量間隙(Tb.Sp: mm)は、OVX群はsham control群に対して優位に高値を示すが、GGOH投与により低下した。グラニルグラニオールは卵巣摘出による骨吸収の低下を抑制し、閉経後骨粗鬆症に有効である可能性が示唆された。

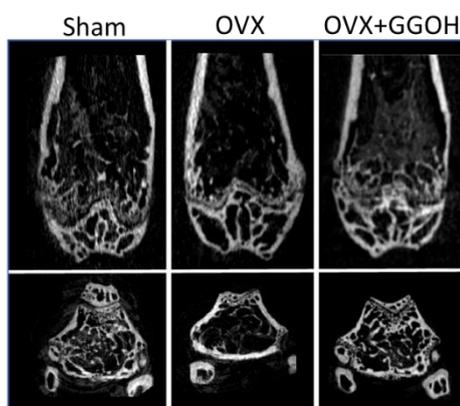


図1 OVXマウスの大腿骨遠位端のμCT画像

### (3) 関節リウマチモデルマウスを用いた解析

関節リウマチは自己免疫性炎症性疾患で、関節軟骨と骨を破壊する。GGOHが炎症性骨吸収においても効果があるかどうか、関節リウマチモデルマウスを作製してGGOHの効果を検討した。野生型DBA/1マウスにII型コラーゲン抗体カクテル(2 mg)を腹腔投与し3日目にLPS(50 μg)を追加投与した。GGOHは2種類の濃度で抗体投与時から2週間、隔日投与を行い、最後にμCTを用いて関節の腫脹について計測した。2型コラーゲン抗体とLPS投与群において明らかに前肢後肢の関節の発赤、腫脹が観察され関節炎症が誘導された。一方、GGOH投与群においては、これらの関節炎スコア(四肢の腫れ)が減少し(図2)、マイクロCT解析においても関節部の肥大や骨びらん構造の低減がみられたことから、GGOHのin vivoにおける炎症性骨吸収抑制効果が確認できた。



図2 関節リウマチマウスの後足の画像

これらの結果からGGOHはin vivoにおいてもエストロゲン枯渇による骨粗鬆症や関節リウマチの炎症性骨吸収を緩和し、創薬ターゲットとしてのポテンシャルを持つことが示された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Suzuki R, Shirataki Y, Tomomura A, Bandow K, Sakagami H, Tomomura M	4. 巻 12
2. 論文標題 Isolation of Pro-Osteogenic Compounds from Euptelea polyandra That Reciprocally Regulate Osteoblast and Osteoclast Differentiation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms242417479	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 Tagawa Y, Sakagami H, Tanuma SI, Amano S, Uota S, Bandow K, Tomomura M, Uesawa Y, Takao K, Sugita Y, Yamamoto N, Sakashita H, Nakakaji R, Koizumi T, Mitsudo K, Tohnai I.	4. 巻 43
2. 論文標題 Potentiation of Anticancer Activity of G2/M Blockers by Mild Hyperthermia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 3429-3439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.16619.	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 -
1. 著者名 Komaki K, Takano T, Sato Y, Asada A, Ikeda S, Yamada K, Wei R, Huo A, Fukuchi A, Saito T, Ando K, Murayama S, Araki W, Kametani F, Hasegawa M, Iwatsubo T, Tomomura M, Fukuda M, Hisanaga SI.	4. 巻 170
2. 論文標題 Lemur tail kinase 1 (LMTK1) regulates the endosomal localization of $\gamma$ -secretase BACE1.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Biochem.	6. 最初と最後の頁 729-738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab152.	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 -
1. 著者名 1. Tomomura A, Bandow K, Tomomura M	4. 巻 8
2. 論文標題 Purification and Biological Function of Caldecrin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicines	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/medicines8080041	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 高橋美由紀、友村美根子、久永眞市	4. 巻 93
2. 論文標題 エンドソーム結合性プロテインキナーゼLMTK1によるRab11活性制御と神経機能	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 765-769
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Takahashi M, Sugiyama A, Wei R, Kobayashi S, Fukuda K, Nishino H, Takahashi R, Tsutsumi K, Kita I, Ando K, Manabe T, Kamiguchi H, Tomomura M, Hisanaga SI	4. 巻 10
2. 論文標題 Hyperactive and impulsive behaviors of LMTK1 knockout mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-72304-z.	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 Hisanaga SI, Wei R, Huo A, Tomomura M.	4. 巻 13
2. 論文標題 LMTK1, a Novel Modulator of Endosomal Trafficking in Neurons.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Mol Neurosci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnmol.2020.00112.	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 Bandow K, Hasegawa H, Tomomura M, Tomomura A.	4. 巻 523
2. 論文標題 Caldecrin inhibits lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokines and M1 macrophage polarization through the immunoreceptor triggering receptor expressed in myeloid cells-2.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 1027-1033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.01.045	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 -

1. 著者名 Nakaya G, Sakagami H, Koga-Ogawa Y, Shiroto A, Nobesawa T, Ueda D, Nakatani S, Kobata K, Iijima Y, Tone S, Debit-Gonzalez R, Garcia-Contreras R, Tomomura M, Kito S, Tamura N, Takeshima H	4. 巻 34
2. 論文標題 Augmentation of Neurotoxicity of Anticancer Drugs by X-Ray Irradiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 in vivo	6. 最初と最後の頁 1009-1016
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.11869	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 -

1. 著者名 Wei R, Sugiyama A, Sato Y, Nozumi M, Nishino H, Takahashi M, Saito T, Ando K, Fukuda M, Tomomura M, Igarashi M, Hisanaga SI.	4. 巻 168
2. 論文標題 Isoform-dependent subcellular localization of LMTK1A and LMTK1B and their roles in axon outgrowth and spine formation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Biochem.	6. 最初と最後の頁 23-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa019.	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 -

1. 著者名 Takao K, Hoshi K, Sakagami H, Shi H, Bandow K, Nagai J, Uesawa Y, Tomomura A, Tomomura M, Sugita Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 Further Quantitative Structure-Cytotoxicity Relationship Analysis of 3-Styrylchromones.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 87-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13929	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 -

1. 著者名 Takao K, Hoshi K, Sakagami H, Shi H, Bandow K, Nagai J, Uesawa Y, Tomomura A, Tomomura M, Sugita Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 Further Quantitative Structure-Cytotoxicity Relationship Analysis of 3-Styrylchromones.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 87-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13929	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 -

1. 著者名 Uesawa Y, Nagai J, Shi H, Sakagami H, Bandow K, Tomomura A, Tomomura M, Endo S, Takao K, Sugita Y.	4. 巻 39
2. 論文標題 Quantitative Structure-Cytotoxicity Relationship of 2-Styrylchromones.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 6489-6498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13863.	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 -

1. 著者名 Nagai J, Shi H, Sezaki N, Yoshida N, Bandow K, Uesawa Y, Sakagami H, Tomomura M, Tomomura A, Takao K, Sugita Y.	4. 巻 39
2. 論文標題 Quantitative Structure-Cytotoxicity Relationship of 2-Arylazolylchromones and 2-Triazolylchromones.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 6479-6488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13862.	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 -

1. 著者名 Nishino H, Saito T, Wei R, Takano T, Tsutsumi K, Taniguchi M, Ando K, Tomomura M, Fukuda M, Hisanaga SI.	4. 巻 39
2. 論文標題 The LMTK1-TBC1D9B-Rab11A Cascade Regulates Dendritic Spine Formation via Endosome Trafficking.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurosci.	6. 最初と最後の頁 9491-9502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.3209-18.	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 -

1. 著者名 Imanari K, Hashimoto M, Wakabayashi H, Okudaira N, Bandow K, Nagai J, Tomomura M, Tomomura A, Uesawa Y, Sakagami H.	4. 巻 39
2. 論文標題 Quantitative Structure- Cytotoxicity Relationship of Azulene Amide Derivatives.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 3507-3518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13497.	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 -

1. 著者名 Suzuki R, Fukami S, Tomomura M, Tomomura A, Shirataki Y.	4. 巻 73
2. 論文標題 Screening for natural medicines effective for the treatment of osteoporosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Nat Med.	6. 最初と最後の頁 331-337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-018-1258-y.	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 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Mineko Tomomura
2. 発表標題 My encounter with LMTK1/AATYK and its characterization
3. 学会等名 1st LMTK International Virtual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田川裕也、坂上宏、天野滋、友村美根子、坂東健二郎、高尾浩一、杉田義昭、植沢芳広、山本信治、坂下英明、中鍛治里奈、小泉敏之、光藤健司、藤内祝
2. 発表標題 ヒト口腔扁平上皮がん細胞に対する抗がん剤および過酸化水素とマイルドハイパーサーミアの併用効果.
3. 学会等名 第38回日本ハイパーサーミア学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 魏冉、西野尋紀、佐藤勇太、杉山亜梨華、高橋美由紀、浅田明子、福田光則、五十嵐道弘、友村美根子、久永真市
2. 発表標題 脳に高発現するキナーゼLMTKのアイソフォーム依存的な機能解析
3. 学会等名 第63回日本神経化学学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takahashi M, Takahashi R, Sugiyama A, Kobayashi S, Fukuda K, Nishino H, Wei R, Kita I, Ando K, Manabe T, Kamiguchi H, Tomomura M, Hisanaga S.
2. 発表標題 Hyperactive and impulsive behaviors of LMTK1 knockout mice.
3. 学会等名 第63回日本神経化学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂上 宏、史海霞、植沢芳広、永井純、友村明人、坂東健二郎、友村美根子、星 かわり、高尾浩一、杉田義昭
2. 発表標題 新規3-スチルクロモン誘導体のヒト口腔扁平上皮癌細胞に対する構造-選択毒性相関
3. 学会等名 第93回日本薬理学会（横浜）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 友村美根子、坂東健次郎、鈴木龍一郎、坂上宏、友村明人
2. 発表標題 ゲラニルゲラニオールは骨粗鬆症の進行を抑える
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 友村美根子	4. 発行年 2019年
2. 出版社 北陸館	5. 総ページ数 3
3. 書名 Precision Medicine	

1. 著者名 Mineko Tomomura	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Science Impact Ltd	5. 総ページ数 3
3. 書名 Impact	

〔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
研究分担者	友村 明人  (Tomomura Akito)  (60188810)	明海大学・歯学部・名誉教授   (32404)	
研究分担者	鈴木 龍一郎  (Suzuki Ryuichiro)  (20415201)	城西大学・薬学部・教授   (32403)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------