

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 9 月 16 日現在

機関番号：21102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700805

研究課題名(和文)骨免疫学的アプローチによる骨形成を促進する食品成分の探索

研究課題名(英文)Using Osteoimmunology, the search for food compounds which promote bone formation

## 研究代表者

乗鞍 敏夫(Toshio, Norikura)

青森県立保健大学・健康科学部・講師

研究者番号：40468111

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：正常な強度を持った健康な骨組織は、骨形成と骨吸収がバランス良く行われて維持される。骨を作る細胞が骨芽細胞であり、骨を分解する細胞が破骨細胞である。骨代謝と免疫の密接な関連が明らかとされ、新たな融合領域である骨免疫学が開拓された。本研究は抗アレルギー活性を有する食品成分から、骨形成の促進効果を見出すことである。骨芽細胞への分化を促進する2種類の食品成分を見出すことができた。また、糖尿病性骨粗鬆症のスクリーニングモデルを、メイラード反応産物による骨芽細胞の細胞死を指標として構築することができた。

研究成果の概要(英文)：Healthy bone tissue is maintained by the harmony of bone formation and bone absorption. Bone formation is carried out by osteoblasts. On the other hand, bone resorption is carried out by osteoclasts. Closely related metabolism and immunity is evident, osteoimmunology was pioneered is a new fusion region. The purpose of this study is to find food compounds having an effect of promoting bone formation from the food compound having anti-allergic activities. We found two types of food ingredients that promote the differentiation into osteoblasts. We constructed experimental conditions to examine the effects of suppressing osteoporosis caused by diabetes.

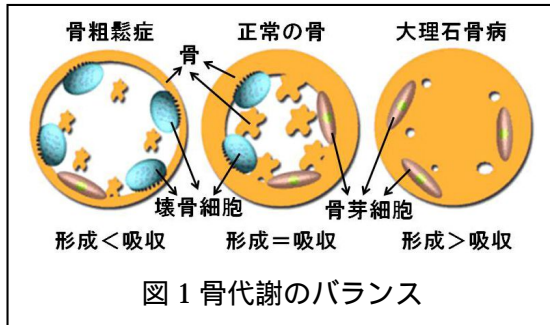
研究分野：食品学、栄養学

キーワード：骨免疫学 骨芽細胞 食品成分

1. 研究開始当初の背景

【骨粗鬆症】

- 正常な強度を持った健康な骨組織は、骨形成と骨吸収がバランス良く行われて維持される。**骨を作る細胞が骨芽細胞**であり、**骨を分解する細胞が破骨細胞**である。骨の吸収が形成よりも上回り、骨量が減少した状態が骨粗鬆症である(図1)。



- 骨粗鬆症は、自覚症状が少ないため治療を受けているのは約2割であり、**大多数が潜在的な疾患患者**である<sup>1)</sup>。潜在的な疾患患者は**医薬品による治療を受けない**ため、日常の食生活で骨代謝のバランスを正常に保つことができれば、骨粗鬆症の予防が期待できる。

【骨粗鬆症の対策】

- 骨粗鬆症の対策は、いかに骨吸収を抑制し、骨形成を促進させるかがターゲットであるため、骨吸収を担う**破骨細胞の働きを抑え**、骨形成を担う**骨芽細胞の働きを促進させる**ことで、骨量の減少を抑えることが重要である。
- 医薬品では、骨吸収の抑制薬(ビスフォスフォネート製剤・SERM製剤)がこれまで用いられてきたが、近年(2010年)**骨形成の促進薬**(副甲状腺ホルモン製剤)が国内で認可された。
- 機能性食品では、イソフラボン(ゲニステイン、ダイゼイン)に代表されるように、エストロゲン様の生理作用を持つ物質(植物エストロゲン)の**骨吸収の抑制効果が中心**に研究・開発がすすめられてきたため、骨形成の促進作用に関する研究はまだまだ十分に行われておらず、**骨形成の促進をターゲット**とした食品の開発が期待されている。

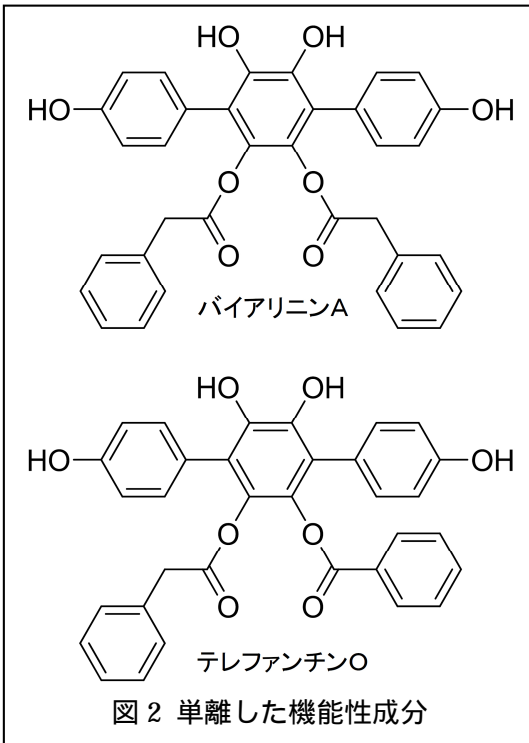
【骨免疫学】

- 骨代謝学と免疫学は、運動機能と生体防御という異なる役割を担う組織を対象とするため、独立した分野として発展してきたが、サイトカイン、転写因子、細胞膜レセプターなど**多くの制御因子を共有**することが明らかとされ、新たな融合領域である**骨免疫学**が開拓された。

- **アレルギー症状**や炎症反応を引き起こす**炎症系サイトカイン**は、骨芽細胞の**細胞死の誘導**と骨芽細胞への**分化を抑制**することで、**骨形成を減少**させることが報告されている。
- 機能性食品は、生体内で様々な機能性を併せ持つことがあり、レスベラトロール(赤ワインの機能性成分)は、抗アレルギー作用と骨芽細胞への分化促進作用を持つことが報告されている。

抗アレルギー作用を持つ食品には、骨代謝でも炎症系サイトカインの作用を抑制する食品があり、これらの食品には骨形成を促進するものが潜んでいるのではないだろうか?

- 申請者は、食用キノコであるボタンイボタケからテレファンチンO(新規物質)とバイアリニンAを単離/同定した(図2)。バイアリニンAは、**免疫抑制薬よりも強い抗アレルギー作用**が報告されている。



- 申請者は、慢性アルコール疾患ラットにバイアリニンAを経口投与する動物実験を行った。バイアリニンAは、アルコール性肝障害を改善する有意な効果が認められなかったが、**ラットの活動量の減少を抑制**するという新たな知見を得た(未発表)。なお、慢性アルコール疾患ラットは、骨代謝に異常を生じることが報告されている。

- 申請者は、慢性アルコール疾患ラットにバイアリニンAを経口投与する動物実験を行った。バイアリニンAは、アルコール性肝障害を改善する有意な効果が認められなかったが、**ラットの活動量の減少を抑制する**という新たな知見を得た。なお、慢性アルコール疾患ラットは、骨代謝に異常を生じることが報告されている。

**抗アレルギー作用があるバイアリニンAは、慢性アルコール疾患ラットの骨量減少を抑制することで、活動量を改善したのではないだろうか？**

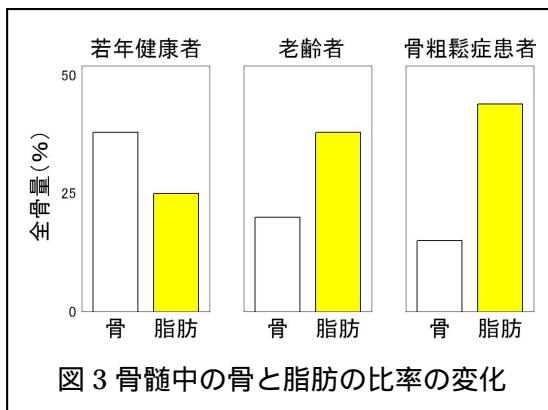
## 2. 研究の目的

抗体アレルギー作用が報告されている食品成分から骨形成の促進という新たな機能性を発掘することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### 【骨芽細胞への分化誘導の評価】

老齢者や骨粗鬆症の患者の骨髄は、脂肪組織に富んだ骨髄となっており、それと並行して骨量が減少する。つまり、**骨と脂肪の総量はほぼ一定**であるが、その**比率が変化**している。間葉系細胞は、骨芽細胞と脂肪細胞のどちらにも分化する細胞である(図3)。



つまり、**間葉系細胞が骨芽細胞と脂肪細胞のどちらへ分化するのか？**というスイッチの変化が、骨量の減少に深く関係している。そこで、本研究はマウス頭蓋骨由来細胞株(MC3T3-E1細胞)の骨芽細胞への分化を促進する食品成分の機能性を評価した。分化の指標として、ALP活性およびアリザリンレッド染色によるカルシウムの沈着を指標とした。

実験に用いたMC3T3-E1細胞は、理科学研究所バイオリソースセンターから譲渡頂い

た。食品サンプルは、分化誘導培地(グリセロリン酸、アスコルビン酸)に添加した。

### 【糖尿病性の骨粗鬆症モデルの構築】

糖化したたんぱく質は、骨芽細胞の細胞死を誘導することが近年注目されている。そこで、9週間のメイラード反応で作成したBSAを分化誘導培地に添加したところ、細胞死および骨芽細胞の分化抑制が認められた。この糖尿病性の骨粗鬆症モデルを用いて、食品サンプルの骨形成促進作用を評価した。

### 【骨芽細胞の細胞死を抑制する食品成分の評価】

アレルギーや免疫疾患では、免疫応答細胞から**炎症系サイトカイン**が分泌され、アレルギー症状や炎症反応を引き起こすことが知られている。また、肥満状態の脂肪細胞から分泌される炎症系サイトカインは、糖尿病、高血圧、脂質異常症のみならず、**骨粗鬆症**を引き起こすことが報告されている。本研究は、炎症系サイトカインであるTNF- $\alpha$ が誘導するMC3T3-E1細胞の細胞死を抑制する食品成分の評価を試みた。しかし、TNF- $\alpha$ 添加による細胞死が顕著に認められなかったことから、本評価系を用いた食品成分の機能性評価を中止した。

## 4. 研究成果

### 【骨芽細胞への分化誘導の評価】

食品成分(抽出物も含む)の骨芽細胞の分化誘導を評価したところ、2種類の食品成分に骨芽細胞の分化誘導の促進効果が認められた。現在、この効果の作用メカニズムおよび動物実験を用いた評価を検討中である。

### 【糖尿病性の骨粗鬆症モデルの構築】

糖化したたんぱく質(BSA)を用いて、骨芽細胞の細胞死および分化抑制をする骨粗鬆症モデルを構築することができた。この実験モデルを用いて食品成分(抽出物も含む)を用いて、糖尿病性の骨粗鬆症を抑制する食品成分を探索しているが、未だに有効な食品成分は見いだせていない。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

**T. Norikura**, K. Fujiwara, T. Yanai, Y. Sano, T. Sato, T. Tsunoda, K. Kushibe, A. Todate, Y. Morinaga, K. Iwai, H. Matsue, p-Terphenyl Derivatives from the Mushroom *Thelephora aurantiotincta* Suppress the Proliferation of Human Hepatocellular Carcinoma Cells via Iron Chelation., **J. Agri. Food Chem.**, 61, 1258-1264, (2013)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

乗鞍 敏夫(Toshio Norikura)

青森県立保健大学・健康科学部・講師

研究者番号: 40468111

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし