

## 令和2年度豆類振興事業調査研究（雑豆需要促進研究）成果概要

1. 課題名：小豆色素による骨折・骨粗しょう症予防効果の検討

2. 九州歯科大学： 教授 古株 彰一郎

3. 成果概要：

1) 研究目的：

骨組織では骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収が絶えず行われ、骨吸収が骨形成を相対的に上回ることによって骨粗しょう症などの病態が形成される。そのため、破骨細胞による骨吸収を抑制するか、骨芽細胞による骨形成を促進することが骨粗しょう症の予防や治療の戦略となる。

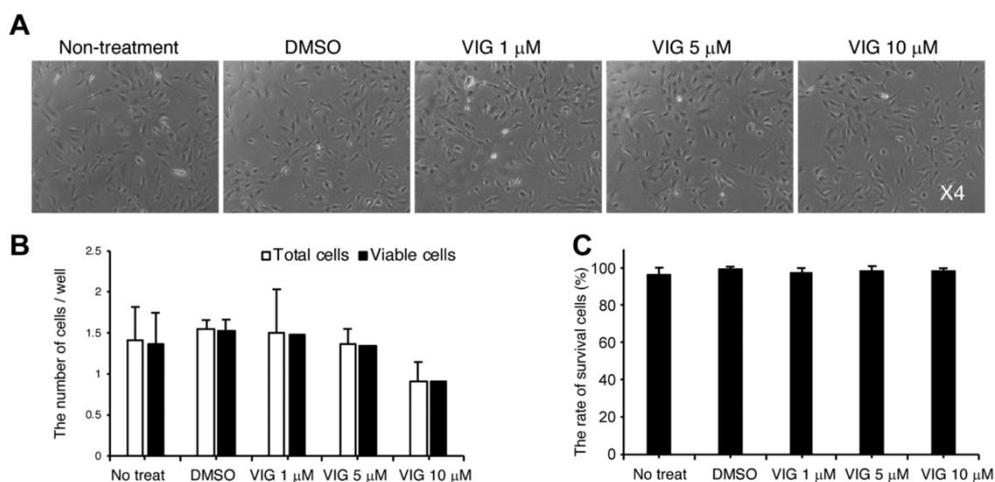
骨粗しょう症はその罹患率の高さや病態を考えれば、高血圧症や糖尿病などの生活習慣病と同様に高価な薬剤ではなく、健全な食生活を基本とし、時に運動療法などを併用した予防法が望ましい。食品成分のフラボノイド類の中には骨に作用するものの存在が知られる。例えば、ぶどうなどに含まれる Myricetin はヒトの骨芽細胞分化を促進し、炎症によるアポトーシスから保護する作用を持つ。多くの種類のフラボノイドを含むザクロの絞り汁を骨粗しょう症ラットに摂取すると、骨量減少が抑制される。

応募者らはこれまでに小豆に含まれるフラボノイドに注目し、小豆の皮から紫色素を単離し、新規のシアニジ-カテキン複合体を見出し、Vignacyanidin (VIG) と名付けた。

そこで本研究では培養骨芽細胞と間葉系幹細胞を用いて骨芽細胞分化に対する VIG の効果を検討することとした。

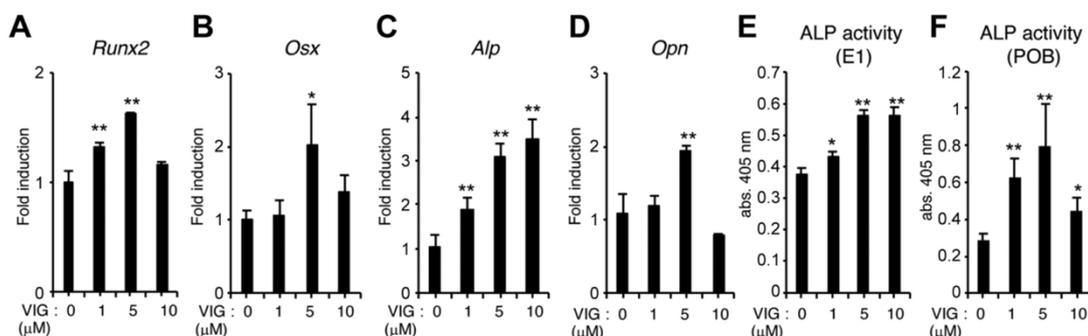
2) 研究方法および結果：

### (1) 小豆色素 Vignacyanidin の細胞毒性試験 (図1)



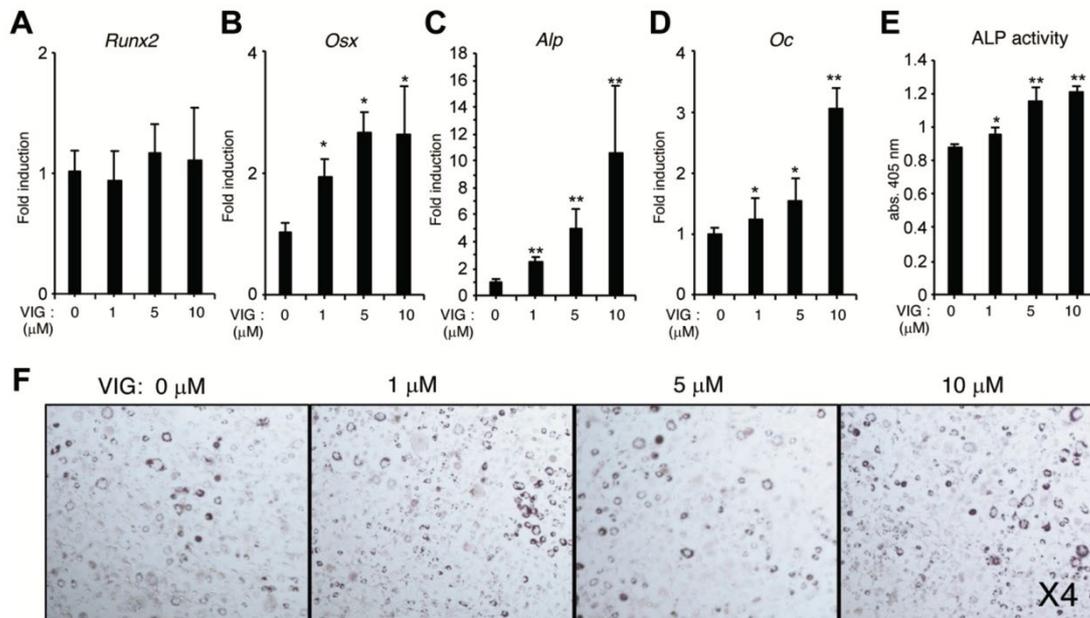
小豆色素 Vignacyanidin (VIG) を DEMO に溶いて使用した。マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞を用いて試験を行った。10  $\mu\text{M}$  の濃度まで、細胞の形態や細胞の生存に Vignacyanidin は有意な影響を与えなかった。

### (2) Vignacyanidin の骨芽細胞における分化に対する効果の検討(図2)



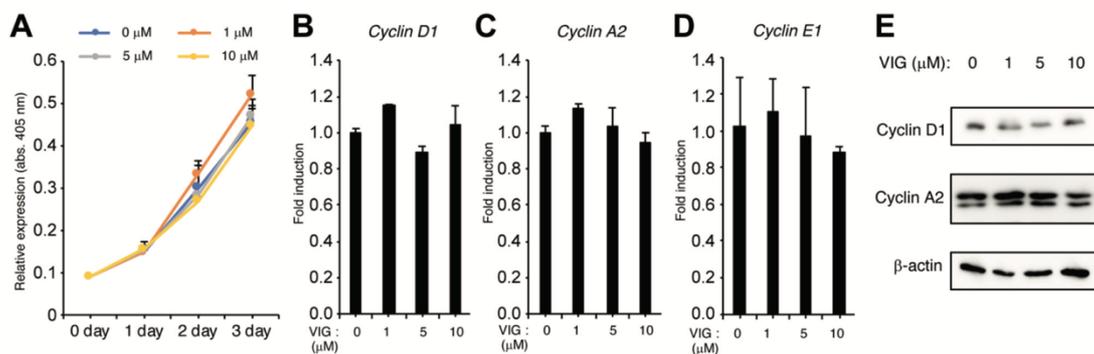
MC3T3-E1 細胞と新生仔マウス頭蓋骨から採取した骨芽細胞を用いて試験を行った。Vignacyanidin(VIG)は濃度依存的に骨芽細胞分化マーカーの ALP 活性ならびに Runx2, Osx, Alp, Opn の mRNA 量を増加させた。すなわち、VIG は骨芽細胞の分化を誘導することが明らかとなった。

### (3) Vignacyanidin の間葉系幹細胞の骨芽細胞および脂肪細胞分化に対する効果の検討(図3)



マウス間葉系幹細胞株 W20-17 細胞を用いて試験を行った。骨芽細胞と同様に Vignacyanidin(VIG)は BMP が誘導する Osx, Alp, Oc の mRNA ならびに ALP 活性を濃度依存的に促進した。しかしながら、VIG は脂肪細胞分化には影響をあたえなかった。

#### (4) Vignacyanidin の骨芽細胞における増殖に対する効果の検討(図4)



マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞を用いて試験を行った。WST アッセイで検討したところ、Vignacyanidin(VIG)は生細胞数に影響を与えず、同様に細胞周期に関連する CyclinD1, CyclinA2, CyclinE1 などの発現量に影響を与えなかった。すなわち、VIG は骨芽細胞の細胞増殖に影響を与えないことがわかった。

#### 3) 研究成果：

小豆色素である Vignacyanidin は骨芽細胞分化を強力に促進することが明らかとなり、骨形成ひいては骨粗しょう症の予防に効果的である可能性が示唆された。今後、骨粗しょう症予防に対する Vignacyanidin さらに小豆の効果を示すエビデンスが集積されれば、小豆の需要が劇的に促進すると考えられる。