

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第2分野

生体機能調節等の解明に関する研究

目 次

文献No	課題番号			
20000937A	21008	血管壁細胞の抗血栓性機能の制御機構の解明と新規抗血栓薬の開発	加藤 久雄	1
938A	21019	組織内脂肪蓄積の予防及びGLUT4の発現増加を目指したインスリン抵抗性治療法の研究	江崎 治	14
939A	21045	慢性呼吸器疾患の発症機構の解明と医療への応用	斎藤 博久	18
940A	21052	閉経後骨粗鬆症の発症機構の解明とその予防と治療薬に関する研究	宮浦 千里	25
942A	21067	細菌感染に関与する病原遺伝子の発現機構の解明とその制御法の開発	渡辺 治雄	33
943A	21073	脳循環障害による神経細胞死の発症機序の解析と治療法の開発	内村 英幸	38
944A	21079	疾患モデルマウスを用いたβ-ガラクトシドシスの病態解析と治療への応用	松田潤一郎	46
945A	21081	精神疾患の分子メカニズムの解明と新しい診断・治療法の開発への応用	西川 徹	53
946A	21086	新しい生体防御調節物質の機能と作用の解析	鈴木 和男	60
948A	21089	感染症が誘発する自己免疫疾患病態の解明とその医療への応用に関する研究	大川原明子	68
949A	21092	生体膜脂質を介する細胞機能調節機構の解明とその医療への応用	西島 正弘	80
950A	21096	免疫・内分泌系による神経系の障害機構の解明とその制御	田平 武	88
951A	21102	移植免疫寛容とマイクロキメリズムに関する基礎的研究	木村 廣光	92
952A	21104	G蛋白質共役型受容体の個体レベルでのゲノム機能評価	辻本 豪三	98
953A	21107	難治性腎疾患の病態解明と医療への応用に関する研究	藤本純一郎	111
954A	21110	食細胞による感染防御機構の解明と医療への応用	綱脇 祥子	118
955A	21121	抗酸化機能調節に及ぼす運動と栄養の影響に関する研究	樋口 満	126
956A	21130	神経変性疾患における神経細胞死の分子機構の解析	桃井 隆	134
957A	21142	C型肝炎ウイルスに対するインターフェロン(IFN)の治療効果を増強する新薬の開発研究	小長谷昌功	144
958A	21150	グリア細胞の機能調節による神経疾患治療法の開発	高坂 新一	149
959A	21166	新規破骨細胞形成抑制因子(OCIF)とそのリガンドである破骨細胞分化因子(ODF)の生理的役割の解明と医療への応用	高橋 直之	160
960A	21177	コレステロール代謝・動脈硬化関連遺伝子の発現調節因子の検索	松本 明世	167
961A	21179	血圧調節物質・動脈硬化起因物質などに関する分子生物学的、生化学的研究	南野 直人	178
964A	21215	アトピー性皮膚炎自然発症(NC)マウスを用いた皮膚掻痒症の発症機序の解明と新規治療薬の創製	廣田 直美	183
965A	21224	ヒト血液細胞情報伝達の解明とオリゴヌクレオチドを用いた治療法の開発	湯尾 明	193
966A	21225	癌化とウイルス感染を制御する細胞内情報伝達分子を標的とする薬剤の探索	松田 道行	200

20000969A	21228	細胞内シグナル伝達の解明による創薬シーズの探索	上原 至雅	……	204
968A	21234	スフィンゴ脂質の情報伝達の研究と抗血栓症薬開発	望月 直樹	……	208
969A	21279	中枢神経系におけるATP受容体の機能の解析と医療への応用	井上 和秀	……	213
941A	22055	宿主の防御機能動態と感染機構の解明と医療への応用	高津 聖志	……	221
949A	22088	ビタミンE欠乏性脊髄小脳失調症の病態解明と治療法の確立に関する研究	水澤 英洋	……	228
962A	22183	炎症・アレルギー性疾患の発症機構の解明と医療への応用	清水 孝雄	……	233
963A	22194	コレステロール代謝を標的とした抗動脈硬化薬開発のための基盤研究	新井 洋由	……	237

閉経後骨粗鬆症の発症機構の解明とその予防と治療薬に関する研究

所 属 東京薬科大学薬学部第一生化学教室
研究者 宮浦千里

分担研究者

石見 佳子 国立健康・栄養研究所 食品科学部
久保田 直樹 中外製薬（株）創薬第二研究所

要旨： 骨粗鬆症モデル動物として卵巣摘出動物が汎用されているが、エストロゲンの卵巣外産生は無視できない。そこで、エストロゲン合成酵素（アロマターゼ）ノックアウトマウスの骨組織を解析した。アロマターゼノックアウトマウスは雌雄共に骨粗鬆症を発症した。老人性骨粗鬆症モデルであるSAMP6マウスに植物性エストロゲンであるゲニステインを投与したところ骨量減少が回復した。ゲニステインは骨組織に対し、皮下投与のみならず経口投与でも有効性を示す。

1. 研究目的

エストロゲンが欠乏すると骨吸収が亢進し骨量減少に至る。我々は、閉経後骨粗鬆症のモデル動物である卵巣摘出（OVX）マウスを用い、骨吸収の亢進と共に骨髄造血が亢進し、プレBリンパ球が蓄積することを報告してきた。また、OVXマウスにラロキシフェンや植物性エストロゲン（ゲニステイン）を投与すると骨量減少と骨髄Bリンパ球造血が正常化することも明らかとした。女性に発症する骨粗鬆症はエストロゲンの欠乏に起因することが明らかとなっているが、男性において発症する骨粗鬆症の原因は男性ホルモンの低下によるのか、あるいは男性ホルモンの低下によって生ずる2次的な女性ホルモンの欠乏に起因するかは不明である。また、閉経により卵巣機能が低下するとエストロゲン分泌が低下してエストロゲン欠乏となるが、脂肪組織など卵巣以外の組織で産生されるエストロゲンは無視できず、本症の発症のリスクを左右すると考えられる。これらの問題を考えるにあたり、エストロゲン合成酵素（アロマターゼ）に着目することが必須である。エストロゲンはアンドロゲンよりアロマターゼによって合成される。アロマターゼは卵巣のみならず、精巣などの男性生殖器、脂肪組織、肝臓、副腎、皮膚などの末梢組織にも存在する。最近、アロマターゼ遺伝子を欠失させたアロマターゼノックアウト(-/-)マウスが作製され、生殖異常が報告されている。そこで、本研究では、アロマターゼノックアウト(-/-)マウスを用い、エストロゲン欠乏が骨代謝に及ぼす影響を雌雄のマウスについて調べ、女性のみならず男性の骨粗鬆症におけるエストロゲンの重要性を解析した。

本研究班では骨粗鬆症に対する植物性エストロゲンの有効性を卵巣摘出（OVX）マウスを用いて立証してきた。近年、大豆および大豆食品の摂取量と骨密度が正の相関を示すことが報告され、大豆に含まれるゲニステインなど、イソフラボンの骨粗鬆症への予防効果が期待されている。そこで、本研究では、卵巣摘出マウスにゲニステインを経口投与し、ゲニステインの閉経後骨粗鬆症に対する予防と治療効果を検討した。食餌性のゲニステインの効果を明らかにすることは、本症の予防と栄養学的側面を明らかにする目的で必須である。また、閉経後骨粗鬆症のみならず老人性骨粗鬆症に対するゲニステインの有効性を明らかにする目的で、老人性骨粗鬆症のモデルである老化促進マウス（SAMP6）にゲニステインを投与し、

その骨量に対する効果を検討した。さらに、老人性骨粗鬆症の発症と進行には運動習慣の有無が密接に関与することを考慮し、マウスに運動を負荷させることにより、運動の効果ならびにゲニステインとの併用効果についても検討した。

2. 研究方法

①4週齢、9週齢および32週齢のアロマターゼ(-/-)マウス、ヘテロ型(+/-)マウスおよび野生型(WT)マウスについて、雌性マウスの子宮重量および雄性マウスの精嚢腺重量を測定した。また、血清を採取し、 17β -エストラジオール値およびテストステロン値をRIA法により測定した。また、尿を採取し、骨吸収マーカーであるピリジノリンをEIA法により測定した。離乳時より、雌性および雄性のアロマターゼ(-/-)マウスに 17β -エストラジオール($15\mu\text{g}/\text{週}$)を投与した。

②4週齢、9週齢および32週齢の雌雄のマウスより大腿骨を採取し、軟X線 (Soft-X ray) にて解析すると共にDEXA法を用いて骨密度を測定した。骨密度の測定において、大腿骨を10分割し、その各部位を比較することにより皮質骨のみからなる骨幹部、海綿骨の豊富な遠位部の比較を行なった。また、大腿骨薄切切片を作製し、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を施し、形態計測により海綿骨量および破骨細胞数を求めた。さらに、大腿骨遠位部の海綿骨および骨幹部皮質骨に着目した3次元マイクロCT解析を行なった。遠位部については海綿骨の量とその連続性に着目して海綿骨の3次元画像を構築した。骨幹部については2次元スライス画像を用いて、皮質骨断面積を測定した。

③ゲニステインの経口摂取の為に、AIN93G飼料を作製し、0.04%あるいは0.08%となるようゲニステインを混合した。8週齢ddy雌性マウスに卵巣摘出術(OVX)あるいは偽手術(sham)を施し、2日間予備飼育の後、OVXマウスの一部に0.04%あるいは0.08%ゲニステイン含有AIN93G飼料を4週間摂取させた。陽性コントロールとして、OVXマウスの一部にアルゼットポンプを用いて 17β -エストラジオール ($0.3\mu\text{g}/\text{day}$) の皮下連続投与を行った。4週間飼育後、大腿骨を採取し、DEXA法により骨密度を測定すると共に軟X線解析を行った。また、大腿骨中のCa、Mg濃度は原子吸光度計を用い、P濃度はGomori法に従いそれぞれ測定した。血中ゲニステイン濃度はECDを検出器とした逆相HPLCにより測定した。また、頸骨より採取した骨髄細胞を培養し、骨芽細胞前駆細胞であるCFU-Fコロニーの形成ならびにアルカリフォスファターゼ活性を測定し、骨形成の変化を調べた。

④13週齢の雄性老化促進マウス (SAMP6) をゲニステイン摂取群 (G)、運動群 (Ex)、ゲニステイン及び運動負荷群 (ExG) に分け、7週間飼育した。ゲニステインは (フジッコ社製、 $3.2\text{ mg}/\text{day}$) を8週間AIN93G飼料に混合して摂取させた。運動は週6日、1日あたり30分のトレッドミルによる走運動を負荷した。対照群としてSAMP6マウスを同様に7週間飼育した。実験終了後、体重、各臓器重量及び精巣嚢重量を測定した。7週間飼育後、大腿骨を採取してX線解析を行った。また、大腿骨を遠位、骨幹部、近位に3等分し、各部の骨密度をDXA法により測定した。また、大腿骨中のカルシウム、マグネシウム、リン、亜鉛含量を原子吸光法により測定した。各群について、血清脂質 (コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、トリグリセライド) を酵素法により測定した。

3. 研究成果

①アロマターゼ(-/-)マウスの生殖器に関する変化と血中性ホルモンレベル

雌性のアロマターゼ(-/-)マウスではエストロゲンの合成が起こらず、エストロゲン欠乏状態となり、9週齢の雌性(-/-)マウスにおける子宮重量はWTに比して顕著に低下した (Fig. 1)。9週齢の雄性(-/-)マウスの精嚢腺重量はWTに比し、軽度に上昇した。9週齢のアロマターゼ(-/-)マウスでは雌雄ともに血中 17β -エストラジオール値が検出限界以下となっていた。一方、アロマターゼ(-/-)マウスにおける血中テ

ストステロン値は雄では2倍、雌では10倍の上昇を示した。

②アロマターゼ(-/-)マウスの骨組織解析

4週齢において、アロマターゼ(-/-)マウスに骨代謝の異常は認められず、大腿骨骨密度はWTマウスと同じだった。9週齢の雌性および雄性のアロマターゼ(-/-)マウスについて、Soft-X rayにて大腿骨遠位部海綿骨の顕著な減少を認め、雌雄共に有意な大腿骨の骨密度減少を示した (Fig. 2)。その骨量減少を大腿骨の部位別に解析したところ、海綿骨が豊富な遠位部において著しい減少が検出されると共に、皮質骨のみならなる大腿骨骨幹部においても、アロマターゼ(-/-)マウスでは有意な骨密度低下を示した。この9週齢アロマターゼ(-/-)マウスにおける骨量低下は雌雄において同程度に観察された。大腿骨遠位部のマイクロCT解析において、アロマターゼ(-/-)マウスでは雌雄共に海綿骨量の著しい減少を認めた。薄切切片のTRAP染色より、アロマターゼ(-/-)マウスでは雌雄共に、破骨細胞数が増加して顕著な骨吸収亢進を認めた。アロマターゼ(+/-)マウスの骨は異常を認めず、WTマウスと同様であった。尿中ピリジノリン値は雌雄ともにアロマターゼ(-/-)マウスで上昇を認めた。32週齢の雌雄のアロマターゼ(-/-)マウスの大腿骨をSoft-X rayにて観察すると、WTマウスと比べて、顕著な骨量減少を認め、骨密度はWTマウスに比して著しく低値を示した。その程度は雄性マウスと比較して雌性マウスでは特に著しく、性差が観察された。アロマターゼ(-/-)マウスに17 β -エストラジオールを投与したところ、9週齢の雌性マウスの子宮重量は上昇し、WTマウスの値まで正常化した (Fig. 1)。9週齢のアロマターゼ(-/-)マウスにおける骨吸収亢進と骨量減少は雌性のみならず雄性マウスにおいても、17 β -エストラジオールの投与によってWTマウスのレベルまで正常化した (Fig. 2)。

③OVXマウスの骨量減少に対するゲニステイン経口投与の効果

OVXマウスにゲニステインを経口投与した際、飼料の摂取量はゲニステイン投与により影響を受けなかった。なお、ゲニステインの摂取量は、OVX+0.04%ゲニステイン群で 1.9 ± 0.05 mg/day、OVX $\pm 0.08\%$ ゲニステイン群で 3.5 ± 0.12 mg/dayであった。4週間の飼育後、OVXマウスはshamマウスと比較して、子宮重量の減少と骨密度低下を示した。OVXマウスに0.04%ゲニステインを経口投与すると大腿骨の骨密度が上昇傾向を示し、0.08%ゲニステイン群ではほぼshamレベルにまで回復した。0.08%ゲニステインの骨量低下への改善効果は陽性コントロールである17 β -エストラジオール (0.3 μ g/day)の皮下連続投与に匹敵していた (Fig. 3)。大腿骨中のCa, Mg, P濃度はOVX群に比してゲニステイン経口投与群ではそれぞれ有意に高値を示し、sham群レベルまで回復した。これらの結果は軟X線解析に反映され、0.08%ゲニステイン群ではOVXマウスで観察される骨吸収亢進による海綿骨の消失が阻止されていた。OVXマウスの子宮重量は0.08%ゲニステインを経口投与しても変動せず、萎縮したままであった。

④血中ゲニステイン濃度の変動

マウスの血中ゲニステインはsham、OVXにかかわらず検出されない。ゲニステインを経口投与すると、その摂取量に比例して血中ゲニステイン濃度が上昇した。0.04%ゲニステイン群では、約500 pmol/ml serum、0.08%ゲニステイン群では、約1000 pmol/ml serumに達していた (Fig. 4)。この血中濃度は、ゲニステイン0.7 mg/dayの皮下連続投与によって得られる血中濃度に一致していた。

⑤ゲニステインの SAMP6マウスの骨量減少に対する作用

老化促進マウス (SAMP6) において、体重は対照群に比べ運動群、運動+ゲニステイン投与群で低下したが、ゲニステイン単独投与による影響は認められなかった。精巣重量は、ゲニステイン投与により影響を受けなかった。SAMP6マウス大腿骨骨量は対照群であるSAMR1マウスに比べて有意に低値を示したが、ゲニステイン (0.8 mg/day) または運動を7週間負荷することにより、その骨量は増加した。また、ゲニステイン及び運動負荷群では、骨量がSAMR1マウスと同等まで回復した (Fig. 5)。SAMP6マウス大腿骨の骨密度は、特に近位において著しく低下したが、ゲニステインと運動の併用により、この低下が

有意に抑制された。SAMP6マウスの大腿骨の各ミネラル含量に対するゲニステインの効果を検討したところ、カルシウムはゲニステイン単独及び運動単独群でやや上昇したが、両者の併用により SAMR1マウスと同等のレベルまで増加した。リンについては、ゲニステイン単独及び運動単独群で有意に上昇し、両者の併用でも同様の効果を示した。

⑥ゲニステインの SAMP6マウスの血清脂質に対する作用

SAMP6マウスの血清中性脂肪（トリグリセリド）に対するゲニステインの作用を検討した。SAMP6マウスのトリグリセリドは、SAMR1マウスに比べて有意に高値を示したが、ゲニステインと運動の併用によりSAMR1マウスと同等まで低下した。

4. 考察

本研究において、アロマトラーゼの欠失によりエストロゲンが欠乏すると、雌性マウスと雄性マウス共に骨吸収亢進による骨量減少を認め、骨粗鬆症を発症することが明らかとなった。雄性のアロマトラーゼノックアウトマウスではテストステロンがエストロゲンへ変換されない為に、血清テストステロンが正常より高値を示すにもかかわらず、骨吸収が亢進して骨量減少を示したと考えられる。従って、雄性マウスの骨代謝においてエストロゲンは必須であり、その作用はアンドロゲンでは補えないと考察される。しかし、加齢が進んだ32週齢においては、アロマトラーゼノックアウトマウスにおける骨量減少が雄性マウスに比較して雌性マウスではより顕著であることが明らかとなった。この原因は明らかでないが、これらノックアウトマウスではテストステロンが雌雄いずれも高値であるが、アンドロゲンへの反応性が雄性マウスの方が敏感である可能性が考えられる。本研究において、アロマトラーゼノックアウトマウスにエストラジオールを投与すると雌雄ともに骨量減少が正常化した。従って、エストロゲンは雌のみならず雄の骨代謝にも必須であると結論される。これまでに、アロマトラーゼ遺伝子に変異がある男性症例が数例報告されており、骨量低下と骨吸収マーカーの上昇、骨年齢の低下が報告されている。本研究の結果はこの男性症例の所見に一致しており、ヒトでもマウスでも、男性ホルモンでは補えない女性ホルモンの骨代謝における重要性が示唆される。本ノックアウトマウスはエストロゲン合成が全身的に完全に存在しない。脂肪組織など卵巣外で産生されるエストロゲンは骨粗鬆症の発症リスクに関わると考えられている。本研究により明らかとなったアロマトラーゼノックアウトマウスにおける骨粗鬆症の病態解析は本症の発症リスクを考える点でも有用である。

本研究班はこれまでに、植物性エストロゲンであるゲニステインの骨粗鬆症に対する予防および治療効果を検討し、ゲニステインを皮下投与すると骨粗鬆症モデルマウスの骨量減少を阻止しうることを報告してきた。本年度、ゲニステインの本症への予防効果を期待し、栄養学的側面を解明することを目的にゲニステインを飼料中に混合させて経口投与を試みた。その結果、0.08%ゲニステイン含有飼料で飼育するとOVXマウスの骨量減少を正常化しうること、その際の血中濃度は約1000 pmol/ml serumに達することが明らかとなった。この血中濃度は、ゲニステイン0.7 mg/dayの皮下連続投与によって得られる血中濃度に一致している。我々はゲニステイン0.7 mg/dayの皮下連続投与はOVXマウスの骨量減少を正常化することをすでに報告している。従って、皮下投与、経口投与を問わず、血中濃度が上記のレベルに達すれば骨への作用が発揮されること、経口投与は皮下投与に比較して約5倍の投与量を必要とすることが明らかとなった。骨粗鬆症患者あるいはその予備群の女性が大豆イソフラボンとしてゲニステインを摂取した場合、ゲニステインの血中濃度をモニターすることにより、骨への有効性を予測することができると期待される。本研究により骨粗鬆症の予防を目的とした大豆食品の推奨について科学的根拠が得られたことは、医学および栄養学の両面から社会的意義に寄与すると考えられる。

本年度、老化促進マウス（SAMP6）を用いて、ゲニステインの投与効果及び運動負荷との併用効果を

検討した。その結果、ゲニステインの摂取と運動との併用によりSAMP6マウスの大腿骨の骨量は著しく増加し、その骨量は対照群のSAMR1マウスの骨量と同等であった。これらの結果は、運動と植物性エストロゲンの併用が相乗的にSAMP6マウスの骨量を増加したことを意味する。このことより、植物性エストロゲンであるゲニステインには、エストロゲンと同様に骨の運動によるメカニカルストレスに対する感受性を高める作用があることが示唆される。ゲニステインの摂取は雄性SAMP6マウス精巣重量には全く影響しなかった。従って、ゲニステインと運動負荷の併用は精巣などの生殖器官に作用することなく骨量を増加させることが明らかになった。以上の結果より、大豆由来イソフラボンは女性ばかりでなく、男性の骨粗鬆症の予防にも有効である可能性が示唆された。現在、世界的に骨及び脂質代謝に特異的に作用するエストロゲン誘導体 (Selective Estrogen Receptor Modulator: SERM) の検索が行われているが、大豆由来の植物性エストロゲンであるゲニステインは、SERMの一つであると言えよう。3年間の本研究課題により、植物性エストロゲンは、性腺機能の低下及び加齢に起因する骨粗鬆症における骨量の低下に対し、生殖器官に作用することなくその骨量減少を抑制することが明らかになった。

5. 結論

アロマトーゼノックアウトマウスはエストロゲン欠乏によって雌雄共に骨粗鬆症を発症し、エストロゲンの補充投与は雌雄共にその骨量減少を正常化した。老人性骨粗鬆症モデルであるSAMP6マウスに植物性エストロゲンであるゲニステインを投与したところ骨量減少が回復した。その効果は運動との併用により効果が増強した。ゲニステインは骨組織に対し、皮下投与のみならず経口投与でも有効性を示す。従って、閉経後骨粗鬆症および老人性骨粗鬆症のいずれに対してもゲニステインが予防並びに治療効果を発揮しうると期待される。

6. 研究発表

Onoe, Y., Miyaura, C., Ito, M., Ohta, H., Nozawa, S., Suda, T.: Comparative effects of estrogen and raloxifene on B-lymphopoiesis and bone loss induced by sex steroid deficiency in mice. *J. Bone Miner. Res.*, 15: 541-549, 2000.

Suzawa, T., Miyaura, C., Inada, M., Maruyama T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, A., Narumiya, S., Suda, T.: The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP1, EP2, EP3 and EP4) in bone resorption: An analysis using specific agonists for the respective EPs. *Endocrinology*, 141: 1554-1559, 2000.

Miyaura, C., Inada, M., Suzawa, T., Sugimoto, Y., Ushikubi F., Ichikawa, A., Narumiya, S., and Suda, T.: Impaired bone resorption to prostaglandin E2 in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice. *J. Biol. Chem.*, 275: 19819-19823, 2000.

Tanizawa, T., Yamaguchi, A., Uchiyama, Y., Miyaura, C., Ikeda, T., Ejiri, S., Nagai, Y., Yamato, H., Murayama, H., Sato, M. and Nakamura, T.: Reduction in bone formation and elevated bone resorption in ovariectomized rats with special reference to acute inflammation. *Bone*, 26:43-53, 2000.

Ishimi, Y., Arai, N., Wang, X., Wu, J., Umegaki, K., Miyaura, C., Takeda, A., and Ikegami S. : Difference in effective dosage of genistein on bone and uterus in ovariectomized mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 274: 697-701, 2000.

Takami, M., Takahashi, N., Udagawa, N., Miyaura, C., Suda, K., Woo, J., Martin, T.J., Nagai, K., Suda, T. : Intracellular calcium and protein kinase C mediate expression of receptor activation of nuclear factor-kB

ligand and osteoprotegerin in osteoblasts. *Endocrinology*, 141: 4711-4719, 2000.

Miyaura, C., Toda, K., Inada, M., Ohshiba, T., Matsumoto, C., Ito, M., Shizuta, Y., Ito, A. : Sex- and age-related response to aromatase deficiency in bone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 280: 1062-1068, 2001.

Endo, Y., Iijima T., Yamakoshi Y., Fukasawa, H., Miyaura, C., Inada, M., Kubo, A., Itai, A.: Potent estrogen agonists based on carborane as a hydrophobic skeletal structure; A new medicinal application of boron clusters. *Chemistry & Biology*, in press.

Wu, J., Wang,, XX., Takasaki, M., Ohta, A., Higuchi, M., Ishimi, Y.; Cooperative effects of exercise training and genistein administration on bone mass in ovariectomized mice. *J. Bone Miner. Res.* in press.

Wang,,XX., Wu, J., Shidoji, Y., Muto, Y., Ohishi, N., Yagii, K., Ikegami, S., Shinki, T., Udagawa, N., Suda, T., Ishimi, Y.: Effects of geranylgeranoic acid in bone: Induction of osteobalst differentiation and inhibition of osteoclast formation. *J. Bone Miner. Res.* in press.

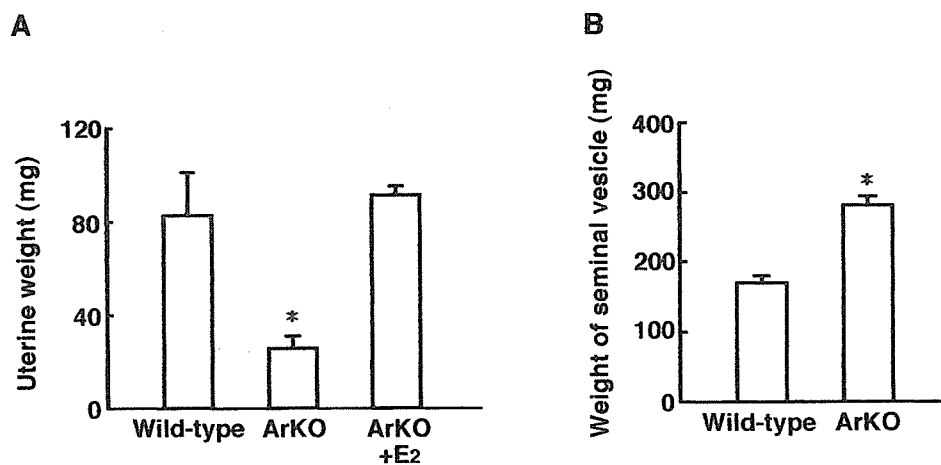


Fig. 1 Uterine weight and weight of the seminal vesicle in wild-type and aromatase-deficient (ArKO) mice.

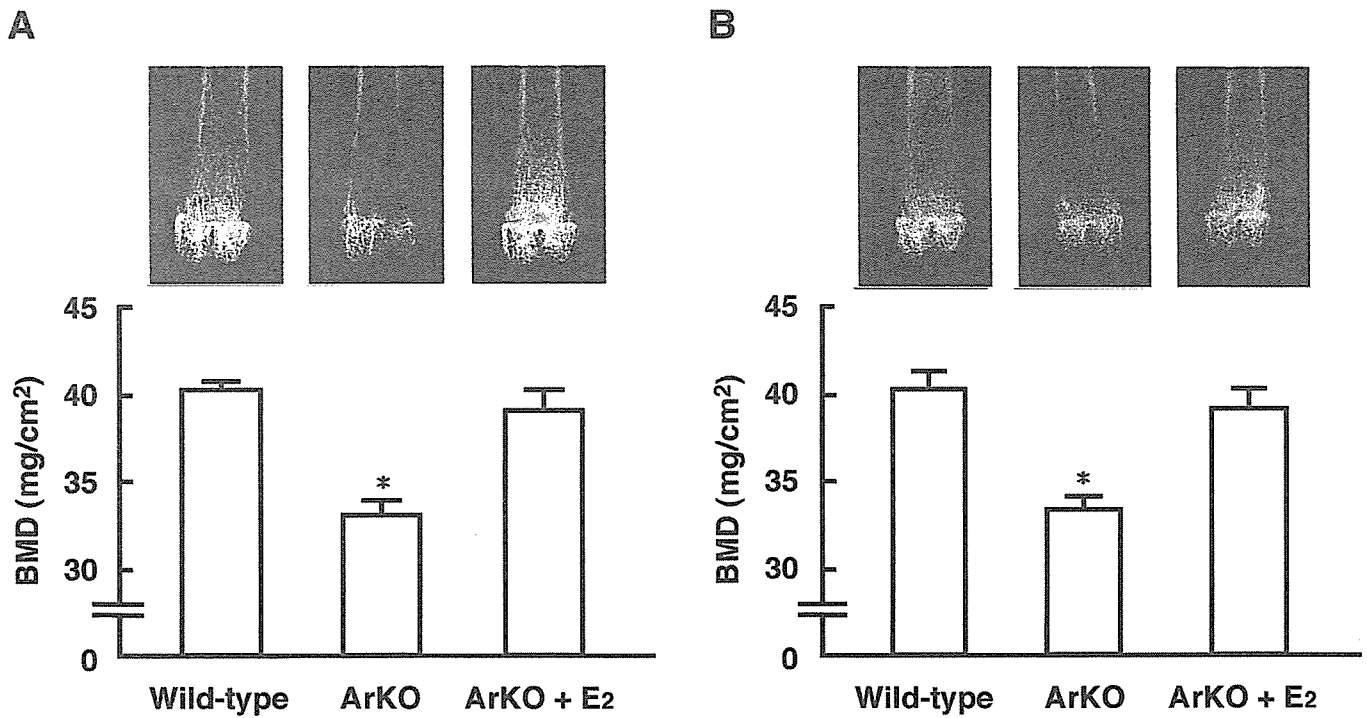


Fig. 2 Measurement of femoral bone mineral density (BMD) and soft-X ray analysis in 9-week-old wild-type, ArKO mice and ArKO mice treated with 17 β -estradiol.

A: female B: male

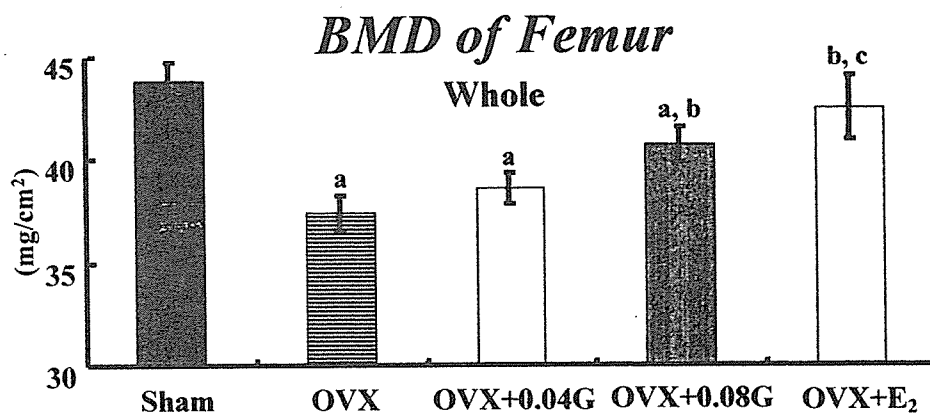


Fig. 3 Effects of the oral administration of genistein on femoral bone mineral density (BMD) in OVX mice.

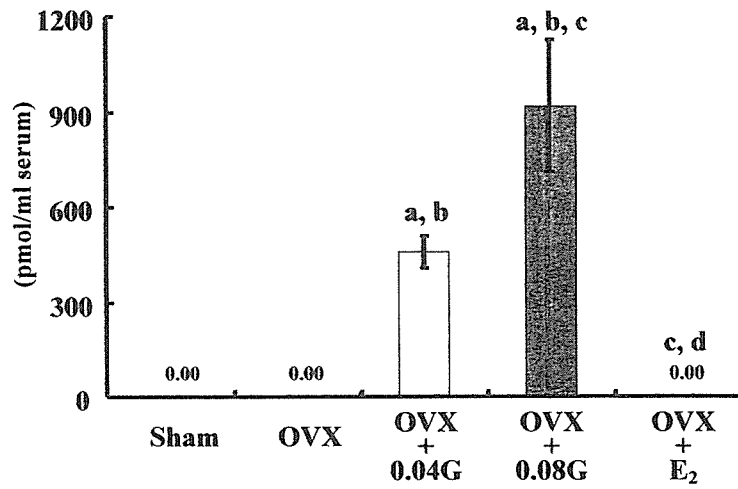


Fig. 4 Serum levels of genistein in OVX mice orally treated with genistein.

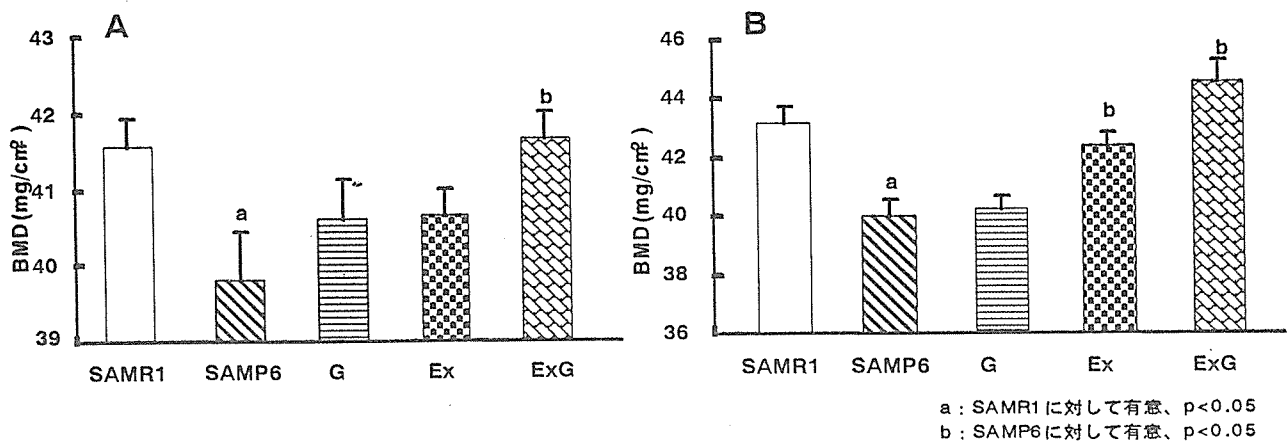


Fig. 5 Effects of genistein and exercise on femoral bone mineral density (BMD) in SAMP6 mice.

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第2分野

生体機能調節等の解明に関する研究

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社