

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：37404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K05872

研究課題名(和文)ゴマ由来の歯周病抑制ペプチドの同定とその有効性解析

研究課題名(英文) Identification and Analysis of Periodontitis Inhibitory Peptides from Sesame

研究代表者

狩生 徹 (Kariu, Toru)

尚絅大学・生活科学部・教授

研究者番号：10412735

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)：歯周病は、歯を失う最大の原因であるが、有効な治療薬は開発されていない。我々は、これまでのゴマの機能性成分の解析で、ゴマ由来ペプチド画分やリグナン類が、歯周病菌の菌体外プロテアーゼを阻害することを見出していた。このプロテアーゼは、歯周病菌の増殖や病原性に関与することから、ゴマ由来分子が歯周病菌の口腔への感染や歯周組織破壊を抑制する可能性が示された。本申請課題では、プロテアーゼ阻害分子の静菌・殺菌活性や、歯周病モデルマウスを使ったin vivo解析により、その有効性を評価した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ゴマ由来低分子画分は比較的安定性が高く、呈味性においても有利である。さらにゴマペプチドやリグナンは、長く食経験が有るゴマに由来することで安全性も高く、安価であることから、歯周病治療薬や口腔ケア用品、保健機能食品に適した成分である。安価かつ認可を受けやすい食品由来の抗歯周病成分は、他社製品と機能性で差別化を図りたいオーラルケア製品メーカーや保健機能食品メーカーのニーズに適している。

研究成果の概要(英文)：Periodontal disease is the leading cause of tooth loss, but no effective therapeutic agent has been developed. In our previous analysis of the functional components of sesame seeds, we found that sesame-derived peptide fractions and lignans inhibited the extracellular protease of periodontal pathogens. This protease is involved in the growth and pathogenicity of periodontal disease bacteria, indicating that sesame-derived molecules may inhibit periodontal disease bacteria from infecting the oral cavity and destroying periodontal tissue. In this study, the bacteriostatic and bactericidal activity of protease inhibitor molecules and their efficacy were evaluated by in vivo analysis using mouse models of periodontal disease.

研究分野：食品科学

キーワード：歯周病 ゴマ

1. 研究開始当初の背景

歯周病は、歯肉炎や歯周炎などの慢性疾患の総称であり、う蝕と並ぶ2大口腔内疾患の一つである。歯周病治療の基本方針は、通常は歯垢(プラーク)の除去である。重度の歯周炎の場合にはペニシリン系、セファム系抗菌薬が経口投与される。しかしながら耐性菌の出現と副作用の問題点から、慎重な選択が必要とされており、それらの懸念が少ない新規作用を持つ歯周病治療薬の開発が望まれている。

近年、歯周病が冠動脈性心疾患や脳梗塞、メタボリックシンドローム、誤嚥性肺炎、早産などの様々な全身性疾患を誘発することが明らかとなってきた。歯周病の発症・進行に関わる主要な病原性細菌は、グラム陰性菌の *Porphyromonas gingivalis* (ジンジバリス菌) である。ジンジバリス菌は強力なシステインプロテアーゼ(ジンジパイン)を菌体外に分泌し、タンパク質分解・アミノ酸取り込みによりエネルギーを獲得する。ジンジパインは、ジンジバリス菌増殖に必須であるとともに、フィブリノーゲンやサイトカインなどの血漿タンパク質の分解や細胞傷害により、歯茎からの出血や全身疾患を誘発する主要な病原因子でもある。そのため、有効なジンジパイン阻害物質の同定は、歯周病および関連する全身疾患の治療薬開発に重要な基礎知見と成り得る。

これまでに我々の研究グループでは、Epimedokoreanin B などの微量フラボノイド類が、非競合的にジンジパイン活性を阻害し、さらにジンジバリス菌の増殖やバイオフィーム形成を抑制することや、コラーゲンや血液凝固因子分解を阻害し得ることを明らかとしている。さらに現在では、植物性食品や生薬類を対象を広げ、各粗抽出液を用いて、よりジンジパイン阻害活性の強い新規物質のスクリーニングを行っている。申請者は、このスクリーニングの過程において、ゴマ抽出液中に強いジンジパイン阻害活性を見出した。さらにプロテアーゼ処理したゴマ低分子画分やリグナン画分を解析したところ、ジンジパイン阻害活性を有していた。これらの結果から、ゴマ低分子画分が、ジンジバリス菌抑制活性を有しており、有効な歯周病治療薬として利用できる可能性が示唆された。

口腔ケア関連製品は、国内市場は3,793億円に達し、堅調に拡大している(富士経済『オーラルケア関連市場マーケティング総覧2016』)。その一方で、通常の医薬品に比べ販売価格の安い歯磨き粉やマウスウォッシュなどへ医薬部外品メーカーが投資出来る開発費用は低く抑えられており、新規化合物の認可申請にメーカーは慎重である。その点において、安価で製造可能かつ認可を受けやすいゴマ由来生理活性成分は、他社製品と機能性で差別化を図りたい口腔ケア製品メーカーのニーズに適している。以上のことから、本研究によって新規歯周病治療薬としてのゴマ由来の抗歯周病活性成分の有効性を確立することは、歯周病とその関連疾患への対策に極めて大きな貢献となる。

2. 研究の目的

本申請課題の目的は、安全かつ安価なゴマの新規機能性として、歯周病治療への有効性を確立することである。そのために本申請研究では、ジンジパイン阻害活性を有するゴマ含有の活性成分の解析を行い、『ジンジパイン活性やジンジバリス菌の増殖を抑制できるか?』、『ジンジパインによる歯槽骨吸収や細胞傷害などの毒性を抑制できるか?』という2点について計画を立案した。

ゴマタンパク質を利用できる本研究は、ゴマ油の搾油カスの有効利用にもつながり、生産・加工事業者の収益向上への貢献となる。また本邦では、ゴマは年間17万トンが消費されているが、その99%を海外からの輸入に依存している。ゴマの新規機能性として歯周病抑制活性を同定することは、治療薬や保健機能食品への応用が期待できるため、国内生産拡大やゴマ生産者の収益拡大につながる。また、一般的なシステインプロテアーゼ阻害剤であるE-64やロイペプチンなどは、安定性が低く、酵素特異性が低いことなどから、歯周病治療薬としての人体への応用は困難である。ジンジパイン阻害活性は、これまでもニンニク、クランベリー、霊芝、ドクダミなどで特許申請されている。しかしながら、これらは活性成分が未同定であり、価格や独特の味・香りが応用への支障となる。また、緑茶カテキンでもジンジパイン阻害活性の報告が存在するが、渋味が問題となるため、歯周病治療薬としての実用化に至っていない。一方、リグナンやペプチド類は比較的安定性が高く、価格、呈味性においても有利である。さらにゴマ由来生理活性成分は、長く食経験が有るゴマに由来することで安全性も高く、安価であることから、歯周病治療薬や口腔ケア用品、保健機能食品に適した素材と言える。以上のことから、ゴマ由来成分のジンジバリス菌への有効性を確立する本申請課題において、新規歯周病治療薬や保健機能食品への波及効果が大きい期待できることが、独自性と創造性の顕著な点である。

3. 研究の方法

本申請課題では、ジンジパイン阻害活性を有するゴマ含有成分の解析を行い、ジンジバリス菌増殖と歯周病により誘発される全身疾患を抑制しうることについて、3年間で検討する。

-a ジンジパイン阻害分子の同定

ゴマタンパク質プロテアーゼ消化物をゲルろ過カラムおよび HPLC により分画し、ジンジパイン阻害活性を有するペプチド画分を絞り込んでいく。最終的に単一ピークまで絞り込みを行い、アミノ酸組成およびアミノ酸配列を決定する。さらにゴマリグナン精製品を使用し、同様にジンジパイン阻害活性を確認する。

-b ジンジバリス菌増殖とバイオフィーム形成阻害能解析

上記実験により同定したジンジパイン阻害分子をジンジバリス菌の *in vitro* 培養に添加し、増殖を抑制しうるかや、殺菌活性の有無を確認する。またジンジバリス菌の静置培養によりプラスチックチューブ表面上に形成されるバイオフィームを抑制しうるか解析する。

歯周病モデルマウスを利用した *in vivo* での抑制活性の評価

ジンジバリス菌を口腔投与することにより感染させたマウスを利用し、ジンジパイン阻害分子の *in vivo* での歯周病抑制活性の評価を行う。感染後 6 週間、ゴマ由来成分を口腔投与し、歯槽骨吸収、歯茎組織中のジンジバリス菌数、抗ジンジバリス菌抗体価、炎症性サイトカイン量等を指標として、抑制活性の評価を行う。

活性成分の細胞毒性の評価

同定された抗歯周病成分について、ヒト歯肉扁平上皮がん細胞由来 Ca9-22 細胞等を用いて、細胞毒性の評価を行う。

4. 研究成果

本研究課題で得られた研究成果に関して、現在特許申請や学術論文執筆中であり、公表を 5 年程度見合わせる。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 狩生徹	4. 巻 231
2. 論文標題 歯周病原因菌抑制活性を有するプレニル化フラボノイドに関する研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIO九州	6. 最初と最後の頁 5-10
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 無
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0件

〔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
研究分担者	今村 隆寿 (Takahisa Imamura) (20176499)	尚綱大学・生活科学部・教授 (37404)	

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		
米国	フロリダ大学		