

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10108

研究課題名（和文）超高齢社会での応用を目指す低分子化合物terreinの標的分子の同定・機能解析

研究課題名（英文）Identification and Functional Analysis of the Target Molecule of Terrein, a Small Molecule Compound for Application in the Super-Aging Society

研究代表者

大森 一弘 (Omori, Kazuhiro)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：20549860

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）：本研究では抗炎症作用を有する真菌由来二次代謝産物terreinに着目し、炎症性骨破壊病態に及ぼす影響を *in vitro* 及び *in vivo* の両面から検討し、terreinの骨破壊疾患治療薬としての可能性を検討した。その研究成果として、1) RANKL誘導性の破骨細胞分化主要因子であるNFATc1の発現を有意に抑制し、2) その発現抑制にPKC経路が関与することを確認した。さらに、3) 絹糸結紮歯周炎マウスモデルにおいてTNF- $\alpha$ の産生を抑制し、歯槽骨吸収を抑制することを確認した。以上の結果から、低分子化合物terreinの抗炎症作用および破骨細胞分化抑制作用の機序の一端を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一連の研究成果は真菌二次代謝産物terreinの破骨細胞分化抑制効果、さらにその分子メカニズムの一端を *in vitro* および *in vivo* で証明したものである。今後、terreinの抗炎症作用、破骨細胞分化抑制作用に着目して、様々な疾患モデルマウスでの検討を行なっていく上で重要な研究成果であると考え。なお、報告者が知る限り、有機合成したterreinを用いた研究を行なっているのは国内外で本研究グループのみである。そのため、有機化学と分子生物学との融合アプローチが可能な点において本研究分野のバイオニアを目指せると考える。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on terrein, a fungal secondary metabolite with anti-inflammatory properties, and investigated its effects on inflammatory bone-destroying pathologies both *in vitro* and *in vivo*, and explored the potential of terrein as a therapeutic agent for bone-destroying diseases. Our results showed that 1) terrein significantly suppressed the expression of NFATc1, a key factor for RANKL-induced osteoclast differentiation, and 2) the PKC pathway was involved in the suppression of NFATc1 expression. Furthermore, 3) TNF- $\alpha$  production was suppressed and alveolar bone resorption was inhibited in a mouse ligature-induced periodontitis model. These results provide a partial explanation for the anti-inflammatory and osteoclast differentiation inhibitory effects of terrein.

研究分野：歯科保存学分野

キーワード：terrein 歯周病 IL-6 TNF- $\alpha$  RANKL PKC

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた我が国において、「高齢者の健康寿命を維持する」ことは国家的命題の一つである。健康寿命の維持には、栄養を司る口腔機能を良好に維持することが重要である。近年、8020運動（日本歯科医師会）に代表される国民の口腔に対する意識向上の結果、8020達成者率がついに50%を超え、今後8020達成者率はさらに上昇することが予測される。一方、自身の歯が口腔内に残ることによって、う蝕、歯内疾患、歯周病等を罹患する高齢患者数は激増している。そして、高齢者に対する歯科保存的治療の実施が必要となる機会も急増している。しかし、高齢者特有の身体的背景（全身既往症の存在、多剤の内服、唾液分泌能の低下、認知・身体機能の低下、易感染および誤嚥リスク等）から、通常の歯科治療を実施しにくい困難なケースも散見される。以上のような背景から、超高齢社会的背景を強く意識した安全・簡便に応用できる新たな歯科保存治療法の開発が社会から強く求められている。

本研究グループは、上記社会背景を意識した口腔疾患に対する新規治療戦略を構築するにあたり、真菌の一つである *Aspergillus terreus* が産生する代謝産物 *terrein* の抗炎症作用に着目して研究を進めている。その成果として、従来報告されていた *terrein* の有機化学的合成法 (Altenbach HJ et al, 1990) を根本的に見直し、①効率的に有機化学合成する新たな手法を開発した（天然由来の収率 0.03 % → 新規合成経路の収率 46 %）(Mandai H, Omori K et al, 2014)。さらに、②合成した *terrein* が炎症性サイトカイン interleukin-6 (IL-6) の細胞内シグナル伝達に関わる Janus activated kinase-1 (JAK1) のタンパク質リン酸化を抑制する効果（抗 IL-6 効果）を報告した (Yamamoto S, Omori K et al, 2018)。また、③*terrein* が炎症性骨破壊を担う receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) 誘導性破骨細胞分化を強力に抑制する機序の一つとして、マスター転写因子である NFATc1 の発現を抑制する効果を発見した (Nakagawa S, Omori K et al, 2020)。

以上の背景から、低分子化合物 *terrein* を細菌感染と炎症反応を主病態とする口腔疾患（う蝕、歯内・歯周疾患）領域の治療薬として応用できる可能性は一連の研究成果からも非常に高いものと考えている。しかし、低分子化合物 *terrein* の作用機序、そしてさらなる応用を検討する上で、*terrein* が細胞の何（標的分子）に作用しているのか（本研究の核心をなす学術的問い）を実験事実に基づき明らかにする必要がある。すなわち、*terrein* の口腔治療薬（治療法）としての可能性をさらに検討していくためには、*terrein* の標的分子を同定し、その機能解析をすることが必要不可欠である。

## 2. 研究の目的

本研究では、*terrein* の細胞内標的候補分子を探索・同定し、骨破壊を主病態とする各種疾患モデルマウス（歯周病や骨粗鬆症）を用いて、骨吸収抑制効果ならびに標的候補分子の機能解析を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、terrein の細胞内標的分子を同定するため、①マウス骨髄由来マクロファージ様細胞を用いて、RANKL シグナル伝達系の下流タンパク質発現に terrein が及ぼす影響を解析した。そして、②絹糸結紮歯周炎マウスモデルを用いて、terrein を投与時の骨吸収抑制作用および標的候補分子の動態を検討した。

### 4. 研究成果

本研究における研究成果は下記に挙げられる。

- ① マウス骨髄由来マクロファージ様細胞において、terrein は RANKL 誘導性破骨細胞分化主要因子である NFATc1 の発現を有意に抑制することを確認した。
- ② さらに、terrein の RANKL シグナル伝達経路である PKC $\alpha$ / $\beta$ II のリン酸化を有意に抑制することで、NFATc1 の発現を制御している可能性を確認した。
- ③ 絹糸結紮歯周炎マウスモデルにおいて、terrein は破骨細胞分化を抑制することによって歯槽骨破壊を有意に抑制するとともに、血清中の TNF- $\alpha$ の産生を抑制することを確認した。

一連の研究成果は真菌二次代謝産物 terrein の破骨細胞分化抑制効果、さらにその分子メカニズムの一端を *in vitro* および *in vivo* で証明したものである。今後、terrein の抗炎症作用、破骨細胞分化抑制作用に着目して、様々な疾患モデルマウスでの検証を行なっていく上で重要な研究成果であると考え。なお、報告者が知る限り有機合成した terrein を用いた研究を行なっているのは国内外で本研究グループのみである。そのため、有機化学と分子生物学との融合アプローチが可能な点において、本研究分野のパイオニアを目指せると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sako Hidefumi, Omori Kazuhiro, Nakayama Masaaki, Mandai Hiroki, Ideguchi Hidetaka, Yoshimura-Nakagawa Saki, Sakaida Kyosuke, Nagata-Kamei Chiaki, Kobayashi Hiroya, Ishii Satoki, Ono Mitsuaki, Ibaragi Soichiro, Yamamoto Tadashi, Suga Seiji, Takashiba Shogo	4. 巻 9
2. 論文標題 The Fungal Metabolite (+)-Terrein Abrogates Inflammatory Bone Resorption via the Suppression of TNF- Production in a Ligature-Induced Periodontitis Mouse Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Fungi	6. 最初と最後の頁 314 ~ 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jof9030314	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 Nakayama Masaaki, Naito Mariko, Omori Kazuhiro, Ono Shintaro, Nakayama Koji, Ohara Naoya	4. 巻 208
2. 論文標題 <i>Porphyromonas gingivalis</i> Gingipains Induce Cyclooxygenase-2 Expression and Prostaglandin E2 Production via ERK1/2-Activated AP-1 (c-Jun/c-Fos) and IKK/NF- B p65 Cascades	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1146 ~ 1154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.2100866	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 Sakaida Kyosuke, Omori Kazuhiro, Nakayama Masaaki, Mandai Hiroki, Nakagawa Saki, Sako Hidefumi, Kamei Chiaki, Yamamoto Satoshi, Kobayashi Hiroya, Ishii Satoki, Ono Mitsuaki, Ibaragi Soichiro, Yamashiro Keisuke, Yamamoto Tadashi, Suga Seiji, Takashiba Shogo	4. 巻 12
2. 論文標題 The Fungal Metabolite (+)-Terrein Abrogates Ovariectomy-Induced Bone Loss and Receptor Activator of Nuclear Factor- B Ligand Induced Osteoclastogenesis by Suppressing Protein Kinase-C / II Phosphorylation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	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/fphar.2021.674366	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 Nakagawa Saki, Omori Kazuhiro, Nakayama Masaaki, Mandai Hiroki, Yamamoto Satoshi, Kobayashi Hiroya, Sako Hidefumi, Sakaida Kyosuke, Yoshimura Hiroshi, Ishii Satoki, Ibaragi Soichiro, Hirai Kimito, Yamashiro Keisuke, Yamamoto Tadashi, Suga Seiji, Takashiba Shogo	4. 巻 83
2. 論文標題 The fungal metabolite (+)-terrein abrogates osteoclast differentiation via suppression of the RANKL signaling pathway through NFATc1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 106429 ~ 106429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2020.106429	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 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 永田千晶, 大森一弘, 井手口英隆, 佐光秀文, 坂井田京佑, 久保田萌可, 大原利章, 萬代大樹, 平井公人, 池田淳史, 山本直史, 高柴正悟.
2. 発表標題 歯周組織の感染・炎症が惹起する子宮組織の肥厚と妊娠への影響.
3. 学会等名 日本歯科保存学会2022年度秋季学術大会(157回)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田千晶, 大森一弘, 井手口英隆, 佐光秀文, 坂井田京佑, 大原利章, 徳善真砂子, 平井公人, 山本直史, 高柴正悟.
2. 発表標題 マウス絹糸結紮歯周炎モデルを用いた歯周感染が妊娠成績や子宮組織に及ぼす影響の検討.
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐光秀文, 大森一弘, 坂井田京佑, 亀井千晶, 小林寛也, 井手口英隆, 山本直史, 高柴正悟
2. 発表標題 X連鎖性低リン血症性くる病を起因とした多発根尖病変に対し 歯内療法を行なった症例
3. 学会等名 日本歯科保存学会2021年度春季学術大会 (第154回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永田 千晶, 大森 一弘, 井手口 英隆, 佐光 秀文, 坂井田 京佑, 徳善 真砂子, 平井 公人, 山本 直史, 高柴 正悟
2. 発表標題 歯周感染が子宮組織に及ぼす影響の マウス絹糸結紮歯周炎モデルにおける免疫学的検討
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Omori Kazuhiro
2. 発表標題 Infertility and Periodontitis
3. 学会等名 69th JADR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂井田 京佑, 大森 一弘, 中川 沙紀, 佐光 秀文, 亀井 千晶, 山本 総司, 小林 寛也, 山城 圭介, 山本 直史, 高柴 正悟
2. 発表標題 真菌代謝産物(+)-terreinがマウス骨粗鬆症モデルにおける骨代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 日本歯科保存学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大森 一弘, 河野 隆幸, 新井 英雄, 小林 寛也, 山本 直史, 高柴 正悟
2. 発表標題 歯周組織再生療法の違いが歯肉縁下細菌叢に及ぼす影響 侵襲性歯周炎患者の一症例
3. 学会等名 日本歯周病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐光 秀文, 大森 一弘, 中川 沙紀, 亀井 千晶, 坂井田 京佑, 山本 総司, 井手口 英隆, 小林 寛也, 山城 圭介, 山本 直史, 高柴 正悟
2. 発表標題 真菌二次代謝産物(+)-terreinはTNF- の発現を抑制し歯周炎マウスモデルにおける歯槽骨吸収を抑制する
3. 学会等名 日本歯周病学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂井田 京佑, 大森 一弘, 中川 沙紀, 佐光 秀文, 山本 総司, 小林 寛也, 平井 公人, 山城 圭介, 山本 直史, 高柴 正悟
2. 発表標題 真菌二次代謝産物terreinはマウス骨粗鬆症モデルにおいて大腿骨吸収を抑制する
3. 学会等名 日本歯周病学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣瀬 泰良, 伊原木 聡一郎, 大森 一弘, 中山 真彰, 佐々木 朗
2. 発表標題 Terrein類縁体の抗腫瘍効果に関する研究
3. 学会等名 岡山歯学会
4. 発表年 2019年

〔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	中山 真彰  (Nakayama Masaaki)  (10579105)	岡山大学・学術研究院医歯薬学域・准教授   (15301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	竹内 恒 (Takeuchi Koh)  (20581284)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究グループ長  (82626)	
研究分担者	高柴 正悟 (Takashiba Shogo)  (50226768)	岡山大学・学術研究院医歯薬学域・教授  (15301)	
研究分担者	萬代 大樹 (Mandai Hiroki)  (60534427)	岐阜医療科学大学・薬学部・准教授  (33708)	

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