

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 4 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592433

研究課題名（和文） 歯源性嚢胞に対する分子標的治療法開発のための基礎的研究

研究課題名（英文） A basic research to establish molecular targeted therapy for odontogenic cysts

研究代表者

山口 洋子（YAMAGUCHI YOKO）

日本大学・歯学部・助手

研究者番号：00239922

研究成果の概要（和文）：顎嚢胞の分子標的治療法開発のための基礎研究として、歯根嚢胞および角化嚢胞性歯源性腫瘍に由来する線維芽細胞を、各種成長因子受容体キナーゼ阻害剤で処理し、細胞の生存レベルを調べた。その結果、PD166866 および PD089828 で細胞死の誘導効果が高かったことから、受容体チロシンキナーゼ阻害剤を嚢胞内に直接局所投与し、嚢胞壁線維芽細胞の細胞死を誘導することで、非外科的な顎嚢胞の分子標的治療法が開発できると考えている。

研究成果の概要（英文）：To establish molecular targeted therapy for odontogenic cysts, a basic in vitro study was carried out. Fibroblasts originated from apical cyst and keratocystic odontogenic tumor were treated with various growth factor receptor kinase inhibitors, and the survival level of the cells was investigated. Since PD166866 and PD089828 induced effective fibroblast cell death, these receptor tyrosine kinase inhibitors may be candidate drugs for molecular targeted, non-surgical therapy for odontogenic cysts.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯内療法学

キーワード：歯源性嚢胞

1. 研究開始当初の背景

歯科口腔外科領域で遭遇する顎嚢胞には、主に歯根嚢胞および角化嚢胞性歯源性腫瘍（歯源性角化嚢胞）が挙げられる。これらの嚢胞が増大した場合は外科的に切除するし

か治療がなく、生体への侵襲が大きかった。

2. 研究の目的

申請者らは、両嚢胞壁の主要構成細胞である線維芽細胞の細胞死を受容体チロシンキ

ナーゼ阻害剤で誘導できれば、分子標的治療薬として非外科的治療法の開発が可能になると考え、本研究を企図した。

3. 研究の方法

コンフルエントに達した歯根嚢胞由来線維芽細胞および角化嚢胞性歯原性腫瘍由来線維芽細胞を、PDGFR 阻害剤(Glivec), TGF-βRI 阻害剤(ALK5 inhibitor), FGFR 阻害剤(PD166866), EGFR 阻害剤(PD168393), c-Met 阻害剤(PHA665752)で一定時間処理し、細胞の生存レベルを調べた。またデュアルキナーゼ阻害剤、FGFR/VEGFR 阻害剤(PD173074)およびトリプルキナーゼ阻害剤、EGFR/PDGFR/VEGFR 阻害剤(PD089828)の効果も併せて調べた。

4. 研究成果

(1) 各種単独の受容体チロシンキナーゼ阻害剤では、PD166866, 次いで Glivec に細胞死を誘導する効果があった。

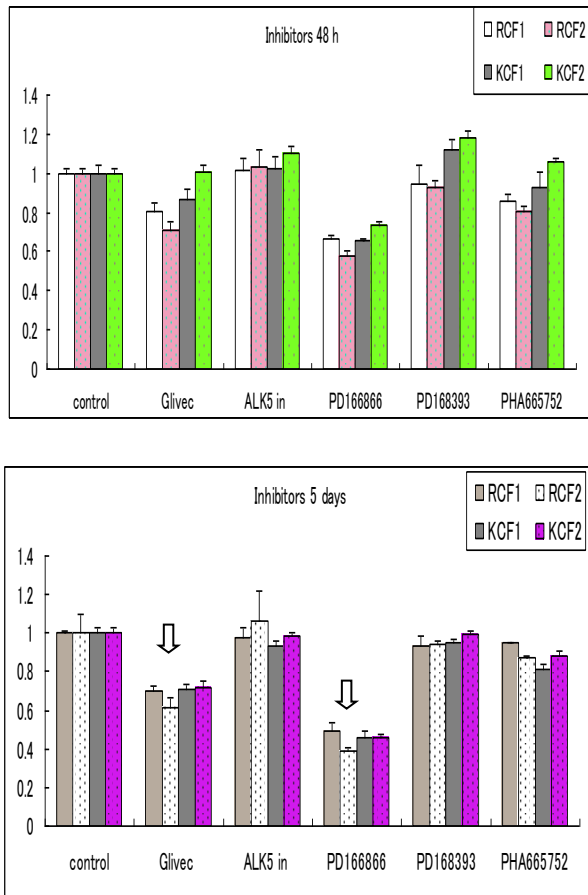


図1 嚢胞由来線維芽細胞に対する受容体チロシンキナーゼ阻害剤による細胞死誘導効果

パイロットスタディとして線維芽細胞に高頻度に発現がみられる成長因子受容体に対する阻害剤を用いてスクリーニングを行った。その中で(↓) PDGF レセプター阻害剤(Glivec)と FGF レセプター阻害剤に嚢胞由来細胞の細胞死を誘導する作用があった(作用時間: 上; 48 時間, 下; 120 時間)

(2) デュアル/トリプルキナーゼ阻害剤の効果を調べたところ、PD173074 よりも PD089828 で細胞死の誘導効果が高く、いずれも単独阻害剤の効果を上回っていた。

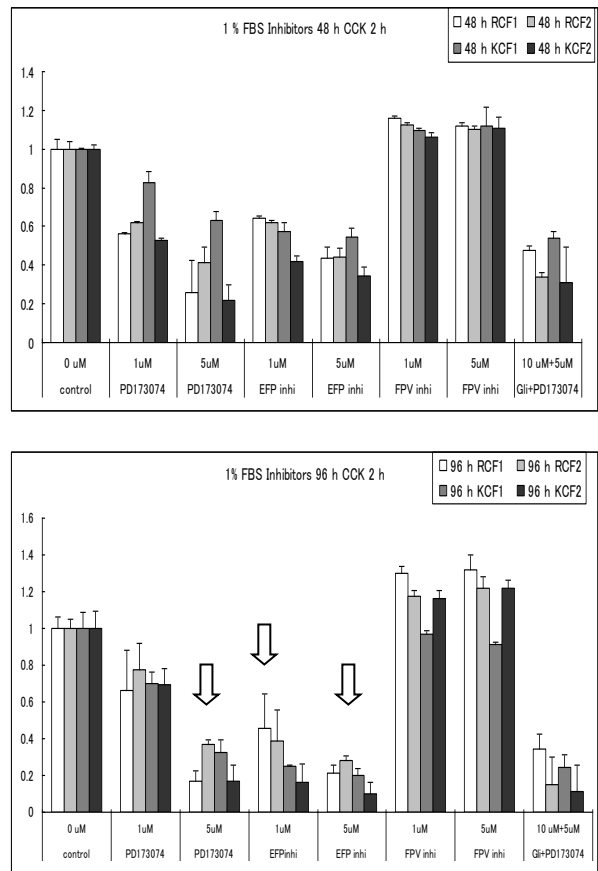


図2 嚢胞由来線維芽細胞に対するデュアル/トリプルキナーゼ阻害剤による細胞死誘導効果

抗癌剤(新薬)の候補としてトリプルキナーゼ阻害薬 BIBF1120(VEGFR/PDGFR/FGFR 阻害剤)が現在臨床治験中である。これは入手不可能であることから、薬品として購入可能なトリプルキナーゼ阻害薬を作用させた。その結果、EFP R 阻害剤・PD089828(EGFR/FGFR/PDGFR 阻害剤)に効果が認められた(↓)。

(3) 歯肉上皮細胞に対しては、PD089828の細胞死誘導効果が高かった。

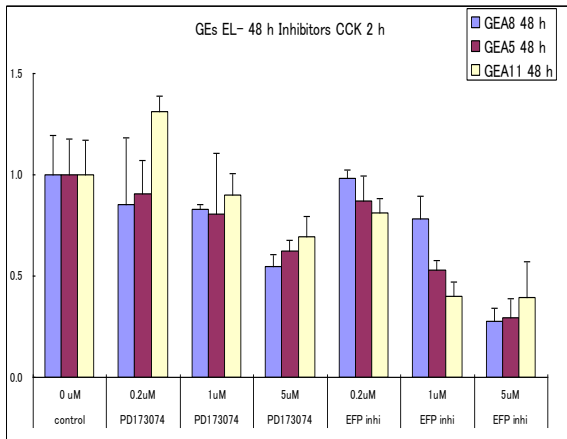


図3 歯肉上皮細胞に対するデュアル/トリプルキナーゼ阻害剤による細胞死誘導効果

歯肉上皮細胞を嚢胞内側の裏装上皮に見立て、FGFR 阻害剤 および EFPR 阻害剤を作用させて、上皮細胞の細胞死が誘導されるかどうかを調べた。上皮細胞にも効果があれば、嚢胞の治療により効果が期待できる。

以上のことから、受容体チロシンキナーゼ阻害剤を組み合わせることで嚢胞内に直接局所投与し、嚢胞壁の線維芽細胞や裏装上皮の細胞死を誘導することで、嚢胞の消滅やその増大予防が可能になり、非外科的な顎嚢胞の分子標的治療法が開発できると考えている。

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 2 件)

- ① M. Ohshima, Y. Yamaguchi, N. Matsumoto, P. Micke, Y. Takenouchi, T. Nishida, M. Kato, K. Komiyama, Y. Abiko, K. Ito, K. Otsuka, K. Kappert (2010) TGF-beta Signaling in Gingival Fibroblast- Epithelial Interaction. J Dent Res 89, 1315-1321 (査読あり)
- ② Takenouchi Y, Ohshima M, Yamaguchi Y, Nishida T, Senda N, Idesawa M, Otsuka K, Ito K (2010) Insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP) -2, -3 in gingival crevicular fluid. J Periodontal Res.45, 803-808 (査読あり)

[学会発表] (計 8 件)

- ① 大島光宏, 山口洋子, 石井輝彦、大木秀郎、受容体チロシンキナーゼ阻害薬による非外科的顎嚢胞治療法の開発、第 84 回日本生化学会大会、2011 年 9 月 23 日、京都国際会議場、京都
- ② Mitsuhiro Ohshima, Yoko Yamaguchi, Yoshimitsu Abiko, FLT-1 represents a potential therapeutic target in human periodontitis. Gordon Research Conference in Periodontal Diseases, Davidson College, 2011 年 7 月 21 日, Davidson, NC, USA
- ③ 山口洋子, 鳥居塚和生、大島光宏、生体外歯周炎モデルによる生薬のスクリーニング、第 33 回分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会、2010 年 12 月 10 日、神戸国際会議場、兵庫
- ④ 山口洋子, 鳥居塚和生、大島光宏、生薬による生体外歯周炎モデルのコラーゲン分解阻害薬、日本薬学会東北支部、2010 年 10 月 24 日、奥羽大学、福島
- ⑤ 山口洋子、大島光宏、3 次元培養法を用いた新規歯周炎治療薬のスクリーニング、第 42 回日本結合組織学会学術大会・第 57 回マトリックス研究会大会合同学術集会、2010 年 8 月 19 日、秋田拠点センター、秋田
- ⑥ Mitsuhiro Ohshima, Yoko Yamaguchi, Naoyuki Matsumoto, Patrick Micke, Yuka Takenouchi, Tetsuya Nishida, Mitsuyasu Kato, Kazuo Komiyama, Yoshimitsu Abiko, Koichi Ito, Kichibee Otsuka, Kai Kappert, TGF-beta signaling in aggressive matrix destruction by gingival fibroblasts. TGF-beta meeting in Uppsala, 2009 年 8 月 27 日, Uppsala, Sweden
- ⑦ Mitsuhiro Ohshima, Yoko Yamaguchi, Naoyuki Matsumoto, Yuka Takenouchi, Tetsuya Nishida, Mitsuyasu Kato, Kazuo Komiyama, Yoshimitsu Abiko, Koichi Ito, Kichibee Otsuka, A novel drug screening system for periodontitis using three-dimensional culture. Gordon Research Conference in Periodontal Diseases, Colby-Sawyer College, 2009 年 8 月 4 日, New London, NH, USA
- ⑧ Mitsuhiro Ohshima, Yoko Yamaguchi, Naoyuki Matsumoto, Yuka Takenouchi, Tetsuya Nishida, Mitsuyasu Kato, Kazuo Komiyama, Yoshimitsu Abiko, Koichi Ito, Kichibee Otsuka, A novel drug screening system for periodontitis using 3D culture. Europerio 6, 2009 年 6 月 5 日, Stockholm, Sweden

〔産業財産権〕

○出願状況（計 3 件）

名称：口腔癌細胞浸潤阻害剤
発明者：山口洋子、大島光宏、鳥居塚和生
権利者：日本大学、昭和大学
種類：特許権
番号：特願 2011-220423
出願年月日：2011 年 10 月 4 日
国内外の別：国内

名称：顎嚢胞治療薬
発明者：山口洋子、大島光宏、大木秀郎
権利者：日本大学
種類：特許権
番号：特開 2012-012365
出願年月日：2010 年 7 月 5 日
国内外の別：国内

名称：コラーゲン分解阻害剤
発明者：山口洋子、大島光宏、鳥居塚和生
権利者：日本大学、昭和大学
種類：特許権
番号：特開 2011-256136
出願年月日：2010 年 6 月 9 日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 洋子 (YAMAGUCHI YOKO)
日本大学・歯学部・助手
研究者番号：00239922

(2) 研究分担者

大島 光宏 (OHSHIMA MITSUHIRO)
奥羽大学・薬学部・教授
研究者番号：30194145

(3) 連携研究者

安孫子 宜光 (ABIKO YOSHIMITSU)
日本大学・松戸歯学部・教授
研究者番号：70050086