

令和 元年 5 月 27 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11549

研究課題名(和文) 抗炎症性低分子化合物terreinおよびその類縁体の歯内歯周疾患治療への応用

研究課題名(英文) Application of anti-inflammatory small molecule compound, terrein and its novel analogue, for the treatment of endodontic or periodontal diseases.

研究代表者

大森 一弘 (Omori, Kazuhiro)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：20549860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、抗炎症性低分子化合物terreinの炎症性骨吸収疾患(特に歯内・歯周疾患)に対する治療薬としての可能性を検討した。その研究成果として、新規terrein類縁体の合成に成功、破骨細胞分化抑制効果を確認した、terreinの細胞内標的分子の一つとしてJAK1のタンパク質リン酸化を抑制することを確認した、絹糸結紮歯周病マウスモデルにおいてterreinを腹腔投与すると有意に歯槽骨の吸収を抑制することを確認し、炎症性細胞の上皮下への浸潤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の歯内歯周疾患治療薬として応用できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、自身の歯が多数残る高齢者数は増加しており、8020運動達成者の割合が50%を超えたと報告されている。一方、歯が口腔内に残存することに伴い、う蝕や歯周病の発症リスクも上昇している。そのため、今後、口腔内に多量の感染・炎症巣を持つ高齢者の割合が増加することは、口腔感染に伴う全身疾患(誤嚥性肺炎等)の発症リスクを上昇させる、すなわち医療費の増加につながると思われる。今回報告した低分子化合物terreinの口腔組織(炎症性細胞、上皮、骨組織等)に対する様々な薬理効果を応用することが出来れば、超高齢社会を意識した新たな口腔疾患治療(予防)薬として応用できると考える。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the possibility of the anti-inflammatory small molecule compound terrein as a therapeutic agent for inflammatory bone resorption diseases (especially endodontic or periodontal diseases). As a result of present study, (1) success of synthesized new terrein analogues, which have inhibitory effect of osteoclast differentiation, (2) one of the intracellular target molecules of terrain is JAK1, (3) intraperitoneal administration of terrein significantly inhibited alveolar bone resorption in the mouse ligature-induced periodontal disease model, and terrain suppressed the infiltration of inflammatory cells into the subepithelial region. The results suggest that terrein, a low molecular weight compound, may be applied as a treatment for endodontic or periodontal diseases.

研究分野：歯科保存治療学

キーワード：terrein 歯周炎 根尖性歯周炎

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えた我が国において、健康寿命を延伸させるにあたり、食生活を司る口腔機能を良好に維持することが求められている。そのため、成年期から高齢期にかけて歯の喪失の主な原因となりうる根尖性歯周炎および歯周病（歯内歯周病変含む）の効率的な治療・予防法を開発することが強く求められている。

申請者らは、真菌の一つである *Aspergillus terreus* が産生する代謝産物 *terrein* の抗炎症効果に着目し、従来報告されていた *terrein* の合成法 (Altenbach HJ *et al*, 1990) を改良して、良質かつ効率的に合成する手法を開発した。さらに、合成した *terrein* を用いて歯肉線維芽細胞 (HGFs) における interleukin-6 (IL-6) の細胞内シグナル伝達に関わる主経路 (JAK/STAT および Ras/MAPKs) のタンパク質リン酸化を有意に抑制する効果を明らかにした (Mandai H, Omori K *et al*, 2014)。

IL-6 は根尖性歯周炎、歯周病、そして関節リウマチといった炎症性骨吸収を主病態とする疾患の発症および進展に深く関与していることが報告されており、炎症性骨吸収の進行を抑制する上で、非常に重要なターゲット因子の一つである (Kishimoto T, 2010)。今回着目する低分子化合物 *terrein* の抗 IL-6 効果に着目することによって、効果的かつ効率的な歯内・歯周疾患の治療法開発に *terrein* を応用できると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、抗炎症性低分子化合物 *terrein* およびその新規類縁体の、1) 細胞内ターゲット因子の解明を目指し、2) 申請者の研究グループが確立した歯内・歯周疾患 *in vivo* モデルにおける *terrein* の抗炎症および骨代謝に及ぼす影響を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

in vitro 実験系として、ヒト歯肉線維芽細胞およびマウス骨髄由来マクロファージ様細胞を用いて、

- ① リンカー付き *terrein* を合成して、細胞内のターゲット因子（結合タンパク質等）の候補分子を探索する
- ② *terrein* の新規類縁体を有機化学的に合成して、オリジナル *terrein* の効果（抗 IL-6 効果や破骨細胞分化抑制）と比較検討し、より強力な新規化合物の候補を探索する

in vivo 実験系として *terrein* の効果は、

- ① ラット歯内疾患モデルおよびマウス歯周疾患モデルを用いて、硬組織形成能を組織学的、免疫組織学的、画像診断学的に検討する。抗炎症効果は、分子イメージング技術を応用して検討する
- ② オリジナルの *terrein* よりも効果の高い新規類縁体化合物の合成を *in vitro* 実験系で確認後、上記各疾患モデルでさらなる検討を行う

こととした。

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 有機化学合成実験において、*terrein* 新規類縁体の合成に成功（リンカー付与含む）、そして破骨細胞分化抑制効果を確認した。
- ② *terrein* の細胞内標的分子の一つとして JAK1 のタンパク質リン酸化を抑制することを確認した。
- ③ マウス絹糸結紮歯周病モデルにおいて、*terrein* を腹腔投与すると有意に歯槽骨の吸収を抑制する作用をエックス線学的評価にて確認した。さらに、組織学的評価において炎症性細胞の上皮下への浸潤を有意に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* の抗炎症効果を *in vivo* において初めて証明したものである。今後、合成した *terrein* 新規類縁体の効能評価を行っていく上でカギとなる研究成果であると考えられる。なお、報告者が知る限り有機化学合成した *terrein* を用いた研究を行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、本分野における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 2 件)

- ① Siddiqui YD, Omorik K, Ito T, Yamashiro K, Nakamura S, Okamoto K, Ono M, Yamamoto T, Van Dyke TE, Takashiba S. Resolvin D2 Induces Resolution of Periapical Inflammation and Promotes Healing of Periapical Lesions in Rat Periapical Periodontitis. *Front Immunol*, 査読有, 10, 2019, 307, DOI: 0.3389/fimmu.2019.00307
- ② Yamamoto S, Omorik K, Mandai H, Nakayama M, Nakagawa S, Kobayashi H, Kunimine T, Yoshimura H, Sakaida K, Sako H, Ibaragi S, Yamamoto T, Maeda H, Suga S, Takashiba S. Fungal metabolite (+)-terrein suppresses IL-6/sIL-6R-induced CSF1 secretion by inhibiting JAK1 phosphorylation in human gingival fibroblasts. *Heliyon*, 査読有, 4(11), 2018, e00979, DOI: 10.1016/j.heliyon.2018.e00979

[学会発表] (計 7 件)

- ① 佐光秀文、大森一弘、中川沙紀、坂井田京佑、山本総司、青柳浩明、小林寛也、大野充昭、平井公人、山城圭介、山本直史、高柴正悟、真菌二次代謝産物 terrein はマウス歯周病モデルにおける歯槽骨吸収を抑制する、日本歯科薬物療法学会、2019 年
- ② 佐光秀文、大森一弘、中川沙紀、坂井田京佑、山本総司、青柳浩明、小林寛也、山城圭介、山本直史、高柴正悟、真菌二次代謝産物(+)-terrein はマウス実験的歯周炎モデルにおける歯槽骨吸収を抑制する、日本歯科保存学会、2018 年
- ③ 中村亜里紗、大森一弘、小林寛也、富川知子、山本総司、中川沙紀、山本直史、高柴正悟、真菌二次代謝産物(+)-terrein はヒト歯肉上皮細胞における *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 刺激による細胞間接着分子の発現低下を抑制する、日本歯科保存学会、2018 年
- ④ 中川沙紀、大森一弘、山本総司、小林寛也、河村麻理、中村亜里紗、山本直史、高柴正悟、真菌二次代謝産物(+)-terrein は RANKL 誘導性破骨細胞分化における NFATc1 の発現を抑制する、日本歯科保存学会、2017 年
- ⑤ 中村亜里紗、大森一弘、小林寛也、山本総司、中川沙紀、富川知子、峯柴史、山本直史、高柴正悟、真菌代謝産物 terrein は *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 歯肉上皮感染時の IL-8 産生を抑制する、日本歯周病学会、2017 年
- ⑥ Yamamoto S, Omorik K, Goto A, Kobayashi H, Nakagawa S, Nakamura A, Yamamoto D, Yamamoto T, Takashiba S. Fungal metabolite, terrein, suppresses IL-6/sIL-6R-induced CSF1 secretion in gingival fibroblasts. International Association for Dental Research, 2017
- ⑦ 山本総司、大森一弘、後藤絢香、小林寛也、中川沙紀、中村亜里紗、富川知子、山本直史、高柴正悟、真菌代謝産物(+)-terrein はヒト歯肉線維芽細胞のける interleukin-6 誘導性 SHP2-AKT シグナル活性を抑制する、日本歯周病学会、2016 年

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：中山 真彰

ローマ字氏名：(NAKAYAMA, Masaaki)

所属研究機関名：岡山大学

部局名：大学院医歯薬学総合研究科

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：10579105

研究分担者氏名：高柴 正悟
ローマ字氏名：(TAKASHIBA, Shogo)
所属研究機関名：岡山大学
部局名：大学院医歯薬学総合研究科
職名：教授
研究者番号（8桁）：50226768

研究分担者氏名：萬代 大樹
ローマ字氏名：(MANDAI, Hiroki)
所属研究機関名：岡山大学
部局名：大学院自然科学研究科
職名：助教
研究者番号（8桁）：60534427

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。