

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19614

研究課題名(和文)ナノバブル化ネオマクロライドを用いたワクチン副反応の予防薬の開発研究

研究課題名(英文) Research and development of a preventive drug for vaccine side effects using nanobubble neomacrolide

研究代表者

寺尾 豊 (Terao, Yutaka)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：50397717

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：申請調書に記載した研究計画に基づき実験を開始し、その中間成果を9回の学会発表で公表した。そして、それら学会発表の中間成果と討論を踏まえ、8編の英語の国際学術論文を執筆し、受理公表されるに至っている。すなわち、申請調書にて計画した成果の発表が、おおむね順調に達成できていることが、客観的に数値で示すことができている。以上に加え、得られた成果のアウトリーチ活動も励行し、公立中学校での無料出前授業も実施済みである。また、アウトリーチ活動の一環として、成果のNHKテレビや新聞者の取材を受ける等の社会還元活動も申請調書の公約に基づき実施できている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インパクトファクターの付された査読付きの国際学術ジャーナル(Microbiology and Immunology, iScience, Microbiology and Immunology, Cytokine, Diagnostics, Microbiology Spectrum, Journal of Biological Chemistry, Microorganisms, PLOS ONE)に投稿し、10編の英語の国際学術論文の全てが受理され、公表されるに至っている。本研究成果は、学术界や社会に新規知見の供与をもたらした。

研究成果の概要(英文)：We began experiments based on the research plan described in the application document, and announced the interim results at nine conference presentations. Based on the interim results and discussions of these conference presentations, I have written 8 international academic papers in English, which have been accepted and published. In other words, it is possible to objectively demonstrate with numerical values that the presentation of the results planned in the application record has generally been achieved smoothly. In addition to the above, we are promoting outreach activities based on the results obtained, and we have already conducted free on-site classes at public junior high schools. Additionally, as part of our outreach activities, we have been able to conduct social contribution activities, such as receiving interviews from NHK TV and newspapers, based on the commitments made in our application documents.

研究分野：細菌学

キーワード：ナノバブル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、これまで歯周炎や肺炎において感染者の免疫が攪乱されることにより、病態が悪化することを明らかにしてきました。免疫を正常に調節する化合物として、抗菌薬マクロライドが知られています。しかしながら、薬剤耐性菌の激増により、2016~2020年および2023~2027年の2回の「AMR アクションプラン」で抗菌薬マクロライドは使用制限が課せられています。そこで、本研究代表者らは、マクロライド誘導体研究の実績に優れる共同研究チームと大学間共同研究契約を締結し、抗菌作用の無いマクロライド誘導体を合成および供与を受けることとしました。

### 2. 研究の目的

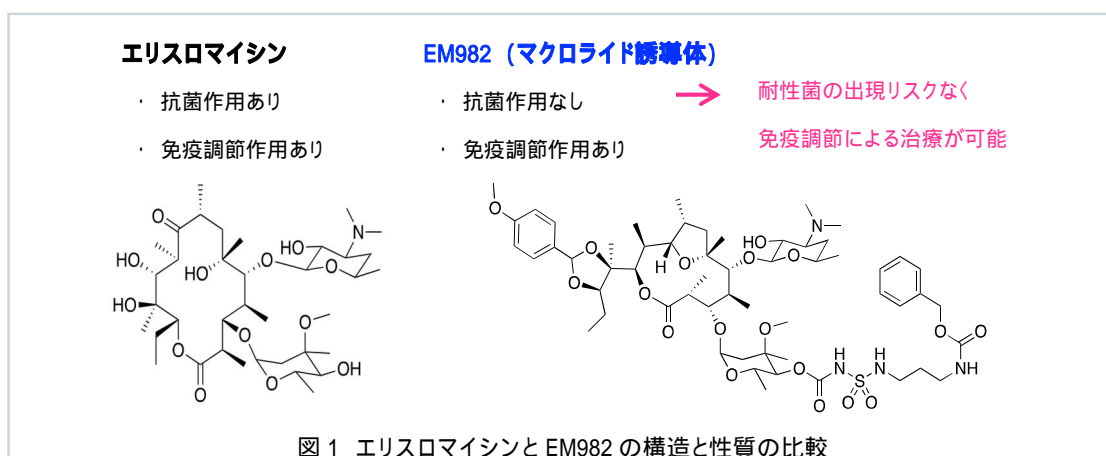
マクロライド系抗菌薬は免疫調節作用を有し、非細菌性炎症性疾患への有効性が報告されています。本研究の実験系の1つでは、既存マクロライド系薬であるエリスロマイシン(EM)の化学構造を一部改変したEM誘導体の免疫調節作用について解析しました。

### 3. 研究の方法

本研究では、約50種類のEM誘導体を使用しました。各誘導体およびLPSをTHP-1細胞に混合添加して培養し、培養上清中の炎症性および抗炎症性サイトカイン濃度をELISAで定量しました。続いて、Toll-like receptor (TLR)を発現させたHEK293細胞に誘導体EM982およびLPSを添加して培養し、転写因子NF- $\kappa$ Bの活性化に伴い分泌されるアルカリフォスファターゼ(SEAP)の活性を測定しました。次に、生体分子間相互作用解析装置Biacore X-100にてTLR4に対するLPSの結合能を解析しました。最後に、マクロライド感受性肺炎球菌D39株などの各種細菌に対する最小発育阻止濃度も測定しました。

### 4. 研究成果

抗菌薬マクロライドの1つであるエリスロマイシンをベースに、様々な化学修飾を施し、エリスロマイシン誘導体を複数種類合成しました。そして、マクロライドに耐性を持たない各種の細菌に、マクロライド誘導体を添加して培養し、非抗菌性の誘導体を選別しました(図1, 図2)。次に、非抗菌性誘導体と細菌毒素のLPSをTHP-1細胞に混合添加して培養し、培養上清中のサイトカイン濃度をELISAにて測定しました。その結果、誘導体EM982とLPSを混合添加した群では、LPS単独添加群と比べて、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8およびIL-10の濃度が有意に低いことが示されました(図1)。続いて、Toll-like receptor (TLR)4を発現させたHEK293細胞にEM982とLPSを混合添加して培養し、NF- $\kappa$ BおよびAP-1の活性化に伴って分泌されるアルカリフォスファターゼの活性を測定しました。その結果、EM982添加群では、LPS単独添加群と比較して、アルカリフォスファターゼ活性が有意に低いことが示されました。さらに、TLR4シグナル伝達分子のリン酸化に及ぼすEM982の影響をreal-time PCR法、およびウェスタンブロット法にて解析しました。その結果、EM982添加群では、LPS単独添加群と比較して、NF- $\kappa$ Bの上流で機能するIKKおよびI $\kappa$ Bのリン酸化レベルが低いことも示されました。EM982はTLR4シグナル伝達分子IKKおよびI $\kappa$ Bのリン酸化を阻害し、NF- $\kappa$ Bの活性化を抑制することで、炎症性および抗炎症性サイトカイン産生を抑制することが示唆されました(図3)。また、EM982は抗菌作用を欠き、薬剤耐性菌を生じさせる懸念が少ないことも示唆されました。



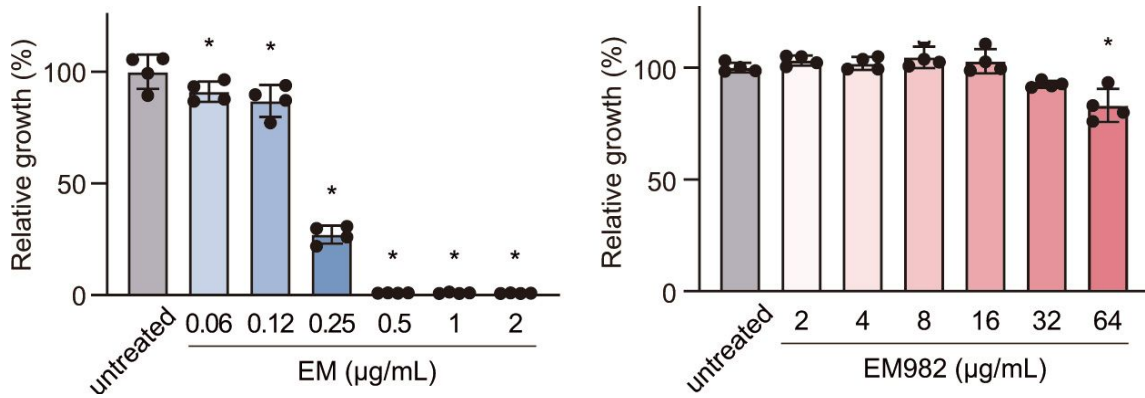


図2 エリスロマイシンとEM982の抗菌作用の比較

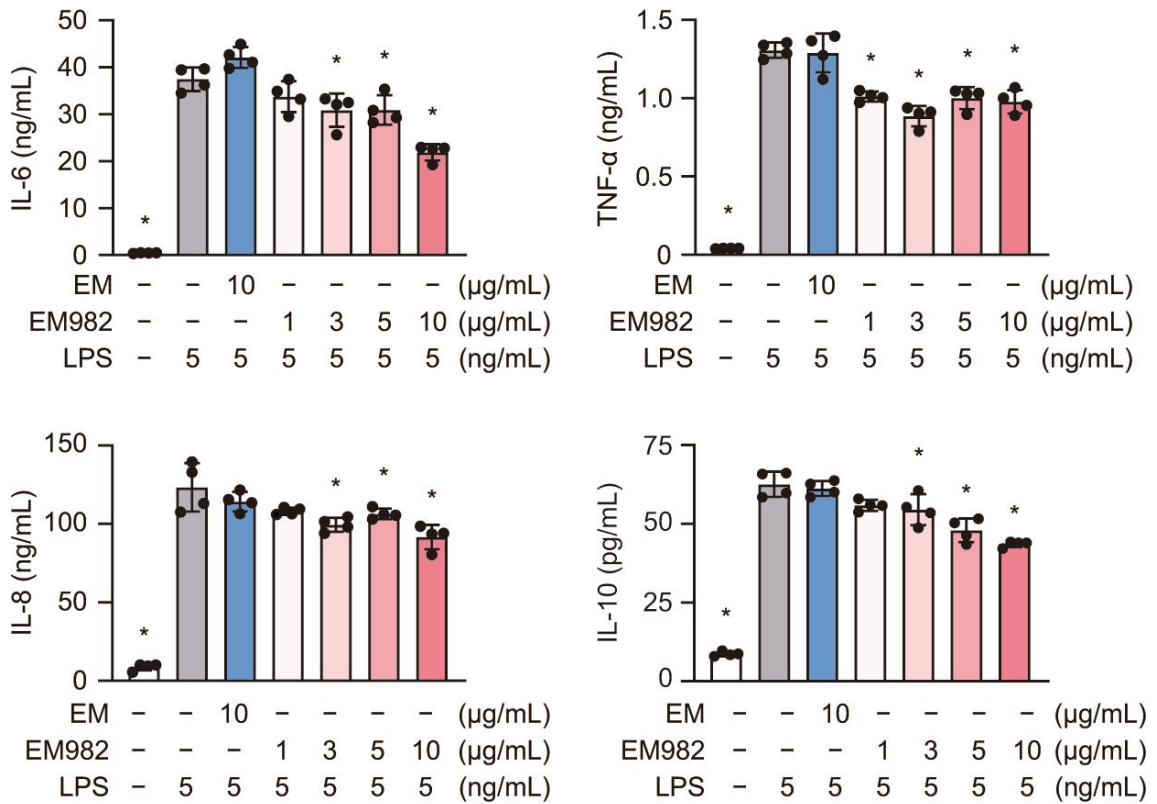


図3 EM982の免疫調節作用の解析

ウイルス感染症などの際に、免疫調節を期待し、抗菌薬マクロライドを処方することが行われています。しかし、それは抗菌薬の乱用に繋がり、薬剤耐性菌の増加を招いてしまいます。そこで、本研究で得られたEM982について、感染症や免疫疾患モデルにおける治療効果の検証を行い、抗菌作用が無く、耐性菌を生み出す怖れない免疫調節薬としての可能性を更に詳細解析する計画です。

さらに、ナノバブル発生装置についても作製を進め、次ページ図4に示すプロトタイプを完成させることができた。

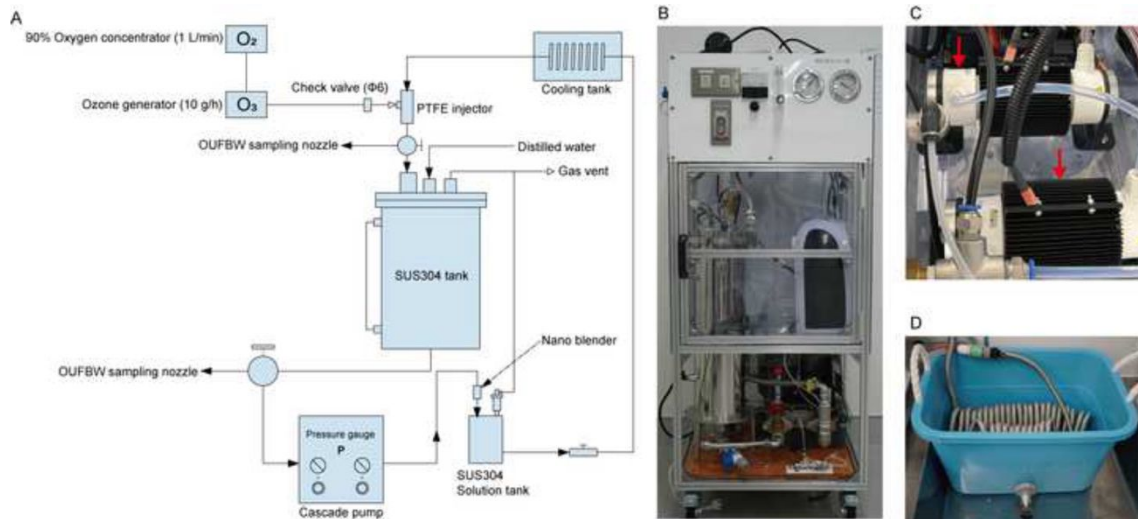


図4 ナノバブル発生装置の設計図面とプロトタイプ完成写真

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Takizawa F, Domon H, Hiyoshi T, Tamura H, Shimizu K, Maekawa T, Tabeta K, Ushida A, Terao Y	4. 巻 18(4)
2. 論文標題 Ozone ultrafine bubble water exhibits bactericidal activity against pathogenic bacteria in the oral cavity and upper airway and disinfects contaminated healthcare equipment.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0284115
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 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 Hirayama S, Yasui Y, Sasagawa K, Domon H, Terao Y	4. 巻 67(2)
2. 論文標題 Pneumococcal proteins ClpC and UvrC as novel host plasminogen binding factors.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 99-104
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 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 Tamura H, Maekawa T, Domon H, Sirisereephap K, Isono T, Hirayama S, Hiyoshi T, Sasagawa K, Takizawa F, Maeda T, Terao Y, Tabeta K	4. 巻 16(2)
2. 論文標題 Erythromycin restores osteoblast differentiation and osteogenesis suppressed by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 303
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 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 Hiyoshi T, Domon H, Maekawa T, Tamura H, Isono T, Hirayama S, Sasagawa K, Takizawa F, Tabeta K, Terao Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Neutrophil elastase aggravates periodontitis by disrupting gingival epithelial barrier via cleaving cell adhesion molecules.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8159
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 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 Hirayama S, Domon H, Hiyoshi T, Isono T, Tamura H, Sasagawa K, Takizawa F, Terao Y	4. 巻 12(6)
2. 論文標題 Triosephosphate isomerase of Streptococcus pneumoniae is released extracellularly by autolysis and binds to host plasminogen to promote its activation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 1206-1219
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 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 Sirisereephap K, Maekawa T, Tamura H, Hiyoshi T, Domon H, Isono T, Terao Y, Maeda T, Tabeta K	4. 巻 23(10)
2. 論文標題 Osteoimmunology in periodontitis: Local proteins and compounds to alleviate periodontitis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5540
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 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 Ibano N, Inada E, Otake S, Kiyokawa Y, Sakata K, Sato M, Kubota N, Noguchi H, Iwase Y, Murakami T, Sawami T, Kakiyama Y, Maeda T, Terunuma M, Terao Y, Saitoh S	4. 巻 11(20)
2. 論文標題 The role of genetically modified human feeder cells in maintaining the integrity of primary cultured human deciduous dental pulp cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 6087
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 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 Isono T, Hirayama S, Domon H, Maekawa T, Tamura H, Hiyoshi T, Sirisereephap K, Takenaka S, Noiri Y, Terao Y	4. 巻 0
2. 論文標題 Degradation of EGFR on lung epithelial cells by neutrophil elastase contributes to the aggravation of pneumococcal pneumonia.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry, in press	6. 最初と最後の頁 0
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 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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 滝澤史雄, 土門久哲, 前川知樹, 牛田晃臣, 平山 悟, 日吉 巧, 田村 光, 磯野俊仁, 笹川花梨, 樋渡 忠, 瀬戸光一, 寺尾 豊, 多部田康一
2. 発表標題 オゾンウルトラファインバブル水による口腔細菌に対する殺菌作用
3. 学会等名 第65回春季歯周病学会学術大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 寺尾 豊	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 103
3. 書名 パーフェクトマスター 口腔微生物学・免疫学 第2版	

1. 著者名 寺尾 豊（編集・分担執筆）	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 315
3. 書名 口腔微生物学・免疫学 第5版第2刷	

1. 著者名 寺尾 豊（分担執筆）	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 354
3. 書名 微生物学・歯科衛生士書き込み式学習ノート1 専門基礎科目編 人体の構造と機能 / 歯・口腔の構造と機能 / 疾病の成り立ち及び回復過程の促進 2023年版	

1. 著者名 寺尾 豊 (編集・分担執筆)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 0
3. 書名 歯科衛生学シリーズ 微生物学 第2版	

1. 著者名 寺尾 豊 (分担執筆)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 0
3. 書名 標準微生物学 第15版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>アウトリーチ授業：公立中学校での無料出前授業（2023年11月，大阪府）</p> <p>Web報道：「JST: Niigata University led group develops prototype production equipment that generates a disinfectant solution from water and air」 Science Japan by JST 科学技術振興機構，2023年6月2日</p> <p>Web報道：「JST: 水と空気から消毒液を生成」JST 科学技術振興機構，2023年5月23日</p> <p>Web報道：「肺炎が難治化する仕組みを新潟大が解明、治癒力を回復させる方法も考案」マイナビニュース，2023年5月15日</p> <p>新聞・Web報道：「新潟大、肺炎難治化の仕組み解明 承認薬で治療の可能性」日刊工業新聞，2023年5月11日</p> <p>Web報道：「肺炎難治化の仕組み解明、承認済み薬剤で改善も - 新潟大が研究成果を発表」医療介護CBニュース，2023年5月9日</p> <p>Web報道：「細菌性肺炎が難治化する分子メカニズムを解明、治療薬候補も発見 - 新潟」医療NEWS，2023年5月9日</p> <p>TV・Web報道：「効果持続するオゾン消毒液 新潟大学大学院研究チームが開発」NHK，2023年5月1日</p> <p>新聞報道：「水と空気から消毒液を生成」科学新聞，2023年4月28日</p> <p>Web報道：「空気と水だけで作れる安全・安価な消毒液「オゾン・ナノ水」を新大が開発」マイナビニュース，2023年4月20日</p>
--

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	中馬 吉郎  (Chuman Yoshiro)  (40372263)	新潟大学・自然科学系・研究教授    (13101)	



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	牛田 晃臣  (Ushida Akiomi)  (10582976)	新潟大学・自然科学系・准教授    (13101)	
研究 分 担 者	土門 久哲  (Domon Hisanori)  (00594350)	新潟大学・医歯学系・准教授    (13101)	
研究 分 担 者	前川 知樹  (Maekawa Tomoki)  (50625168)	新潟大学・医歯学系・研究教授    (13101)	

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