



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ヒト口腔粘膜上皮細胞のIL-1 α および β -defensin 1の産生に対する半夏瀉心湯とデキサメタゾンの作用比較 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	羽藤, 裕之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15506号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89668
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroyuki_Hato_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 羽 藤 裕 之

学位論文題名

ヒト口腔粘膜上皮細胞の IL-1 α および β -defensin 1 の産生に対する半夏瀉心湯とデキサメタゾンの作用比較

キーワード (5つ) Hangeshashinto, Dexamethasone, β -defensin 1, Oral keratinocyte, IL-1 α

口腔粘膜上皮は、常に曝される種々の病原体に対して、物理的な障壁として機能している。さらに Defensin に代表される抗菌ペプチドを発現することにより、口腔内の恒常性の維持に関与している。ヒトでは α -defensin と β -defensin の発現が認められ、 β -defensin は口腔粘膜上皮をはじめ多くの口腔組織に発現している。 β -defensin の多くは炎症により誘導される一方、 β -defensin 1 (hBD-1)は恒常的発現として知られている。hBD-1 は口腔内の自然免疫の維持のみならず、近年では白血球走化性因子としての役割、創傷治癒の促進といった多面性が報告されているため、hBD-1 の発現低下は、多くの疾患や感染症との関連がこれまでに指摘されている。また固形食物などの物理的な侵襲、長期的な薬物療法等は、hBD-1 低下を伴う粘膜上皮のバリア機能を低下させる。粘膜上皮バリア機能の低下が起こると、病原性微生物の生体内侵入を許し、炎症性白血球の集積を伴う炎症が誘発される。この炎症の増強や慢性化は、時に難治性の口内炎となり、疼痛をはじめとする持続的な症状をもたらすため、患者の QOL 低下を伴い治療の対象となる。このような口内炎治療においては、デキサメタゾン(DEX)などの局所のステロイド投与が選択されることが多いが、この常用的投薬が真菌の *Candida* 属などによる日和見感染の発症を誘発する例が散見される。ステロイドが口腔粘膜上皮細胞の生体防御機構に負の影響を与えた結果として臨床ではし

ばしば問題視されている。

漢方薬の一つである半夏瀉心湯 (HST)は、7つの生薬から構成され、本邦では一般用医薬品以外に、医療用医薬品として処方される。HST は急性または慢性の胃腸炎、急性腸炎、口内炎などの治療によく用いられ、そのメカニズムも部分的に解明されてきた。近年ではHST の含嗽により、化学放射線療法中に生じる口内炎の疼痛のコントロールや治癒促進に有効であることが報告され、その効果、機序が注目されている。口腔粘膜に対するHST の作用は多岐にわたるが、HST をはじめとする漢方薬の多くは、副作用が比較的少なく、高齢者でも比較的安全に投与できるとされている。

口内炎に対する作用は臨床および基礎の研究報告が数多く報告されている。口腔粘膜に対するHST の創傷治癒促進効果が報告されているが、口腔粘膜機能に重要な役割を果たすhBD-1に対する同剤の作用を調べた研究報告はない。本研究では、ヒト口腔粘膜上皮細胞のInterleukin-1 α (IL-1 α) およびhBD-1産生系について、DEXと対比することによって、HST薬剤のプロファイルを明らかにした。

まずHSTは、24、48時間のHOK培養系に対して12.5-100 μ g/mLで無影響だったが、DEXは両培養系に対して、0.01-10 μ Mの評価域で細胞増殖を濃度依存的に低下した。次に、炎症惹起剤であるPam3CSK4またはLPSでHOKを刺激した培養系で、HST、DEXが、HOKのIL-1 α およびhBD-1産生系に与える影響を評価した。HOKを24時間HSTまたはDEXで処理し、さらに炎症惹起剤であるPam3CSK4またはLPSを加え24時間培養した後、細胞上清を回収した。細胞上清中のIL-1 α 、hBD-1のタンパク産生の変化を評価するため、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)を実施した。炎症惹起剤を添加しない系におけるHSTは、HOKのIL-1 α の産生に影響を与えなかったが、Pam3CSK4、LPS添加による誘導性のIL-1 α の産生増強に対して、HSTは濃度依存的にかつ有意に抑制した。一方で、DEXでの24時間の処理そのものは、10 μ MにおいてHOKのIL-1 α の産生を有意に低下した。またHSTと同様にDEXは、Pam3CSK4、LPS誘導性のIL-1 α の産生を濃度依存的に抑制したが、同時に濃度依

存的にhBD-1の産生も抑制した。HST濃度100 μ g/mLで、同実験系における遺伝子発現の変化を、定量的リアルタイムpolymerase chain reaction (qPCR)にて評価した。その結果、LPS、Pam3CSK4誘導性のIL-1 α の遺伝子発現は有意に抑制されていたが、hBD-1の発現レベルは維持されていた。HSTは、7つの生薬で構成され、多種多様な薬理活性成分を含む。例えば、オウレンはIsoquinoline alkaloidを豊富に含み、オウゴンやカンゾウはFlavonoid、カンゾウやニンジンにはTriterpenoidを含有し、これらの抗炎症作用が数多く報告されている。上記に記述したHSTの抗IL-1 α 産生が、どの含有成分に依存するかを検討するため、Isoquinoline alkaloid であるBerberine (BBR)、Flavonoid であるBaicalin (BC)とそのアグリコンであるBaicalein (BCN)、TriterpenoidであるGlycyrrhizin (GL)に着目した。各成分30 μ Mでは、主にBC、BCNが抗IL-1 α 産生を有意に抑制した。

これらの結果から、HSTは、hBD-1が担う自然免疫機能に負の影響を与えないレベルで、病原性微生物由来の炎症惹起因子による炎症性サイトカイン産生を、選択的に抑制することが示唆された。一方、DEXは細胞増殖能を抑制し、さらにPam3CSK4、LPS誘導性の炎症性サイトカインの産生制御のみならず、hBD-1の産生も濃度依存的に抑制した。DEXをはじめとしたステロイドの常用は、様々な合併症の発症の要因となることがある。したがってHSTは口内炎をはじめとした口腔内の炎症疾患に対する治療薬として有用である可能性が考えられる。