



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_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 羽藤裕之

審査担当者 主査 教授 北川善政
副査 教授 飯村忠浩
副査 教授 大廣洋一

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

審査は、審査担当者全員の出席のもと、Web形式の公聴会として行われた。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

口内炎の治療は主にデキサメタゾン（DEX）をはじめとしたステロイド性抗炎症薬の局所塗布が選択されるが、これらの薬剤の常用は日和見感染の発症を誘発する例が散見される。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参与している。ヒトのDefensinは α -defensinと β -defensinに分類され、特に 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的機能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。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。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、作用機序が注目されている。本研究はヒト口腔粘膜上皮細胞の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することを目的とした。

Human oral keratinocyte (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。細胞上清とtotal RNAを回収し、IL-1 α およびhBD-1のタンパク産生や遺伝子発現の変化をELISAまたはRT-PCRで評価した。まず、HOK培

養系の細胞増殖能に対して、12.5-100 μ g/mL のHST投与は投与後24、48時間において有意な影響を示さなかったが、DEXは0.01-10 μ Mの評価域で投与後24、48時間における細胞増殖能を濃度依存的に低下させた。HSTは、炎症惹起剤を添加しない系においては、HOKのIL-1 α の産生に影響を与えなかったが、Pam3CSK4、LPSを添加した系における誘導性のIL-1 α の産生に対しては、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させた。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。また、同実験系における遺伝子発現変化を解析した結果、HSTはPam3CSK4誘導性のIL-1 α の発現を有意に抑制したが、hBD-1の発現レベルは維持していた。さらに、HSTの含有成分で、Flavonoid であるBaicaleinおよびBaicalinに同様の抗IL-1 α 産生を認めた。これらの結果から、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ことが示唆された。

論文審査にあたっては、申請者による学位論文要旨についての説明後、担当者により研究内容および関連事項についての質問を行った。主な質問事項は、

1. 実験のタイムコースにて、Preincubationによる薬剤処理を選択した理由について
2. 実際の臨床で使用されている薬剤の濃度と実験で使用した濃度の違いについて
3. hBD-1のサブタイプであるhBD-2、hBD-3に関する実験結果について
4. 上皮組織におけるhBD-1の局在性について
5. これまでに知られているHSTの含有成分の有効性について
6. 具体的なHSTの作用点について

これらの質問に対して申請者から適切かつ明快な回答および説明が得られ、研究の立案と遂行ならびに結果の収集とその評価について、申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究業績はHSTと従来の口内炎治療薬であるDEXとを対比させ、hBD-1産生に関して明確な違いを初めて示したものであり、口内炎治療薬としてのHSTの有用性を示す内容が評価された。申請者は関連分野にも十分な学識を有していることが確認され、発展的研究に対しての意欲においても将来有望であると評価された。以上のことから、本研究業績が博士（歯学）の学位に値するものと認められた。