

ふりがな氏名	いまい かずたか 今井 一貴
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 860 号
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 6 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項に該当
学位論文題目	Biological Effects of Shikonin in Human Gingival Fibroblasts via ERK 1/2 Signaling Pathway (ERK1/2 シグナル伝達経路を介したヒト歯肉線維芽細胞における Shikonin の生物学的効果)
学位論文掲載誌	Molecules 第 24 巻 第 19 号 令和元年 9 月
論文調査委員	主 査 梅田 誠 教授 副 査 前田 博史 教授 副 査 野崎 中成 教授

論文内容要旨

歯周外科手術は歯周病治療の専門的治療法であり、その治療過程において軟組織の良好な治癒は治療の成功に不可欠である。しかし、創傷部位での感染と過剰な炎症は、創傷治癒を遅らせる可能性がある。ヒトの歯肉線維芽細胞（hGF）は、歯肉組織の口腔創傷治癒の細胞増殖およびリモデリングの過程で重要な役割を果たす。ハーブを含む天然由来の物質は古くより傷を治療するための薬として使用され、その効能について広く研究されてきた。古くより *L. erythrorhizon* の根はすり傷、火傷、潰瘍等の治療に使用され、日本では紫雲膏という火傷の治療薬として使用されている。そして、*L. erythrorhizon* の根の有効成分である Shikonin の分子量は 288.5 で、化学式は $C_{16}H_{16}O_5$ である。Shikonin は創傷治癒を促進し、抗炎症、抗腫瘍、および抗菌効果を発揮するとの報告がある。しかし、これらの薬が歯肉組織の創傷の治療に使用されることは少なく hGF に対する報告も多くない。そこで、歯周組織の創傷治癒に重要な hGF に対する Shikonin の影響について検討した。

患者から採取した歯肉より分離して、hGF を樹立し実験に供した(大阪歯科大学医の倫理委員会 許可番号：大歯医倫 第 110989 号)。hGF を各種濃度の Shikonin (0.01, 0.1, 1, 10 および 100 μ M) で培養し細胞増殖、細胞遊走および細胞毒性試験によって至適濃度を策定した。細胞外マトリックスである I 型コラーゲン産生を免疫染色および ELIZA 法にて検討し、フィブロネクチン (FN) の産生を Western Blots 法を用いて検討した。また VEGF および FN の遺伝子発現をリアルタイム PCR 法を用いて検討した。さらに、創傷治癒に重要な役割を果たす MAPK 経路の ERK1/2 のリン酸化を検討した。ERK1/2 の特異的な阻害剤である PD98059 を用いて同様の実験を行った。

Shikonin (1 μ M) は hGF の増殖と遊走を有意に促進した。また、10 および 100 μ M の Shikonin は

LDH の産生を促進した。以上の結果から、1 μ M を至適濃度とした。Shikonin は I 型コラーゲンおよび FN の合成を促進し、VEGF および FN の遺伝子発現を増強した。さらに Shikonin は ERK1/2 のリン酸化を誘導することが明らかになった。また、PD98059 を用いることで ERK1/2 を介してその薬理効果を発揮することが示唆された。

Shikonin が細胞増殖、細胞遊走、I 型コラーゲンおよび FN の合成、FN および VEGF の遺伝子発現、および ERK1/2 のリン酸化を促進することが認められた。また PD98059 によりそれらの効果が阻害されることも認められた。したがって、Shikonin が歯周外科手術後の創傷治癒において有益な効果をもたらすことが示唆された。

論文審査結果要旨

本論文は軟組織の創傷治癒に対し古くより漢方薬として使用されてきた紫根の有効成分である Shikonin を用いて軟組織の創傷治癒に大きく関与するヒト歯肉線維芽細胞に対し有用であるかを明らかにすることを目的とした。背景として、歯周外科治療後の軟組織の創傷治癒は歯周外科の予後を大きく作用するといわれている。しかし、軟組織の創傷治癒に対し有用な薬剤は現在多く報告されていないという事情がある。結果として Shikonin がヒト歯肉線維芽細胞に対し、細胞増殖、細胞遊走、細胞外マトリックスである I 型コラーゲン、フィブロネクチンおよび VEGF の産生が認められた。また、これらの過程を創傷治癒に大きく関与するシグナル伝達経路の 1 つである ERK1/2 を介して行われていることも確認されている。本論文の意義は歯周外科治療後の軟組織の創傷治癒において Shikonin が有用である可能性を示唆している。

以上より、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。