OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ユーカリ抽出物による歯周病予防効果に関する研究
Author(s)	稲垣, 芳佳
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49255
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名	稲垣芳佳（いながきよしか）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学位記番号	第　２１９３３　号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	**ユーカリ抽出物による歯周病予防効果に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　雫石　　聰 （副査） 教　授　天野　敦雄　　准教授　秋山　茂久　　講　師　池邉　一典

論　文　内　容　の　要　旨

代表的なユーカリ種の一つである *Eucalyptus globulus* の葉は古くから医薬目的や食品として利用されてきた。ユーカリ葉のエタノール抽出成分には齲蝕原性細菌や歯周病細菌を含むさまざまな細菌に対する抗菌作用があり、なかでも主成分である macrocarpal A、B および C は *Streptococcus sobrinus* のグルコシルトランスフェラーゼによる不溶性グルカンの生成を阻害し、動物実験において抗齲蝕作用を有することが報告されている。しかし、macrocarpal の歯周病細菌に対する抗菌作用や、ユーカリ抽出物が歯周病に及ぼす影響については不明である。本研究では、まず、*in vitro* の実験系で、macrocarpal が歯周病細菌に及ぼす影響について調べ、続いて、ユーカリ抽出物の歯周病予防効果を明らかにするために、ユーカリ抽出物配合チューインガムを用いてヒト臨床試験を行った。

macrocarpal の歯周病細菌に対する増殖阻害効果を調べるために、種々の濃度の macrocarpal を添加した培地で歯周病細菌を培養し、48 時間後の培養液の吸光度を測定した。その結果、macrocarpal A、B、C ともに *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 株、W50 株、*Prevotella intermedia* ATCC 49046 株、*Prevotella nigrescens* ATCC 25261 株、*Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans* ATCC 29523 株や *Treponema denticola* ATCC 33520 株に対し増殖抑制作用を示した。特に、*P. gingivalis* に対しては、5 μg/ml の濃度でその増殖を完全に阻害した。次に、特に強い増殖抑制作用が示された *P. gingivalis* の病原因子に及ぼす macrocarpal の影響について検討した。*P. gingivalis* の主要な病原因子であるアルギニン特異的タンパク質分解酵素（Rgp）とリジン特異的タンパク質分解酵素（Kgp）に及ぼす macrocarpal の影響を調べるために、*P. gingivalis* の培養上清に種々の濃度の macrocarpal および基質（Bz-Arg-MCA または Boc-Val-Leu-Lys-MCA）を加え、37℃で 15 分間反応させた後、TLCK 添加により反応を停止させ、分光蛍光光度計を用いて遊離した 7-amino-4-methylcoumarin を測定した。また、*P. gingivalis* 培養上清によるヒトヘモグロビンの分解に及ぼす macrocarpal の影響を SDS-PAGE により確認した。さらに、*P. gingivalis* の唾液被覆ハイドロキシアパタイト（HA）ビーズへの付着に及ぼす影響は、唾液で被覆した HA ビーズに ^{3}H ラベルした *P. gingivalis* ATCC 33277 株菌体と macrocarpal を加え、室温で 1 時間反応させた後、唾液被覆 HA ビーズに結合した *P. gingivalis* 菌体の放射能を測定することにより調べた。その結果、macrocarpal A、B、C ともに、*P. gingivalis* の Rgp および Kgp 活性を濃度依存的に阻害すること、本菌の培養上清によるヘモグロビンの分解を抑制すること、そして、唾液で被覆した HA ビーズへの本菌の付着を阻害することが明らかとなった。

次に、ユーカリ抽出物の歯周病予防効果を調べるためにユーカリ抽出物配合チューインガムを用いて二重盲検無作

為化比較対照試験を行った。歯肉炎の所見を有するが、6 mm 以上の歯周ポケット深さはみられない全身的に健康な者 97 名を被験者とし、無作為に次の 3 群に割り付けた：高濃度群、0.6%ユーカリ抽出物配合チューインガム 90 mg/日摂取群；低濃度群、0.4%ユーカリ抽出物配合チューインガム 60 mg/日摂取群；対照群、ユーカリ抽出物未配合チューインガム摂取群。各群とも割り付けられたチューインガムを 12 週間摂取させ、0、4、8、12 および 14 週目に、歯周検査として歯垢付着（PLA）、歯肉炎指数（GI）、プロービング時の歯肉出血（BOP）、歯周ポケット深さ（PPD）および臨床的アタッチメントレベル（CAL）を測定し、ベースライン時からの歯周指標の変化について統計解析を行った。また、全身検査として血液検査や尿検査などを実施した。反復測定分散分析により交互作用の有無を調べた結果、PLA、GI、BOP および PPD において有意の交互作用が認められたが、CAL ではみられなかった。交互作用がみられた指標について Games-Howell 検定により群間比較を行った結果、高濃度群および低濃度群の PLA、GI、BOP および PPD では、対照群のそれらより有意の改善がみられ、さらに、PLA では、高濃度群が低濃度群よりも有意の改善を示した。また、各群の経時的変化および各時点における試験群と対照群との比較を Dunnett 検定により行ったところ、両試験群は 0 週と比較して PLA、GI、BOP および PPD においてすべての週で有意な改善がみられた。各時点での対照群と試験群との比較では、低濃度群の 4 週の PPD および両試験群の 4 週の CAL を除くすべての臨床指標において有意差がみられた。また、試験食摂取によって問題となる口腔内および全身的な異常所見はみられなかった。

以上の結果より、ユーカリ抽出物の主成分である macrocarpal A、B および C は、歯周病細菌に対して強い増殖抑制作用を示し、*P. gingivalis* の病原因子の働きを抑制することが明らかとなった。また、macrocarpal を含むユーカリ抽出物配合チューインガムの摂取により、歯肉縁上プラークの付着の減少がみられるとともに、歯肉炎症、歯肉出血や歯周ポケット深さを示す臨床指標も低下することから、ユーカリ抽出物配合チューインガムは歯周病を改善する効果があると考えられ、歯周病予防素材として応用できる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、*in vitro* の実験系で、ユーカリ抽出物の主成分である macrocarpal が歯周病細菌に及ぼす影響について調べ、さらに、ユーカリ抽出物の歯周病予防効果を明らかにするために、ユーカリ抽出物配合チューインガムを用いてヒト無作為化比較対照試験を行った。その結果、macrocarpal は歯周病細菌に対して強い増殖抑制作用を有することが明らかとなり、また、ユーカリ抽出物配合チューインガムによる臨床試験において、ユーカリ抽出物は歯垢の付着や歯肉炎の症状に対して有意な改善効果を示した。

以上のことから、本研究は、ユーカリ抽出物が新たな歯周病予防素材となる可能性を示唆するものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。