

ふりがな氏名	えん せんせん 閔 倩倩
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第1663号
学位授与の日付	令和5年12月27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	Effect of propolis from Bahia, Brazil on oral bacterial flora (ブラジルバイーア州産プロポリスの口腔細菌叢へ与える影響について)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第58巻 第1号 令和6年4月
論文調査委員	主査 沖永 敏則 教授 副査 柏木 宏介 教授 副査 竹信 俊彦 教授

論文内容要旨

高齢人口が急速に増加している日本では、従来の医療や福祉では対応できない問題が増加し、平均寿命と共に健康寿命の延伸が喫緊の課題となっている。ヒト2大常在細菌叢の1つである腸内細菌叢は、免疫の制御を通じて全身の健康に大きな役割を果たしていることが報告されている。一方、口腔細菌叢は、腸内細菌叢へ与える影響が示唆されるなど、健康長寿に関わる細菌叢として注目を浴びている細菌叢である。

プロポリスは、ミツバチが植物の花粉や樹脂等を唾液と混ぜ巣に使用する樹脂状物質であることから、多くの天然物質を含んでいる。現在までに、ブラジルバイーア州産プロポリスが、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する抗菌効果を示すものの、口腔細菌種に対して非常に限局的な抗菌効果を示す可能性を報告してきた。そこで今回、株式会社山田養蜂場本社提供のエタノール抽出プロポリス（ブラジルバイーア州産）を使用して、口腔細菌叢に与える影響を調べた。被検者より唾液を採取し遠心後、口腔細菌叢を含んだペレットをプロポリス (50 μ g/ml) またはプロポリス分画を含有した細菌叢培養専用培地 SHI 培地にて、20時間培養した。培養後遠心し、ペレットから Pathogen Lysis Tube (S) (Qiagen) と QIAamp UCP Pathogen Mini Kit (Qiagen) を用いて細菌 DNA の抽出を行った。Qubit dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher) により DNA 濃度を測定後、細菌 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を標的とした PCR を行った。PCR 産物を AMPure Beads (Beckman Coulter) で精製後、イルミナ社次世代シーケンサー (MiSeq) により、遺伝子配列の解読を網羅的に行った。得られた配列データの解析は、次世代シーケンス解析ソフトウェア (CLC Genomics Workbench) により行い、細菌叢の変動を求めた。

プロポリス処理により、口腔細菌叢のなかで *Fusobacterium* 属, *Prevotella* 属, *Peptostreptococcus* 属および *Porphyromonas* 属の減少傾向が認められた。一方、口腔細菌叢の中で大きな割合を占める *Streptococcus* 属にはプロポリスおよびプロポリス分画による影響は見られなかった。また、*Veillonella* 属や *Aggregatibacter* 属などにも影響は見られなかった。以上の結果より、ブラジルバイアー州産プロポリスは、*Porphyromonas* 属に影響を与えるが、その他にも多くの細菌種に影響を与えることが示唆され、抗菌効果だけでなく口腔細菌叢を変える自然抽出物の候補になり得る可能性がある。

論文審査結果要旨

本学術論文では、プロポリスの口腔細菌叢に対する効果について検証している。高齢人口が急速に増加している日本では、従来の医療や福祉では対応できない問題が増加し、平均寿命と共に健康寿命の延伸が喫緊の課題となっている。う蝕や歯周病の原因とされる口腔細菌叢は、腸内細菌叢へ与える影響が示唆されるなど、健康長寿に関わる細菌叢として注目を浴びている細菌叢である。プロポリスは、ミツバチが植物の花粉や樹脂等を唾液と混ぜ巣に使用する樹脂状物質であることから、多くの天然物質を含んでいる。本論文では、株式会社山田養蜂場本社提供のエタノール抽出プロポリス（ブラジルバイアー州産）を使用して、口腔細菌叢に与える影響を調べている。被検者より唾液を採取し遠心後、口腔細菌叢を含んだペレットをプロポリス (50 μ g/ml) またはプロポリス分画を含有した細菌叢培養専用培地 SHI 培地にて、20 時間培養した。培養後細菌 DNA の抽出を行った。DNA 濃度を測定後、細菌 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を標的とした PCR を行い、イルミナ社次世代シーケンサー (MiSeq) により、遺伝子配列の解読を網羅的に行った。得られた配列データの解析および統計処理は、次世代シーケンス解析ソフトウェア (CLC Genomics Workbench) により行い、細菌叢の変動を求めた。プロポリス処理により、口腔細菌叢のなかで *Fusobacterium* 属, *Prevotella* 属, *Peptostreptococcus* 属および *Porphyromonas* 属の減少傾向が認められた。一方、口腔細菌叢の中で大きな割合を占める *Streptococcus* 属にはプロポリスおよびプロポリス分画による影響は見られなかった。また、*Veillonella* 属や *Aggregatibacter* 属などにも影響は見られなかった。以上の結果より、ブラジルバイアー州産プロポリスは、*Porphyromonas* 属に影響を与えるが、その他にも多くの細菌種に影響を与えることが示唆され、抗菌効果だけでなく口腔細菌叢を変える自然抽出物の候補になり得る可能性があることを示した本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。

なお、外国語 1 か国語（英語）について試問を行った結果、合格と認定した。