

ふりがな氏名	たきがわ ひろき 瀧川 博樹
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 961 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Effect of Brazilian propolis from the state of Bahia on oral bacteria (ブラジル連邦共和国バイーア州産プロポリスの口腔細菌への影響)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 57 巻 第 1 号 令和 5 年 4 月
論文調査委員	主査 沖永 敏則 教授 副査 三宅 達郎 教授 副査 富永 和也 教授

論文内容要旨

近年口腔ケアは、う蝕や歯周病だけでなく、全身疾患の予防にも重要である。セルフメディケーションの普及に伴い、抗菌作用を有する天然由来物質を活用した歯磨き粉やマウスウォッシュなどの製品が数多く開発されている。プロポリスは、幅広い抗菌活性、低毒性、低いアレルギー反応などの特性を有しており、古くから治療や予防を助ける物質として世界中の民間療法で利用されている。プロポリスは、抗菌・抗真菌・抗ウイルス・抗がん・抗炎症・抗酸化作用があることが知られている。プロポリスは、ミツバチが様々な植物から集めた木の芽や樹液などの植物成分に、ミツバチの唾液酵素や蜜蝋成分を混ぜた樹脂状の固形天然物質である。プロポリスはミツバチが集めた植物を起源としており、その成分は地域によって異なることが知られている。地域性や物性によって異なるが、様々なプロポリスに共通する生理活性物質の中心はフラボノイドやフェノールカルボン酸を含むポリフェノールである。抗菌・抗酸化・抗炎症作用から、プロポリスは歯科領域においても新しい感染症予防・治療法の開発が期待できる。

本研究では、ブラジル連邦共和国バイーア州で採取されたエタノール抽出プロポリス(EEP)を用いて、EEP が口腔内に存在する細菌種にどのような影響を与えるかの検証を行った。試験菌として、*Escherichia coli* (*E. coli*)、*Actinomyces oris* (*A. oris*)、*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)、*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)、*Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*)を用いた。試験菌を前培養後、バイーア州産 EEP（最終濃度：0、50 µg/mL）を添加し、それぞれ 37°C で振盪培養を行い、0、3、24 時間ごとに分光光度計を用いて濁度の計測を行った。その結果、*P. gingivalis* と *A. oris* に対して増殖抑制効果が認められたので、

2種の細菌について詳細に検討した。最終濃度 0、50 および 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるようにバイーア州産 EEP を添加した培養液を用い、37°C で培養後、0、3、6、12、24 時間後に濁度を測定した。

次に、*A. oris*、*P. gingivalis* に対する EEP の最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) を求めた。MIC は、微量希釈法を用いて測定した。一晚培養した菌液を $\text{OD}_{600}=0.05$ に調整したものに、EEP を最終濃度 0~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で添加し、24 時間培養した。その後、マルチマイクロプレートリーダー M50S を用いて濁度の計測を行った。濁度の上昇が認められない濃度を MIC と定義した。濁度の上昇が認められなかったウェルから 7 μL を採取し、平板培地に滴下した。*A. oris* は 2 日間、*P. gingivalis* は 5 日間培養し、発育状況を調べた。発育が認められなかった濃度を MBC とした。バイーア州産 EEP の MIC および MBC 値は *A. oris* では 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および >128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったが、*P. gingivalis* では 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

バイーア産 EEP は、特に *P. gingivalis* に対して効果が認められ、消毒薬や抗菌薬に匹敵するものであった。バイーア産 EEP は口腔感染症の新たな治療薬として期待ができると考える。

論文審査結果要旨

本論文は、ブラジル連邦共和国バイーア州で採取されたエタノール抽出プロポリス(EEP)を用いて、EEP が口腔内に存在する細菌種にどのような影響を与えるかの検証を行ったものである。試験菌として、*Escherichia coli*、*Actinomyces oris* (*A. oris*)、*Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)、*Fusobacterium nucleatum* を用いている。試験菌に、バイーア州産 EEP (最終濃度 : 0、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を添加し、それぞれ 37°C で振盪培養を行い、0、3、24 時間ごとに分光光度計を用いて濁度の計測を行った。結果、*P. gingivalis* と *A. oris* に対して増殖抑制効果が認められた。

次に、*A. oris*、*P. gingivalis* に対する EEP の最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) を測定している。濁度の上昇が認められない濃度を MIC と定義した。濁度の上昇が認められなかったウェルから 7 μL を採取し、平板培地に滴下し、発育が認められなかった濃度を MBC としている。バイーア州産 EEP の MIC および MBC 値は *A. oris* では 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および >128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったが、*P. gingivalis* では 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。バイーア産 EEP は、特に *P. gingivalis* に対して効果が認められ、消毒薬や抗菌薬に匹敵するものであった。

以上、バイーア産プロポリスは、細菌種によって効果の違いが大きくあるものの、特異的に口腔細菌 *A. oris* 及び *P. gingivalis* に対して殺菌効果があることを初めて証明した点において、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。