

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学感染制御学講座微生物学分野 杉本秀樹 に対する最終試験は、

主査 槻木恵一教授、副査 出口眞二教授、副査 河田 俊嗣教授により、

主論文ならびに関連事項につき口頭試問をもって行われた。

また、外国語の試験は、主査 槻木恵一教授によって、英語の文献読解力について筆答試験により行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 教 授 槻木恵一

副 査 教 授 出口眞二

副 査 教 授 河田俊嗣

論 文 審 査 要 旨

Inhibitory effects of French pine bark extract, Pycnogenol[®], on alveolar bone resorption
and on the osteoclast differentiation

神奈川歯科大学感染制御学講座微生物学分野

研 究 生 杉本 秀樹

(指 導 : 浜田信城 教授)

主 査 教 授 槻木恵一

副 査 教 授 出口眞二

副 査 教 授 河田俊嗣

論文審査要旨

歯周炎は、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を含む歯周病原細菌により惹起される歯槽骨吸収や歯周組織破壊を特徴とする炎症性疾患である。近年、茶カテキンを代表とする植物由来成分による歯周炎予防について研究が行なわれている。Pycnogenol[®] は、フランス海岸松である *Pinus pinaster* の樹皮から抽出されるプロシアニジンとフラボノイドを主成分とする植物性生理活性物質である。本研究では Pycnogenol[®] の歯槽骨吸収抑制効果について、*P. gingivalis* 生菌により惹起されるラット実験的歯周炎モデルを用いて検討するとともに破骨細胞の分化および延命に対する抑制作用について検討した。

ラット実験的歯周炎は、4週齢の雄 Sprague-Dawley 系ラットを *P. gingivalis* 非接種群 (A)、*P. gingivalis* 感染群 (B)、Pycnogenol[®] 投与群 (C) ならびに *P. gingivalis* 感染および Pycnogenol[®] 投与群 (D) の4群 (各6匹) に分け、5% カルボキシメチルセルロース溶液 (CMC) で調製した *P. gingivalis* ATCC 33277 株の菌液 (1.5×10^9 cells/ml) を5回、口腔内へ接種することにより惹起した。Pycnogenol[®] 投与は固形飼料に 0.025% (wt/wt) 濃度となるように Pycnogenol[®] 粉末を混合し、実験期間中給餌して行った。*P. gingivalis* 非接種群には5%CMC溶液のみを投与し、さらに6週間飼育した。Pycnogenol[®] による歯槽骨吸収抑制効果は、ラット上顎標本の歯槽骨吸収量を測定することにより評価した。*P. gingivalis* 感染群は非感染コントロール群と比較して歯槽骨吸収量が増加したが、Pycnogenol[®] 投与により骨吸収量は非感染群と同程度までに抑制された。また、*P. gingivalis* に対する抗菌活性について検討したところ、1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の Pycnogenol[®] 処理により有意に生菌数の減少が認められた。さらに、本菌のヒト歯肉上皮細胞に対する付着・侵入に対する抑制も認められた。破骨細胞の分化誘導は、BALB/c マウス大腿骨より採取した骨髄細胞を 1,25 (OH)₂D₃ および dexamethasone 存在下で破骨細胞分化支持細胞である MC3T3-G2/PA6 との共培養系により検討し、100 $\mu\text{g/ml}$ 、10 $\mu\text{g/ml}$ ならびに 1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の Pycnogenol[®] 溶液を培地中に添加することにより、非添加群と比較して有意な TRAP 陽性破骨細胞数の減少が認められた。また、RANKL 刺激による破骨細胞延命活性に対する Pycnogenol[®] 溶液の阻害効果について、1,25 (OH)₂D₃ および prostaglandin E₂ を含有する α -MEM 培地で7日間培養することにより得た成熟破骨細胞を 200 ng/ml の RANKL 存在下でさらに48時間培養した後、生存する TRAP 陽性破骨細胞数を計測することにより評価した結果、Pycnogenol[®] 溶液の添加は濃度依存的に有意に生存破骨細胞数を減少させた。

以上の結果から、Pycnogenol[®] が *P. gingivalis* の誘導するラット実験的歯周炎での歯槽骨吸収を抑制し、破骨細胞の分化誘導に対する抑制効果および RANKL 存在下での破骨細胞延命効果を抑制する作用を併せ持つ天然物質であることが明らかにされた。

本審査委員会では、申請者に対して、論文内容に関する説明と主査、副査により行われた質問に対して十分に満足できる回答が得られた。以上の審査の結果、本審査委員会は申請者が博士 (歯学) の学位に十分値するものと認めた。