

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	翟 若琪
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 The anti-inflammatory effect of geniposidic acid to <i>Porphyromonas gingivalis</i> -induced periodontitis ( <i>Porphyromonas gingivalis</i> によって誘発される歯周炎に対するゲニポシド酸の抗炎症作用)			
論文審査担当者			
主査教授	加来 真人	印	
審査委員	教授 小松澤 均		
審査委員	教授 太田 耕司		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>歯周炎は red complex に分類される <i>Porphyromonas gingivalis</i>(Pg) のような歯周病原細菌と宿主の相互作用によって歯周組織の破壊が引き起こされる感染症である。近年、超高齢化社会が進むとともに歯周炎罹患率も上昇し、簡便な予防方法が求められている。日本人はお茶を飲む機会が多く、お茶に含まれるカテキンが抗炎症作用、殺菌作用を示すことが報告されている。杜仲茶の主成分ゲニポシド酸(GPA) はこれまでに抗肥満作用、降圧作用、アルツハイマー病抑制に関して報告があり、炎症抑制にも関連することが示唆されている。したがって GPA が歯周炎に対して抑制効果が認められれば、歯周炎罹患率が上昇すると予想される超高齢化社会に対する問題解決につながる可能性がある。したがって、本研究では歯肉上皮細胞およびマウス歯周炎モデルを用いて、Pg 感染で引き起こされる歯周炎に対する GPA の効果を検討した。</p> <p>本研究ではまず、歯肉上皮細胞に GPA (1mg/ml) を添加後、ホルマリン固定 Pg W83 株の死菌体 (10<sup>8</sup>CFU/ml) を作用させ、炎症性サイトカイン IL-6 mRNA 発現量を 12 時間後、IL-6 タンパク質産生量を 24 時間後に検討した。その結果、Pg が作用することで増加した IL-6 が GPA を作用させることで抑制されることを明らかにした。さらに、そのメカニズム解明のため、歯肉上皮細胞を GPA 添加、または非添加の状態に Pg 死菌体刺激 1 2 時間後の細胞溶解液を作成した。この溶解液を用いた Western blotting から、GPA は Pg 由来リポ多糖 (LPS) を認識する宿主細胞表面のレセプター toll-like receptor 2 (TLR2) 発現を抑制した。したがって、GPA が歯肉上皮細胞の TLR2 を介した Pg 認識を阻害することによって IL-6 産生の抑制に関与することを明らかにした。</p> <p>次に GPA の in vivo における作用を検討するために、C57BL/6JJc1 マウスに Pg (10<sup>8</sup>CFU、3 日毎、計 6 週間) を口蓋側歯周組織に塗布することで歯周炎を惹起するモデルを確立した。また Pg 塗布 30 分前に GPA (5 mg/50 <math>\mu</math>l 2%カルボキシメチル</p>			

セルロースに溶解) を塗布する GPA 塗布 Pg 感染群も作製し、Pg 感染マウス歯周炎モデルに対する GPA の抗炎症効果を検討した。GPA 塗布 Pg 感染群では、Pg 感染群の歯肉組織中や血清中で増加した IL-6 量の抑制が認められ、歯槽骨吸収の抑制効果も認められた。

更に GPA の歯槽骨吸収抑制効果のメカニズムを解明するため、マウス大腿骨骨髓由来単球系細胞を Sigma Histopaque-1083 を用いた比重遠心法で分離し sRANKL (100 ng/ml) と M-CSG (20 ng/ml) 存在下で GPA (1 mg/ml) を添加時の破骨細胞分化への影響を検討した。GPA 非添加細胞と比較して、GPA 添加細胞では破骨細胞分化が抑制された。特に、GPA 非添加細胞と比較して、GPA 添加細胞では破骨細胞数が減少しただけではなく、形成された破骨細胞の面積も小さかった。したがって、Pg 感染マウス歯周炎モデルにおける GPA の歯槽骨吸収抑制効果は GPA の抗炎症作用によるものと、破骨細胞分化に対する抑制的効果が影響している可能性が明らかになった。

本研究により、GPA は *in vitro* および *in vivo* における IL-6 の発現量抑制と破骨細胞分化抑制効果を示すことが明らかになったことから、GPA は歯周炎抑制剤としての有効性が示唆された。しかし、GPA の詳細な作用メカニズムに関して、標的因子の解明には至っておらず、将来的な歯周病抑制剤としての応用を目指す上では、今後さらに検討していくことが必要である。

以上の結果から、本論文は、GPA が歯周病原細菌の刺激に対する抗炎症効果、破骨細胞分化に対する抑制効果を示した有意義なデータを提供し、歯周病学ならびに関連歯科医学の発展に寄与するところが大きいと高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (歯学) の学位を授与するに十分価値あるものと認めた。