

# 学位論文審査の要旨

論文提出者	伊神 裕高
論文審査委員	(主査) 朝日大学歯学部 教授 辰巳 順一 (副査) 朝日大学歯学部 教授 永山 元彦 (副査) 朝日大学歯学部 教授 柏俣 正典
論文題目	メトホルミン局所投与による歯周炎予防効果の検討
<u>論文審査の要旨</u> <b>【目的】</b> メトホルミン(MT)は2型糖尿病治療薬の第一選択薬となっている。またMTは糖尿病以外にもさまざまな疾患の治療薬として使用されている。歯周炎に対するMTの作用に関する研究が近年注目され始めている。本研究は歯周炎の予防に歯肉へのMT局所投与が有効かどうか明らかにすることを目的とした。 <b>【材料および方法】</b> 加齢および若齢マウス歯肉へのMT局所投与の比較のため、60~70週齢(Aged群)、10週齢(Young群)雄性C57BL/6Jマウス(日本チャールス・リバー)各10匹、計20匹を実験に供した。Aged群、Young群ともにMT溶液を局所投与する群(MT群)とPBSを局所投与する群(PBS群)5匹ずつ、4グループに振り分けた。局所投与は週3回を4週間、計12回行った。最終投与から7日後に屠殺し上顎、末梢静脈血、口蓋歯肉を採取した。採取した上顎は、マイクロCT撮影後、組織切片(HE染色)を作製し組織像を観察した。採取した歯肉からの全RNAを抽出し、全RNAをもとに相補鎖DNA(cDNA)を作成し、PROFILER™ PCR Array Mouse Wound Healing (QIAGEN)を用いて創傷治癒関連遺伝子発現の定量解析を行った。また採取した末梢静脈血を遠心分離にて血清を調整し、血清中サイトカインをab193660-Mouse Cytokine Antibody Array-Membrane (Abcam)を用いて検出した。 MT局所投与が加齢マウス実験的歯周炎発症過程に及ぼす影響のを明らかにするため、60~70週齢雄性C57BL/6Jマウス12匹を実験に供した。MTを局所投与するMT群とPBSを局所投与するPBS群各6匹ずつに振り分け、局所投与は週3回4週間行った。投与終了後各個体の上顎右側第二臼歯に5-0絹糸結紮を行なった。上顎左側第二臼歯は非結紮とすることで、同一個体内で結紮側と非結紮側を設定した。結紮4日後に屠殺し、上顎を採取しデジタル写真撮影を行った。上顎組織はマイクロCT撮影と組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ(TRAP)染色、アザン(AZAN)染色を施し組織像を観察した。マイクロCT画像より歯槽骨吸収量、HE染色から炎症細胞数の定量を行った。TRAP染色切片で施した組織像においては歯槽骨表層におけるTRAP陽性細胞の数を計測した。有意差検定は分散分析(ANOVA)を行った後にpost-hocとしてTukey検定を用い有意水準を5%に設定し、p値が有意水準を下回る場合には有意差ありと判断した。	

## 【結 果】

加齢および若齢マウス歯肉への MT 局所投与の比較はマイクロ CT 画像より Aged 群, Young 群ともに MT 群と PBS 群を比較して歯槽骨量に変化は認められなかった. Aged-MT 群の組織像を Aged-PBS 群と比較すると, 投与部位周辺の接合上皮の付着が保たれていた.

創傷治癒関連遺伝子の発現は Aged-MT 群で Aged-PBS 群に対して Cxcl3, Cxcl5, Mmp7, Csf3 の発現が低下し, Colla1, Col4a3, TIMP-1, EGF の発現は約 2 倍の増加を認めた. 血清中サイトカイン値は Aged-MT 群と Aged-PBS 群を比較して有意差は認められなかった. MT 局所投与が加齢マウス実験的歯周炎発症過程に及ぼす影響の実験では, PBS 群結紮側の歯槽骨吸収量は MT 群非結紮側, PBS 群非結紮側と比較して有意に高かった. 炎症細胞浸潤数は, PBS 群結紮側と比較して MT 群結紮側および MT 群非結紮側で有意な減少を認めた. TRAP 陽性細胞数は PBS 群結紮側で PBS 群非結紮側, MT 群結紮側, および MT 群非結紮側と比較して TRAP 陽性細胞数は有意に増加していた.

## 【考 察】

加齢マウス歯肉への MT の局所投与は, 歯肉結合組織のコラーゲン代謝に影響しコラーゲン線維量の維持に働くことが示された. また歯肉組織では MT 局所投与により, 加齢が原因で生じる基礎的な炎症も抑制している可能性が示唆された. 絹糸結紮前の MT 局所投与により, 加齢マウス実験的歯周炎の発症過程で生じる炎症と骨吸収を抑制し, TRAP 陽性細胞数も減少していた.

## 【結 論】

歯肉への MT 局所投与が高齢者の歯周炎発症予防に有効である可能性が示唆された.

以上の内容から審査委員は, 本論文を博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した.