

【201】

氏名	Md. Mohashine Bhuiyan
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博甲第 1868号
学位授与の日付	平成11年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	IN VITRO STUDY ON THE BARK EXTRACT OF AZADIRACHTA INDICA(NEEM) CHEWING STICK: ITS EFFECTS ON THE GROWTH, ACID PRODUCTION AND ADHERENCE OF STREPTOCOCCUS SOBRINUS (in vitroにおけるAzadirachta indica neem チュウイングスティックの有効性: S. sobrinusの成長, 酸産生能および付着性に対する影響)
論文審査委員	教授 渡邊達夫 教授 福井一博 教授 下野 勉

学位論文内容の要旨

【目的】

チュウイングスティック(Miswak)は世界中で広く用いられており、特にアジア、アフリカ、東地中海や南アメリカの各地方で口腔内清掃のために用いられている。最近では世界保健機構(WHO)もチュウイングスティックを口腔内清掃の有効な手段として使用することを推奨している。*Azadirachta indica*は、Neemの名で良く知られ熱帯地方に広く生育している。その枝は、チュウイングスティックとして、インド、パキスタンやバングラディッシュで良く用いられている。

現在でも口腔清掃の手段として、人々はNeemを天然のスティックとして使用しており、その際には、枝の先の樹皮を取り除いて使用している。こういった樹皮を除去する理由として、樹皮の有益な効果に対する知識不足が挙げられる。Neemの色々な部位の効用に対する研究がなされ、各地で報告もされているが、樹皮には殆ど注意がはらわれていない。そこで、本研究ではNeem樹皮から抽出液(NBE)を採取し、その*S. sobrinus*の増殖、酸産生および付着能に対する阻害効果を調べることを目的とした。

【材料と方法】

Neemの枝から樹皮を採取し、パウダー状にした。hexane, acetone, ethanolとmethanolの有機溶媒を用いて、Neem樹皮から抽出液を得た。また、蒸留水を用いて抽出液(aqueous NBE)を採取した。またhexane, ethylacetateと水溶分画を分離した。

寒天平板拡散法により、種々の濃度のNBEの*S. sobrinus*に対する発育阻害能を調べた。また、NBEの最小発育阻止濃度を求めるために、寒天平板希釈法を用いた。次にacetic NBEとaqueous NBEをPhenol red broth(PRB)に添加し、それぞれに対数増殖期にある*S. sobrinus*を接種し、酸産生阻害に対する影響を調べた。そして、寒天平板拡散法を用いて、各分画の発育阻止濃度を調べた。

さらに、静止期にある*S. sobrinus*についてpH低下に関する実験を行った。また、aqueous NBE濃度を0~250 µg/mlで変え、対数増殖期にある*S. sobrinus*のスクロース依存性付着能を吸光度計で調べさらにErythrocinで染色し肉眼判定した。なお、統計分析についてはStudent's t-testを用いた。

【結果】

- (1)有機溶媒を用いて抽出したNBEのうち、acetic NBEの抽出量が最も多く、*S. sobrinus*に対する発育阻害能が大きかった。
- (2)5%w/v acetic NBEで0.2% Chlorohexidineと同程度の*S. sobrinus*の増殖阻害を認めた。しかし同濃度のaqueous NBEには増殖阻害能は認められなかった。
- (3)acetic NBEの*S. sobrinus*の最小発育阻止濃度は、0.05%w/vであった。
- (4)acetic NBEのhexaneならびにethyl acetate分画には、*S. sobrinus*の発育阻害能を認めたが、

水溶分画には認めなかった。

(5) acetic NBEとaqueous NBEは、*S. sobrinus*を接種した1%グルコース配合PBRのpH低下を有意に阻害した($p < 0.001$)。

(6) pH低下環境下で1% aqueous NBEは、グルコースからの酸産生能を有意に阻害した($p < 0.001$)。

(7) aqueous NBEは、250 μ gで強く*S. sobrinus*のガラス付着能を阻害した。

【考察】

チュウイングスティック(Miswak)は、機械的ならびに化学的作用を兼ね備えた天然のハブラシである。本研究ではacetic NBEの効用についても述べたが、aqueous NBEの方が、口腔内の適用においては、より臨床的であると思われる。何故ならば人々は、Neemの枝をチュウイングハブラシとして使用する際、唾液によって、Neemの枝から抽出される液を口腔内に含んで刷掃していると思われるからである。本実験により、aqueous NBEには、酸産生能を阻害しさらに細菌の歯牙への付着を阻止する物質が含まれていることが示された。多くの人々は、従来から、Neemの枝をMiswakとして使用する時、口腔内に入れる枝先の部分の樹皮を除去して使用するが、樹皮からの抽出液の上記に示したような有効な化学的作用を減少させている可能性も考えられる。樹皮以外の部分からも抽出液を採取し、同様に化学的有効性についてのさらなる研究をすすめていく必要があると思われる。

【結論】

熱帯地方に生息する薬用植物であるNeem (*Azadirachta indica*)の枝の樹皮は、*S. sobrinus*の増殖、酸産生や付着能の抑制効果を有し、これらの作用はプラーク産生の阻害作用を示唆していると思われる。従って、樹皮を除去せずにこの枝をチュウイングハブラシとして使用することは、第三世界においては、口腔衛生に有効、経済的かつ効率的であることが、本実験より示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究は、チュウイングスティック(Miswak)としてバングラディッシュやパキスタンで用いられている Neem(*Azadirachta indica*)の樹皮の抽出物についての生化学、細菌学的研究を行ったものである。

Neem の枝の樹皮をパウダー状にし、種々の有機溶媒と蒸留水を用いて抽出した成分の水溶液について、齲蝕原性細菌の一種である *Streptococcus sobrinus* に対する最小阻止濃度、増殖阻害能、Sucrose 依存性の付着能と酸産生阻害に対する影響を調べた。その結果、(1)アセトンを用いて抽出した成分は抽出量も多く、その水溶液は他の有機溶媒を用いて抽出した成分の水溶液より *S.sobrinus* に対する増殖阻害能が大きかった。(2)5%w/v アセトン抽出物水溶液は、0.2%クロロヘキシジンと同程度の *S.sobrinus* の増殖阻害能を示したが、蒸留水を用いて抽出した同濃度の水溶液には増殖阻害を認めなかった。(3)アセトン抽出物水溶液の *S.sobrinus* に対する最小阻止濃度は 0.05%w/v であった。(4)アセトン抽出物のヘキサンならびにエチルアセテート分画には *S.sobrinus* に対する増殖阻害能を認めたが水溶分画には認めなかった。(5)アセトン抽出物水溶液と蒸留水を用いて抽出した水溶液は、*S.sobrinus* を接種した 1%グルコース配合フェノールレッドブローの pH 低下を阻害した。(6)pH 低下環境下で 1%蒸留水抽出物水溶液はグルコースからの酸産生能を有意に阻害した。(7)蒸留水抽出物水溶液は、0.025%w/v で強く *S.sobrinus* のガラス付着能を阻害した。

蒸留水抽出物水溶液に酸産生能を阻害し、細菌の歯牙付着を阻止する成分が含まれていることが示唆された。開発途上の国々で口腔衛生手法として常習化している Neem チュウイングスティックは口腔内に入れる枝先の部分の樹皮を除去せずに使用することは口腔衛生に有効、経済的かつ効率的であると思われる。

以上のように本研究は、Neem チュウイングスティックに関する新知見を示した重要な研究と考えられる。よって本論文は、博士(歯学)の学位を得る資格があると思われる。