

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

P-01~86

KAP-01~05

5月18日(金)	ポスター準備	8:45~10:00
	ポスター展示	10:00~18:00
	ポスター討論	17:00~18:00

P-01
3102
歯周ポケットプローブの操作性と形態についてのアンケート報告
目黒 トシ子

キーワード：歯周ポケットプローブ，操作性と形態，アンケート
【目的】歯周ポケット測定時，プローブの太さや硬さ，および，目盛等の形態によって，使用感と診査にどのような差が出るかを調査し，理想的な歯周ポケットプローブの検討を行う。

【材料および方法】日本歯科大学附属病院衛生士により，歯周ポケットプローブ7種類を用い，CPITN (community periodontal Index of treatment needs) に準じて歯を選択し，歯石付着歯根の形態等の診査を行い，プローブの操作性についてアンケートを行った。

【結果および考察】プローブの太さや硬さについては，太く硬い物は，歯表面の形態が指に伝わりにくく，診査が行いにくかった。目盛については，1 mm単位に目盛が付いているものの方が数mm単位のものと比較して操作性が良かった。しかし，目盛部分に段差があるものは，歯の表面に，ひっきりがあり，正確な歯面の形態や歯石付着状態がわかりにくかった。さらに，実際の診査において，歯肉へのひっきりが推測された。また，プローブの把持部の角度も歯の形態や位置によって操作性に大きな影響が考えられた。使用後のプローブの洗浄において，目盛に段差があるものは，その段差に残留物が残ることがあった。以上のことから，歯表面形態が指に伝わりやすい太さや硬さのもので，目盛が1 mm単位にあり，プローブ表面は滑沢なものが良いと考えられる。さらに，プローブ先端部と把持部との角度についても，2種類程度が必要と考えられる。

P-03
2504
歯肉溝滲出液 (GCF) を用いた歯周病罹患部位の診断と治療効果のモニタリングの有用性 - 歯周病迅速診断キット開発に向けて - (第四報)
伊藤 弘

キーワード：歯肉溝滲出液 (GCF)，酵素活性，BOP

【目的】

歯周治療後の良好な予後には，BOP(-) を伴う浅い PPD の状態にする必要と，適確な診査から得られる正確な歯周組織の状況把握が必要である。本研究の目的は，GCF に観察される微細な酵素活性の変化を指標として，臨床パラメータとの関係を解析し歯周病の発症前診断マーカーを検索することである。

【材料および方法】

被験者は定期的に SPT を受診している非喫煙者 184 名とした。検索部位は歯冠修復のない上下顎前歯部 401 部位とし検索項目は，臨床パラメータとして，PII, GI, CAL, PPD, BOP, GCF 量を行い，同部位における GCF の生化学的検索項目としてエラスターゼ活性，AST 活性，そして蛋白質量とした。なお，本研究は倫理委員会の承認のもと遂行された。

【結果および考察】

PPD と BOP の有無から分けた各カテゴリーにおける臨床的・生化学的検索結果の相関は，GCF 量に対する生化学的検索結果と強い相関関係を認めた。同時に，PPD と BOP を基準としたカットオフ値から，SPT 期歯周組織安定群と SPT 期要歯周組織管理群に分けて検索した結果 GI が有効な指標となりうる可能性が示された。なお本研究は，文部省科学研究費助成金：基礎研究 C，課題番号：20592437，日本歯科医師会・新医療機器・医療技術産業ビジョンプロジェクトの助成を受けて行われた。

P-02
3001
歯周組織の臨床パラメータと生活習慣および自覚症状のアンケート調査の関連性
高橋 亮一

キーワード：歯周病，アンケート調査，疫学調査

【目的】

我々は平成 20 年度より，茨城県高萩市住民を対象とした歯周疾患の疫学調査を遂行してきた。その中で，自覚症状による歯周疾患のスクリーニング検査の有用性について発表してきた (高橋ら，2010 及び 2011 秋季歯周病学会.)。今回，初期検査時から 2 年後に追跡調査を行った。そして歯周組織の臨床パラメータと生活習慣，自覚症状のアンケート結果との関連性を分析し，新たな知見を得たので報告する。

【材料および方法】

高萩市民 66 人 (男性 17 人，女性 49 人，29 歳～83 歳，平均 63.7 ± 10 歳) を対象に追跡調査を行った。66 名の被験者は打ち分けとして 40 歳未満は 3 名，40 代は 3 名，50 代は 13 名，60 代は 26 名，70 代は 19 名，80 歳以上は 2 名であった。全身既往歴，服用薬物，喫煙歴，ブラッシングの頻度と時間，使用器具，歯科医院の通院の有無や自身の口腔内の外観の評価，口腔内の自覚症状等のアンケート調査に加えて，ブラーク指数 (PII)，プロービングポケットデプス (PPD)，臨床的アタッチメントレベル (CAL)，プロービング時の出血の有無 (BOP)，根分岐部病変，動揺度の測定を行った。C3 以上の歯冠崩壊の著しい歯や，残根歯，インプラント体，智歯は除外した。

【結果および考察】

2 年後の追跡調査の結果において，生活習慣および自覚症状のアンケート結果と，歯周組織の臨床パラメータの進行に関連性がみられた。協力：茨城県高萩市歯科医師会

P-04
2504
縁上ブラーク除去による歯肉出血改善の効果についての検討
阪本 貴司

キーワード：縁上ブラーク 歯肉出血 PC PCR GBI BOP

【目的】縁上のブラーク除去，すなわちブラークコントロール (Plaque Control : PC) のみによる歯肉出血の改善効果を知るために，当センター歯周病科患者の Plaque Control Record (PCR) 値と Gingival Bleeding Index (GBI) 値との関係を比較検討した。

【材料および方法】本研究に同意を得た 60 名の患者を対象とし，PPD が 3 mm 以下の浅いポケット群の 20 名，4 mm 以上の深いポケットが見られ歯周外科を行った 20 名，4 mm 以上の深いポケットが見られ歯周外科を行わなかった 20 名の 3 群に分けた。非歯周外科群には縁上の SC は行ったが，縁下の処置は行わなかった。各群の PCR 値および PCR 改善度 (指導前後の PCR の変化) と GBI 値との相関関係を検討した。判定には Spearman 相関分析を用いた。また歯肉出血の改善効果を知るために，術前後の GBI 値から GBI 改善率を算出し 3 群の比較検定を行った。有意差検定には Mann-Whitney U-test を用い，有意水準は 5 % とした。

【結果および考察】浅いポケット群と深いポケット外科処置群において PCR 値と GBI 値，PCR 改善度と GBI 値との間に強い相関関係を認めた ($P < 0.01$)。また GBI 改善率において浅いポケット群と深いポケット外科処置群は，深いポケットを残した非外科処置群に比較して有意に歯肉出血の改善効果を認めた ($P < 0.01$)。これらの結果は 3 mm 以下の浅いポケットでは，PC のみで歯肉出血が改善する事を示している。また 4 mm 以上のポケット群でもポケットを浅く改善することで同様に歯肉出血が改善することも示唆された。逆に 4 mm 以上の深いポケットを残した状態では，PC のみでの歯肉出血の改善は難しいと考えられた。

P-05
3002

ブラッシングにおける利き手側と非利き手側の比較 —第1報— ブラーク除去率の比較—
原田 志保

キーワード：ブラーク除去率, 利き手側, 非利き手側

【目的】 歯科衛生士にとって患者のブラークコントロール状態を把握し、個々に適した指導を行うことは重要である。一般的に、利き手側のブラッシングが行いづらいといわれているが、我々が渉猟した限りそれを裏付ける研究結果は認められない。そこで、本研究では利き手側と非利き手側でのブラーク除去率に違いがあるか、またその原因は何かを明らかにするために、検討を行った。【材料および方法】 被験者は日本歯科大学新潟短期大学歯科学科学生18名（右利き）とした。対象歯は、上下顎臼歯部頬側および舌口蓋側とした。ブラーク除去率については、普通のブラッシング方法で行った場合と刷掃指導（以下TBI）後に行った場合において、各部位の利き手側と非利き手側のブラーク除去率の比較を行った。【結果および考察】 ブラーク除去率は、利き手側においてTBI後に高くなる傾向にあった。しかし、下顎舌側では、TBI前後ともに利き手側の方が有意に低かった。このことから、TBIを行っても下顎舌側は利き手側の方がブラッシングが行いづらいと思われる。一方、上顎口蓋側では、利き手側と非利き手側で比較した場合、非利き手側のブラーク除去率がTBI後に有意に低くなった。以上の結果から、利き手側と非利き手側のブラーク除去率の違いは、ブラッシング方法だけではなく、ブラッシング時間やブラシ圧などの要因が影響していることが考えられる。そのため、今後ブラッシング時間や圧について検討していきたい。

P-06
3002

ブラッシングにおける利き手側と非利き手側の比較 第2報 刷掃時間とブラシ圧の検討
土田 智子

キーワード：利き手, 非利き手, 刷掃時間

【目的】 第1報で報告したように、利き手側と非利き手側でのブラーク除去率を比較した結果、利き手側の除去率が低い傾向にあった。今回ビデオ画像を利用し、刷掃時間やブラシ圧のブラーク除去率に対する影響について分析を行った。【材料および方法】 被験者は日本歯科大学新潟短期大学歯科学科第1学年18名（右利き）とし、口腔衛生指導について未履修の前学期に行った。対象歯は上下左右の第一大臼歯とした。方法は、第1報と同様の実験スケジュールで実施し、ブラッシング風景をビデオにて撮影し、対象歯の刷掃時間を頬・舌側に分け計測した。また、ストレインゲージを貼付した歯ブラシを用い、同時にブラシ圧を測定した。【結果および考察】 全刷掃時間の平均は刷掃指導（以下TBI）前264秒、TBI後337秒であり、TBI後に刷掃時間が長くなる傾向にあった。同部位におけるTBI前後の比較において、上顎左側口蓋側を除くすべての部位において、TBI後の方が有意に長かった。また、利き手・非利き手側における有意な差はTBI前後ともに認められなかった。ブラシ圧の平均は、TBI前183gf、TBI後168gfとTBI後に圧が低下する傾向にあった。また、TBI前の上顎頬側は非利き手側よりも利き手側が有意に高かった。また、下顎舌側はTBI前後どちらも非利き手側よりも利き手側が有意に低かった。

P-07
2504

音波歯ブラシ（Sonicare® DiamondClean）のブラーク除去効果
植野 琢也

キーワード：Sonicare® DiamondClean, ブラーク除去率

【目的】 現在、各社から様々な音波歯ブラシが発売されている。今回我々は新しく改良されたSonicare® DiamondClean (Philips)のブラシと、前回発表したSonicare® Flexcare (Philips)のブラシ（Pro Results）とのブラーク除去率を比較した。なおブラシヘッドは互換性があり、本体はDiamondCleanのものを使用した。【材料および方法】 今回使用したのは①音波歯ブラシ Sonicare® DiamondClean スタンダードブラシ：DS群②音波歯ブラシ Sonicare® DiamondClean ミニブラシ：DM群③音波歯ブラシ Sonicare® Flexcare スタンダードブラシ（Pro Results）：FS群。被験者は20名で、2日間のブラッシング停止でブラーク付着率100%として実験を行った。刷掃時間は一口腔4分間（上下顎を頬側舌側に分けそれぞれ1分間）とし、O'LearyのPCRの6点計測を用い、ブラッシング前後のスコアからブラーク除去率として表した。統計学的分析にはSteel-Dwass法を用いた。【結果および考察】 今回の実験では、DS群DM群FS群それぞれの間に有意な除去率の差は認めなかった。Diamond cleanのブラシは従来のProResultsに比べて高密度で刷掃効果が45%高いという報告があるが（QHI変法で評価した場合）、今回は歯周病予防を考えO'LearyのPCRを用いた。歯頸部のブラッシングに関してはブラシの密度よりも、やはり当て方が大事であることが示唆された。今後は、センシティブブラシなど歯肉により当てやすいブラシの刷掃効果についても検討する必要がある。

P-08
3001

音波式電動歯ブラシによる歯肉マッサージによる歯肉血流量の経時的変化
井口 一美

キーワード：音波式電動歯ブラシ, 歯肉マッサージ, レーザードップラー血流計

【目的】 我々は以前に音波式電動歯ブラシによる歯肉マッサージが歯肉血流量を増加させることを報告した（第54回春季日本歯周病学会学術大会）。そこで、今回はさらにマッサージ後の歯肉血流量の経時的変化を観察したので、その結果を報告する。【材料および方法】 被験者は健康な歯肉を有する成人31名、音波式電動歯ブラシはソニックアーフレックスケアプラス®（フィリップス社製）マッサージモード、手用歯ブラシはプロスペック®コンパクトスリム ミディアム（GC社製）を使用した。被験者には2種類の歯ブラシで、2分間にわたる上顎の付着歯肉あるいは辺縁歯肉のマッサージ、すなわち1日1種類、合計4種類のマッサージ法を指示した。上顎左側中切歯・側切歯間の歯間乳頭部レーザードップラー血流計（アドバンス社製）にて、マッサージ前とマッサージ後10分間の歯肉血流量を連続的に測定、記録した。【結果および考察】 4種類のすべての方法において、歯肉マッサージ前よりも歯肉マッサージ後の方が歯肉血流量は上昇し、音波式電動歯ブラシで付着歯肉をマッサージすると最も歯肉血流量が増加することが示された。また、マッサージ後の経時的な変化は直後よりも徐々に増加する傾向が認められた。歯肉マッサージが歯周疾患の予防、治療においてどのような効果を示すかについては不明確な点も多い。今回の結果を踏まえ、新たな視点からのアプローチが必要であると考えられる。

P-09

各種電動歯ブラシの菌周ポケット内細菌への影響

2504

田村 紗恵子

キーワード：電動歯ブラシ、プラーク除去効果、細菌

【目的】PCR-Invader法の確立により、菌周ポケット内の細菌数の同定が容易になったことにより、最近開発された電動歯ブラシと手用歯ブラシのプラーク除去効果のみでなく、実際にどれくらいの細菌が変化するかを検証する。

【材料および方法】被験歯は特に限定はせず、PCR-Invader法のサンプリングが行いやすい前歯部を中心に4mm以上の菌周ポケットを有し、縁上のスクレーリングが終了した患者40名（男性14名、女性26名、平均年齢56.2歳）を選定し、各10名ずつの4グループに振り分け、3種の電動歯ブラシ群（オムロンヘルスケア社製Mediclean551™、PHILIPS社製ソニックケアフレックスケア™、サンスター（株）社製ガム・電動歯ブラシTS-X5™）と1種の手用歯ブラシ群（サンスター（株）社製プロクト™）を割り付けた。ブラッシング指導は行わず、各種電動歯ブラシはマニュアルに準じた方法、手用歯ブラシは、患者が従来行っている方法とし、歯磨剤、洗口剤の使用は禁止した。使用した臨床パラメーターは、PCR-Invader法による細菌数（被験歯のみ）とし、診査時期は術前、2週間後、4週間後とした。

【結果および考察】PCR-Invader法による細菌数の割合の変化に、各種歯ブラシ間で有意差は認められなかった。傾向として、音波歯ブラシは電動、手用歯ブラシに比べて菌周ポケット内細菌に有効である事が示唆された。

P-10

共振型音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する治療効果

2302

大塚 秀春

キーワード：共振型音波歯ブラシ、慢性歯周炎、PCR法

【目的】共振型音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する治療効果を歯周炎の臨床パラメーターおよび細菌検査の結果から検討する。

【材料および方法】被験者は、明海大学歯学部付属病院歯周病科に来院した慢性歯周炎患者10名（48.2±13.2歳）とした。実験群は、4mm以上の菌周ポケットを有する小臼歯とし、同顎の同名歯を対照群とした。実験群にはDent Ex Systema VibratoCareの試作機、対照群にはDent Ex System 44Mを用い、4週間、セルフケアによるバス法でのブラッシングを行った。歯周検査項目には、ベースライン時、2週、および4週経過時に、①PII (Plaque Index)、②GI (Gingival Index)、③PPD (Probing Pocket Depth)、④BOP (Bleeding on Probing)、⑤GCF (歯肉溝浸出液量)、および⑥PCR法による細菌検査（総細菌数、*Pg:Porphyromonas gingivalis*, *Pi:P-revotella intermedia*, *A.a:Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, および *Tf:Tannerella forsythia*）を行った。本研究の実験計画は、明海大学歯学部倫理委員会の審査により承認（承認番号：A0917）を得ている。

【結果および考察】共振型音波歯ブラシのプラーク除去効果は、手用歯ブラシと比較して有意に高かった。歯周検査の結果、実験群は、対照群と比較して、2週と4週のPLI、2週のBOP、および4週のGCFが有意に低下した。一方、PCR法による細菌検査では、経時的な減少がみられたが、両群間に有意差はみられなかった。共振型音波歯ブラシによる歯周病原細菌の経時的減少率は、総細菌数と比較して顕著ではなかった。これらの結果から、共振型音波歯ブラシの臨床的有用性が示唆された。

P-11

スクレーリング操作時の手技パターンの比較観察

2598

伊藤 恵美

キーワード：歯石除去、手用スクレーラー、ストローク

【目的】初期の歯周炎治療の基本は直接的因子であるプラークと歯石を取り除くことである。歯石除去は、歯石やその表面に付着しているプラークを取り残しがなく除去し、かつ健全な歯質に損傷を与えないように操作することが重要である。しかし、その操作は熟練した手技が必要となる。本研究では、日本歯周病学会認定歯科衛生士と歯科衛生士学生のそれぞれのスクレーリング操作を収録し手技のパターンを比較観察した。

【材料および方法】対象者は日本歯周病学会認定歯科衛生士4名、歯科専門学校3年次学生8名である。方法は人工歯石（ニッシン社）にエナメル-セメント境から3mmの根面に付着させた人工歯石（ニッシン社）をグレーシーキュレット（Hu-Friedy社）を用いてスクレーリングを実施してもらった。人工歯牙に力センサー（共和電業社）を取りつけ、ストローク方向、ストローク数、圧、時間を収録し検証を行った。

【結果および考察】ストロークの間隔は、認定歯科衛生士の方が学生よりも有意に短かった（ $p<0.05$ ）。また、スクレーリング開始直後（100ms）時は、スクレーリング圧の最大力が認定歯科衛生士の方が有意に強かった（ $p<0.05$ ）。以上から熟練した歯科衛生士は、歯石の形状や付着位置などスクレーラーで短時間に的確に捉え、ストロークを開始していると考えられた。また、歯面からスクレーラーのカッティングエッジを外すことなくストロークを行い、取り残しの少ないスクレーリング操作を行っていると考えられた。更に、歯石除去時にスクレーラーで探知を同時に行い、取り残しの歯石の有無を確認しながら歯質に損傷を与えずに歯石除去を行っている手技のパターンが観察された。

P-12

エア・ポリッシング後の象牙質表面の性状がStreptococcus mutansの付着に及ぼす影響

2504

多田 和弘

キーワード：エア・ポリッシング、グリシン粒子、S.mutans

【目的】本研究の目的は、エア・ポリッシング後の象牙質表面の性状が、S.mutansの付着に及ぼす影響を検討することである。

【材料および方法】象牙質のブロックは、ヒト抜去歯から作成した（コントロール）。エア・ポリッシング群は、エア・ポリッシャーのノズル先端と象牙質面間距離を6mm、象牙質面に対して45°の角度で3種類の粒子（粒径65μmの炭酸水素ナトリウム粒子、粒径25μm、65μmのグリシン粒子）を5秒間噴射した。pumice群は、ラバーカップと粒径20μmのpumiceを併用し、5秒間の研磨を行った。象牙質表面の平均粗さ（Ra）の評価には、レーザー顕微鏡を使用した。象牙質表面に対するS.mutansの付着試験は、Resazurin reduction assayを用いて付着の評価を行った。

【結果および考察】25μmのグリシン粒子は、コントロールやpumiceと比較して表面粗さに有意差は認められなかったが、65μmのグリシン粒子では、pumiceと比較して有意な表面粗さの増加が認められた（ $p<0.01$ ）。全ての群と比較し、炭酸水素ナトリウム粒子では有意な表面粗さの増加が認められた（ $p<0.01$ ）。グリシン粒子は、コントロールやpumiceと比較してS.mutansの付着に有意差は認められなかった。炭酸水素ナトリウム粒子では、全ての群と比較して有意なS.mutansの付着の増加が認められた（ $p<0.01$ ）。本研究の結果から、粒径25μmのグリシン粒子を使用した後の象牙質表面は、pumiceと同等の表面粗さが認められることがわかった。さらに、グリシン粒子を使用した後の象牙質表面は、細菌の初期付着がラバーカップとpumiceを併用した後の象牙質表面と同等であることが示唆された。

P-13
2504

改良型遊離歯肉移植術の考案

小坂 恵一

I 目的： 遊離歯肉移植術を必要としながら、種々の要因にて施行しても良好な効果が得られないような症例に対しても有効な遊離歯肉移植術を考案したので報告する。

II 材料ならびに方法： 遊離歯肉移植術では移植片が生着し、それを機能させることにより安定した角化歯肉の獲得を期待していた。しかしながら移植片の生着後に機能させることは、部位や歯肉の形態により困難なことが多かった。そこでこれを実現するために歯槽粘膜や頬粘膜の血管に富んだ弾性繊維の結合組織を先に縫合固定し、余計な創面を先に閉じることによって生着させた移植片を別個に治療させ、歯槽粘膜部に包含されることを防ぐ方法を考案した。これを改良型遊離歯肉移植術と称する。なお、実施にあたっては患者に十分な説明を行った。

III 結果： 今回報告した改良型遊離歯肉移植術を使った場合の利点としては、手術部位に係わらず安定した良い結果を得られる、移植片生着後に移動が起こりにくく、移植部の角化粘膜層と歯槽粘膜との境界が明瞭で視覚的・機能的に安定した治療を示す、移植片の寸法変化がおきにくい、従来法より成功率が高い、歯肉パックは必要ではない、時間的に従来法と差はない、特別な器具・材料を必要としない、などが挙げられる。一方欠点としては、術部が二カ所になる、術後の出血・疼痛や下顎大・小臼歯部の術後麻痺の可能性があり、生着しない可能性もある、食事時の移植片への侵襲の可能性、抜糸時の操作が難しくなる傾向にある、などが挙げられる。しかし、慎重に手術を行えば、今までのところ特に重篤な問題は生じていない。

IV 考察ならびに結論： 本法を用いた症例の観察から、遊離歯肉移植術の適応症はもちろん、難症例であった付着歯肉を持たない天然歯や修復歯、それに全く角化歯肉を持たないインプラントまで、安全に歯肉移植術を成功させることが可能であることが分かった。

P-14
2504

過蓋咬合と歯の挺出を伴った重度の歯周炎の症例

田村 剛

キーワード： 過蓋咬合、慢性歯周炎、挺出

【はじめに】 重度の歯周炎により、大きく歯の挺出が生じる場合がある。今回、重度の歯周炎に対して、基本的な歯周治療に加えて歯冠形態の大幅な変更によって良好な結果が得られた症例について報告する。

【初診】 患者：55才。男性。初診日：2006年6月19日。主訴：歯がぐらぐらする。歯周病治療希望。

【診査・検査所見】 全顎にわたり6mm以上のポケットが存在し強い動揺のある状態であった。全顎的に中等度から高度の歯槽骨吸収が認められた。咬合は過蓋咬合で下顎前歯が目視できない。PCR=43% 某歯科において1年に1回の除石をしていた。

【診断】 重度の慢性歯周炎。過蓋咬合。

【治療計画】 1) 歯周基本治療 2) 歯冠形態修正の為便宜抜髄 3) 再評価 4) 歯周外科手術 5) 再評価 6) 補綴処置 7) 再評価 8) メンテナンス

【治療経過】 321 | 123 を便宜抜髄し、プロビジョナルレストレーションによる歯冠形態修正を行う。歯冠-歯根長比の改善の為、歯冠のほとんどを削合することになる。再評価後、歯周外科処置。その際2 | は保存困難として抜歯。再評価後、正常被蓋の補綴物を装着。その後の再評価後、臼歯部の3ブロックも歯周外科を行う。3回目の再評価後、2007年からメンテナンス開始。その後4年にわたり30日から60日ごとのメンテナンス。現在動揺歯なく、PCRも10%代を維持している。

【考察・まとめ】 重度の歯周病ではしばしば歯の挺出を伴う。長期的な歯周組織の安定には、適正な咬合関係、歯冠形態を付与することも重要であると考えられる。

P-15
2505

根尖に及ぶ重度慢性歯周炎による挺出歯を圧下して再植した二症例

蒲 弘城

キーワード： 挺出歯、重度慢性歯周炎、再植

【はじめに】 根尖に及ぶ重度慢性歯周炎による挺出歯で、保存困難と考えられた歯であったが、それらの歯を抜去後に根の一部に歯根膜の僅かな残存が認められたので、根尖方向に圧下して再植を行い、術後5年と3年半以上良好な二症例について報告する。

【症例 I】 患者：50歳男性。初診日：2006年6月10日。主訴：24の動揺。現病歴：半年前から軽度の動揺を自覚していたが、数日前から動揺が増加してきた。検査所見：X線所見で根尖に及ぶ骨吸収、根の3面に8~11mmの歯周ポケット、動揺度3度を認めた。【治療経過】 2006年9月28日 24を抜去後に根尖方向に圧下して再植。2006年12月 歯周ポケットは3mm以下、動揺度は1度強に減少。2007年2月 ⑬⑭⑮⑯⑰⑱のブリッジを装着。2007年3月よりメンテナンス。良好に維持。

【症例 II】 患者：50歳男性。初診日：2008年4月7日。主訴：41の歯肉腫脹と動揺。現病歴：半年前から動揺を自覚。検査所見：X線所見で根尖を取り巻く骨吸収、根の3面に7~11mmの歯周ポケット、動揺度3度を認めた。【治療経過】 2008年4月11日 41を抜去後に根尖方向に圧下して再植、隣接歯と接着固定。4月30日 歯周ポケットは3mm以内。2008年6月~7月 根管治療、根管充填。2008年9月よりメンテナンス。良好に維持。

【考察】 再植を行った二症例とも術後5年、3年半以上良好な状態が維持されている。これは歯肉の炎症の改善により歯肉が緊密に根面に適合して生じた可能性が考えられる。また、根の一部に歯根膜の残存が認められた部位に骨吸収の改善が認められた。今後さらに症例を増やして長期観察を行っていきたいと考えている。

P-16
2609

外傷性垂直骨吸収部位への抜歯即時インプラント埋入

小飼 英紀

キーワード： 歯の挺出、インプラント、歯周再生

【目的】 歯根破折後の骨縁下ポケットを伴った部位に抜歯後即時インプラント埋入を行う場合、GBRが必要となり侵襲が大きくなる。こうした症例に対し残存する破折歯根を矯正学的に挺出させ歯周組織の再生を図った後、インプラント埋入を行う方法は知られている。本症例は、歯の挺出後5ヶ月経過観察後、抜歯即時インプラント埋入を行った。補綴後3年経過し良好に経過しているため治療経過の詳細を報告する。

【症例】 初診：2007年12月 24歳女性 主訴：咬合時違和感

現病歴：11を10年以上前に打撲。数か月前より咬合時違和感を認め受診、歯根破折を認めた。既往歴：特記事項なし

診断：11 歯根縦破折 治療方針：抜歯後インプラント埋入

治療経過：インプラント埋入前に歯の挺出を図りインプラント埋入を行った。挺出期間2ヶ月、骨再生を5ヶ月間待ち、2008年7月抜歯即時インプラント埋入術を施行。2次手術時にインプラント周囲歯肉乳頭形成術後、2009年3月治療終了し現在に至る。

【結果および考察】 歯の挺出により初診時に認めた遠心歯槽骨の垂直性吸収は改善され骨移植を行わず低侵襲な抜歯即時インプラント埋入が可能となった。3次元方向に挺出することにより近心歯槽骨は再生され遠心部の垂直性骨吸収は消失した。また唇舌側歯肉は挺出により伸展され埋入時の創閉鎖に寄与した。術後3年経過時には周囲歯肉の骨密度が改善され良好に経過している。

2次手術に際して唇側歯肉の陥凹を認めたため遊離歯肉移植を行った後上部構造を装着した。3年経過時に付着歯肉が獲得され、歯周組織は良好な経過を示している。

P-17

自己観察による Sleep Bruxism の治療法

2803

菅原 哲夫

キーワード: Bruxism, 自己観察, オクルーザルスプリント

【目的】 Sleep Bruxism (以下 SB) に対する治療法は特に有効な方法は無く、実際の臨床では、咬合力の分散を図るためのオクルーザルスプリントが用いられているのが現状である。しかし、我々は、心理療法の一つである自己暗示療法により SB の減少を試みて効果を上げてきた。自己暗示療法の手順として日中の Bruxism の自己観察を導入してきたが、自己観察を詳細に指導するだけで SB を減少させる効果が見られることを観察した。そこで今回、日中の Bruxism の自己観察を積極的に行うことにより SB を減少させる効果が見られたので自己観察の方法とその成果を報告する。

【材料および方法】 1. 被験者: 当院に来院し、オクルーザルスプリントを用い SB の評価を行った者の中でアトランダムに 20 名を選出した。2. 自己観察の手順: (1) 無意識の説明: 日中も呼吸や瞬きなど様々な行動を無意識に行っており日中の Bruxism も無意識に行っているため気付いていないことを説明。(2) 自己観察: 仕事や休息中など様々な場面で、上下の歯の接触状態を観察しメモしてもらう。3. SB の強さの評価: 睡眠時に使用させたオクルーザルスプリント上のファセットを 2 週間ごとに評価した。

【結果および考察】 スプリント上のファセットは自己観察前後で形、方向、タイプはほとんど同一で深さのみが減少した。自己観察をメロしないと効果が少なかった。一日 2 回以下の自己観察は効果が少なかった。一日 5 回前後の自己観察を行った者が効果が高かった。自己観察の効果は被験者の治療に対する意識が高いほど SB を減少させる傾向にあり、自己観察は SB の治療に有効であることが示唆された。

P-19

SPT 期間中、長期にわたり良好な口腔状態を維持している患者の要因分析とモチベーションに係るアンケート調査報告

2305

中澤 正絵

キーワード: SPT, 歯周検査データ,モチベーション

【目的】 当院は歯科衛生士担当制を行っており治療を完了し SPT, メンテナンスに定期的に通院する患者は少なくない。そこで、そのセルフケアの取り組み状況と長期にわたり通院できるモチベーションの要因についてアンケート方式による実態調査を行った。

【材料および方法】 SPT 及びメンテナンス移行してから 10 回以上継続して来院している患者を当院の歯周検査データベースより抽出し、2010 年 5 月から 11 月に来院した 103 名に担当歯科衛生士による 10 項目の聞き取りアンケート調査を実施した。その結果から PCR20% 以下を 10 回以上達成グループと、未達成グループとに分けてセルフケアへの取り組み方法、使用清掃用具とその使用状況及び動機、長期継続のモチベーション要因をデータから分析した。

【結果および考察】 PCR20% 以下を 10 回以上達成者は 25 名で、ブラッシング時間/回 10 分以上は 14 名、音波ブラシ使用が 13 名、殺菌剤の使用 24 名と当院で処方したセルフケア清掃用具や薬剤を継続していることが解った。また来院ごとに行う PCR, PPD, BOP など歯周検査データの提示と詳細な説明が通院モチベーションとなったと回答した患者は 25 名であった。歯周病の全身への影響に関する理解を深め長期にわたり良好な口腔衛生環境維持を支援することは患者の全身の健康増進に密接に関与し、医科歯科で生活習慣病をコントロールしていく上でもその価値は大きいと思われる。今後、患者の自己効力感や主訴などとモチベーションとの関連性についての検討が必要である。

P-18

SPT 期におけるテトラサイクリン・エビジヒドロコレスチリン含有軟膏の有効性評価

2305

久保田 健彦

キーワード: テトラサイクリン・エビジヒドロコレスチリン含有軟膏, 塗布塗擦, 注入, SPT

【目的】 テトラサイクリン・エビジヒドロコレスチリン含有軟膏は、抗菌薬に抗炎症薬が配合された歯周炎局所治療剤であり、塗布塗擦 (T 法) のほか、歯周ポケットへの注入 (I 法) も可能である。我々は T 法の有効性に加え、I 法の有効性を評価・検討した。

【材料および方法】 新潟大学歯学部総合病院および研究協力施設 3 歯科医院を受診し、本研究に対しインフォームドコンセントが得られた患者 12 名を対象とした。SPT 期で歯周炎部位: PPD 6-8 mm, BOP(+) を有する慢性歯周炎患者を 3 群 [T 群, P 群 (T のプラセボ), I 群] に無作為に割付け、T, P 群は二重盲検法にて評価した。薬剤の投与方法は T, P 群は 0-7 日 (計 8 日間) 1 日 3 回毎食後患者自身が患部に塗布塗擦を行った。I 群は 0, 3, 7 日の 3 回、担当歯科医師が患部歯周ポケットに注入した。臨床指標 (PII, GI, PPD, CAL, BOP), 細菌数 (総菌数, Pi, Pg, Tf, Td), 生化学的検査 (GCF 中の MMP-8, IL-6) の各評価項目について、0, 7, 28 日の 3 ポイントで有効性を判定した。

【結果および考察】 臨床及び細菌学的指標は 3 群とも経時的改善を示し、特に I 群で著明であった。T, P 群間には差は認められなかったが、菌数別構成比 (Pg, Tf 菌) において、T 群での菌数の減少が優っていた。一方、生化学的指標では各群とも明確な変動は認められなかった。以上より、本剤の歯周ポケットへの注入には有効性があると考えられた。また、塗布塗擦も臨床症状の改善は示したが、プラセボとの間に明確な差異は認められなかった。対象が SPT 期で比較的炎症が少なかったことが一因かもしれない。今後、更に炎症のある症例についても追加検討する予定である。

P-20

SPT 期間中の歯周組織の維持・改善に対する塗布用ブラシー一体型一般用歯周病薬 (MC2) の多施設臨床試験

3001

畑中 加珠

キーワード: 一般用医薬品, SPT, 多施設研究

【目的】 我々は、塩化セチルピリジニウム (CPC: 殺菌剤), グリチルリチン酸二カリウム (抗炎症剤) およびアラントイン (組織創傷治療剤) の 3 種薬効成分を配合した薬剤をタフトブラシと一体化した塗布用ブラシー一体型歯周病薬 (Gum メディカルマージナルポイントケア A) を開発し、その効果を第 53 回学術大会で発表した。今回、CPC の効果低減の改善目的で処方を改良した製剤 (以下 MC2) が、SPT 中の慢性歯周炎患者の歯周炎の病状安定の維持・改善に対して有効であるかどうかを、臨床的および細菌学的評価手法を用いて、多施設において二重盲検法で検討した。

【材料および方法】 岡山大学, 徳島大学, 東京医科歯科大学, 大阪大学, 鶴見大学の附属病院を受診した SPT 期の慢性歯周炎患者を対象にランダム化二重盲検比較対照試験を行った (UMIN 試験 ID:000005844)。患者を試験群とプラセボ群に無作為に割付け、4-6 mm の歯周ポケットを有する白歯 2 歯の辺縁歯肉に、1 日 2 回の頻度で 12 週間にわたり、MC2 を塗布した。臨床指標 (PPD, BOP, GI, PCR, CAL, 分岐部病変) および細菌学的指標 (緑下ブランク中の Pg, Td, Tf, 総菌数) を開始時, 6 および 12 週目の 3 時点で測定し、統計学的に群間比較して検討した。

【結果および考察】 試験群はプラセボ群と比較して、6 週目の GI が有意に低値を示し ($p < 0.05$, Mann-Whitney U 検定), BOP が少ない傾向にあった。以上から、MC2 は歯肉の炎症指標を改善し、SPT 期の病状安定の維持・改善に有効であることが示唆された。

P-21
2203

ラクトフェリン+ラクトパーオキシダーゼ錠菓摂取による歯肉縁下プラーク細菌叢への影響
若林 裕之

キーワード：ラクトフェリン、ラクトパーオキシダーゼ、T-RFLP
【目的】ラクトフェリン (LF) 及びラクトパーオキシダーゼ (LPO) は唾液や乳に含まれる抗菌性タンパク質であり、これらを含む錠菓の摂取によって、プラークの低下が観察された。今回、本錠菓の摂取による歯肉縁下プラーク細菌叢への影響を調べるため、末端断片長多型 (T-RFLP) による解析を行った。

【材料および方法】LF+LPO 錠菓 (37名) またはコントロール錠菓 (35名) を摂取した歯周病患者の2歯から、摂取前および3ヵ月摂取後に、歯肉縁下プラークを回収した。プラークから DNA を抽出、PCR で 16S rRNA を増幅、制限酵素 HaeIII で切断、電気泳動によりフラグメント・パターン情報を得た。各フラグメントに TRFMA データベースより細菌群を割り当て、集計した。また、注目された細菌について定量 PCR で測定した。

【結果および考察】摂取前と摂取3ヵ月後の組合せにおいて、コントロール群サンプル 24ペアと、LF+LPO 群サンプル 27ペアで DNA が増幅したため、これらを解析に用いた。検出された 52 フラグメントで、経時変化及び群間の比較を行ったところ、283bp フラグメントのコピー数が LF+LPO 群のみで経時的な減少を示した。このフラグメントは主に *Fusobacterium* 属と *Leptotrichia* 属から構成されている。そこで *Fusobacterium* 属の定量 PCR を行ったところ、LF+LPO 群での減少が確認された。*Fusobacterium* はプラーク形成の初期定着菌と後期定着菌の間を繋ぐ役割を担うとともに、酪酸産生により口臭にも関与するため、LF+LPO が作用するターゲットとして興味を持たれる。また、プラーク内細菌検査法としての T-RFLP 法の有用性も示唆された。

P-23
2402

Porphyromonas gingivalis によって生じる高脂肪食摂取マウス大動脈の内皮細胞障害に対するラクトフェリンの抑制効果について
敖 敏

Keyword: *P. gingivalis*, cardiovascular disease, lactoferrin

【Aim】A number of studies have revealed a link between chronic periodontitis and cardiovascular disease in obese patients. Lactoferrin (LF) is an iron-binding protein with various bioactivities such as anti-inflammatory and anti-bacterial function. To examine the effect of bovine-LF (bLF) on endothelial dysfunction caused by infection of *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) and obesity, we conducted this study.

【Methods】*In vivo* experiment: C57BL/6J mice were fed with chow diet (CD) or high-fat diet (HFD) for 12wks. Then *Pg* was infected from the pulp chamber in 2/3 of each group with or without oral administration of bLF and 6wks later aortal tissues were collected for histological and immunohistochemical examination. *In vitro* experiment: hTERT-immortalized human umbilical vein endothelial cells (HuhT1) were used to assess the effect of *Pg*-LPS and/or bLF treatment on free fatty acid (FFA) induced endothelial cells apoptosis.

【Results & Discussion】Endothelium was damaged to be ulcerative in HFD group, while that of CD group kept its integrity. *Pg* infection deteriorated the damage in HFD group. Immunohistochemically, *Pg* was detected in smooth muscle of aorta in HFD group, whereas *Pg* only invaded into the surface layer of intima in CD group. In addition, the number of *Pg* detected in aortal wall of HFD group was higher than that in CD group. These *Pg*-deteriorated endothelial dysfunction of Aorta was inhibited by oral administration of bLF. Moreover, *in vitro*, deteriorated apoptosis of FFA-treated HuhT1 cells by *Pg*-LPS was rescued by bLF. There is a possibility that bLF can be used as a supplemental therapy to prevent the adverse effect of periodontitis to the endothelial dysfunction induced by FFA in obesity.

P-22
2202

ラクトフェリンによる骨吸収抑制作用と分子生物学的メカニズムの検討
犬伏 俊博

キーワード：LPS, TRAF6, NF κ B

【目的】ラクトフェリン (LF) は鉄トランスポーターファミリーに属する多機能タンパク質である。我々はこれまでに、リソソーム化ラクトフェリン (bLF) の経口投与が LPS 誘導性歯周組織破壊を抑制することを *in vivo* にて明らかにした。歯周病における骨破壊においては、LPS や炎症性サイトカイン誘導性の骨芽細胞による RANKL 産生を介した破骨細胞誘導が認められる。そこで、本研究では骨芽細胞ならびに前破骨細胞を用いて bLF の骨吸収抑制作用とその分子生物学的メカニズムについて検討を行った。

【材料および方法】本実験では骨芽細胞様細胞株 (ST2) ならびにマクロファージ細胞株 (RAW) を用いた。bLF 投与群と非投与群を LPS で刺激し、炎症性サイトカイン mRNA 発現の定量解析を行うとともに、細胞内シグナル伝達を比較検討した。さらに、TRAP 染色にて破骨細胞分化に対する bLF の影響を検討した。

【結果および考察】ST2細胞株では LPS による TNF- α や RANKL の発現上昇が bLF 投与により抑制された。またそのメカニズムとして、細胞内に取り込まれた bLF が TRAF6 と結合することで TLR や IL-1R を介した NF κ B の活性化が抑制されることが明らかになった。また、RAW細胞株では bLF 投与により破骨細胞への分化が抑制された。このように、bLF は骨芽細胞による RANKL をはじめとしたサイトカインの産生を抑制するとともに、前破骨細胞にも直接作用し破骨細胞への分化を抑制することで、LPS をはじめとした歯周病原因子に誘導される破骨細胞性骨吸収を抑制することが示唆された。今後、歯周病における骨吸収に対する bLF の臨床応用が強く期待される。

P-24
2504

ヒト口腔上皮細胞のカルプロテクチン発現に及ぼす半夏瀉心湯の影響
廣島 佑香

キーワード：半夏瀉心湯、カルプロテクチン、上皮細胞

【目的】抗菌ペプチドの一つであるカルプロテクチン (S100A8 と S100A9) は歯周病原性細菌 *P. gingivalis* の口腔上皮細胞への付着や増殖を抑制する。私たちは、カルプロテクチンの発現が、上皮細胞で恒常的に発現されている Interleukin-1 α (IL-1 α) により上昇することを報告した。本研究では、漢方薬の半夏瀉心湯 (Hangeshashinto: HST) が口腔上皮細胞のカルプロテクチンを含む抗菌ペプチド発現に与える影響について検討を行った。

【材料および方法】ヒト口腔上皮細胞株 TR146 に HST (10~250 μ g/ml)、抗 IL-1 α 抗体あるいは IL-1 レセプター阻害剤を添加し、以下の実験を行った。S100A8/S100A9 を含む抗菌ペプチドおよび IL-1 α を含むいくつかのサイトカインの遺伝子発現を RT-PCR 法およびリアルタイム PCR 法で調べた。また、ELISA キットを用いて細胞中のカルプロテクチン蛋白量と培養上清中の IL-1 α の濃度を測定した。

【結果および考察】HST (10 μ g/ml) の添加 24 時間後に S100A8 と S100A9 の遺伝子発現はコントロールと比較してそれぞれ 1.5 倍と 1.4 倍に有意に上昇した。カルプロテクチン蛋白の発現も 1.6 倍の有意な増加が認められた。また HST は、抗菌ペプチドの S100A7 と β -defensin2 および IL-1 α の遺伝子発現を上昇させ、IL-1 α 蛋白の発現も増加していた。さらに、HST による S100A8/S100A9 遺伝子および蛋白の発現増加は抗 IL-1 α 抗体および IL-1 レセプター阻害剤により抑制された。以上の結果より、HST は IL-1 α の産生増加を介してカルプロテクチンを含む抗菌ペプチドの発現を調節していることが示唆された。

P-25

カテキンによる揮発性硫化物産生の抑制効果

3104

伊東 俊太郎

キーワード：硫化水素, メチルメルカプタン, カテキン

【目的】硫化水素やメチルメルカプタンなどの揮発性硫化物は口臭の主たる原因であるのみならず、その毒性から歯周病との関連性を示唆されている。本研究では、緑茶に含まれる各種カテキン(EGCg, EGC, ECg, EC)を用いて、精製酵素により産生された揮発性硫化物に対する阻害効果について検討した。

【材料および方法】*Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586の硫化水素産生酵素(Fn1220)と*Porphyromonas gingivalis* W83のメチルメルカプタン産生酵素(MegL)を大腸菌の組換えタンパクとして精製した。それぞれの基質としてL-システインとL-メチオニンを用いて揮発性硫化物を発生させ、茶カテキンを用いて揮発性硫化物産生抑制効果を比較した。発生した揮発性硫化物はガスクロマトグラフィを用いて測定を行った。さらに、*F. nucleatum*についてはカテキンを用いた成長抑制効果について検討した。

【結果および考察】Fn1220による硫化水素産生は最終濃度0.1mM EGCによって85%の抑制効果を示したが、他のカテキンでは30%程度であった。一方で、*P. gingivalis*由来のMegLによるメチルメルカプタン産生は0.1mM EGCgおよびEGC存在下において90%程度抑制されたが、ECgおよびECでは10%程度の抑制効果を示した。これらの結果から、硫化水素とメチルメルカプタンの両者の産生を効率良く抑えるためにはEGCが最も効果的であることが明らかとなった。

P-26

歯肉コラーゲンの加齢変化に対するピクノジェノール®配合歯磨剤の効果

3102

粕山 健太

キーワード：ピクノジェノール®, 歯肉コラーゲン, 抗加齢

【目的】コラーゲン密度の低下は、歯肉の加齢変化の一つである。本研究では、ピクノジェノール®を配合した歯磨剤を、ラット歯肉に塗布し、コラーゲンの加齢変化に対する有効性を検討した。

【材料および方法】8ヶ月齢のFischer344雄性ラット12匹を、対照群(n=6匹)(基材のみ含む歯磨剤を塗布)と試験群(n=6匹)(ピクノジェノール®配合歯磨剤を塗布)の2群に分けた。歯磨剤塗布は1日1回、週に5回の頻度で行い8週間後に屠殺した。左側上顎歯肉を用いて組織標本を作成し、マロリー染色下でコラーゲン密度を評価した。また、右側上顎歯肉からmRNAを抽出し、Real Time PCR法にてコラーゲン分解酵素であるMMP2, MMP3, MMP8, MMP9, 及びその阻害剤であるTIMP1, TIMP2, TIMP3の発現量を求めた。

【結果および考察】8週目において、試験群の歯肉コラーゲン密度は対照群よりも有意に高かった(p<0.05)。また、コラーゲン分解酵素のmRNAの発現について、試験群/対照群の比率を求めたところ、MMPは0.4~1.0、そしてTIMPは5.1~8.0の値を示した。MMPよりもTIMPの遺伝子発現の比率が大きいことは、コラーゲン分解の阻害作用が大きいことを意味する。以上のことから、本研究で用いたピクノジェノール®配合歯磨剤には、加齢に伴うコラーゲン分解を抑制する効果があることが考えられる。

P-27

強電解酸性機能水の歯肉上皮細胞遺伝子発現に対する影響

2308

五條堀 孝廣

キーワード：強電解酸性機能水, 過酸化水素, 歯肉上皮細胞

【目的】強電解酸性機能水の歯肉上皮細胞に対する影響を定量的に評価することを目的とし、ヒト歯肉上皮細胞各種遺伝子発現に対する影響をリアルタイムPCR法で検討した。

【材料および方法】歯肉上皮細胞としてヒト歯肉癌由来株細胞(Ca9-22, HSC-3)を用い、強電解酸性機能水(pH2.7以下、酸化還元電位1,100mV以上、遊離有効塩素濃度20~60ppm、三浦電子)を添加したのちに、細胞培養を行った。コントロールとして3%過酸化水素水(H₂O₂)を用い、同様の処理後、細胞培養を行った。培養後の細胞から、total RNAを回収し、定量後、サンプルを作製した。各サンプルを、リアルタイムPCR法により、細胞障害時に発現する遺伝子マーカーについて検討した。

【結果および考察】Ca9-22において、強電解酸性機能水ではH₂O₂と比較して、細胞障害時の遺伝子発現誘導は低い傾向を示した。一方、HSC-3では細胞障害時の遺伝子発現誘導において一定の傾向が認められなかった。以上のことから、強電解酸性機能水は、歯肉上皮細胞の違いにより影響が異なることが示唆された。さらに、H₂O₂の作用と比較することで強電解酸性機能水の影響を定量的に判定しうることが判明した。

P-28

口臭関連細菌に対する微酸性電解水の効果

2203

織田 洋武

キーワード：微酸性電解水, *P.gingivalis*, *F. nucleatum*

【目的】口臭の主な原因は、舌や歯の周囲に存在する細菌から発せられる揮発性硫化物である。口臭や歯周病の治療において、舌の清掃やブラークコントロールは重要な項目であり、口腔内細菌に対して殺菌能を持つ含嗽剤や歯磨剤が使用されている。微酸性電解水は2~6%の塩酸を電気分解して精製される溶液で、強酸性電解水と同様の強力な殺菌力を有している。しかし、微酸性電解水の口腔内細菌に対する効果の報告は少ない。本実験は、口腔内で病原菌として報告されている*Porphyromonas gingivalis*と*Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*に対する微酸性電解水の効果を検証した。

【材料および方法】洗浄した*P. gingivalis* (W83, ATCC33277), *P. intermedia* (ATCC25611), *F. nucleatum* (ATCC25586)を各濃度の微酸性電解水(6.25%, 12.5%, 25%, 100%)で1分間処理した。その後連続段階希釈し、*P. gingivalis*はBrain Heart Infusionに5μg/mlのヘミンと0.5μg/mlのメナジオンを添加した寒天培地、*P. intermedia*と*F. nucleatum*はGAM寒天培地に塗抹し嫌気培養を行った。計測はColony Forming Units (CFU)により行った。

【結果および考察】25%と100%の微酸性電解水は*P. gingivalis*と*P. intermedia*, *F. nucleatum*を完全に殺菌した。また、低濃度(6.25%, 12.5%)ではコントロールと比較して有意なコロニーの減少が観察された。微酸性電解水は現在ユニットの清掃や器具の消毒に用いられている。本実験において、微酸性電解水の口腔内細菌に対する強い殺菌能が認められ、含嗽や歯肉溝洗浄に対する有用性が示唆された。

P-29

インプラント周囲への β -TCPとb-FGFの応用

3103

高木 雅司

キーワード：骨補填材，骨再生，インプラント

【目的】大規模な骨増生やサイナスリフトの必要性が少ないショートインプラントは、今後需要が拡大することが予想される。本研究では、ショートインプラントの周囲に骨欠損を実験的に作製し骨補填材と増殖因子の組み合わせによる骨再生を試みた。

【材料および方法】雄性ビーグル犬4頭を用いた。全身麻酔下でP3, P4部の歯肉に歯肉溝切開を加え全層弁で剥離後、分割拔牙を行った。拔牙窩頰側に横3.0mm縦7.0mmの骨欠損を作製した後、インプラント(3.0×8.0mm(Integra-CP[®], bicon社))を片顎4本、1頭につき8本を即時埋入した。骨補填材(β -TCP(SynthoGraft[®]))を填入したものをTCP群、増殖因子(FGF-2)を填入したものをFGF群、骨補填材と増殖因子を填入したものをTCP+FGF群、欠損のみをコントロール群とした。インプラント体補填材を完全に歯肉弁で被覆するように縫合し、術後4週に屠殺、4%PFAで固定した。樹脂切片作製前にマイクロCTを撮影し骨形成高さ(μ m)、骨塩量(BMD)計測後、組織学的評価を行った。(朝日大学動物実験倫理委員会承認)

【結果および考察】骨形成高さはFGF群で $2460 \pm 524 \mu$ m、TCP群で 1462 ± 899 、TCP+FGF群で $820 \pm 856 \mu$ mであった。BMD値はTCP+FGF群で $536 \pm 48 \text{mg}/\text{mm}^2$ 、TCP群で $557 \pm 52 \text{mg}/\text{mm}^2$ 、FGF群で $474 \pm 32 \text{mg}/\text{mm}^2$ であった。今回の結果からチタンインプラント周囲の骨造成に β -TCPをスキヤホールドとしてb-FGFを添加することの有効性が示唆された。

P-31

新規ナノ構造を析出させたチタン表面への細胞の初期接着に与える影響

3102

田口 洋一郎

キーワード：インプラント，チタン，表面性状

【目的】近年、材料のナノ構造化を利用し、従来になく新機能を付与できる。室温で濃アルカリ溶液内で反応させるとチタン表面に酸化チタンナノシート構造(TNS)が直接形成し、生体組織と相互作用するのでインプラント体表面への応用が期待できる。本研究ではTNSが細胞の初期接着に与える影響について検討した。

【材料および方法】#2000まで研磨した純チタンを使用し、TNSを析出させたものを実験群とした。各試料を10Mの水酸化ナトリウム溶液に浸漬・攪拌し、室温・大気圧条件下で24時間反応させ、洗浄し乾熱滅菌を行った。表面を走査型プローブ顕微鏡にて観察した。次にウシ血清アルブミンとフィブロネクチンの吸着挙動を測定した。次にSDラット由来骨髄細胞を播種し、培養開始1, 3, 6, 24時間における細胞接着数の比較を行った。またアクチンに染色を施し、細胞接着像を蛍光顕微鏡にて観察を行った。

【結果および考察】微細構造の観察では、実験群ではナノレベルのシート状構造の形成が示された。タンパクの吸着挙動は実験群において吸着量が共に高い値を示し、細胞接着数は培養開始1, 3時間で実験群は対照群と比較して有意に高く、一方、6, 24時間で有意差は認められなかった。また、細胞接着の観察では、対照群において、平坦な像が観察されるのに対し、実験群では、細胞突起が伸張し幅広く付着した像が観察された。以上により、チタン表面のTNS構造の形成は表面をナノレベルで粗造にし、タンパク質の吸着能を向上させ、細胞の初期接着能を向上させることが示唆される。

P-30

生体機能性分子を固定化した純チタン表面がヒト歯根膜細胞群の動態に与える影響

2609

門 貴司

キーワード：インプラント，歯根膜様組織，生体機能性分子

【目的】本研究では、化学修飾法により生体機能性分子を固定化した純チタン表面が、ヒト歯根膜細胞群(HPDLCs)の接着・伸展活性に与える影響について調べることを目的とした。

【材料および方法】表面を鏡面に仕上げた純チタン(JIS第2種)試料をコントロールとした。研磨した純チタンの表面に、化学修飾法を用いて生体機能性分子(GRGDS, ヒト血漿フィブロネクチン(pFN), ウシ皮膚由来コラーゲン(Col))を固定化した試料を実験群として用いた。細胞接着タンパク質の固定化は、化学修飾前後のチタン表面を高感度反射フーリエ変換赤外線分光分析(FT-IR-RAS)およびX線光電子分光分析により測定することで確認した。細胞親和性は、初期付着細胞数の計測および走査型電子顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡を用いた細胞の形態観察によって評価した。

【結果および考察】チタン表面と生体機能性分子を結合する分子となるp-ビニル安息香酸がチタン表面に結合できることが、FT-IR-RASの結果より確認された。超音波洗浄後においても、生体機能性分子がチタン表面に固定化されていることが、X線光電子分光分析の結果より確認された。細胞親和性の評価から、pFNおよびColを固定化したチタン表面では、HPDLCsの付着・伸展が促進されることが明らかとなった。また、Colを固定化したチタン表面ではHPDLCsの接着斑の形成が増加していることから、インテグリンを介した転写因子の上方制御が起きている可能性が示唆された。

以上の結果より、Colを固定化したチタン表面はHPDLCsに対して親和性が高いことが明らかとなった。

P-32

炭素ローラーが歯肉線維芽細胞のFGF発現に与える影響

2299

本城 賢一

キーワード：歯肉線維芽細胞，炭素ローラー，成長因子

【目的】歯周病の予防には、歯周病原因子の影響を直接受けやすい歯肉を健康な状態に維持することが重要であり、歯肉へのマッサージ効果に関する報告が散見される。等方性超高密度炭は遠赤外線放射効率が高く、様々な医療機器への応用が期待されている。我々は、等方性超高密度炭を用いた炭素ローラーが歯肉線維芽細胞へ与える影響について調査、第54回秋季学術大会において炭素ローラーが歯肉線維芽細胞の成長因子の遺伝子発現を増大させることを報告した。今回さらに詳細な検討を加えたので報告する。

【材料および方法】ヒト歯肉線維芽細胞株Gin-1を10%FBS/DMEMで満たした12wellに播種。Confluentに達した後、炭素ローラーに温熱ならびに振動機能を備えたマッサージローラー(GUM-ROLLER, 大木工芸, 滋賀)を用い、Gin-1に対して温熱(37℃または42℃)及び振動刺激を加えた。尚、温熱と振動刺激しないものを炭素ローラー単独群、炭素ローラーを使用しない群をcontrol群とした。そして、Gin-1の形態的变化、細胞生存率、Real-time RT-PCRによるFGF mRNA発現量、ELISA法を用いたFGF産生量について検討を行った。【結果および考察】温熱(37℃)+振動+炭素ローラー群においてcontrol群と比較し、FGF mRNA発現の有意な増加を認め、さらに、FGF産生量の増加傾向を認めた。また、全群において細胞形態や細胞生存率に変化は認めなかった。以上から、本研究に用いた炭素ローラーは、歯肉線維芽細胞由来のFGFを増大させることを通じて歯肉組織の健康増進に寄与する可能性が示唆された。(非会員共同研究者：株式会社大木工芸 大木武彦)

P-33
2599

Nd:YAG レーザーのMC3T3E-1における形態学的影響

五十嵐(武内) 寛子

キーワード：Nd:YAG レーザー，MC3T3E-1，低出力照射
【目的】歯科用レーザーの低出力照射は細胞への賦活作用が報告されているものの，照射条件において影響が異なる。特に，形態学的観察に比較検討を行っているものは少ないことに着目し，マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞（MC3T3-E1）を用いて，低出力照射および高出力照射が細胞に与える影響について観察を行った。
【材料および方法】60mm-dish にMC3T3-E1 を播種し，24h 培養後，培養上清を無血清培地に交換しさらに24h 培養をおこなった。照射条件を次の3群（①100 mJ 30pps 10秒，②100 mJ 50pps 30秒，③200 mJ 30pps 10秒）に分け，Nd:YAG レーザー（歯科用パルスNd:YAG レーザーネオキュア7200 SPL7200（株）松風，京都）を用いて各3dish ずつ照射を行い24h 培養した。その後，トリパンブルー染色による細胞増殖の測定，位相差顕微鏡およびSEM による形態観察，およびスクラッチテストにて細胞遊走能の測定を行った。
【結果および考察】②において細胞数の優位な増加（ $p<0.05$ ），③は有意な減少が認められた（ $p<0.05$ ）。位相差顕微鏡による形態観察では，各群において大きな差は認められなかったが，SEM による細胞表面の観察では，①では核部分が隆起し，細胞全体に厚みが認められたが，③においては，各部分のみ隆起が認められるものの，その他の部分は細胞の扁平化が認められた。細胞遊走能の測定では，③において遊走能の有意な減少が認められた（ $p<0.001$ ）。以上の結果から，低出力照射においては細胞賦活作用が認められる一方，高出力照射での使用には照射条件の検討が不可欠であることが示唆された。

P-35
2499

心肥大における歯周病原細菌感染の影響

関西 明日香

キーワード：歯周病，心肥大，線維化
【目的】歯周病は慢性炎症性疾患であり，特に中高年齢において罹患率の高い感染症である。近年，歯科治療やブラッシング後に，口腔細菌が血中から検出されており，細菌感染と全身疾患との関わりが多く報告されている。心肥大は心機能を補償する為の適応反応であるが，反応が高度になると死に至る。また心臓血管疾患罹患患者の心臓血管より *A.actinomycetemcomitans* が高頻度に検出されている。そこで，本研究では歯周病原細菌が心肥大に与える影響を検討した。
【材料および方法】7週令のC57BL/6J オスマウスの背部皮下にコイルを植え込み，細菌感染用のスペースとした。2週後，開胸して上行大動脈を血紮し，圧負荷により心肥大モデルを作製した。テスト群では， 108CFU/ml の *A.actinomycetemcomitans* の懸濁液 0.1ml を週1回，4週間投与した。対照群では，PBS を投与した。手術後1週および4週で心エコーを測定した。手術後4週で心臓を採取し重量を測定し，心体重量比を比較した。病理組織学的分析および免疫組織学的分析を行った。また，炎症性マーカーの発現を見る為 RT-PCR を行った。
【結果および考察】感染群は，心エコーにおいて左室内径短縮率が有意に減少した。感染群において心体重量比が有意に増加した。病理所見より，感染群において心筋全体および血管周囲組織の線維化の亢進が観察された。免疫組織学的分析から，感染群での MMP-2 の発現が有意に増強している事が観察されたが，RT-PCR では両群間で有意差を認めなかった。本研究結果より，歯周病原細菌感染が心肥大を悪化させる事が示唆された。

P-34
3104

低出力 Er:YAG レーザー照射後にヒト歯肉線維芽細胞から産生されるタンパク質のプロテオーム解析

荻田 真弓

キーワード：プロテオーム解析，Er:YAG レーザー，歯肉線維芽細胞
【目的】低出力レーザー照射により歯周組織細胞に生物学的効果が発現することが多数報告されている。しかしながら，その作用機序には不明な点が多い。そこで本研究では，レーザー照射による生物学的効果をタンパク質レベルで検索するために，ヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）に対し低出力 Er:YAG レーザー照射を行い，培養後に細胞を回収し，LC/MS-MS によるショットガンプロテオーム解析を行った。
【材料および方法】HGFs は本学歯学部附属病院歯周病外来にて，歯周外科治療時に採取された歯肉からアウトグロース法により分離し，10% FBS 添加 DMEM 培地にて培養した。照射24時間前に0.5% FBS 培地に交換し，照射直前に培養液を抜き取り，HGFs へ低出力 Er:YAG レーザー照射を行った。照射後に培養液を戻し培養を継続した。照射24時間後，HGFs よりタンパク質を抽出し，トリプシン消化後，LTQ-Orbitrap を用いて MS/MS 測定を行い，MASCOT によるデータベース検索にてタンパク質同定を行った。
【結果および考察】本測定により，約300種類のタンパク質が同定され，レーザー照射を行った HGFs において発現変化のあるタンパク質が約60種類検出された。その中には創傷治癒との関連が報告されているタンパク質が含まれていた。現在，同定されたタンパク質の検証を行うとともに，それらの因子とレーザー照射との関連について検討を行っている。

P-36
2402

心臓血管外科手術患者における歯周病罹患状態の評価

岡松 良昌

キーワード：周術期，医療連携，歯周ポケット
【目的】近年，歯周病が循環器疾患のリスクを高めることが報告されている。しかし実際の臨床データは少なく，特に心臓血管外科にて手術を受ける患者の歯周組織の状況を調査した報告はほとんど無い。我々は平成21年4月より昭和大学心臓血管外科と連携し，術前の口腔内診査と周術期の口腔ケアを昭和大学病院歯科にて行っている。そこで今回，我々の医療連携システムの概要と各疾患別の口腔内状況について報告する。
【材料および方法】平成21年4月から平成23年度3月までに心臓血管外科より歯科へ依頼された手術適応患者のうち，術前に口腔内診査と口腔ケアを行った236人（平成21年度：127人，平成22年度：109人）を対象とし検討を行った。患者は心臓血管外科の診断名から虚血性心疾患，弁膜症，心内膜疾患，動脈疾患およびその他の疾患の5群に分けた。口腔内診査項目は歯数，ポケット深さ（PD）およびプラークコントロールレコード（PCR）であり，各疾患にて比較検討を行った。
【結果および考察】各年度および各疾患における平均残存歯数と平均 PCR には大きな差を認めなかった。しかし，4mm 以上の PD を示す部位の割合は，上記の疾患順でそれぞれ15.9%，12.8%，11.3%，18.8%，8.22%（21年度）および13.1%，14.4%，14.4%，17.3%，10.3%（22年度）であり動脈疾患で高かった。また，4mm 以上の PD を有する歯の割合も各年度とも動脈疾患で高い傾向にあった。動脈疾患の中には大動脈瘤や閉塞性動脈硬化症等の疾患があり，このような疾患を有する患者は深い歯周ポケットを有している可能性が示唆された。

P-37

職域成人における歯周病と末梢血中の肝機能マーカーとの関連性

2499

森田 十誉子

キーワード：歯周病, γ GTP, 白血球

【目的】

歯周病は歯周病原菌による軽微な慢性炎症と考えられており、動脈硬化性疾患、糖尿病などの全身疾患やその兆候でもあるメタボリックシンドロームとの関連性が強く指摘されている。しかし、歯周病と肝機能マーカーあるいは血球成分との関連性を調べた疫学研究的報告は少なく、その詳細については不明な点が数多く残されている。そこで、職域成人の歯科および内科の健康診断（健診）結果を分析し、歯周ポケットの保有状況と末梢血中の肝機能マーカーおよび血球成分との関連性を横断研究によって解明することを本研究の目的とした。

【対象および方法】

対象は、某事業所従業員のうち、2006年に歯科および内科健診を受けた2,405名（男性1,972名、女性433名、平均年齢43.2歳）とした。健診データから、歯周ポケットの保有状況と、血液中の γ GTP、GOTおよびGTP値、GOT/GPT比、白血球数、赤血球数、血色素およびヘマトクリット値との関連性を調べた。

【結果および考察】

歯周ポケットを保有する群は、歯周ポケットが無い群に比べて、 γ GTP値、白血球数、血色素およびヘマトクリット値は有意に高く、GOT/GPT比は有意に低かった。年齢、性別、喫煙習慣、飲酒習慣および肥満を独立変数の項目に加えて重回帰分析を行った結果、 γ GTP値および白血球数は歯周ポケットの保有と有意な関連性が認められた。

以上の結果から、歯周病は肝機能の低下と関連している可能性が示唆された。（会員外共同研究者：三田理絵）

P-38

早産・低体重児出生における歯周病に起因した β 2 glycoprotein-Iを認識する抗体の役割

2402

葉 暢暢

キーワード：早産・低体重児出生、抗リン脂質抗体症候群、歯周病

【目的】抗リン脂質抗体症候群（APS）では、血液凝固の抑制に重要な β -2 glycoprotein-I（ β 2GPI）に対する自己抗体が上昇し、血栓症や習慣性流産を引き起こすことが知られている。A. actinomycetemcomitans（Aa.）のロイコトキシンCは β 2GPI上のTLRVYKペプチドと高い相対性を持つ配列（SIRVYK）を有する。これより、SIRVYKに対する抗体が β 2GPI上のTLRVYKペプチドと交差反応を引き起こし、APSに類似した早産・低体重児出生を引き起こしている可能性がある。本研究の目的は、口腔内の歯周病原菌の感染によってこれらの抗体の上昇が認められるかどうか、また歯周病原菌の感染や抗体が出生の結果に影響しているかどうかを明らかにすることである。

【材料および方法】95名の妊産婦（47名：切迫早産群、48名：健常対照群）を被験者とし歯周組織検査を行った。歯周ポケットおよび唾液中の歯周病原菌をPCR法により検出した。また、血清を採取し、ELISA法によりTLRVYK、SIRVYKペプチドに対する血清抗体価を測定した。

【結果および考察】19名は早産あるいは低体重児出生となり、76名は正常出生であった。早産・低体重児出生群ではPggingivalis（Pg.）の検出率が高かった。切迫早産群では健常対照群と比較して、抗SIRVYK抗体価が高かった。抗SIRVYK抗体価と抗TLRVYK抗体価には正の相関が認められた。本研究より、Pg.の感染が早産・低体重児出生に関与する可能性、また抗SIRVYK抗体価の上昇が、抗TLRVYK抗体価の上昇と関連してAPS様の早産・低体重児出生を引き起こす可能性が示唆された。

P-39

日本在住妊婦の歯周病罹患状態が早産に及ぼす影響

2504

小出 容子

キーワード：歯周病、早産、低体重児出生

【目的】歯周病が早産・低体重児出生のリスクファクターとなるかについては、諸外国でさまざまな調査が行われているが、未だ定まった見解は得られていない。一方、日本では妊婦の歯周病に関する研究自体が少なく、妊婦の歯周病罹患状態には不明な点が多い。本研究の目的は、日本在住妊婦の歯周病罹患状態が早産のリスクファクターとなり得るか前向きコホート研究にて調査することである。

【材料および方法】当大学病院産婦人科で分娩を予定して健診を受けている日本在住妊婦（外国人2名含）のうち、本研究の協力に書面同意した187名（初産婦107名、経産婦80名）を対象とし、妊娠初期に歯周病検査、妊娠経過との関連を調査した。本研究は所属機関の医の倫理委員会の承認の下で行われた。

【結果および考察】歯周病群は初産婦81名（75.7%）、経産婦58名（72.5%）だった。また、早産は初産婦3名、経産婦7名の10名（5%）だった。妊娠期間や出生時体重、年齢と各種歯周病マーカーとの関連を調べた結果、初産では平均PII vs 妊娠期間、総歯数 vs IL-6、経産婦では年齢 vs 出生体重、PD 4 mm以上の歯面の割合 vs 妊娠期間、IL-6 vs 年齢、TNF- α vs 妊娠期間、平均GI vs 妊娠期間、BOP(+)率 vs 妊娠期間において有意な相関がみられた。歯周病は、早産に寄与する可能性が示唆された。今後、被験者数を増やし、各因子の相対リスクの検討も行っていくたい。

P-40

歯周病メンテナンス期患者における歯周病の進行と全身の酸化ストレスとの関連

2402

玉木 直文

キーワード：酸化ストレス、歯周病進行度、リスクファクター

【目的】歯周病メンテナンス期において、歯周病進行に関わるリスクファクターを検討することは重要である。近年、全身の酸化ストレスと歯周病との間に関連性があることが着目されている。今回の前向きコホート研究では、メンテナンス期患者において酸化ストレスが歯周病のリスクファクターとなり得るか検討した。

【材料および方法】2007年度に岡山大学病院予防歯科で継続的な歯周病メンテナンス治療を受けている、全身疾患のない慢性歯周炎患者75名を対象とした。内容の説明後に同意を得てから、歯周病検査と血漿中の酸化ストレス度の測定を行った。その3年後の歯周病検査の結果、アタッチメントレベルが3 mm以上増加している歯が2本以上もしくは歯周病が原因で1本以上抜歯があった患者を進行群と定義し、非進行群との比較を行った。

【結果および考察】進行群は28名（37%）で、非進行群と性別、年齢に違いはなかった。2群間において、平均ポケット深さ、平均アタッチメントレベル、歯数、動揺歯の有無、アタッチメントレベル \geq 4 mmの割合、酸化ストレス度に統計学的有意差が認められた。歯周病進行の有無を従属変数としたロジスティック回帰分析の結果、アタッチメントレベル \geq 4 mmの割合（オッズ比1.055, P=0.004）と酸化ストレス度（オッズ比1.001, P=0.037）に有意な関連が認められた。以上から、アタッチメントレベル \geq 4 mmの歯の割合や酸化ストレス度が高いことが、歯周病メンテナンス期患者における歯周病進行のリスクファクターとなる可能性が示唆された。歯周病のメンテナンスを行ううえで、全身の酸化ストレスの抑制が、歯周病の進行を予防する鍵となるかもしれない。

P-41
2402

カンボジア王国村落地域における歯周病重症度と酸化ストレスとの関係—血漿 IgG 抗体からの検討—

谷野 弦

キーワード：酸化ストレス、歯周疾患、血漿 IgG 抗体価

【目的】開発途上国村落地域における急速な加齢現象の原因の一つとして酸化ストレスの上昇が認められ、酸化ストレスの発生には歯周病による長期にわたる炎症の関与が指摘されている。本報告ではカンボジア村落地域住民を対象として歯周病の感染度の程度がどう酸化ストレスにどう酸化ストレスに影響を及ぼすかを検討した。

【材料および方法】カンボジア王国モンドルキリ県住民、成人 20 名（男性 12 名、女性 8 名、平均年齢 53.8±11.6 歳）に対し、生活環境調査、既往歴の問診、身長、体重、血圧の測定および尿検査に加え、歯周病検査として歯周ポケット深度、BOP の測定を行った。血漿 IgG 抗体価の測定には A.a, Pg, Pi, E.c を対象菌とし ELISA 法を用い測定した。酸化ストレス度は Diacron 社製フリーラジカル測定装置 FRAS4 による D-Roms テストを用いた。

【結果および考察】モンドルキリ県住民の平均酸化ストレス度は 360.1±50.6 U.CARR、4 mm 以上のポケット深度の割合は 40.7±33.1%、BOP 陽性率は平均 69.8±30.8%であった。血漿抗体価は A.a: - 0.03±0.46, Pg: 16.86±18.42, Pi: - 0.30±0.39, E.c: - 0.22±0.39 であった。酸化ストレス度と BOP 率 ($r=0.56$)、Pg 抗体価 ($r=0.44$)、及び E.c 抗体価 ($r=0.45$) との間に有意な正の相関関係が認められた。さらに歯周病の重症度をグレード分類し総合値を酸化ストレス度と検討した結果、酸化ストレス度と総合値との間に正の相関関係 ($r=0.62$, $p<0.01$) が認められた。これら結果より、歯周病の重症度が酸化ストレスの発生に強く関与している可能性が示唆された。

P-43
2402

TLR-4 リガンド刺激マクロファージと共存する脂肪細胞で発現するケモカインの網羅的解析

雁瀬 朋美

キーワード：脂肪組織炎症、ケモカイン、炎症細胞浸潤

【目的】2 型糖尿病やメタボリックシンドロームの基本病態であるインスリン抵抗性の発現には、慢性炎症が深く関与している。また、ケモカインである MCP-1 とその受容体 CCR2 は脂肪組織にマクロファージを浸潤させる重要なシステムであることが知られている。このような脂肪組織の慢性炎症とインスリン抵抗性の発現に関与するケモカインを調べるため、DNA マイクロアレイ解析で発現量の変動が示唆された遺伝子について、その発現変化をリアルタイム PCR 法により網羅的に検証した。

【材料および方法】マウス前駆脂肪細胞株 3T3-L1 とマウスマクロファージ由来細胞株 RAW264.7 を用い、3T3-L1 の単独培養、両細胞の共培養、および両細胞に E. coli.LPS (1 ng/ml) 刺激を加えた共培養を行い、4, 8, 12, 24 時間後の脂肪細胞の mRNA を回収した。リアルタイム PCR 法にて脂肪細胞における CXCL1/NAP-3, CXCL5/ENA-78, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CCL7/MCP-3, CCL11/Eotaxin, CCL19/MIP-3 β , CCL22/MDC の発現量を単独培養、共培養 LPS(-)、共培養 LPS(+) について比較した。【結果および考察】単独培養や共培養 LPS(-) における脂肪細胞よりも共培養 LPS(+) における脂肪細胞で、CXCL1/NAP-3, CXCL5/ENA-78, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CCL7/MCP-3, CCL19/MIP-3 β の発現量が著明に上昇することが確認された。よって、これらのケモカインの生体内での作用を減弱させることができれば、脂肪組織の炎症を改善できる可能性があることが示唆された。

P-42
2402

内科および歯科検査値の相関に関する横断研究

寺田 裕

キーワード：歯周病、血液検査、横断研究

【目的】糖尿病や動脈硬化と歯周炎との関わりが注目されているが、これまで同一病院内で歯科と内科を受診している患者に関する相互のデータを解析した報告は限られている。本研究では大学病院の歯科と内科に通院する患者の歯周組織の状態と血液検査値との関連性について調査した。

【材料および方法】2008 年から 2010 年にかけて北海道医療大学病院歯科に初診来院した患者で、同内科も受診かつ採血の既往のある 97 名（男性 51 名、女性 46 名、平均年齢 60.2±13.1）を被験者とした。歯科検査項目はブローピングポケットデプス (PPD)、歯の動揺度、およびブローピング時の出血、内科は中性脂肪、総コレステロール、血糖値、高感度 CRP および HbA1c とした。内科検査項目をそれぞれ目的変数に設定し、歯科検査項目、年齢、および目的変数以外の内科検査項目を説明（予測）変数に設定して重回帰分析を行った。

【結果および考察】重回帰分析の結果、中性脂肪は総コレステロール、3 mm 以上の PPD を有する歯数、7 mm 以上の PPD を有する歯数との有意な相関が認められた。HbA1c に対しては 4 mm 以上の PPD が存在する歯数との有意な相関が認められた。高感度 CRP は残存歯数と有意な負の相関が認められた。以上の結果から深い歯周ポケットの存在が中性脂肪や HbA1c の上昇などの代謝異常と関係する可能性があることが示唆された。

P-44
2203

ピロシーケンスによる口腔内細菌叢解析法の検討：口腔内空気の揮発性硫黄化合物濃度との関係

新 光一郎

キーワード：ピロシーケンス法、口腔内細菌叢、口臭

【目的】揮発性硫黄化合物 (VSC) は、口腔内細菌の代謝産物であり、口臭の原因となることや、歯周病原性への関与が報告されている。本研究では、唾液と舌苔の口腔内細菌叢をピロシーケンス法で解析し、口腔内 VSC 濃度との関係を検討した。

【材料および方法】口腔内 VSC 濃度をガスクロマトグラフィーで測定後、刺激唾液をガム咀嚼下で採取し、舌苔をスパーテルで採取した。口臭なし群 10 名、口臭あり群 10 名 (H_2S 1.5ng/10ml 以上又は CH_3SH 0.5ng/10ml 以上のもの) を対象として、唾液と舌苔サンプルの 16S rRNA 遺伝子の V5~V6 領域を含む約 300 塩基対を PCR で増幅し、ピロシーケンス法で塩基配列を決定し、Human Oral Microbiome データベースに対する BLAST 検索から、基準配列との同源性 97% 以上で菌種同定した。

【結果および考察】唾液から約 16,000、舌苔から約 300,000 の塩基配列を決定した。門レベルでは、群間に有意差は検出されなかった。科レベルでは、口臭なし群に比べて口臭あり群では、唾液中の Bacteroidetes の構成比が有意に低く、舌苔中の Clostridiales の構成比が有意に高かった。種レベルでは、口臭なし群に比べて口臭あり群で、唾液及び舌苔とも Peptostreptococcus stomatis の構成比が有意に高かった。口臭との正の相関性が最も高かったのは、舌苔中の Clostridiales sp. oral taxon 085 であった。一方、唾液中の Porphyromonas endodontalis 及び Granulicatella elegans には、口臭との負の相関性がみられた。以上の結果から、ピロシーケンス法によって口腔内細菌叢が高精度で解析でき、口腔内 VSC との関連性が検討できることがわかった。

P-45
2203

Actinomyces oris におけるバイオフィルム関連遺伝子の網羅的同定

小木曾 一貴

キーワード：バイオフィルム, トランスポゾン, *Actinomyces*
【目的】口腔に存在する細菌群は、複雑な相互作用を介して歯面や歯周ポケットにバイオフィルムを形成し、口腔疾患を引き起こす原因となる。その一員である *Actinomyces* は、これまでう蝕や歯肉炎との関係が報告されてきたが、近年のバイオイメーキング解析により、初期口腔バイオフィルム形成のプラットフォームとなることが明らかになってきた。また、多くの歯周病原細菌との相互作用も報告されている。我々は、*Actinomyces* のモデル菌株である *A.oris* MG-1 株において、バイオフィルム形成のアクセシ系、特定遺伝子を欠失させる系を構築してきた。本研究では口腔バイオフィルム形成機構を解明する一助とすべく、MG-1 株にランダムミュータジェネシスを適応し、網羅的な欠損株単離を介して、バイオフィルム形成遺伝子の同定を試みた。
【材料および方法】*A.oris* MG-1 株を EZ-Tn5™ を用いて形質転換し、トランスポゾン挿入変異株を作成した。バイオフィルムアクセシ系を用いることで、得られた変異株プールからバイオフィルム形成欠損株をスクリーニングした。得られた株のトランスポゾン挿入領域をシーケンシングにより決定した。
【結果および考察】これまでに 600 株のトランスポゾン挿入変異株を単離し、16 株のバイオフィルム形成欠損株を得ることが出来た。現在までに、3 株のトランスポゾン挿入領域を決定しており、その他の欠損株についても解析を進めているところである。本解析を継続することで、口腔バイオフィルム構築機構の一端を明らかに出来るものと考えている。

P-47
2504

JP2 型 leukotoxin promoter を有する *A.actinomycetemcomitans* 菌の解析

清水 伸太郎

キーワード：歯周病原細菌 唾液 歯周ポケット
【目的】

A.actinomycetemcomitans (A.a) の JP2 株は leukotoxin を多量に産生し病原性が高いことが知られているが、これまで日本では検出されていなかった。本研究では北海道在住の歯周炎患者、軽度歯肉炎・健常者に対して細菌検査を行い、被験者より分離された A.a 臨床分離株の特徴について検討した。

【材料および方法】

北海道医療大学歯科内科クリニックに来院した歯周炎患者 33 人、軽度歯肉炎・健常者 14 人を対象とし、臨床症状の測定と細菌検査を行った。歯周炎患者 16 人、軽度歯肉炎・健常者 10 人から A.a を培養し Aae (オートトランスポーター) のタイプを PCR 法で解析した。

【結果および考察】

PCR によって A.a 陽性であった歯周炎患者 9 人の臨床症状は陰性の患者よりも重度であった。健常者から PCR で A.a は検出されなかったが、培養によってすべての健常者から A.a が分離された。得られた 102 株全て JP2 と同様の leukotoxin プロモーター領域の欠失を認めた。臨床分離株の Aae 遺伝子型は患者 / 健常者でそれぞれ type 1 : 19.2 % / 11.5 %, type 2 : 23.1 % / 0 %, type 3 : 42.3 % / 30.7 %, type 4 : 11.5 % / 0 % であった。以上の結果より JP2 様 leukotoxin プロモーターを有する A.a が北海道に存在し、健常者と患者で異なる Aae のタイプの株が分布していることが示唆された。

P-46
2504

北海道在住の日本人家族から分離された JP2 タイプの *A.actinomycetemcomitans* の特徴

長澤 敏行

キーワード：歯周病原細菌 家族 歯周ポケット

【目的】

A.actinomycetemcomitans (A.a) の JP2 株は leukotoxin を多量に産生し病原性が高く、アフリカ系の移民で感染率が高い事が知られているが、日本を含む東アジアでは検出されていなかった。本研究では北海道在住の歯周炎患者 16 名から A.a の臨床分離株を培養し、家族関係のある被験者 6 名 3 家族とその他の被験者から得られた A.a の特徴について検討した。

【材料および方法】

北海道医療大学歯科内科クリニックに来院し PCR 法で細菌検査を行った歯周炎患者 16 名から A.a を培養した。16 名中に 3 家族 (2 家族は母娘。1 家族は夫婦) 6 名が含まれていた。A.a の leukotoxin 遺伝子のタイプを PCR 法で解析した。16SrRNA のシーケンスを行い、標準株と比較を行った。また AP-PCR により臨床分離株の相異を解析した。

【結果および考察】

A.a の臨床分離株はすべて JP2 と同様の leukotoxin プロモーター領域の欠失を有していた。16SrRNA のシーケンスでは血清型 b の標準株と高い相同性がみられた。AP-PCR では被験者毎にパターンの違いが見られたが、家族間では共通のパターンが認められた。以上の結果から北海道において JP2 タイプの leukotoxin 遺伝子を有する *A.actinomycetemcomitans* が高頻度で検出され、家族間で伝播している可能性が示唆された。

P-48
2203

Periodontopathogenic Lipopolysaccharide Activity Neutralized by Antimicrobial Peptide LL-37 in Human Oral Fibroblasts

Wiroj Suphasiriroj

Key words : antimicrobial peptide; LL-37; lipopolysaccharide; fibroblast

Objectives: The antimicrobial peptide LL-37 is known to have an ability to bind to lipopolysaccharide (LPS) and neutralize LPS activity in various cell types. Due to observed heterogeneity within periodontopathogenic LPS, the present study aimed to investigate the LPS-neutralizing activity of LL-37 to various periodontopathogenic LPS in interleukin (IL)-8 production after challenged them in human oral fibroblasts. Methods : Human periodontal ligament fibroblasts (PDLF) and gingival fibroblasts (GF) were cultured from biopsies of periodontal ligament and gingival tissues. After cell confluence in 24 well plates, LPS (10 µg/ml) from *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* were added with or without LL-37 (10 µg/ml). After 18 hours, the supernatant was collected and analyzed in IL-8 production by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: GF showed a statistically significant IL-8 production more than PDLF after periodontopathogenic LPS treatment for 18h ($P < 0.01$). *P. intermedia*, *F. nucleatum*, and *A. actinomycetemcomitans* appeared to induce IL-8 production stronger than *P. gingivalis* in PDLF but not in GF. After neutralization with LL-37, both PDLF and GF showed a statistically significant reduction in IL-8 production as comparing to LPS-treated groups without LL-37 ($P < 0.01$); however, the percentage of reduction in IL-8 production varied in according to each periodontopathogenic LPS.

Conclusion: The antimicrobial peptide LL-37 had an ability to neutralize periodontopathogenic LPS activity both in PDLF and GF; however, its LPS-neutralizing activity seemed to be dependent on the heterogeneity within LPS between different genera.

P-49
2203

Aggregatibacter actinomycetemcomitans は 歯肉
上皮細胞において smad2 のリン酸化及びアポトー
シスを誘導する

吉本 哲也

キーワード: smad2, 歯肉上皮, アポトーシス

【目的】 歯肉上皮細胞は細菌の侵入に対して物理的バリアーとして機能する一方、サイトカインを産生するなど歯周病の発症、進行に深く関与すると考えられる。また上皮細胞におけるアポトーシスシグナルは細胞間接着を制御することが知られている。smad2 は TGF 依存性のシグナルであり、上皮細胞の機能に対して抑制的に働く。歯周病原性細菌が smad2 をリン酸化することで、アポトーシスシグナルが誘導される可能性があり、そのシグナル制御を行うことによって歯肉上皮細胞の機能制御が可能であると考えられる。本研究ではヒト歯肉上皮細胞 (HGEC) を用い、Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a) が誘導するアポトーシスシグナル及び、smad2 リン酸化について検討した。【材料と方法】 HGEC を培養し死菌 A.a を作用させた後、タンパクを抽出し、リン酸化 smad2、アポトーシス抑制因子である bcl2、bcl-xL、アポトーシス促進因子である bid、bax、bim、リン酸化 bad、また cleaved caspase-9、-3、-PARP をウェスタンブロット法によって評価した。

【結果および考察】 A.a は HGEC におけるリン酸化 smad2 タンパクの発現を増加させた。また A.a 刺激後、時間依存的に HGEC の bcl2、bcl-xL のタンパク発現を減少させ、さらにリン酸化 bad の発現を増加させた。一方で bid、bax、bim のタンパク発現は変化がなかった。さらに、cleaved caspase-9、-3、-PARP のタンパク発現は A.a 刺激 3 時間後に増加が確認された。以上のことから、A.a は smad2 のリン酸化を促進させ、またリン酸化 smad2 と A.a が誘導するアポトーシスとの間に関連がある可能性が示唆された。

P-51
2203

Porphyromonas gingivalis contributes to oxidation
of low-density lipoprotein

Ru Jia

【Keywords】 *Porphyromonas gingivalis*, atherosclerosis, low-density lipoprotein

【Objectives】 Recent studies have shown that periodontal disease increases the risk of atherosclerosis. We previously reported that *Porphyromonas gingivalis* accelerated atherosclerotic plaque formation in hyperlipidemic apoE^{-/-} mice by initiating inflammation. Because oxidative modification of lipoproteins plays a major role in atherosclerosis, the present study was designed to test the oxidative activity of *P. gingivalis* on low-density lipoprotein (LDL).

【Materials and Methods】 Atherosclerotic plaque formation in the aortic sinuses of ApoE^{sh1} mice i.v. challenged with *P. gingivalis* 381 was assessed by oil red-O staining. Anti-mouse HcI-oxidized LDL and 4HNE antibodies were used for immunohistochemistry. Detection of intracellular ROS generation was performed using H2DCF-DA. Quantitative RT-PCR was performed using primers specific for LOX-1, NOX-1, NOX-2, NOX-4, p22phox, p47phox and B-actin. Oxidation of LDL by monocytes exposed to bacteria was assayed by ox-LDL ELISA kit.

【Results and Discussion】 *P. gingivalis* challenge markedly induced ox-LDL and 4HNE positive areas in proximal aortic lesions. TLR-2, LOX-1 and NADPH oxidase subunit-specific mRNA levels were significantly increased. Furthermore, *P. gingivalis* exposure caused monocytes to oxidize LDL in a dose dependent manner. These results suggest that *P. gingivalis* promotes the oxidation of LDL and contribute to atheroma development.

P-50
2203

Emerging function of Th17 responses for
development of Atherosclerosis infected by
Porphyromonas. gingivalis.

Yu Cai

Key words: Th17, *Porphyromonas gingivalis*, Atherosclerosis

【Objective】 *Porphyromonas gingivalis* has shown to be an important risk factor for cardiovascular diseases, such as atherosclerosis. Inflammatory cytokines secreted by T cells, participate in regulating the development of atherosclerosis. It has been reported that *Porphyromonas gingivalis* accelerates atheroma formation in murine models. Th17 cells are a new CD4⁺ T subset that have been implicated to play a central role in chronic inflammatory diseases and promote atherogenesis in atherosclerotic lesion development. In this study, we have elucidated the role of Th17 cells in *P. gingivalis*-induced atherosclerosis over the time course.

【Materials and Methods】 Apolipoprotein E-deficient (ApoE KO) mice were intravenously injected with *P. gingivalis* three times a week for total ten times. 1,3,5 weeks after the last challenge, serum, spleen and aortic tissues were collected for subsequent assays. Atherosclerotic lesions were examined by Oil Red-O staining. Th17 cells and Th17 related molecules in infected mice were examined by flow cytometry, real-time PCR, RT-PCR and ELISA.

【Results and Discussion】 *P. gingivalis* inoculation accelerated atherosclerotic plaque accumulation in the aortic sinus of ApoE KO mice. Flow cytometry analysis of CD4⁺ T cells revealed that *P. gingivalis* challenge enhanced the proportion of Th17 cells after 1 week but reduced after 3 weeks. Furthermore, production of IL-17, but not IFN- γ and IL-10, were increased when stimulated with anti-CD3 antibody. IL-17 was decreased after 3 weeks, but IFN- γ was apparently increased. Real-time PCR analysis showed that Th17-related molecules, e.g., IL-6, TGF- β , STAT3, ROR γ t and IL-23, but not IL-21, were increased after *P. gingivalis* infection. These results suggest that *P. gingivalis* infection enhances Th17 responses to create a pro-inflammatory condition that in turn leads to development of atherosclerosis.

P-52
2204

Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) による口腔
粘膜の分化に対する影響

村上 弘

キーワード: EGCG, caspase14, 口腔粘膜

【目的】 経時的に観察が可能で再現性のある口腔粘膜上皮の再構築モデルにて caspase14 の存在を明らかにし、口腔粘膜の角化メカニズムにおける意義を解明するために、epigallocatechin-3-gallate (EGCG) による口腔粘膜の分化と caspase14 の発現に対する影響を検討した。

【材料および方法】 7日齢のラット口腔粘膜を用いて再構築モデルを作製し、caspase14 や分化マーカー (CK10, CK14) の発現とそれらに対する EGCG の影響を経時的に観察し、免疫組織学的な評価を行った。また、再構築モデルからの抽出タンパクを SDS-PAGE にて分離後、Western blotting によって caspase14 (pro 型と活性化型) タンパクの発現の解析も行った。

【結果および考察】 HE 染色において重層扁平上皮の多層構造が確認でき、CK10, CK14 の免疫染色によって 3~8 日にかけて分化が進むことが確認できた。さらに、有棘層での caspase14 の発現が免疫染色にて、また、pro-caspase14 (30kDa) の発現が Western blotting にて検出できた。EGCG により CK10, CK14 の発現が限局化し、pro-caspase14 の発現が増加することがわかった。EGCG が口腔粘膜の分化を促進し、pro-caspase14 の発現を増加させることから pro 型の増加と口腔粘膜の分化・角化との間に関係があると推察された。また、caspase14 の活性化型への変換には、週齢の異なるラットにおける検討が必要であると思われた。本再構築モデルを用いて caspase14 の活性化機構を解明することは、口腔粘膜の角化機構を明らかにする上で重要な意義があると考えられた。

P-53

2504

アジスロマイシンによる菌肉線維芽細胞の炎症性サイトカイン産生亢進

山口 貴央

キーワード：アジスロマイシン, 菌肉線維芽細胞, サイトカイン
【目的】

我々はこれまでに、アジスロマイシン (AZM) が菌周組織の改造やサイトカインの産生へ影響を与える可能性について報告してきた。培養ヒト菌肉線維芽細胞 (hGFs) において RT-PCR 法により炎症性サイトカインの mRNA の発現の亢進が認められたことから、細胞内シグナル伝達経路に及ぼしている影響について検討を加えた。

【材料及び方法】

hGFs を培養し、Escherichia coli (E.coli 0111:B4) 由来 LPS 刺激下および無刺激下で種々の濃度の AZM を作用させ、2 時間後に培養細胞から Total RNA と Total Protein を抽出し RC-PCR 法で IL-6 および IL-8 の遺伝子発現を、Western blot 法で NF- κ B のリン酸化の程度を検出した。

【結果及び考察】

LPS 刺激下において、経時的に hGFs の IL-6, -8 の遺伝子発現が増強し、NF- κ B のリン酸化が検出された。AZM の添加により、IL-6, -8 の遺伝子発現と NF- κ B のリン酸化は、LPS 単独の刺激よりも濃度依存的に増強した。

【結論】

AZM による炎症性サイトカインの産生亢進は NF- κ B シグナル伝達経路の活性化によるメカニズムを介することが示唆された。

P-55

2206

Rho キナーゼ阻害剤によるマラッセ上皮遺残細胞の長期培養系の確立

都倉 亮明

キーワード：Rho キナーゼ阻害剤, 長期培養, 再生医療

【目的】近年、ヒトの歯根膜から単離培養されたマラッセ上皮細胞がエナメルタンパクを分泌するエナメル芽細胞に分化することが報告され、歯の再生医療におけるマラッセ上皮細胞の応用が期待されている。しかし、ヒトのマラッセ上皮細胞を長期培養することは困難であり、このことがマラッセ上皮細胞の臨床応用を困難にしている。最近になり、Rho キナーゼ阻害剤がヒト胚性幹細胞のクローニング効率を著明に増加させることが明らかになり、細胞の長期培養への有用性が期待されている。本研究では Rho キナーゼ阻害剤がマラッセ上皮細胞の培養寿命を延長させることができるかを検証した。

【材料および方法】豚の歯周組織から単離したブタのマラッセ細胞に、10 μ M の Rho キナーゼ阻害剤 (Y-27632) を添加しコラーゲンコート上で3ヶ月間の長期培養を行った。培養した細胞から RNA を抽出し、テロメア逆転写酵素 (TERT) を寿命延長のマーカー、p16 を老化のマーカー、p53 を非癌化のマーカーとして用いて RT-PCR 法を行った。また長期培養後の性質保持のマーカーとして各種エナメルタンパクの発現量を RT-PCR により観察した。

【結果および考察】マラッセ上皮細胞は Y-27632 を添加することで有意な TERT・p53 の発現レベルの上昇がみられ、p16 は Y-27632 添加群に発現レベルの有意な減少が見られた。エナメル蛋白の発現には有意差はみられなかった。以上の結果より Rho キナーゼ阻害剤はマラッセ上皮細胞の分化能を維持したまま老化・癌化せずに簡便な培養寿命の延長が可能であり、本法によってマラッセ上皮細胞による歯の再生医療への応用が可能であることが示唆された。

P-54

2204

AmphotericinB によるヒト菌肉上皮細胞における炎症性サイトカインの発現制御

今井 遥香

キーワード：amphotericinB, ヒト菌肉上皮細胞, サイトカイン

【目的】抗真菌薬である amphotericinB が、一部で菌周治療の治療薬として利用されているが、その科学的根拠は解明されていない。真菌が菌周病原性を有しているという報告はないため、amphotericinB が菌周炎の臨床症状の改善に関わっているのであれば、真菌に対してではなく、宿主 (患者) の応答に影響を与えている可能性がある。菌肉上皮細胞は菌周病原性細菌の侵入に対し、防御的に機能する一方で、炎症性サイトカインを産生し炎症の惹起に関与する。本研究では amphotericinB の菌肉上皮細胞に対する炎症性サイトカイン IL-8, IL-6 の発現及びその制御における MAP kinase の関与について検討した。

【材料および方法】ヒト菌肉上皮細胞 (HGEC) を amphotericinB (50 μ M, 500 μ M), ERK 阻害剤または p38 MAPK 阻害剤作用下で、Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa) の死菌によって刺激した。IL-8, IL-6 の mRNA 発現はリアルタイム PCR 法で調べた。また、ERK および p38 MAP kinase のリン酸化は Western blot 法によって解析した。

【結果および考察】Aa 刺激によって HGEC の IL-8, IL-6 の mRNA 発現は増加し、amphotericinB はその増加を抑制した。また、IL-8 mRNA に関しては ERK 阻害剤存在下で、IL-6 mRNA は p38MAPK 阻害剤存在下でそれぞれ発現増加が抑制された。さらに、amphotericinB は Aa で促進された ERK および p38MAP kinase リン酸化を抑制した。以上から amphotericinB が IL-8 及び IL-6 を抑制し、菌肉上皮細胞の炎症を制御することが示唆された。

P-56

3103

LIPUS 照射によるスフェロイドの免疫組織化学的検索

川津 布美

キーワード：スフェロイド, LIPUS 照射, 免疫組織化学

【目的】我々は先の学会で、スフェロイドに LIPUS を照射するとオステオポンチン (OP), オステオカルシン (OC) の免疫陽性反応が非照射群と比較し、早期に発現することを報告したが、OP, OC の発現が不均一であった。今回は LIPUS 照射の細胞分化への影響を明らかにするため、照射位置を固定しスフェロイドの照射側と非照射側の細胞分化を免疫組織化学的に検索した。

【材料および方法】ヒト歯槽骨膜由来細胞のスフェロイドを遠心沈殿法にて作製し、固定用リングに固定後、1, 3, 7, 14 日間、周波数 1.5MHz, 出力 160mW にて 1 日 15 分間照射し、OP, OC の免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて検索を行った。

【結果および考察】LIPUS 照射 1 日目の照射側ではスフェロイド全体の細胞に OP 免疫陽性反応を認めたが、表層の免疫陽性細胞は散在性であり、深層では OC 免疫陽性反応もわずかに認めた。非照射側では陽性反応は認めなかった。3 日目の照射側では OP 免疫陽性反応はスフェロイド全体に認めた。OC 免疫陽性反応も深層から中層まで認めたが、表層でもわずかにその免疫陽性反応を認めた。非照射側では OP 免疫陽性反応を深層と中層に認めたが、OC 免疫陽性反応は認めなかった。7 日目の照射側では OP 及び OC 免疫陽性反応を全体的に認めた。非照射側では OP 及び OC 免疫陽性反応を全体的に認めたが、表層の OC 免疫陽性反応は限局的であった。14 日目では照射、非照射側共に、OP 及び OC 免疫陽性細胞を認めた。以上の結果から LIPUS 照射により、OP, OC 免疫陽性反応が非照射側と比較して、早期に認められることから、LIPUS 照射が細胞分化を促進させるものと考えた。

P-57

2299

歯周炎患者における末梢血血清中の sIL-1RAcP と臨床所見の関係

水谷 大樹

キーワード：sIL-1RAcP, 歯周炎, 末梢血血清

【目的】IL-1 は、細胞膜上の IL-1R1 と IL-1RAcP ヘテロ 2 量体を介してシグナル伝達することが明らかとなっている。一方、可溶性 IL-1RAcP (sIL-1RAcP) は IL-1 に結合することにより間接的に IL-1 の活性を制御し、関節リウマチ患者の血清では健常者に比べて有意に高い産生を認めることが報告されている。しかし、歯周炎患者における sIL-1RAcP の産生と病態との関連性を調べた研究はまだない。そこで、歯周炎患者より採取した血清中の sIL-1RAcP を健常者と比較することを目的とし本研究を行った。

【材料および方法】愛知学院大学歯周病科を受診し、歯周組織検査の結果、慢性歯周炎と診断された歯周炎患者 16 名と、健常者 17 名を被験者とした。歯周組織検査では Probing pocket depth (PPD), Clinical attachment level (CAL), Bleeding on probing (BOP) を測定した。末梢血の採取は前腕肘正中皮静脈より行い、血清中の sIL-1RAcP 濃度は ELISA 法にて測定した。

【結果および考察】被験者血清中の sIL-1RAcP 濃度を測定したところ、歯周炎患者 (1,941 ± 353pg/ml) の方が健常者 (840 ± 204pg/ml) に比べて高い産生を認めた ($p < 0.01$)。また、被験者全体における血清中の sIL-1RAcP は PPD ($r = 0.213$, $p < 0.01$), CAL ($r = 0.299$, $p < 0.01$), BOP ($r = 0.266$, $p < 0.01$) との間に正の相関を認めた。今後、さらに被験者数を増やし、詳細にその動態を検討し適切なエンドポイントを設定することで、sIL-1RAcP が歯周炎の発症・進行リスクを表す指標になりうる可能性を追求する予定である。

P-59

2201

カラゲニン誘発歯周炎ラットに対する DMX シート[®]の応用

山本 仁

キーワード：カラゲニン誘発性歯周炎, DMX シート[®], ラット

【目的】第 54 回春季本学会において、ラット下顎臼歯部周辺にカラゲニンを適用し、歯周ポケット形成と歯槽骨吸収を伴うカラゲニン誘発性による実験的歯周炎モデルを作製したことを報告した。今回はこの実験的歯周炎モデルを用いてプロタミン分解ペプチドを含む DMX シート[®]を歯周ポケットに適用し、歯槽骨の形成効果について形態学的に観察した。

【材料および方法】実験的歯周炎モデルラットは、5 週齢の Wistar 系雄性ラットに、カラゲニンを下顎第一臼歯部に投与して歯槽骨吸収を伴う歯周炎を作製した¹⁾。実験的歯周炎モデルラットを 2 群に分け、実験群は 1 週間に 2 回 3 週間歯周ポケット内に DMX シート[®]を適応した。また、DMX シート[®]非適応群を対照群とした。 μ CT を用いて、実験開始 0, 1, 2, 3 週間目に歯槽骨の CT 画像と 3 次元構築画像を得て比較した。すなわち、頰側の 3 部位(下顎第一臼歯の近心部、中央部、遠心部)のセメントエナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定し、歯槽骨の形成効果を判定した。

【結果および考察】実験群、対照群とも実験開始 1 週までは引き続き骨吸収が起こるが、その後骨形成に転じていた。骨形成の程度は 3 部位とも実験群が対照群よりも大きかった。特に実験群では実験開始 1 週から 2 週にかけて著しい骨形成が観察された。以上の結果からプロタミン分解ペプチドを含有する DMX シート[®]は骨形成効果を有することが示唆された。今後は、DMX シート[®]の骨形成メカニズムの詳細について検索する予定である。

1) Yamamoto H. et al. J Hard Tissue Biol (in press)

P-58

2201

アモロチンノックアウトマウスの組織学的分析

中山 洋平

キーワード：エナメルタンパク質, エナメル芽細胞, アモロチン

【目的】近年、既知であったエナメルタンパク質遺伝子の欠失および過剰発現マウスの研究が盛んに行われ、それらの表現型はいずれもエナメル質形成不全や石灰化不全を呈することが知られている。近年同定されたアモロチン (Amtn) は、エナメル質形成の成熟期および付着上皮に発現が認められることから、エナメル質構造、歯周組織の発生および恒常性への関与が注目される。今回、Amtn ノックアウトマウス (以下 KO マウス) の表現型を組織学的に分析し、エナメル質形成への関与を考察したので報告する。

【材料および方法】Amtn KO マウスの作製し、下顎切歯を用いて HE 染色法および免疫染色法により、組織学的差異および他のエナメルタンパク質の局在を調べた。さらに SEM 分析にてエナメル質断面を観察し、TEM 分析にてエナメル芽細胞の表面を観察した。【結果および考察】Amtn KO マウスの下顎切歯は均一な灰白色を呈し咬耗認め、その水平断切片のエナメル空隙にはエナメル基質が長期に残存し、SEM 分析においてもエナメル質中にエナメル基質残存を認めた。免疫染色法では遅延した KLK4 の局在を認めた。TEM 分析では、エナメル質形成成熟期までエナメル芽細胞基底層に沿ったエナメル基質の残存を認めた。考察：Amtn KO マウスにおいて、エナメル基質の残存によるエナメル質石灰化不全を認め、KLK4 の局在の変化に付随したエナメル基質の再吸収の遅延が示唆された。

P-60

2504

自己歯根膜細胞シートの臨床応用に向けた取り組み

鷺尾 薫

キーワード：歯根膜細胞, 細胞シート, 歯周組織再生

【目的】私どもはこれまでに温度応答性培養皿を用いて歯根膜細胞シートを作製し、得られた細胞シートを動物歯槽骨欠損モデルに移植すると歯周組織再生が誘導されることを報告してきた。本研究では、作製した歯根膜細胞シートが臨床応用に適した性質を保持していることを確認するため、得られた細胞シートの安全性と有効性について検討した。

【材料および方法】

1. 細胞：同意を得られた被験者 3 名より咬合に参画しない歯を抜去し、無菌環境で歯根膜組織を採取、酵素処理にて回収した歯根膜細胞を 10% 自己血清含有 α MEM 培地にて培養した。3 継代で温度応答性培養皿へ播種し、石灰化誘導培地にて 2 週間培養後、シート状に回収した。
2. 安全性試験：細胞シートが無菌的に作製されたことを検討するため、感染否定試験を行った。また免疫不全マウスへ移植、観察することにより歯根膜細胞の造腫瘍性について検討した。
3. 品質管理試験：作製した細胞シートが歯根膜細胞の性質を保持することを確認するため、細胞シートにおける Periostin の発現、ALP 活性、細胞数、ALP 陽性細胞率について比較検討した。さらに細胞シートを象牙質片と共に免疫不全マウスへ移植し生体内での歯周組織再生能について検討した。

【結果および考察】作製された細胞シートにウイルス感染や造腫瘍性は認められず、Periostin 発現、ALP 活性を保持していることが示された。以上より、作製された細胞シートの安全性と有効性が確認された。

P-61
3103

ヒト歯槽骨骨膜由来細胞を用いた積層細胞シート
の作製と免疫組織学的検索

高橋 弘行

キーワード：細胞シート、歯周組織再生、骨膜細胞

【目的】本教室は現在まで歯周組織由来細胞を用いた折りたたみシートの研究を行ってきた。以前の方法では培養プレートよりシートを剥離する際に trypsin を使用するため、細胞基底面における接着因子や産生された細胞外基質に影響を及ぼしている可能性があった。またシートの作製までに細胞播種後3～4週間以上の時間を要した。今回、我々は trypsin を必要としない温度応答性細胞培養器材 (UpCell[®]) を用い、細胞を積層させて積層細胞シートを作製した。【材料および方法】ヒト歯槽骨骨膜由来細胞 (HABPCs) を UpCell[®] (24well dish タイプ) に 5.4×10^4 cells/cm² で播種し、5日後と8日後に同濃度の HABPCs を同 well に重ねて播種した。11日後に UpCell[®] より細胞シートを剥離し、約18枚積層させることにより HABPCs 積層細胞シートを得た。作製1, 3, 5日後に4%パラホルムにて固定、パラフィン包埋を行い、切片を作製した。組織学的検索として HE 染色を、免疫組織学的検索として Ki67, オステオポンチン, オステオカルシン, タイプIコラーゲン, Runx2 抗体による免疫染色を行った。【結果および考察】作製した積層細胞シートは内部層構造間にスペースを有する3次元構造を示した。各免疫染色における陽性細胞は、深層と比較し表層に多く観察され、その割合は3日目最も多く1日目最少であった。本研究により、HABPCs 積層細胞シート作製手順の確立と、以前の半分以下に作製期間の短縮化を可能とした。また、作製後3日培養したものが最も内部の増殖能及び骨形成能が高いことが示唆され、移植に適していると考えられた。

P-63
2299

ヒト歯周組織由来血管内皮細胞とヒト臍帯静脈血管内皮細胞の比較検討

坪川 瑞樹

キーワード：血管内皮細胞、管腔形成、遊走性

【目的】血管内皮細胞は、血管壁における細胞の再生や物質の透過等の重要な役割を果たし、その障害は炎症や動脈硬化、血栓の形成との関連が報告されている。また、歯周炎は、慢性炎症の病態を呈し、その発症および進行には局所における血管透過性や血管新生が重要な因子であるといわれている。しかしながら、歯周組織の血管についての報告は少ない。本研究では、歯周組織に存在する血管内皮細胞の機能を明らかにする目的で、形態学的、免疫組織化学的、機能的に比較検討を行った。

【材料および方法】各細胞は、抗 CD31 (PECAM-1) コーティング・マグネット・ビーズを使用して分離した。細胞の同定は、形態学的特徴の観察、免疫化学染色による CD31, von Willebrand Factor (vWF), Ulex europaeus Agglutinin 1 (UEA-1) の発現、Flow cytometry による CD309 (VEGFR-2), CD31 の発現を確認した。また、細胞の機能評価は、管腔形成能と低密度リポタンパク質 (LDL) の取り込み、細胞の遊走、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の発現量を評価した。コントロールとしてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。

【結果および考察】分離培養した各細胞は、血管内皮細胞特有の形態学的特徴が観察され、免疫組織化学的にも全てのマーカーで陽性を認め、Flow cytometry による CD309, CD31 の発現が確認された。また、細胞の機能評価では、各細胞ともに HUVEC と比較して、管腔形成を維持する時間が短い傾向を認めた。

P-62
2504

ラット臼歯部歯周組織欠損に対する歯根膜幹細胞
転写羊膜を用いた歯周組織再生治療について

岩崎 剣吾

キーワード：歯周組織再生、歯根膜幹細胞、羊膜

【目的】羊膜は羊水を保持し胎児を保護する生体膜であると同時に移植材料としての強度を有し、抗原性が低いなど優れた担体としての能力を持つことが知られている。我々は細胞転写技術を用いて羊膜上に歯根膜幹細胞を転写し、歯根膜幹細胞転写羊膜を作製、ラット歯周組織欠損モデルにおいて同材料の歯周組織再生の可能性について検討した。

【材料および方法】歯根膜幹細胞は collagenase/dispase を用いた酵素処理により健全抜去歯より分離培養した。分娩時に得られた羊膜から絨毛膜、脱落膜を除去し脱細胞処理を施した。細胞の転写には細胞転写基盤 (大日本印刷株式会社) を用いた。ヌードラット下顎臼歯部に外科的歯周組織欠損を King らの方法を用いて作成し、羊膜あるいは歯根膜幹細胞転写羊膜を移植した。4週後に屠殺、CT を撮影し評価した。

【結果および考察】細胞転写技術によって羊膜上に単層の歯根膜幹細胞が転写され、また転写された細胞は羊膜の変形に関わらず安定して膜上に維持された。歯根膜幹細胞転写羊膜を歯周組織欠損へ移植したところ4週後の CT 像において、外科的に作成された歯周組織欠損の修復が羊膜単独群と比較して増強されていた。これらの結果は歯根膜幹細胞を転写した羊膜による歯周組織再生治療の可能性を示唆するものと考えられる。

P-64
2299

羊膜上培養歯髓由来細胞シートの作成

山本 俊郎

キーワード：羊膜、歯髓由来細胞、培養歯髓シート

【目的】これまでに、我々は羊膜の細胞培養基質としての有用性に注目し、羊膜を基質とした培養口腔粘膜上皮細胞シートならびに培養歯根膜シートの作成に成功した。そして、培養口腔粘膜上皮細胞シートを用いた臨床応用では、拒絶反応等なく良好な結果を得、新たな再生医療法の1つとなりうることを報告した。また、歯髓は歯の内部に位置し、放射線や細菌などによる汚染が少なく、医療廃棄物として廃棄されていた抜去歯から入手可能であるとともに、幹細胞ソースとしても近年着目されている組織である。そこで今回は、歯髓由来細胞に注目、培養歯髓シートを作成、免疫組織学的な検討を加えたので報告する。

【材料および方法】歯髓由来細胞は、便宜抜去歯により抜去された智歯より、歯髓組織のみを無菌的に採取し、10% FBS/DMEM 培養液にて分離培養した。3～4代継代培養後、羊膜上にこれら歯髓由来細胞を播種し、培養。約2週間後 HE 染色を行い、光学顕微鏡を用いて観察した。また vimentin, Ki-67, Zo-1, CD44, CD105, CD146 について免疫組織化学的検討を行った。

【結果および考察】歯髓由来細胞は、羊膜上で層状構造を示し、シート状の培養が可能であった。また、羊膜上歯髓由来細胞は vimentin, Ki-67 陽性であり、細胞間には Zo-1, CD44, CD146 が発現していた。さらに、間葉系幹細胞マーカーである CD105 陽性細胞の局在も認めた。本結果から、羊膜は歯髓由来細胞の培養に適当な足場として機能し、歯髓由来細胞による細胞シート作成が可能であることが示された。さらにシートに存在する幹細胞の硬組織誘導能等による歯周組織再生の可能性が示唆された。

P-65

歯根膜組織における組織幹細胞の局在

2299

渡邊 昌弘

キーワード：歯根膜, 歯周組織, 組織幹細胞

【目的】過去の研究から歯根膜に組織幹細胞が存在することが知られており, その歯根膜由来組織幹細胞を用いた再生療法が近年報告されている。しかしながら歯根膜における組織幹細胞の局在はよく知られていない。本研究は CD1 マウスを用いて EdU Labeling 法および免疫染色により歯根膜組織における組織幹細胞の局在を調べた。

【材料および方法】本研究は妊娠した CD1 マウス E15 を用い EdU (150mg/kg) を 1 日 2 回 5 日間腹腔内投与した。出生後 1 日, 7 日, 1 ヶ月, 2 ヶ月, 3 ヶ月後に屠殺した。4% PFA 固定液を用い 10% EDTA にて脱灰, 脱水後, 通法に従い, パラフィン包埋しパラフィン切片を作製した。切片はサフラニン 0 ファーストグリーン染色, EdU 染色, Sca-1 抗体を用いて免疫染色を行った。

【結果および考察】EdU 染色の結果から 7 日までは多くの陽性細胞が観察され組織のいたるところに EdU が取り込まれているのが観察できた。歯根膜において EdU 陽性細胞は経時的に減少した。3 ヶ月経過した組織において EdU 陽性細胞率は歯根膜の歯頸部, 分岐部に有意差が認められた。また組織幹細胞を認識することが知られている Sca-1 抗体を用い免疫染色をした結果 Sca-1 抗体陽性細胞は EdU 陽性細胞と一致していた。これらの組織分析の結果, 歯周組織幹細胞が歯頸部に多く認められたものの根分岐部および根尖部には少なかった。本研究にて歯周組織における組織幹細胞の局在を明らかにした。

P-67

骨髄幹細胞培養上清の歯周組織を構成する細胞に与える影響について

2504

小牧 基浩

キーワード：骨髄幹細胞, 培養上清

【目的】幹細胞は自己複製能と多分化能を有し目的の組織をつくる細胞に分化すると考えられている。近年, 自己由来組織幹細胞を用いた歯周組織再生研究が盛んに行われ, 歯周組織再生に対する効果も報告されている。一方, この数年幹細胞培養上清による創傷治癒促進効果が数多く報告され, 細胞を使わない簡便で安価な新規治療法として注目されている。しかしながら, まだ幹細胞培養上清の歯周組織を構成する細胞に対する効果については十分理解されていない。本研究では骨髄幹細胞培養上清の細胞の増殖, 遊走, 血管新生に対する影響を *in vitro* で検討した。

【材料および方法】骨髄幹細胞 (BMSC) は MSCGM (Lonza) を用いて培養した。BMSC 培養上清 (MSC_CM) は α MEM + 1% FBS にて 48 時間培養後に回収し使用した。ヒト歯根膜幹細胞 (PDLSC), ヒトセメント芽細胞 (HCEM2), 骨芽細胞 (HCO), ヒト血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。増殖, 遊走は WST1, wound healing アッセイでそれぞれ定量的に評価した。血管新生は aorta ring アッセイを行い, 顕微鏡にて観察した。

【結果および考察】MSC_CM は濃度依存的に HUVEC の増殖を促進したが, 他の細胞では効果が認められなかった。MSC_CM は PDLSC, HCEM2, HUVEC の遊走を促進したが, HCO では効果が認められなかった。aorta ring アッセイにおいて MSC_CM は血管の維持に作用する可能性が示された。これらの結果より MSC_CM は歯周組織を構成する細胞の遊走ならびに血管新生を介して創傷治癒に関与する可能性が示唆された。

P-66

ヒト歯根膜由来幹細胞の免疫組織化学的観察および骨芽細胞分化能の検討

2202

嘉藤 弘仁

キーワード：歯根膜幹細胞, 免疫組織化学的染色, 骨芽細胞

【目的】

近年, 歯周病により破壊された歯周組織の再生が注目され, 歯周組織の再生には幹細胞が関与すると考えられている。とくに歯根膜に局在する幹細胞が歯周組織の再生に重要な役割をもっている可能性が示唆されている。歯根膜由来幹細胞 (PDLSC) がどのように歯周組織再生に関与しているのかを明らかにする一助とするために今回, PDLSC の分離・同定を行い, その細胞表面の幹細胞マーカーを検索し, 分化能を検討した。

【材料および方法】

PDLSC はヒト抜去歯より剥離・細切し, コラゲナーゼタイプ I・ディスパーゼ酵素処理により PDLSC の初代培養を行った。また, 一次抗体に STRO-1 を用いて免疫組織化学的染色を行い, PDLSC の間葉系幹細胞マーカーの発現を検討した。さらに, PDLSC を骨芽細胞分化誘導培地で 4 週間培養し, アリザリンレッド染色により石灰化物形成を検索した。本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った。

【結果および考察】

培養 PDLSC は STRO-1 陽性であった。また骨芽細胞分化誘導を行った PDLSC においてアリザリンレッド染色陽性の小結節状の石灰化物が多数認められ, コントロール群には石灰化物はみられなかった。以上の結果から, 歯根膜由来の間葉系幹細胞を得ることができ, 石灰化物形成能をもった細胞に分化することが示唆される。

P-68

歯周病における Follicular Dendritic Cell - Secreted Protein (FDC-SP) の接合上皮での発現について

3104

高橋 伸行

キーワード：FDC-SP, 接合上皮, 生体反応,

【目的】近年, Follicular Dendritic Cell - Secreted Protein (FDC-SP) と名付けられた新規遺伝子が, 正常な接合上皮において発現していることが報告されている。しかし, 接合上皮内での FDC-SP 遺伝子の生物学的役割やタンパクレベルでの局在については明らかにされていない。そこで, 本研究では接合上皮を中心に正常時, 炎症時における FDC-SP の発現量の違いについて, ラットを用いて, 免疫組織学的手法及び分子生物学的手法にて明らかにすることを目的に研究を行った。

【材料および方法】7 週齢の Wistar 系雄性ラットを用い, 正常群, 実験群, sham 群と群分けを行い, 実験群と sham 群の上顎右側第 2 臼歯に綿糸を結紮した。sham 群においては綿糸を結紮後直ちに除去した。結紮後 1, 2, 4 週目に屠殺し, 4% パラホルムアルデヒドにて固定し, micro CT 撮影後, 10% EDTA にて脱灰した。組織は通常の方法で Paraffin 包埋を行った後, 5 μ m の切片を作製した。免疫組織染色にはアフィニティーカラムで精製した抗 FDC-SP 抗体を用い, あわせてヘマトキシリン・エオジン染色を行った。FDC-SP の遺伝子発現レベルの検出には Real-Time PCR を用いた。

【結果および考察】免疫組織染色の結果, 1 週後の実験群において FDC-SP の発現が減少していた。また, Real-Time PCR においても同様の結果が認められた。このことから, FDC-SP は急性炎症時の生体反応に関連があるということが示唆された。

P-69
3103

20 μ m チタンメッシュを用いた歯周組織再生

石幡 浩志

キーワード：チタン、再生治療、ティッシュエンジニアリング
【目的】GTR用バリアメンブレンの改良には、スペースメイキングの強度を得るための構造と細菌感染リスクのコントロールが求められる。本研究では、純チタン薄板に直径20 μ m 貫通孔を高密度形成する微細メッシュ加工を施すことでバリア効果を得て、従来よりも薄くかつ高強度の歯周組織再生材料を創成する。
【材料および方法】厚さ5~20 μ m 純チタン薄板に対し、半導体フェムト秒レーザーを用い、直径20 μ m の貫通孔を30および50 μ m ピッチにて形成した1 cm² 正方形試験片を実験群とした。対照群のチタンメッシュとしてFrios[®] Bone Shield (デンツプライ三金)とした。倫理委員会の承認とインフォームドコンセントの上で採取したヒト抜去歯由来細胞を、試験片上で72時間培養後、蛍光染色を行い、材料上における細胞挙動と増殖を顕微鏡下で観察した。同様の方法で実用サイズを想定した2×3 cm 大のチタンメッシュ試験片を作製して、素材の物性について評価した。
【結果および考察】対照群（孔径約100 μ m）では、細胞が材料表面に定着せず貫通孔内に陥入していた。一方、実験群では貫通孔内に進入し通過した細胞も認められたが、孔をアンカーとして多くの細胞が材料表面に付着していた。孔密度の高い30 μ m ピッチ試験片表面には細胞が密集して全体をカバーするまで増殖がみられた。これは細胞サイズに微細化したメッシュにより現れた細胞体の付着を促すトポグラフィ効果と考えられる。実用サイズ試験片では、厚さ15 μ m の薄板でも充分な引っ張り強さを有していたが、チタン特有の弾力性により賦形性に劣る側面があり、焼鈍やフレーム付加による物性の改善が必要と思われる。

P-71
2504

アクチン細胞骨格を制御する Rho kinase が歯根膜線維芽細胞の硬組織形成細胞への分化に及ぼす影響

嶋川 祐樹

キーワード：歯根膜線維芽細胞、Rho kinase、細胞外基質
【目的】細胞が分化するには、細胞外基質（ECM）による微小環境の調節が必要であり、ECMとの接着を介した細胞骨格の性状変化が分化制御に重要と考えられている。本研究では、アクチン細胞骨格を制御する Rho kinase（ROCK）と ECMとの関連に着目し、ROCKが及ぼす ECM分子の発現変化、および ECMを介した硬組織形成細胞への分化に及ぼす影響を調べた。
【材料および方法】抜去歯から歯根膜線維芽細胞を分離採取し、分化誘導培地に24時間ごとに ROCK 阻害剤（Y-27632）を添加し12日間培養した。リアルタイム RT-PCR法にてアルカリフォスファターゼ遺伝子（ALP）、collagen type I、そして fibronectin-I の遺伝子発現を定量解析し、免疫蛍光染色で F-actin、procollagen type I、さらに fibronectin のタンパク局在を調べた。また、ECMによる分化誘導として collagen type I あるいは fibronectin のコーティングプレートを用い、上記の条件下で培養した細胞の ALP 活性を定量解析した。
【結果および考察】ROCK 阻害剤添加群は非添加群と比較して、ALP、collagen type I、および fibronectin-I の遺伝子発現量が減少し、F-actin、procollagen type I、および fibronectin のタンパク局在シグナルが減弱した。また、コーティングプレートで培養すると ALP 活性は増加し、その活性は ROCK 阻害剤添加群で減少した。これらの結果から ROCK はアクチンおよび ECM 産生の増加に関与するとともに、ECMによる微小環境の変化を細胞内にシグナルとして伝達することによって、歯根膜線維芽細胞の硬組織形成細胞への分化を制御していると考えられる。

P-70
3103

骨髄由来間葉系幹細胞と多血小板血漿（PRP）を用いて Poly（Pro-Hyp-Gly）合成ポリペプチドスポンジを足場とした骨再生の効果

木村 大輔

キーワード：歯周組織再生、足場材料、骨髄由来間葉系幹細胞
【目的】骨再建のための足場には、適度な生体吸収性と血管侵入を誘導できる構造が必要である。我々は、Poly（Pro-Hyp-Gly）合成ポリペプチドスポンジ以下 Poly（PHG）を足場材料として検討し、骨髄由来間葉系幹細胞（MSCs）と多血小板血漿（PRP）を組み合わせた骨形成材料の有効性について評価した。
【材料および方法】細胞には予めミニプタの腸骨後より分離・培養・調整した MSCs を用い分化誘導後、ALP 活性試験を行った。動物にはメスのクラウン系ミニプタ 3匹の頭頂骨に直径10mmの欠損を作製した。移植実験には Poly（PHG）と細胞/PRP を組み合わせた群（A）、細胞/PRP 群（B）、対照群として Poly（PHG）のみの群（C）を作製した。移植後6週、12週、18週で頭蓋骨を摘出しマイクロCTによる新生骨の割合の定量的評価、HE染色による病理組織学的な評価を行った。
【結果および考察】新生骨の割合の評価では、移植後6週で全ての群で有意な差はなく、移植後12週において、A群ではC群に比べて有意差が認められ、移植後18週においてはA群とB群ともにC群に比べて有意に大きかった。病理組織学的な評価では、移植後12週で、他群より多量な骨形成を細胞群で認めた。移植後18週では、A群、B群で骨形成を認められたが、A群の骨梁は、C群に比して厚く緻密であった。以上の検討により、骨髄由来間葉系幹細胞/PRP と Poly（PHG）を組み合わせた新規の骨形成材料は骨再生に有効であることが示唆された。

P-72
2504

歯根膜細胞の石灰化過程における TGF- β シグナルの機能解析

河原 貴展

キーワード：TGF- β 、歯根膜細胞、石灰化
【目的】TGF- β （Transforming Growth factor beta）は広汎な組織で発現が認められ、細胞の増殖分化、遊走、接着、マトリックス産生といった多様な生理作用を有するサイトカインであり、組織の発生や再生、創傷治癒を制御することが明らかにされている。本研究においては歯周組織再生の中心を担う歯根膜細胞の恒常性維持に果たす TGF- β の役割を解明する為に、TGF- β I 型受容体阻害剤を用いて内在性 TGF- β シグナルを遮断し、歯根膜細胞の硬組織形成過程に与える影響に注目し解析を行った。
【材料および方法】マウス歯根膜細胞株である MPDL22 を用い、石灰化誘導培地にて長期培養を行った。TGF- β I 型受容体の拮抗阻害剤 SB431542 処理下で BMP-2 あるいは TGF- β 刺激を行い、硬組織形成物誘導能を石灰化ノジュール形成能、コラーゲン産生能を指標として評価した。石灰化関連遺伝子の発現変動については DNA マイクロアレイによる網羅解析ならびに real-time PCR 法による定量解析にて検討した。
【結果および考察】SB431542 を石灰化誘導培養の初期に添加することにより BMP-2 誘導性の石灰化ノジュール形成の著しい増強ならびに石灰化関連遺伝子の発現の増強を認めた。
TGF- β シグナルは歯根膜細胞からの I 型コラーゲン産生を誘導することで石灰化の成熟を誘導するが、BMP-2 シグナルによる硬組織形成に携わる前駆細胞へのコミットメントに際しては抑制的に働くことが強く示唆される。

P-73

3104

脱分化脂肪細胞 (DFAT) の Bone morphogenetic proteins 刺激による骨芽細胞様分化

中村 利明

キーワード: 脱分化脂肪細胞, 骨芽細胞, BMP

【目的】脱分化脂肪細胞 (De-differentiated fat cells: DFAT) は成熟脂肪細胞から天井培養と呼ばれる方法で体外培養することにより生じる線維芽細胞様の細胞群で、高い増殖能と多分化能を有しており、純度の高い細胞が入手可能で、細胞移植療法の有力なソースの一つとして考えられている。今回、歯周組織・骨組織欠損に対する応用に向けた基礎的研究として、ラットより分離・培養した DFAT (rDFAT) を用い、Bone morphogenetic proteins (BMPs) 刺激による骨芽細胞様細胞への分化能を評価したので報告する。

【材料および方法】1. Wister 系ラットの鼠径部より採取した脂肪を酵素処理し、脂肪細胞を採取後、天井培養にて分離培養した rDFAT を実験に用いた。2. rDFAT の脂肪滴・石灰化物形成能を分化培地にて培養後、Oil Red O 染色および Alizarin Red S 染色にて評価した。3. rDFAT の BMPs 受容体の遺伝子発現を RT-PCR 法を用いて解析した。4. rDFAT を BMPs (BMP-2 または BMP-9) 存在下で培養後、ALP 活性の測定および、各種遺伝子発現をリアルタイム PCR 法にて解析した。【結果および考察】rDFAT を各分化培地にて培養したところ Oil Red O 陽性、Alizarin Red S 陽性を確認できた。また BMP 受容体の遺伝子発現を確認した。BMP 存在下で培養したところ、BMP-2 と比較して BMP-9 刺激において ALP 活性および骨関連遺伝子 (Runx2, Osterix, ALP, BSP) の発現の上昇を認めた。これらから、DFAT の骨芽細胞様分化誘導因子として BMP-9 が有用と思われる。今後、BMP-9 による rDFAT の骨芽細胞様細胞への分化のメカニズムについて検討していく予定である。

P-75

3103

高気孔性 β -TCP スキャフォールドの作製と評価

宮治 裕史

キーワード: β -TCP スキャフォールド, FGF2, 骨再生

【目的】リン酸カルシウムやハイドロキシアパタイトなどのバイオセラミックスは骨誘導能を有するが、組織に置換されるまで長期間を必要とする。そのためバイオセラミックスを歯周組織再生用スキャフォールドに利用することは感染リスクが高い。そこで組織置換性の改善を目的とした高気孔性の β -3リン酸カルシウム (β -TCP) スキャフォールドを試作し評価を行った。また既製の骨補填材 (オスフェリオン) と比較検討した。

【材料および方法】ポリウレタンフォームに β -TCP を付着焼結した β -TCP スキャフォールドを作製した (イノアック技術研究所より提供)。スキャフォールドのセル径は 4mm とした。SEM 観察, XRD, EDX, 圧縮強度試験, 細胞付着性試験を行った。 β -TCP スキャフォールドに FGF2 (フィブラストスプレー) を含浸させラット頭蓋骨上に移植し、5 週後に CT 撮影と組織学的観察を行った。オスフェリオンも同様の試験を行い比較した。

【結果および考察】 β -TCP スキャフォールドはオスフェリオンと比較して高気孔率であり (92~96%)、表面に開孔する連通孔径 (2 μ m) も 2 倍程度の大きさであった。一方圧縮強度は低く、オスフェリオンの 1/8 程度であった。ラットへの移植実験の結果、 β -TCP スキャフォールドへ骨が ingrowth する様子が観察され、同時に多核巨細胞によるスキャフォールド吸収像を認めた。オスフェリオンのサンプルでは骨の ingrowth は少なく、吸収も進んでいなかった。以上の結果から、試作 β -TCP スキャフォールドは組織侵入性に優れ、歯周組織再生用スキャフォールドとして有効である可能性が示された。

P-74

3104

A.actinomycetemcomitans 菌刺激した IL-1Ra 欠損マウス由来骨芽細胞の造骨系骨関連遺伝子発現
伊澤 有郎キーワード: IL-1Ra, 骨芽細胞, *A.actinomycetemcomitans* (*A.a.*)

【目的】我々はこれまでに *A.a.* 生菌刺激した IL-1Ra 欠損マウス (IL-1RaKO) 由来骨芽細胞は野生型マウス (WT) 由来骨芽細胞と比べ RANKL mRNA 発現と破骨細胞形成が亢進している事を報告した (第 54 回秋季日本歯周病学会誌)。しかし IL-1RaKO の造骨系骨関連遺伝子に与える影響については検討していない。そこで、*A.a.* 菌刺激した IL-1RaKO 由来骨芽細胞の造骨系骨関連遺伝子発現を調べる事を目的に研究を行った。

【材料および方法】IL-1RaKO, WT 由来骨芽細胞は *A.a.* 生菌 (MOI=100), *A.a.* LPS で 12 時間刺激した後、NucleoSpin[®] RNA II を用いて mRNA を抽出した。骨関連遺伝子発現と炎症性サイトカイン遺伝子の発現量は real-time PCR 法にて測定した。

【結果および考察】*A.a.* 生菌刺激した IL-1RaKO 由来骨芽細胞では骨シロタンパク (BSP, $P<0.05$), オステオカルシン (OC, $P<0.05$), RANKL ($P<0.01$), m-csf ($P<0.05$), IL-6 ($P<0.05$), TNF- α ($P<0.05$) の発現が WT に比べ高かった。またアルカリフォスファターゼの発現は KO と WT に有意な差はみられなかった。BSP は初期骨芽細胞に、OC は成熟骨芽細胞において発現することから骨芽細胞の分化が促進されている事が明らかとなった。以上の事から *A.a.* 生菌刺激 KO 骨芽細胞は、BSP, OC の発現の上昇による分化に伴い RANKL の発現が亢進した可能性が示唆された。今後 Runx2, Osterix の mRNA 発現と分化誘導培地での細胞増殖能と石灰化について検討を行うことにより、KO の骨吸収のメカニズムについて詳細に調べていく予定である。

P-76

2504

免疫不全マウスに移植した細胞外マトリックス含有 β -TCP の組織学的検索

岩崎 和人

キーワード: β -TCP, 細胞外マトリックス, 歯槽骨骨膜細胞

【目的】細胞外マトリックスを含有させた β -TCP (ECM- β -TCP) の歯周組織再生療法応用の可能性を明らかにするため、 β -TCP 内に播種したヒト歯槽骨骨膜由来細胞 (HABPCs) の増殖、分化の検索および ECM- β -TCP を SCID マウスに移植し、その骨形成を検索した。

【材料および方法】 β -TCP 内に HABPCs を播種し、3 日、7 日、14 日間培養を行った。切片に対し HE 染色と I 型コラーゲン (Col-I), オステオポンチン (OP), オステオカルシン (OC) に対する免疫染色を施し、7 日、14 日目のみ SEM にて観察した。移植に用いた ECM- β -TCP は、HABPCs を β -TCP 内にて 7 日、14 日間培養後、細胞を乾燥、死滅させ作製し SCID マウスの背部皮下に移植した。28 日後に摘出し、固定、包埋を行い、切片を作製し、HE 染色、TRAP 染色、ALP 染色、von Kossa 染色を施した。【結果および考察】HE 染色において HABPCs は 14 日目が 7 日目に比較して多くの細胞が観察された。Col-I, OP, OC の陽性反応は 7 日目、14 日目共に観察されたが、14 日目より多く観察された。SEM において 7 日、14 日目共に β -TCP 表面と表層の気孔内に伸展している像が観察された。移植後の HE 染色においては 7 日培養群、14 日培養群共に表層および深部への血管形成が見られた。TRAP 染色および ALP 染色では 7 日培養群、14 日培養群に陽性反応が見られた。von Kossa 染色において 7 日培養群、14 日培養群共に β -TCP 内の気孔内に小型の石灰化像が見られた。以上のことから ECM- β -TCP は骨形成を促進する可能性が示唆された。

P-77

3103

ラット頭頂骨における骨外側方向への骨増生に対する PDGF の効果

土屋 紀子

キーワード：PDGF, 骨増生, マイクロ CT

【目的】ラット頭頂骨における骨外側方向への骨増生に対する PDGF (血小板由来増殖因子) の効果を, 足場材料としてコラーゲンスポンジ (アテロコラーゲン) を用いて, 骨増生の動態をマイクロ CT を用いて観察すること。

【材料および方法】11 週齢のラット (F344/jcl) 12 匹にペントバルビタールナトリウムを腹腔内注射 (50mg/kg) し, 全身麻酔を施した。次いで, ラット頭頂部にエビネフリン含有キシロカインで局所麻酔を施し, 矢状縫合に沿って切開を加え, 皮膚, 骨膜を剥離し, 頭頂骨を露出させた。正中縫合を中心に左右頭頂骨に直径 5mm のトレフィンバーを用いて外周溝を形成後, 内側に No.2 のラウンドバーを用いて 5カ所骨髄穿通し実験母地を作製した。実験群には 0.01% および 0.03% の PDGF20 μ l を含浸させたコラーゲンスポンジを, 対照群には生理食塩水を含浸させたコラーゲンスポンジを円柱状キャップ内に填入して, 外周溝に合致させてキャップを設置し, 骨膜および皮膚を縫合した。術後 0 週から 12 週まで 2 週毎に動物用マイクロ CT を用いて経時的に新生骨様組織を定量分析した。

【結果および考察】新生骨様組織の増加量は, 対照群と比較して 0.03% PDGF 溶液では 4 週以降, 0.01% PDGF 溶液では 6 週以降に有意に増加した ($p < 0.05$)。また, 12 週において 0.01% および 0.03% PDGF 溶液ではキャップの約 3/4, 対照群ではキャップの約 1/2 の高さの新生骨様組織を認めた。

以上のことから, PDGF はラット頭頂骨における骨外側方向への骨増生に対して有効であることが示された。

P-79

2199

ウサギ GBA モデルにおいて増生した新生組織の移植骨としての検討

津徳 亮成

キーワード：骨増生誘導 (GBA) 法, 臨界骨欠損, 自家骨移植

【目的】骨増生誘導 (GBA) 法により誘導された新生組織を臨界骨欠損あるいは GBA に併用して移植し, 自家骨移植における移植骨としての有効性について検討を行う。

【材料および方法】一次手術として, 雄性日本白色ウサギ 12 羽の左側頭頂骨に容積を規格化した (内径 8mm, 内側高径 4mm) チタンキャップを設置した。術後 12 週に二次手術を施し, チタンキャップを除去して新生組織を採取した。直ちに 5 羽のウサギの右側頭頂骨の一部を, 内径 8mm のトレフィンバーを用いて除去して円形の臨界骨欠損を作製し, 欠損内へ採取した新生組織を移植し骨膜縫合した。一方, 2 羽のウサギは, 同様に作製した臨界骨欠損に移植を行わずに骨膜縫合した。そして, 残りの 5 羽の右側頭頂骨に, 採取した新生組織を充填したチタンキャップを設置した。術後 4 週目に右側頭頂骨周囲の組織標本を採取し, 非脱灰研磨標本を作製した。光学顕微鏡下にて組織学的観察を行い, さらに GBA モデルの標本においては組織形態計測を行った。評価項目は, チタンキャップ内に増生した新生組織の割合, 新生組織における石灰化骨の割合, 既存頭頂骨における石灰化骨の割合とした。

【結果および考察】新生組織を移植した臨界骨欠損部では周囲の頭頂骨と連続した骨再生の傾向が認められた。また GBA に併用した際には (98.0%), 骨移植を併用していない以前の研究結果 (62.7%) と比較して有意な骨増生が認められた ($p < 0.01$)。これらの結果から, ウサギ GBA モデルにおいて増生した新生組織の自家骨移植における移植骨としての有効性が示唆された。

P-78

2202

ラット頭蓋冠上の骨増大術モデルにおける骨関連タンパク質の発現様態

石澤 正晃

キーワード：垂直的骨増大, ラット頭蓋冠モデル, 骨関連タンパク質

【目的】菌周疾患によって菌を喪失した患者にインプラント治療を行う際には垂直的骨増大術が必要になる場合が多い。効率的な骨増大術の確立が望まれるが, 骨再生の詳細な機序は明らかではなく, 治療の難易度は高い。我々はラット頭蓋冠上にチタンキャップを設置して構築した垂直的骨増大術の実験モデルを構築し本学会で発表した。今回は新生骨における骨関連タンパク質の発現様態について報告する。

【材料および方法】10 週令オスの SD ラットを 25 匹使用した。チタンキャップは日本メディカルマテリアル株式会社と共同で開発した。チタンキャップの内面に 3 種類 (①機械研磨, ②プラズマ処理, ③ HA 処理) の処理を施した。麻酔下でラット頭頂部に切開を加えて皮膚骨膜弁を作製し, トレフィンバー (ϕ 5mm) を用いて硬膜直上まで穿孔し, チタンキャップ設置後に骨膜および皮膚を縫合した。2 ヶ月後にラットを安楽死させて標本作製し, キャップ内に形成された新生骨における骨関連タンパク質 (OCN, OPN) の発現を免疫染色法で調べた。

【結果および考察】ラット頭蓋冠上にチタンキャップを設置することで, キャップの内面に沿って垂直的骨再生が可能であった。HA 処理チタンキャップでは骨新生量が有意に高かった ($p < 0.05$)。OCN 陽性の骨芽細胞および OPN 陽性の骨芽細胞と骨細胞が観察された。現在, 発現様態の特徴を解析中である。

P-80

2206

メラトニンは骨シアロタンパク質の転写を上昇させる

松村 浩禎

キーワード：メラトニン, 転写調節, 骨シアロタンパク質

【目的】メラトニンは松果体から分泌され, 生体リズム, 睡眠および骨代謝に関するホルモンである。骨シアロタンパク質 (BSP) は, 石灰化結合組織特異的に発現し, アパタイト結晶能を有する糖タンパク質である。今回, 我々は BSP の転写に対するメラトニンの影響を検索した。

【材料および方法】Saos2 ヒト骨芽細胞様細胞を用い, BSP mRNA 量の変化を real-time PCR 法で検索した。ヒト BSP 遺伝子プロモーター配列を挿入したルシフェラーゼコンストラクトを使用し, 転写活性の変化をルシフェラーゼアッセイで検索した。各種リン酸化阻害剤を用い, メラトニン刺激後の細胞内情報伝達系を検索した。さらに, BSP 遺伝子プロモーター配列と核内タンパク質との結合をゲルシフトアッセイで検索した。

【結果および考察】Saos2 細胞をメラトニン (100nM) で刺激すると, 刺激 12h 後に BSP mRNA 量は増加した。転写開始点から -60 塩基対上流およびそれよりも長い BSP 遺伝子プロモーター配列を含むルシフェラーゼコンストラクトをメラトニン (100nM) で刺激すると, 12h 後に転写活性が上昇した。cAMP 応答配列 1 (CRE1) および CRE2 配列に 2 塩基対の変異を挿入すると, メラトニン刺激後のルシフェラーゼ活性の上昇が抑制された。PKA, チロシンキナーゼおよび MEK1/2 阻害剤でメラトニンの効果が消失した。ゲルシフトアッセイの結果, CRE1 および CRE2 と核内タンパク質の結合はメラトニン刺激後に増加した。以上の結果から, メラトニンは, ヒト BSP 遺伝子プロモーター中の CRE1 および CRE2 配列を介して BSP の転写を調節すると考えられた。

P-81

炎症性破骨細胞分化におけるリシン特異的ジンジパインの役割

2206

秋山 智人

キーワード：gingipain, osteoclast, OPG

【目的】慢性炎症性疾患である歯周病の進行は破骨細胞による歯槽骨破壊をもたらす。歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* が産生する主要なプロテアーゼ群であるジンジパインの中でも特にリシン特異的ジンジパイン (Kgp) が, osteoprotegerin (OPG) の分解を介して活性型ビタミン D や種々の Toll 様受容体リガンドによる破骨細胞分化を促進することを見出した。そこで, 歯周病で産生が亢進する炎症性サイトカインによる破骨細胞分化に対する Kgp の影響を解析した。

【材料および方法】骨芽細胞および骨髄細胞の共存培養系で, Kgp 存在下および非存在下に TNF α , IL-1 β あるいは IL-17A で破骨細胞分化を誘導した。また, これらのサイトカインの Kgp による分解を OPG のそれと比較した。さらに, Kgp による OPG 分解断片の N 末アミノ酸配列を解析した。

【結果および考察】Kgp は, TNF α および IL-1 β による破骨細胞分化を促進し, IL-17A による破骨細胞分化を抑制した。TNF α および IL-1 β の Kgp による分解効率は OPG のそれより低いものに対して, IL-17A は OPG と同様 Kgp によって効率よく分解された。また, OPG 断片の N 末端解析から Kgp による OPG の最初の切断部位は, デストメイン類似領域内に存在することが示唆された。

骨芽細胞・骨髄細胞共存培養系での破骨細胞分化において, Kgp のサイトカインによる作用の違いは, OPG と各サイトカインの分解されやすさから説明できる可能性が考えられる。また, Kgp によりデストメイン類似領域が切断された OPG は, 二量体が形成できず, RANKL 阻害能を失ったと考えられる。

P-83

Effects of protamine on bone sialoprotein gene transcription

2504

Liming Zhou

Keyword : protamine, bone sialoprotein, gene expression

【Aims】Protamines are arginine rich nuclear proteins that replace histones late in the haploid phase of spermatogenesis. Protamine sulfate is a drug that reverses the anticoagulant effects of heparin by binding to it. Bone sialoprotein (BSP) is one of the major noncollagenous proteins of the extracellular matrix in bone. The purpose of this study is to examine the transcriptional regulation of BSP gene by protamine.

【Materials and methods】We conducted Northern hybridization, real-time PCR, transient transfection analyses with chimeric constructs of the rat BSP gene promoter linked to a luciferase reporter gene, and gel mobility shift assay. Total RNA was extracted from rat osteoblast-like ROS 17/2.8 cells which were treated with protamine for 3 h to 24h.

【Results】Northern hybridization showed protamine (71.35 ng/ml) increased BSP mRNA levels at 12h. The transcriptional activities of BSP promoter constructs pLUC3 and pLUC4 (nts -116 to +60 and -425 to +60) were increased by protamine (12h). The effects of protamine on BSP transcription were partially inhibited by PKC inhibitor, and almost completely inhibited by PKA and tyrosine kinase inhibitors. The gel shift assay showed formations of FRE and HOX protein complexes were increased by protamine at 6 h. The addition of antibodies (Runx2, Dlx5, Msx2, and Smad1) disrupted the formation of the FRE-protein complexes. However the HOX-protein complexes did not change by Runx2 antibody. These results suggest that protamine increased BSP transcription via FRE and HOX sites in the rat BSP gene promoter.

P-82

IL-15 の炎症性骨代謝に対する影響

2299

武田 絢明

キーワード：IL-15, 骨芽細胞様細胞, 破骨細胞

【目的】IL-15 はマクロファージや上皮系細胞から産生され, 自然免疫と獲得免疫との時間差を補う早期誘導反応に重要であり, 局所における初期免疫応答に深く関与している。しかし, 骨代謝に与える影響については不明な点が多い。そこで我々は, 骨芽細胞及び破骨細胞の分化における IL-15 の影響について検討することとした。

【材料および方法】ddy マウスの生後 3 日齢の頭蓋冠から骨芽細胞様細胞と生後 4 週齢の大腿骨から骨髄細胞を採取した。骨芽細胞様細胞を IL-15 存在下で 4・7・10 日間培養後のアルカリフォスファターゼ (ALP), オステオカルシン (OC), 骨シアロタンパク (BSP), オステオポンチン (OPN) の遺伝子発現量を Real-time PCR 法にて測定した。また, 骨芽細胞様細胞を IL-15 の存在下で 3 週間骨芽細胞分化誘導培地を用いて培養し, アリザリンレッド染色にて石灰化能を解析した。骨芽細胞様細胞と骨髄細胞を PGE2 と IL-15 存在下にて 7 日間共培養し, TRAP 染色にて破骨細胞形成能を解析した。

【結果および考察】IL-15 は骨芽細胞様細胞の ALP, OC, BSP, OPN 遺伝子発現と石灰化能に影響を与えなかった。IL-15 は破骨細胞数を濃度依存的に有意に減少させ ($P > 0.05$), また興味深いことに骨芽細胞様細胞の消失を認めた。このことから, IL-15 は骨髄細胞に作用し, 骨芽細胞様細胞のアポトーシスを誘導し, 破骨細胞形成が阻害される可能性が示唆された。

P-84

南相馬市における海上自衛隊の個人識別作業支援

2106

伊藤 雅宏

キーワード：東日本大震災, 個人識別, 歯周病

【目的】自衛隊は平成 23 年 3 月 23 日から 5 月 4 日までの間, 福島県相馬市及び南相馬市で福島県警が指揮をとる検視チームの個人識別作業を支援し, 陸上自衛隊 7 名, 海上自衛隊 10 名, 航空自衛隊 7 名 (延べ) の歯科医官が活動した。この中で海自歯科医官が行った個人識別支援についてその概要を報告する。

【材料および方法】海自歯科医官は福島第一原発から 23km 地点の南相馬地区を担当し, 2 名 1 チームで個人識別作業を実施した。初動から電離式サーベイメーターやポケット線量計, タイベックス防護服等を持参した。検視作業の手順としては, ご遺体到着後直ちに洗浄を行い, 医師による検視と並行して, 指紋採取 DNA 鑑定のための血液採取, 全身・顔・所持品・衣服の写真撮影等を行った後, 歯科ブースに運ばれて, デンタルチャートの作成, 口腔内写真やエックス線撮影を行った。またご遺体の照合作業も併せて実施した。

【結果および考察】南相馬市内の歯科診療所では原発事故により多くの歯科医師が避難していたため, 当初照合する診療記録等の生前情報の提供を受けることが困難であったが, 避難先から戻る歯科医師が増えると共に照合作業も増加した。照合作業は生前情報が多いものほど精度が高く実施することができ, 歯周病治療時等に撮影された口腔内写真やエックス線写真は照合を行う上で有効であった。最終的に海自歯科医官が実施した歯科所見採取件数は 306 体であり, 照合は 45 体であった。今後は, 本震災における教訓を生かし, 個人識別の教育や必要な器材の整備等が必要と考える。

P-85

2198

歯学生のリサーチマインドを育成する「生命歯学探究」の実際

関野 愉

キーワード：研究，リサーチマインド，生命歯学探究

【目的】日本歯科大学生命歯学部では，歯科医学の発展と歯科医療の質の向上に寄与するため，興味ある研究，調査に参画することにより，科学的根拠の必要性を認識し，具現化に必要な基本的態度，機能，知識を身につけることを目標とした「生命歯学探究」を実践しており，今回その内容を報告する。

【材料および方法】「生命歯学探究」において歯周病学分野を選択した歯学部第2学年の学生7名に対して歯磨剤および洗口剤の効果をテーマとした研究を実践させた。前期においては医薬部外品歯磨剤と化粧品歯磨剤のプラーク形成抑制効果の比較，後期には市販洗口剤のプラーク形成抑制効果について研究が行われた。

【結果および考察】前期に実践された研究においては，医薬部外品歯磨剤と化粧品歯磨剤のプラーク形成抑制効果に差異がみられなかった。そこで後期においては，前期の研究内容を見直し，プラークスコア計測におけるキャリブレーションの実践，前期に使用した医薬部外品歯磨剤と同じ有効成分を含有する洗口剤の使用，コンプライアンスの強化などを研究内容の改善を試みた。その結果，市販洗口剤に有意なプラーク形成抑制効果が確認された。

研究を実践した歯学生は生命歯学探究を通して，臨床研究の方法論や理論を学び，前期に行われた研究と比較して，後期に行われた研究の質を大幅に改善させる事に成功した。

P-86

2299

歯周炎に関する研究へのオントロジーの応用

鈴木 麻美

キーワード：オントロジー，バイオインフォマティクス，生命科学情報

【目的】分子生物学の進歩により，膨大な量の生命科学情報もたらされた。しかし，歯周炎に関するバイオインフォマティクス分野の研究は遅れており，多くの情報が利用されていないのが現状である。本研究では，歯周炎関連因子の抽出を広範囲から行い，関連因子間の相互作用解明の基盤となる歯周炎に関するオントロジー（Perio Ontology）の構築とその応用手法の開発を目的とする。

【材料および方法】歯周炎に関するレビュー論文から歯周炎関連因子を抽出し，Medical Subject Headings (MeSH)，Gene Ontology (GO)，Systematized Nomenclature of Medicine (SNOMED)などの既存のオントロジーを参考に歯周炎に関するオントロジーの構築を行い，テキストマイニング等のバイオインフォマティクス分野における解析に応用した。

【結果および考察】歯周炎に関する論文から概念語を抽出し，それらを既存の生命科学に関するオントロジーと統合性のある階層構造をとるオントロジー（Perio Ontology）を構築した。

コンピュータサイエンスや生命現象に関するデータベースの発展により，高速かつ膨大・多岐にわたる生命科学情報の収集が可能となってきた。疾患解明のために，バイオインフォマティクスの手法を用い，現存する大量の生命科学情報から，効率よく情報を集め，相互関係を分析し，新たな知識とその位置づけを明らかにすることが有用である。そのためには，知識基盤となる歯周炎に関するオントロジーの構築が必要となる。

KAP-01

3103

Clinical and histological study on the bone regenerative efficacy of synthetic oligopeptide-coated bone (Ossgen-X15®) in socket preservation
Chi-Ho Choi

Key words: peptide-coated bone mineral, extraction socket preservation

Objective

The aim of the present study was to evaluate the bone regeneration capacity of synthetic peptide-coated bone bovine (Ossgen-X15[®]) compared to the non-modified deproteinized bovine bone (Bio-Oss[®]) in the extraction socket of maxillary teeth.

Materials & Methods

20 Maxillary teeth were scheduled for extraction as a consequence of advanced periodontitis. At the time of surgery, the distance from the midpoint of the extraction site, the depth of the extraction socket and the bucco-palatal width were recorded. Graft particles were filled and resorbable collagen membrane (Bio-Gide[®]) was placed to cover the alveolar socket wall. Primary soft tissue closure was conducted.

After 6 months follow-up, periapical radiograph was taken and three efficacy parameters were selected to compare the dimensional change between the two groups. In patients who underwent implant treatments, bone biopsy was performed.

Results

The average change in the height of bony wall was $+1.25 \pm 2.04$ mm in the experimental group and $+1.20 \pm 2.01$ mm in the control group, and the depth change was $+7.30 \pm 3.74$ mm in the experimental group and $+7.10 \pm 3.07$ mm in the control group. The average change in widths was -1.30 ± 1.33 mm in the experimental group and -1.40 ± 1.07 mm in the control group. The percentage of width reduction was $-13.15 \pm 12.92\%$ in the experimental group and $-15.19 \pm 10.87\%$ in the control group. Histologically, the two groups seemed to show a slight difference in composition of newly formed bone

Conclusions

Peptide-coated bone mineral, used in the present study, is an effective bone substitute with the potential to enhance bone regeneration in the preservation of extraction sockets.

KAP-02

3103

The effect of fibrin-binding oligopeptide derived from fibronectin on migration of periodontal ligament cells in an in vitro wound healing model
Jong-Heum Lim

Key words: fibronectin, periodontal ligament cells, wound healing

[Objective]

The aim of this study was to evaluate the effect of synthetic FN fragments containing an N-terminal fibrin-binding domain on migration of human PDL fibroblast cells in an in vitro wound healing model.

[Materials and method]

Three types of synthetic oligopeptides, which included fibrin-binding domain of FN (FF1, 3 and 5), were allocated to the experimental groups. Recombinant oligopeptide (F20) including Type III 9-10 domains of FN was used as a positive control and a group treated with nothing was the negative control. Cell migration capacity was evaluated using anCell Migration Assembly kit.

[Results]

The migration rates and number of migrated cells increased in the test group and both control groups at each point in time. F20, which was used as a positive control in this study, showed a significantly increased cell migration rate as compared with the control group at 6 and 12 h, but not at 18 or 24 h. There were no significant differences among test groups or between the test and positive control (F20) ($P < 0.05$). In examination of the number of migrated cells, there was no observable significance between the test and either control aside from the FF1 100 μ M, and FF5 100 μ M groups at 6 h and the FF1 50 μ M, and FF3 100 μ M groups at 12 h. There was no significant difference among the test groups ($P < 0.05$).

[Conclusion]

Within the limits of this study, N-terminal fibrin-binding domain of FN promoted cell migration of PDL fibroblast cells.

KAP-03
2202

The Comparison of Antioxidant Materials Expressions in Human Gingival Tissue of Chronic Periodontitis with or without Hypertension

Jae-Mok Lee

Key words : Periodontitis, Hypertension, Antioxidant Materials

【Objective】 The purpose of this study was to quantify and compare the expression of SOD, GPx and GSR in the gingival tissues of the chronic periodontitis patients with or without hypertension.

【Materials & Methods】 Each gingival sample was divided into three groups. Group 1 (n=12) is clinically healthy gingiva without bleeding. Group 2 (n=12) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis. Group 3 (n=12) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis associated with hypertension. Tissue samples were analyzed by Western blotting. The relative quantifications of SOD, GPx and GSR were performed with a densitometer.

【Results】 The expression levels of SOD decreased in order of group 1, group 2 and group 3. The expression levels of GPx increased in order of group 1, group 2 and group 3. The expression levels of GSR decreased in order of Group 1, Group 2 and Group 3.

【Conclusions】 The GPx expression of hypertensive inflamed gingiva showed increasing tendency compared to non-hypertensive inflamed gingiva and healthy gingiva, and that SOD, GSR expression of hypertensive inflamed gingiva showed decreasing tendency compared to non-hypertensive inflamed gingiva and healthy gingiva.

KAP-04
2202

The Influence of Type 2 Diabetes Mellitus on Expression of Inflammatory Mediators and Cathepsin D in Human Chronic Periodontitis

Hyun-Yup Jung

Key words : Diabetes, Inflammatory Mediators, Cathepsin D

【Objective】 The purpose of this study was to compare and quantify the expression of CRP, Cathepsin D and TACE in the gingival tissues of patients with type 2 DM and healthy adults with chronic periodontitis.

【Materials & Methods】 Each gingival sample was divided into three groups. Group 1 (n=12) is clinically healthy gingiva obtained from systemically healthy 12 patients. Group 2 (n=12) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis. Group 3 (n=12) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis associated with type 2 DM. Tissue samples were analyzed by Western blotting. The relative quantifications of CRP, Cathepsin D and TACE were performed with a densitometer.

【Results】 The expression levels of CRP increased in group 2 and 3, and they were highest in group 3 as compared to group 1 and 2. The expression levels of Cathepsin D were increased in group 2 and 3, and they were highest in group 3 as compared to group 1 and 2. The expressions of TACE were also increased in group 2 and 3.

【Conclusions】 The expression levels of CRP, Cathepsin D and TACE might be inflammatory markers in periodontal inflamed tissue and partly involved in the progression of periodontal inflammation associated to type 2 DM.

KAP-05
2905

コルチコトミーを用いた急速矯正治療：臨床的適用

Dong-Hee Kim

キーワード：コルチコトミー，急速矯正，不正咬合

【目的】 矯正的に歯を移動させるために様々なテクニックが研究されているが，最近コルチコトミーを用いた急速矯正治療が注目されている。コルチコトミーを用いた急速矯正治療は短期間で成人患者の不正咬合を治す事ができる。

本研究は臨床的にコルチコトミーを用いた急速矯正治療を成人患者に適用し，歯周組織への為害作用がなく，期間を短くできるか検証した。

【材料および方法】 コルチコトミーを用いた急速矯正治療を希望する二名の患者を選んで行った。2009年 Wilko が提唱した方法を修正し，皮質骨を露出するため唇側の全層歯肉弁を挙上し，該当する部位の皮質骨をラウンドバーとピエゾを使用して除去した。次に，ウシ由来異種骨 (Bio-oss) を唇側にグラフトして改良型垂直マットレス縫合を行った。矯正治療は手術の終了二週間後から始めた。

【結果および考察】 コルチコトミーを用いた急速矯正治療は一般的な矯正治療より短期間で治療を終えることができた。治療終了後，咬合関係と顔貌，被蓋関係 (オーバージェット，オーバーバイト量) 等を確認し，良好な結果が得られた。また，特異的な歯周組織の変化は観察されなかった。コルチコトミーを用いた急速矯正治療は短期間での治療を望む成人患者にとって有用な治療方法である事がわかった。