

ポスター会場

P-01～P-81

一般演題ポスター

(ポスター会場)

平成25年9月22日（日）	ポスター準備	8：30～10：00
	ポスター掲示	10：00～14：15
	ポスター討論	13：30～14：15

P-01

2202

Porphyromonas gingivalis LPSによるヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化能の阻害と炎症性サイトカインの産生

嘉藤 弘仁

キーワード：歯根膜幹細胞、骨芽細胞、*Porphyromonas gingivalis*

【目的】歯周組織再生において歯根膜幹細胞（PDLSCs）は重要な細胞であり、*Porphyromonas gingivalis*（P.g.）は歯周組織破壊との関連があるといわれている。しかし、PDLSCと歯周病との関連についての検討はほとんどされていない。そこで、今回はP.g. LPSによるPDLSCsの増殖、骨芽細胞分化、炎症性サイトカイン産生への影響について検討した。

【材料および方法】ヒト抜去歯の歯根膜より分離したPDLSCsは、間葉系幹細胞マーカー（STRO-1, SSEA-4）の発現によって免疫組織化学的染色にて検討した。またPDLSCsをP.g. LPS（0, 1, 10 μg/ml）添加した培地で1時間～21日間培養し、細胞増殖、アルカリホスファターゼ（ALP）活性、Type1-collagen- α 1（COL1A1）産生量、オステオカルシン（OCN）産生量、カルシウム析出量、およびアリザリンレッド染色による硬組織形成を検討した。また、炎症性サイトカインについてはIL-1 β 、IL-6、およびIL-8の産生量を検討した。

【結果および考察】PDLSCsはSTRO-1, SSEA-4陽性であった。P.g. LPS添加群は濃度依存的に細胞増殖ならびにIL-1 β 、IL-6、およびIL-8の産生量を有意に促進した。またALP活性、COL1A1, OCN産生量、硬組織形成を有意に抑制した。これらの結果より、P.g. LPSはPDLSCsの骨芽細胞分化および硬組織形成を抑制する作用があることが示唆された。さらに、P.g. LPSの刺激により、PDLSCsは細胞増殖、炎症性サイトカインの産生を促進したことからPDLSCs免疫細胞と同様の反応を示す可能性が示唆された。

P-03

2206

*Porphyromonas gingivalis*感染モデル動物脾細胞のインターフェロン-ガンマ産生能

久保 朱里

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, LPS, IFN- γ

【目的】グラム陰性細菌である*Porphyromonas gingivalis*（*P. gingivalis*）などの細菌成分は歯周病を増悪させる。さらに、歯周病は細菌性心内膜炎、冠動脈疾患、脳血管障害、糖尿病、誤嚥性肺炎や呼吸器アレルギーなど、全身免疫能が関与しうる疾患と関連する。そこで、*P. gingivalis*の細菌成分を投与したマウスにおいて、全身を循環し免疫系の中核を担うT細胞の免疫能変化を検討した。

【材料と方法】6週齢のC57BL/6Jマウスに、熱処理を行った*P. gingivalis* 33277とW83、および対照群としてグラム陰性細菌成分であるlipopolysaccharide（LPS）を腹腔内投与して、投与1週間後、2週間後、3週間後と6週間後に脾細胞単核球を単離した。そして、T細胞を特異的に刺激する抗CD3 ϵ を用いて、脾細胞単核球を試験管内で培養した。そして、培養上清中に産生されたIFN- γ 濃度をenzyme-linked immuno-sorbent assay（ELISA）法により定量した。

【結果と考察】投与2週間後に、対照群のマウス脾細胞と比べ、W83群が投与されたマウス脾細胞のIFN- γ 産生能は増強していた。そして、投与3週間後に、対照群と比べ、33277群が投与されたマウス脾細胞のIFN- γ 産生能は減弱していた。これらの結果は、33277とW83はそれぞれT細胞に異なる質的変化を導き、全身免疫能に異なる影響を及ぼす可能性を示唆している。さらに、33277とW83がT細胞の亜集団に変化を導く可能性を検討しているところである。

P-02

2504

Aggregatibacter actinomycetemcomitans Y4はintegrin α 5を介して細胞内に侵入する

高知 信介

キーワード：Aa Y4, integrin α 5, 細胞内侵入

【目的】*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4（Aa Y4）は、通性嫌気性の歯周病原細菌であり、歯周病発症の初期に関わるとされている。これまでに、Aa Y4は上皮細胞内に侵入するという研究報告があるが、その機序は不明な点が多い。Integrinは、ヘミデスモゾーム結合を構成する重要な細胞接着因子であり、歯肉上皮と歯面を接着させることで、細菌侵入に対する物理的防壁として機能している。これまでに我々は、培養ヒト歯肉上皮細胞とAa Y4を共培養すると、発現が増加したintegrin α 5を経由した細胞内シグナルの結果として細胞接着能が減少したことを報告した。そこで本研究では、Aa Y4がヒト歯肉上皮細胞に侵入する時に、integrin α 5が関与しているかを検討した。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞を、抗菌薬を含まない培地で培養した。コンフルエントになった時にintegrin α 5の中和抗体を1時間作用させた後、MOIが100の条件でAa Y4を播種して共培養した。その1時間後に、細胞をリン酸緩衝液で洗浄して細胞外のAa Y4を除去し、さらに、抗菌薬を培地に添加して1時間培養して細胞表層に存在するAa Y4を除去した。その後、trypsin-EDTAで培養皿中の細胞を剥離した後、その希釈液を寒天培地上に蒔き、2日間好気培養した後に、形成されたコロニー数をカウントして、Aa Y4が侵入したヒト歯肉上皮細胞の数を検討した。

【結果と考察】Aa Y4が侵入したヒト歯肉上皮細胞の数は、integrin α 5の中和抗体を用いた群において、有意に減少した。このことから、Aa Y4はヒト歯肉上皮細胞に侵入する時にintegrin α 5を介していることが示唆された。

P-04

3104

慢性歯周炎患者におけるTNF- α 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析

小島 杏里

キーワード：メチル化, TNF- α , 慢性歯周炎

【目的】腫瘍壊死因子 α （TNF- α ）遺伝子多型は慢性歯周炎（CP）の感受性に関与しているが、そのエビデネティックな役割は殆ど解明されていない。そこで今回は、CPにおけるTNF- α 遺伝子プロモーター領域のDNAのメチル化状態を解析した。

【材料および方法】インフォームドコンセントが得られた慢性歯周炎患者群（CP群）17名、ならびに健康者群（H群）26名より末梢血を採取し、ゲノムDNAを抽出後、バイサルファイト処理を行い、TNF- α 遺伝子プロモーター領域のプライマーを用いてPCR増幅後、ダイレクトシーケンシングにてCpG部位とメチル化頻度を解析した。

【結果および考察】対象者の年齢・性別・喫煙状態は統計学的に有意な群間差は認められなかった。ダイレクトシーケンシング解析の結果、-353bpから+137bpまでのTNF- α 遺伝子プロモーター領域にCpGモチーフは計10部位を認めた。各CpG部位のメチル化頻度を算定したところ、-119bpおよび-72bpのメチル化頻度において有意な群間差が認められた。すなわち、-119bpではH群と比べてCP群で有意にメチル化頻度は低く（ $P = 0.01$ ）、-72bpではCP群でメチル化頻度は有意に高かった（ $P < 0.0001$ ）。以上の結果から、CP群とH群とでTNF- α 遺伝子プロモーター領域のメチル化状態の相違が示唆され、CPの病因において何らかの役割を果たしている可能性が考えられる。今後、症例数を更に追加して、TNF- α 遺伝子プロモーター領域メチル化とCP感受性との関連性について検証していく必要がある。

P-05
2504

神経変性疾患関連因子 TDP-43 は単球における
LPS 誘導性 TNF- α 転写制御に関与する
村田 裕美

キーワード：単球, TNF- α , TDP-43

【目的】TNF- α は、関節リウマチや糖尿病におけるインスリン抵抗性および歯周病など、多くの炎症性疾患の病態形成に関わる主要な炎症メディエーターであるが、その発現機構は未だ不明な点が多い。我々はこれまでに、単球系細胞における LPS 誘導性の新規の TNF- α 転写制御因子候補として、神経変性疾患関連因子 TDP-43 を同定した。本研究では、単球における TDP-43 の発現動態と TNF- α 転写制御への関与を検討した。

【材料および方法】1) TDP-43 の発現動態：LPS 刺激下の単球系細胞株 THP-1 において、TDP-43 タンパクの発現変化と細胞内局在をウェスタンブロットおよび免疫染色にて、mRNA 発現を定量 PCR にて、それぞれ検出した。2) TNF- α 転写制御への関与：ヒト TDP-43 を導入した細胞の核抽出物から TNF- α プロモーター断片と結合するタンパクをゲルシフトアッセイにて検出した。また、TDP-43 の過剰発現下および siRNA 作用下の THP-1 細胞における TNF- α mRNA 発現を、定量 PCR にて検出した。

【結果および考察】TDP-43 は、LPS 刺激の有無にかかわらず THP-1 細胞の核内に局在していた。LPS 刺激下では早期に TDP-43 mRNA の発現量が増加し、核内に局在する TDP-43 タンパクの発現量もやや増加傾向を示した。また、TDP-43 タンパクは TNF- α プロモーター配列の中で LPS 誘導性に強い転写活性を示した領域に結合していた。さらに、TDP-43 の過剰発現下では TNF- α mRNA の発現量が増加し、siRNA を作用させると減少した。以上のことから、TDP-43 が単球における LPS 誘導性の TNF- α 転写制御に関与している可能性が示唆された。

P-07
2504

歯肉線維芽細胞のマトリックスメタロプロテアーゼ発現を制御する 細胞内シグナル伝達
滝沢 尚希

キーワード：MMP, 歯肉線維芽細胞, JNK

【目的】歯周病における歯周組織破壊には炎症性サイトカインに誘導されるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 産生が関与する。我々はこれまでに歯肉線維芽細胞 (HGF) においてインターロイキン (IL) -1 β 刺激が ERK の活性化を、IL-6/可溶性 IL-6 受容体 (sIL-6R) ならびに caveolin-1 (Cav-1) が JNK の活性化を引き起こすことを報告した。本研究では複数の細胞内シグナルによって調節される MMP 産生能について検討した。

【材料および方法】ヒト健康歯周組織から分離・培養した HGF を IL-1 β , IL-6/sIL-6R ならびに Cav-1 でそれぞれ刺激し、リアルタイム RT-PCR 法で MMP の mRNA 発現量を検討した。また、HGF をこれらの因子で刺激した際に誘導される細胞内シグナル伝達系の活性化について、シグナル伝達因子に特異的な抗リン酸化抗体を用いたウェスタンブロット法で確認した。

【結果および考察】HGF を IL-1 β で処理すると ERK のリン酸化に伴って MMP-1, -2, -3 の mRNA 発現が促進された。一方、IL-6/sIL-6R 刺激は JNK のリン酸化を亢進し、MMP-1, -13 の発現を有意に促進した。我々は IL-1 β または IL-6/sIL-6R の刺激で Cav-1 が細胞外へと放出されることを報告している。HGF を Cav-1 で刺激すると、JNK のリン酸化に伴って MMP-13 の mRNA 発現が有意に亢進した。これらの結果から、MMP-2 および -3 の発現は ERK, MMP-13 の発現は JNK シグナルで特異的に調節されることが示された。MMP-13 による破骨細胞形成の促進効果が報告されていることから、HGF における JNK シグナルの活性化は炎症性骨吸収の亢進に関与する可能性が示唆された。

P-06
2402

歯肉増殖症における分子生物学的関連因子ネットワーク解析
清水 太郎

キーワード：薬剤性歯肉増殖症, GCF, バイオマーカー

【目的】Ca 拮抗薬薬剤性歯肉増殖症罹患歯肉 (GO) の歯肉溝滲出液 (GCF) におけるサイトカイン、細胞接着因子、細胞増殖因子、マトリックスメタロプロテアーゼを測定し、各種因子間の相関関係を解析することを目的とする。また、それらの因子が GO の病態形式に関与する機序を検証した。

【材料および方法】GO 被験者 11 名 (同一人物の GO 部位および慢性歯周炎 (CP) 部位) から GCF を採取する。マルチプレックス・サスペンション・アレイ・システムを用いて各検体から 14 項目の GO 関連因子タンパク (サイトカイン、細胞接着因子、細胞増殖因子、マトリックスメタロプロテアーゼ) の解析を行った。得られたデータから、1) 治療前の GO 部位と CP 部位、2) 治療前後の GO 部位、3) GO 部位と CP 部位の変化量について比較検討を行った。また同部位における歯周病原細菌量と検出される GO 関連因子との相関についても検証を行った。統計解析は Mann-Whitney U test を用いて解析した。

【結果および考察】1) の結果では、GO 部位で CP 部位に比べ IL-1 β , MMP-3 が高い発現を示した。2) の結果では、治療後の GO 部位において IL-1 β , TGF- β で有意な発現量減少を示した。3) の結果では、GO 部位で IL-8 が有意に発現量減少、また IL-1 β で減少傾向、MMP-12 で増加傾向を示した。細菌検査 (P. g, T. d, T. f) では、治療前 GO 部位と CP 部位の比較において GO 部位で T. d 菌が多い傾向が示された。以上の結果より薬剤性歯肉増殖症の診断や病態解明・発症メカニズムにバイオマーカーとして GCF および細菌検査を用いることは有効な手段となり得ることが示唆された。

P-08
2504

IL-1 Receptor antagonist の RNA 干渉がヒト歯肉上皮細胞の接着分子発現へ及ぼす影響
後藤 久嗣

キーワード：歯肉上皮細胞, IL-1Ra, siRNA

【目的】Interleukin-1 Receptor antagonist (IL-1Ra) は Interleukin-1 (IL-1) の活性を調節する抗炎症性サイトカインとして知られている。我々の研究において *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC29524 株) 菌感染 IL-1Ra ノックアウトマウスの接合上皮部に付着の喪失をうかがわせる組織像が観察された。しかし、IL-1Ra が上皮性付着に与える影響については不明な点も多い。そこで、IL-1Ra をノックダウンし半接着斑を形成する主な接着分子の遺伝子発現を検討した。

【材料および方法】ヒト歯肉上皮細胞 (Ca9-22) を用い RNA 干渉 (siRNA) を行い、IL-1Ra の mRNA 発現をノックダウンした。その後、時間経過別に インテグリン β 4 と ラミニン γ 2 の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。

【結果および考察】RNA 干渉による細胞の形態的变化は認められず、IL-1RasiRNA 群の IL-1RamRNA 発現はコントロール群と比較して約 10 倍ノックダウンされていた。IL-1RasiRNA 群ではコントロール群と比較し、6 時間後に インテグリン β 4 で約 1.4 倍の有意な mRNA 発現の低下が認められ、ラミニン γ 2 においても mRNA 発現の低下傾向が確認された。以上より、IL-1Ra のノックダウンが接着分子発現を低下させることが明らかとなり、IL-1Ra が上皮性付着に関与している可能性が示唆された。今後このメカニズムについて検討していく予定である。

P-09
2204

破骨細胞の概日リズムは糖質コルチコイドによって形成される

藤原 祐子

キーワード：時計遺伝子、破骨細胞、糖質コルチコイド

【目的】骨代謝に概日リズムが存在することは古くから知られているが、その分子機構は未だ十分に解明されていない。本研究では破骨細胞における概日リズム形成の機序について検討した。

【材料および方法】培養実験では破骨細胞の遺伝子発現における各種薬物による縦時的変動をリアルタイムPCR法で検討した。また *in vivo* 実験では4-6週齢の正常および副腎摘出 (ADX) 雄性マウスを12時間の明暗サイクルにて2週間以上飼育した後、一日における遺伝子発現を4時間ごとに調べた。

【結果および考察】培養破骨細胞に時計遺伝子が発現しており、糖質コルチコイド (Dexamethasone :DEX) により時計遺伝子 *Period*, *Brain and Muscle Arnt-Like protein (BMAL)* の発現が同期化された。さらにDEXにより破骨細胞関連遺伝子 *Cathepsin K*, *Nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1 (NFAT-c1)* も同期化された。続いて内因性の糖質コルチコイドの影響を調べるため、正常およびADXマウスの骨組織における遺伝子発現を解析した。正常マウスの骨組織では *Period*, *BMAL* のみならず *Cathepsin K*, *NFAT-c1* にも概日リズムが確認された。ADXマウスにおいては、*Cathepsin K*, *NFAT-c1* の概日リズムが消失していた。このADXによる概日リズムの消失はDEX投与により回復し、再び概日リズムが形成された。糖質コルチコイドが破骨細胞の概日リズム形成に重要な役割を担うことが明らかとなった。

P-11
2206

骨細胞が産生するOPGは歯槽骨維持に寄与する

小出 雅則

キーワード：OPG、RANKL、破骨細胞

【目的】重度歯周病では歯周組織のRANKL/osteoprotegerin (OPG) 比が増加し、破骨細胞が活性化され歯槽骨吸収を起こすと考えられる。しかしながら、歯周組織でのRANKLやOPGの発現制御や局在の詳細は明確でない。我々はRANKLとOPGの歯周病への関与を明らかにするため、これらの遺伝子改変マウスの歯槽骨を観察した。更に、OPGと同様の作用を有する抗RANKL抗体を投与して、歯槽骨吸収を抑制できるかどうか検討した。

【材料および方法】(1) 野生型 (WT, C57BL/6), OPG欠損及びRANKL強発現マウスの歯槽骨吸収や歯槽骨量を定量した。(2) WTとRANKL強発現マウスの歯槽骨をOPG染色した。(3) 8週齢OPG欠損マウスに抗RANKL抗体 (5 mg/kg, OYCI) を投与し、4週後に歯槽骨吸収や歯槽骨量および破骨細胞の局在を評価した。

【結果および考察】OPG欠損マウスでのみ重度の歯槽骨吸収を呈した。一方、RANKL強発現マウスでは、WTと比較して有意な差がなかった。12週齢のWTの臼歯の根分岐部の骨量は約70%であった。一方、RANKL強発現マウスとOPG欠損マウスの骨量は、約50%と約30%に減少していた。骨細胞はOPGを顕著に発現していた。OPG欠損マウスの歯槽骨吸収や歯槽骨量の減少は、抗RANKL抗体投与により抑制された。以上より、骨細胞が産生するOPGは歯槽骨の維持に寄与する。

P-10
2504

歯周病変における破骨細胞形成に二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼが関与する

篠原 宏貴

キーワード：PKR、LPS、破骨細胞

【目的】二本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ (PKR) は、TNF- α , LPSなどに応答し細胞の防御機構やアポトーシスに関与する蛋白質リン酸化酵素である。共同発表者はPKRがRANKLによる破骨細胞形成に重要な役割を果たしていることを報告したが (Teramachi *et al.*, Exp Cell Res. 2010)、歯周病局所でのPKRの動態については不明である。そこで歯周病におけるPKRの役割を追求すべく、ラット歯周炎モデルおよび各種細胞培養系を用いて歯周病原性LPSのPKRに及ぼす影響を検討した。

【方法】ラット上顎第二大臼歯を結紮して実験的歯周炎を惹起させ、歯周組織におけるPKRの発現をウェスタンブロット (WB) 法で調べた。次にヒト歯肉線維芽細胞、マウス骨髄ストローマ細胞およびマウス骨髄由来破骨前駆細胞を培養し、*P.gingivalis* 由来LPSを培地に添加した後、RANKL発現と破骨細胞形成をWB法とTRAP染色で調べた。

【結果と考察】歯周炎を惹起させた歯周組織ではPKRの発現が上昇した。歯肉線維芽細胞、骨髄ストローマ細胞および破骨前駆細胞では、LPSとTNF- α によりPKRの発現が誘導された。またLPSは歯肉線維芽細胞、骨髄ストローマ細胞においてRANKL発現と破骨細胞形成を促進し、その作用はPKR阻害剤 (2AP) 処理により解除された。さらに歯肉線維芽細胞、骨髄ストローマ細胞および破骨前駆細胞において、2APはLPSによるMAPキナーゼ経路やNF- κ Bの活性化を抑制した。以上より、PKRは歯周病の炎症局所で直接的もしくは間接的に破骨細胞の形成に関与していることが示唆された。

P-12
2299

ヒト歯周組織由来微小血管内皮細胞の *in vitro* 解析

坪川 瑞樹

キーワード：血管内皮細胞、経内皮電気抵抗、タイトジャンクション

【目的】ヒト歯周組織は、微小血管が豊富に存在し、血管を構成している血管内皮細胞によって血管の恒常性が維持されている。一方、疫学的研究により、歯周病原細菌が動脈弁や大動脈瘤の組織、心冠状動脈内皮細胞から検出されたと報告されている。したがって、歯周組織に存在する微小血管は、歯周組織の恒常性維持や創傷治癒への関与のみならず、全身疾患の発症や進展に関与すると考えられる。そこで、歯周病における病態生理や全身疾患との関連性を解明するために、ヒト歯周組織由来血管内皮細胞の細胞特性について検討を行った。

【材料および方法】ヒト歯周組織より分離培養した血管内皮細胞は、細胞増殖、管腔形成の経時的な変化について観察した。さらに、細胞間におけるタイトジャンクションの構成タンパク質であるzonula occludens-1 (ZO-1) およびoccludinの発現を免疫細胞化学にて確認し、経内皮電気抵抗値を測定した。対照には、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞およびヒト皮膚微小血管内皮細胞を用いた。【結果および考察】ヒト歯周組織由来血管内皮細胞は、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞およびヒト皮膚微小血管内皮細胞と比較して、管腔形成の維持が短時間であった。また、細胞間接着部へのZO-1およびoccludinの発現を認めず、極めて低い経内皮電気抵抗値を示した。したがって、ヒト歯周組織由来血管内皮細胞は、細胞間でのタイトジャンクションの形成が減弱もしくは欠落している可能性があり、高い透過性を有する毛細血管の機能的特徴が考えられる。

P-13

3104

脱分化脂肪細胞 (DFAT) と乳酸・グリコール酸
共重合体/ハイドロキシアパタイトコンポジット
を用いたラット頭蓋骨欠損における骨再生

中村 利明

キーワード: 脱分化脂肪細胞, スキャホールド, 再生医学

【目的】組織工学的手法により, 目的の組織を再生させるための適切な細胞ソースやスキャホールドが盛んに模索されている。そこで今回, ラット脱分化脂肪細胞 (rDFAT) と乳酸・グリコール酸共重合体/ハイドロキシアパタイト複合体 (PLGA/HA) を用いてラット頭蓋骨欠損における骨再生効果について検討した。

【材料および方法】ウィスター系ラットの脂肪組織より, 成熟脂肪細胞を採取し, 天井培養法を用いて分離培養したrDFATをPLGA/HAに播種し, 維持培地および骨分化培地で培養を行った。ラット頭頂骨両側に外科的骨欠損を作製し, 以下の4処置 (1) PLGA/HA + 骨分化刺激rDFAT (OD), (2) PLGA/HA + rDFAT, (3) PLGA/HAのみ, (4) 移植無し (コントロール) を無作為に施した。8週の観察期間後, 脱灰薄切標本を作製しHE染色後, 組織学的評価を行った。

【結果および考察】術後8週でPLGA/HAの分解吸収は顕著に進んでいた。PLGA/HAを使用した3群は, コントロール群より有意に再生組織の厚みが大きかった ($P<0.05$)。PLGA/HA + rDFAT (OD) 群における骨欠損の閉鎖率 ($83.16 \pm 13.87\%$) は全群間で最大でコントロール群 ($40.61 \pm 29.62\%$) より有意に高かった ($P<0.05$)。骨欠損における新生骨面積はPLGA/HA群 ($42.10 \pm 9.16\%$) がPLGA/HA + rDFAT ($21.35 \pm 13.49\%$) およびコントロール ($22.17 \pm 13.08\%$) 群より有意に大きい値を示した ($P<0.05$)。本研究結果よりPLGA/HAをスキャホールドとして用いたrDFAT (OD) の細胞移植はラット頭蓋骨欠損における骨再生に効果的であることが示唆された。

P-15

2499

糖化最終産物レセプターの菌肉上皮細胞への影響

内田 雄士

キーワード: 糖化最終産物レセプター, 菌肉上皮細胞, 炎症誘導

【目的】糖尿病患者の様々な臓器で糖化最終産物レセプター (RAGE) 発現が上昇し, RAGEは糖尿病の合併症惹起に役割を果たしている。また, *Helicobacter pylori* はRAGEを介して胃の粘膜に炎症を誘導するという報告がある。これらのことから, 菌肉上皮で発現が確認されているRAGEも菌周炎発症・進行に関与している可能性がある。本研究では, ヒト菌肉上皮細胞 (HGEC) の細胞間コミュニケーション能, および, サイトカイン発現へのRAGEの影響を検討した。

【材料および方法】HGECは健康な菌肉から分離培養し, 実験に供した。RAGEリガンドにはS100タンパク質 (S100) を用いた。RAGEを介してHGECのサイトカイン発現を誘導する細菌の検討には *Porphyromonas gingivalis* を用いた。S100を24時間HGECに作用させScrape dye transfer assayを用いて細胞間コミュニケーション能を確認した。*P. gingivalis* をリコンビナントRAGE, または, 中和抗体 (anti-RAGE抗体) と共にHGECに24時間作用させ, 阻害実験を行った。上清中のIL-8濃度はELISA法を用いて測定した。

【結果および考察】S100刺激によってHGECの細胞間コミュニケーション能は低下した。*P. gingivalis* によって誘導されるIL-8の発現はRAGE機能の阻害因子として用いたリコンビナントRAGEとanti-RAGE抗体によって抑制された。以上のことから, RAGEは菌周病増悪因子の1つとして作用していることが示唆される。

P-14

2504

ジルコニアのヒト上皮細胞に対する親和性と接着
能の検討

岡部 栄治郎

キーワード: ジルコニア, Ca9-22, 生体親和性

【目的】インプラント材料としてチタンを用いた場合の審美性やアレルギー反応といった問題を解決するため, ジルコニアが新規のインプラント材料として期待されている。本研究では, ジルコニアの生体適合性を評価するため, 2種類のジルコニアディスク (Y安定化ジルコニア, Ce安定化ジルコニア・アルミナ ナノ複合体) と純チタンディスク上にヒト口腔由来上皮細胞 (Ca9-22) を培養し, 付着した細胞の形態と付着細胞数, 接着分子遺伝子発現を比較検討した。

【材料および方法】純チタン, ジルコニアを直径15mm, 厚さ1mmに調製し, 鏡面研磨とサンドブラスト処理を施した。その後, 各試料上における2, 6および24時間培養後の付着細胞形態を走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察した。また, 2, 6, 24, 36および48時間培養後の付着細胞数を, Cell Counting kit-8を用いて計測し, 24および48時間培養後のラミニン γ_2 , インテグリン β_4 , インテグリン α_5 の遺伝子発現量をReal-time PCRにて計測した。

【結果および考察】サンドブラストを施した両ジルコニアとも上皮細胞は純チタンに比べ, より伸展した付着形態を示し, 培養48時間後の付着細胞数は純チタンに比べ多く認められた。接着分子遺伝子発現は, 鏡面研磨群とサンドブラスト群において, 培養24, 48時間後共に, 両ジルコニアと純チタン間で, 有意な差は認められなかった。これらの結果から, 一定以上の高い表面粗さを付与すると付着細胞形態に影響を及ぼす可能性があると考えられた。さらに今回の結果より, ジルコニアはチタンと同等の, 軟組織に対する生体親和性と接着能を持つ可能性が示唆された。

P-16

2504

Resveratrolは菌肉上皮細胞の炎症性応答を抑制
する

奥井 隆文

キーワード: Resveratrol, 菌肉上皮細胞, 抗炎症性作用

【目的】赤ワインに多く含まれるResveratrol (RSV) は, SIRT1の活性化を介して老化関連性疾患の発症を遅らせることが報告されている。またRSVには抗炎症性作用があることも報告されているが, 詳細な作用メカニズムはわかっていない。菌周炎は菌周病原細菌に対する宿主の炎症性応答により, 菌周組織が破壊される慢性炎症性疾患である。病原細菌に最初に接する菌肉上皮細胞は炎症性サイトカインやケモカインを産生することにより病態形成に深く関与する。本研究ではRSVが菌肉上皮細胞の炎症性応答に与える影響およびそのシグナル経路を解析する。

【材料および方法】ヒト菌肉不死化細胞株 epi4を以下の全ての実験で用いた。RSVで前処理したepi4を *P. gingivalis* 菌体 (LiveまたはHeat-killed) で刺激した場合の炎症性サイトカインおよびケモカインの遺伝子発現をReal-time PCR法により解析した。炎症性応答に対するRSVの作用メカニズムを解析するため, Sirtinol (SIRT1阻害剤) 前処理またはSIRT1ノックダウンしたepi4を用いて同様の実験を行った。

【結果および考察】 *P. gingivalis* 菌体刺激によりIL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1の遺伝子発現は上昇したが, RSVの前処理によりそれらは抑制された。このRSVの抗炎症性作用においては, Sirtinol前処理やSIRT1ノックダウンによる明らかな阻害効果が認められなかったことより, SIRT1の関与は低いことが示唆された。現在, SIRT1以外の分子に注目してRSVの作用メカニズムを解析中である。

P-17

歯肉上皮細胞における新規イオンチャネルの発現解析およびその機能の検討

2504

高橋 直紀

キーワード：歯肉上皮細胞，イオンチャネル，細胞増殖

【目的】細菌感染による慢性炎症に伴う歯周組織破壊を特徴とする歯周炎において、歯肉上皮細胞は物理的なバリアーとして生体防御の最前線に重要な役割を担っている。近年同定された新規陽イオンチャネルであるTransient receptor potential (TRP) チャネルタンパクは、温度や機械刺激、化学刺激により活性化される感覚センサーとして機能することが知られている。口腔は外来性の細菌や飲食物が最初に体内に入る場所であり、そこに存在する上皮細胞は、これらのタンパクが選択的に局在しており高度に機能していることが予測されるが、その詳細は知られていない。本研究ではTRPの発現解析とその機能を明らかにすることで歯周炎の発症・進行への関与を検討することである。

【材料および方法】ヒト歯肉初代培養細胞 (HGECS) および不死化細胞株 (epi4) におけるTRPの発現をPCR法、免疫染色法にて検討を行った。またTRPのアゴニストを用いて細胞増殖および遊走能をMTT assay及びWound healing assayにより検討を行った。さらに、TRPアゴニスト刺激時の細胞増殖に関する遺伝子発現をreal-time PCR法にて解析を行った。

【結果および考察】HGECSおよびepi4において、TRPファミリーのひとつであるTRPV1の発現が遺伝子レベル、タンパクレベルで確認された。TRPV1のアゴニストであるCapsaicinで刺激することで細胞増殖および遊走が促進されることが確認された。その分子生物学的なメカニズムと歯周炎の病態形成におけるTRPV1の関与に関しては解析中である。

P-19

ADMPIC由来液性因子のヒト歯根膜細胞へ及ぼす影響

2504

沢田 啓吾

キーワード：ADMPIC，歯周組織再生療法，成長因子

【目的】我々はこれまでに、脂肪組織由来未分化間葉系幹細胞 (ADMPIC) 移植による歯周組織再生誘導効果を報告してきた。本研究では、ADMPIC移植による歯周組織再生メカニズムをさらに解明することを目的とし、ADMPICが産生する液性因子に焦点をあて、同因子が培養ヒト歯根膜細胞 (HPDL) に及ぼす影響について解析を行った。

【材料および方法】ヒト皮下組織より脂肪組織を採取し、ADMPICを単離した。10%FCS含有D-MEMにてADMPICを培養した際の培養上清 (ADMPIC-CM) に含まれる液性因子をHuman Growth Factor Array[®]を用いて検討した。ADMPIC-CM存在下で、HPDLを石灰化誘導培地にて培養し、硬組織関連遺伝子の発現とアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を検討した。

【結果および考察】Array解析の結果、ADMPICは複数の細胞増殖因子を分泌することが明らかとなった。また、ADMPIC-CM存在下でHPDLを培養した結果、硬組織関連遺伝子の有意な発現上昇とALP活性上昇を認めた。さらに、ADMPIC分泌因子の一つとして検出されたIGFBP6の発現をsiRNAにて抑制した培養上清では、ALP活性上昇が有意に低下した。以上の結果より、ADMPIC由来液性因子がHPDLの硬組織形成細胞への分化を促進的に制御し、同効果にIGFBPの関与が示唆された。このことより、歯周組織欠損部位に移植されたADMPICが歯周組織構成細胞へ直接分化するのみならず、種々の液性因子を産生することで、同部の歯周組織再生の過程を活性化しているものと考えられる。

P-18

低酸素環境がヒト口腔上皮細胞の各種遺伝子発現に及ぼす影響

2504

中島 由紀子

キーワード：低酸素環境，抗菌ペプチド，炎症性サイトカイン

【目的】歯周ポケット内の歯周病原性細菌は、嫌気状態すなわち低酸素環境下で増殖し歯周炎の足場を形成する。生体組織では低酸素環境下で炎症性サイトカインや血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の発現増加や酸化ストレス反応の亢進を介して炎症反応が誘導されることが知られている。しかし、歯周炎の病態における低酸素環境の影響は十分には解明されていない。そこで私たちは口腔上皮細胞における炎症性サイトカインや抗菌ペプチドの発現と酸化ストレスに及ぼす低酸素環境の影響について検討した。

【材料および方法】ヒト口腔上皮細胞株 (TR146) を低酸素で培養し (1% O₂)、細胞生存率をCell Counting Kit-8で、酸化ストレスをROS assay kitを用いてそれぞれ測定した。また、培養細胞からRNAと蛋白画分を抽出し、RT-PCR、real-time PCR、DNAマイクロアレイにより遺伝子発現への影響を調べた。さらに、カルプロテクチンとVEGFの蛋白量をELISA kitで測定した。

【結果および考察】低酸素培養における上皮細胞の細胞生存率は24時間で軽度の減少を認めたが、ROS産生に変化は認められなかった。炎症性サイトカインのTNF-αとIL8、アドレノメデュリン、VEGFの遺伝子の発現は増加し、抗菌ペプチドのカルプロテクチンとリボカリン2の発現は減少した。ELISA分析ではVEGF蛋白の発現は増加し、カルプロテクチン蛋白は減少した。これらの結果から、低酸素環境で口腔上皮細胞の炎症性サイトカインの発現亢進と抗菌ペプチドの発現抑制が起こり歯周組織の炎症反応が増悪する可能性が示された。

P-20

エナメルマトリックス由来合成ペプチドによるヒト骨髄幹細胞に対する影響

2504

片山 暢仁

キーワード：骨髄幹細胞，骨芽細胞，エムドゲイン[®]療法

【目的】我々は以前の研究で、歯周組織の再生を促進する合成ペプチドを開発した。骨髄幹細胞は、多分化能を有するため歯周組織再生にも関与する可能性が大である。今回の目的は、ヒト骨髄幹細胞に対する合成ペプチドの効果を検討することである。

【材料および方法】ヒト骨髄幹細胞は理化学研究所から提供を受けた。骨髄幹細胞の間葉系幹細胞としての性質はビメンチンおよびSTRO-1の発現による免疫組織化学的評価によって確認した。骨髄幹細胞の増殖および骨芽細胞分化は、合成ペプチドを添加した通常または骨形成培地 (0, 10, 100, 1000 ng/mL) 中で培養し検討した。骨芽細胞分化はアルカリホスファターゼ (ALP) 活性、アルザリンレッド染色による石灰化、カルシウム沈着を測定することにより評価した。

【結果および考察】ヒト骨髄幹細胞はビメンチンおよびSTRO-1に対して免疫組織化学的に陽性であった。合成ペプチド10ng/mLの濃度で細胞は顕著に増殖した。骨芽細胞分化能について、ALP活性は、合成ペプチド10ng/mLの濃度において顕著に増加した。これらの結果、合成ペプチド10ng/mLの濃度でヒト骨髄幹細胞の骨芽細胞への分化を促進し、骨髄幹細胞に対して石灰化をもたらすことから、硬組織再生に有用であることが示唆された。

P-21

2504

ヒト微小血管内皮細胞に対するEMD由来合成ペプチドの効果

高橋 幸達

キーワード：血管内皮細胞，合成ペプチド，創傷治療

【目的】エナメルマトリックスデリバティブ（EMD）由来物質の解析を基に作製した合成ペプチドはEMDと類似した作用を有している。組織再生において血管新生は重要であり，血管内皮細胞が関与する。今回，血管内皮細胞に対する新規合成ペプチドの効果について検討した。

【材料と方法】血管内皮細胞として市販のヒト皮膚微小血管内皮細胞（HMVEC）を用い，継代3代目を実験に供した。各種濃度の合成ペプチドを培地に添加しHMVECを培養したものを実験群とし，合成ペプチドを含まない培地で培養した群を対照群とした。血管内皮細胞の管腔形成の評価は三次元培養および染色によって光学顕微鏡下で行った。増殖に関しては，培養1, 3, 24, 48, 72時間後に測定した。遊走能についてはBoyden chamber改良法にて30分，1, 3, 6, 8時間後に測定した。接着分子の発現の解析はReal-time PCR法を用いてを行った。各実験について，統計分析は有意水準を5%以下で行った。

【結果および考察】管腔は対照群より実験群に多く認められた。実験群の細胞増殖は，対照群に比べて全ての培養時間において有意に高かった，細胞遊走は培養30分，6, 8時間後に対照群と比べて実験群において有意に高く，1, 3時間では高い値を示した。また，接着分子の遺伝子発現も実験群の方が対照群より高く認められた。以上の結果，EMD由来の合成ペプチドは，HMVECの増殖，遊走および血管新生を促したので歯周組織再生療法に有用であることが示唆された。

P-22

2504

化学修飾法によりIGF-1を固定化したY-TZP表面におけるヒト歯肉上皮細胞の付着・伸展挙動および接着能の評価

伊藤 大輔

キーワード：ジルコニア，IGF-1，laminin-5

【目的】インプラント治療において，接合上皮によるシールが重要である。本研究では，イットリア安定化正方晶ジルコニア多結晶（Y-TZP）表面にインスリン様成長因子1（IGF-1）を化学修飾法により固定化し，その表面におけるヒト歯肉上皮細胞（HGEC）の付着・伸展挙動および接着能を調べた。

【材料および方法】試料表面にカルボキシル基を導入し，IGF-1を固定化した。IGF-1の固定化は，X線光電子分光法（XPS）を用いてN 1sスペクトルを測定することで評価した。また，固定化した表面上でHGECを培養し，初期付着細胞数の計測，細胞の形態学的観察および細胞接着能の評価を行った。

【結果および考察】IGF-1を固定化した試料表面では，超音波洗浄後もN 1sスペクトルの明瞭なピークがみられた。この結果から，化学修飾法によってIGF-1が試料表面に固定化されていることが確かめられた。初期付着細胞数を計測したところ，研磨した試料とIGF-1を固定化した試料の表面に付着した細胞数に有意な差はみられなかった。培養3日後に試料表面に付着したHGECの形態を観察したところ，IGF-1を固定化した試料において，HGECはより伸展していることがわかり，integrinβ4およびlaminin-5のmRNA発現が有意に上昇していた。さらに，HGECにTrypsin-EDTAを一定時間作用させた後も，固定化した試料の表面に残存したHGECの割合が有意に高かった（ $p<0.05$ ）。これらの結果から，化学修飾法により試料表面にIGF-1を固定化できること，固定化した試料では，HGECの接着能が亢進することが明らかとなった。

P-23

2504

歯根膜幹細胞由来液性因子を用いた歯周組織再生

岩崎 剣吾

キーワード：間葉系幹細胞，再生，液性因子

【目的】歯根膜幹細胞は歯根膜から得られる間葉系幹細胞であり，セメント芽細胞・骨芽細胞・歯根膜線維芽細胞への分化能力を有し，歯周組織欠損へ移植することにより歯周組織の再生を誘導させることが数多く報告されている。しかしながらそのメカニズムについては不明な点が多く残されている。本研究の目的は歯根膜幹細胞由来の液性因子の局所移植が歯周組織再生を促すか否かを検討することである。

【材料および方法】歯根膜幹細胞は酵素処理を用いて分離培養した。15% FBS添加alphaMEM培地を用いて培養し，継代数3までを実験に供した。培養48時間後の培養上清を回収した。歯周組織欠損をラット下顎第一臼歯部頰側に外科的に作製し幹細胞培養上清をコラーゲンスポンジに含浸し移植した。4週後にラットを屠殺し組織標本作製およびマイクロCTによる歯槽骨形成を観察した。

【結果および考察】術後4週目のマイクロCT像において，歯根膜幹細胞由来培養上清を移植したラットではコントロールおよびヒト皮膚線維芽細胞由来培養上清を移植したラットと比較して，歯槽骨再生量の増強が観察された。組織学的評価では，歯根膜幹細胞培養上清移植により新生セメント質，歯槽骨の形成が認められ歯周組織の再生が確認された。以上の結果は，歯根膜幹細胞培養上清中に歯周組織再生を誘導する因子が含まれることを示唆しており，歯根膜幹細胞由来の液性因子が歯周組織の組織修復に関与することが考えられた。

P-24

2504

塩化カルプロニウムが歯根膜細胞および血管内皮細胞に及ぼす影響

三木 康史

キーワード：塩化カルプロニウム，ムスカリン受容体，歯根膜

【目的】塩化カルプロニウムはコリン作動薬であり，血管内皮細胞のムスカリン受容体を活性化することで局所微小環境の血流を改善する。近年，血管内皮細胞のみならず，さまざまな種類の硬組織形成細胞にムスカリン受容体が発現していることが明らかとなった。これらの知見は，アセチルコリン-ムスカリン受容体カスケードで作動する副交感神経系が，骨芽細胞の制御を介して骨の微小動態を調節していることを示唆している。本研究では，塩化カルプロニウムが，歯根膜細胞並びに血管内皮細胞に与える影響を検討した。

【材料および方法】硬組織形成細胞への分化能を有するマウス歯根膜細胞株MPDL22におけるムスカリン受容体の発現および塩化カルプロニウムがMPDL22の硬組織形成能に及ぼす影響について検討した。塩化カルプロニウム刺激下でMPDL22を培養し，アルカリフォスファターゼ活性，石灰化関連遺伝子の発現を解析した。またHUVEC（ヒト臍帯静脈血管内皮細胞）を3D培養する際に，塩化カルプロニウムを添加し，管腔形成能に及ぼす影響を検討した。

【結果および考察】MPDL22におけるムスカリン受容体の5種類のサブセットM1-5のmRNAの発現をRT-PCRにて確認した。塩化カルプロニウム刺激によりMPDL22のアルカリフォスファターゼ活性，石灰化関連遺伝子（Runx2, etc）の発現上昇が認められた。また塩化カルプロニウム刺激によりマトリゲル培養中のHUVEC管腔形成の有意な促進が認められた。以上の結果より，塩化カルプロニウムの歯周組織再生療法への応用が期待される。

P-25

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ヵ月，2ヵ月，3ヵ月後に屠殺した。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Oファーストグリーン染色，EdU染色，CD 146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日までに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ヵ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CD 146抗体を用い免疫染色をした結果CD 146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，歯根膜組織における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-26

ヒトPLAP-1発現アデノウイルスの作製

2504

梶川 哲宏

キーワード：PLAP-1，遺伝子多型，アデノウイルス

【目的】PLAP-1は歯根膜組織に高い発現を認める細胞外基質分子である。歯根膜細胞株を用いた*in vitro*の実験系において，PLAP-1遺伝子多型が歯根膜細胞の硬組織形成分化を制御することが明らかとなっている。しかしながら，PLAP-1遺伝子多型の生体内における役割については，いまだ不明な点が多い。そこで本研究では，マウスを用いたPLAP-1遺伝子多型解析モデルを構築するため，ヒトPLAP-1発現アデノウイルスを作製することを目的とした。

【材料および方法】当教室でcDNAクローンの単離に成功しているD12型，D13型，D14型PLAP-1のcDNAを用いて，PLAP-1発現コスミドベクターを構築した。これらのコスミドベクターをHEK293細胞株にトランスフェクションし，ヒトPLAP-1発現アデノウイルスを作製した。作製したアデノウイルスをPLAP-1 KOマウス由来のMEF細胞に感染させ，ウェスタンブロッティング法によりPLAP-1タンパクの発現を検討した。さらに，このPLAP-1発現アデノウイルスを感染させたMEF細胞に対しBMP-2刺激を行い，Id-1のmRNA発現をリアルタイムPCR法で定量した。ヒトPLAP-1発現アデノウイルスを濃縮し，精製組み換えアデノウイルスを作製した。

【結果および考察】各遺伝子型PLAP-1発現アデノウイルスを感染させたMEF細胞の培養上清中にPLAP-1タンパクの発現を確認した。BMP-2刺激により誘導されるId-1の発現は，PLAP-1群においてコントロール群と比べ有意に抑制された。アデノウイルスの濃縮により 10^{10} PFU/mLを超える高力価ウイルスを得た。作製したヒトPLAP-1発現アデノウイルスの有用性が示された。

P-27

ヒト歯槽骨膜由来細胞スフェロイド内にLIPUS照射によって出現した索状構造の研究

3103

前田 賢太

キーワード：LIPUS照射，スフェロイド，索状構造

【目的】前回，スフェロイドに一定方向から低出力超音波パルス(LIPUS)を照射することで，索状構造が出現し，増加することを報告した。今回はLIPUS照射後，スフェロイドに生じた索状構造を光学及び蛍光顕微鏡に加え，電子顕微鏡を用いて検索した。

【材料および方法】ヒト歯槽骨膜由来細胞を用いてスフェロイドを作製し，固定用リングに固定後，1，3，7及び14日間，周波数1MHz，出力160mW，LIPUSを1日15分間照射し，凍結切片を作製後，オステオポンチン(OP)，オステオカルシン(OC)の免疫染色を行い，共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。さらに同条件で作製した試料を樹脂に包埋し，トルイジンブルー染色を行い，光学顕微鏡にて観察した後，同試料を電子顕微鏡で観察し，その結果を免疫染色の結果と比較検討した。

【結果および考察】索状構造は，表層から深層へ細胞の長軸を向けて配列する構造を示すが，コントロール群には認められなかった。LIPUS照射1日目の表層に索状構造が出現し，免疫染色ではその部位にOP陽性反応を認めた。さらに索状構造はLIPUS照射3日目では，表層から中層まで出現していた。これらの部位ではいずれもOP・OC免疫陽性反応が認められた。また，LIPUS照射7日目では索状構造は表層から深層まで出現し，OP・OC免疫陽性反応も認められた。しかし，LIPUS照射14日目では索状構造が消失した。経時的観察では索状構造が伸びるに伴って分枝していた。索状構造の分枝に関して詳細は不明であるが，これらの結果から索状構造の出現はOP・OCの発現と大きく関連していると考えられる。

P-28

ヒト分散骨膜細胞の鶏胚漿尿膜における血管新生に及ぼす影響

3103

小林 美登

キーワード：骨膜細胞，血管新生

【目的】ヒト骨膜を組織片培養して得られる培養骨膜シートは，幹細胞様細胞を含むヘテロな細胞集団および蓄積したECMとの複合体である。これまで我々は，ヒト培養骨膜シートを歯周組織再生療法に用いた際の歯槽骨再生能について報告してきた。ヒト培養骨膜シートは基礎的・臨床的に骨再生を促す有効な材料であると考えられるが，その機序については不明な点が多い。そこで本研究では，組織再生において重要な因子である血管新生能に対する骨膜細胞の影響を，鶏胚漿尿膜上に検証した。

【材料および方法】ヒト分散骨膜細胞を懸濁し，インテグリン®(ウシ由来アテロコラーゲン)に滴下したものを試料として用いた。対照群としてGin-1(ヒト歯肉線維芽細胞)群および細胞を用いないPBS(-)群を用い，受精11日目の鶏胚漿尿膜上に各群の試料を静置し，37℃加湿下にて5日間孵卵を行った。その後，試料周囲における漿尿膜上の血管数の計測を行った。漿尿膜は切除・固定後パラフィン切片を作成し組織学的に評価した。

【結果および考察】ヒト骨膜細胞群では試料周囲に放射状の微細な血管走行が確認され，試料周囲の血管数はGin-1群，PBS群と比較して有意に多かった。免疫組織学的には骨膜細胞群，Gin-1群で試料周囲組織に多数の血管様構造が認められるが，骨膜細胞群においてはより成熟した血管が多数認められた。ヒト骨膜細胞は鶏胚漿尿膜における血管新生を誘導し，血管の成熟を助けることが示唆された。

P-29

2504

未分化間葉系幹細胞分化を制御する Wnts の発現におけるスフィンゴシン-1-リン酸の影響

橋本 陽子

キーワード：未分化間葉系幹細胞分化、骨芽細胞、脂肪細胞、Wnts、スフィンゴシン-1-リン酸

【目的】未分化間葉系幹細胞の分化において、Wntシグナル伝達経路の活性化は骨芽細胞分化促進、脂肪細胞分化抑制を引き起こす。一方、脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は、骨芽細胞分化促進ならびに破骨細胞分化抑制作用を持つことが明らかとなっているが、S1Pが未分化間葉系幹細胞分化に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では、未分化間葉系幹細胞の分化に伴うWnts遺伝子発現と、S1PがWnts遺伝子発現に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】実験にはマウス未分化間葉系幹細胞株C3H10T1/2を用いた。S1P添加後、脂肪細胞・骨芽細胞分化誘導を行い、WntsのmRNA発現をreal-time RT-PCR法にて検討した。また、分化マーカー(脂肪細胞:PPAR, FABP4, 骨芽細胞:ALP, OCN)のmRNA、タンパク質発現について、real-time RT-PCR法、ウエスタンブロット法を用いて検討した。

【結果および考察】脂肪細胞分化に伴い、Wntシグナル古典経路のリガンドWnt10bおよび非古典経路のリガンドWnt5aの発現は抑制されたが、S1Pの添加によりこれらの発現抑制は解除された。一方、骨芽細胞分化に伴い、Wnt10b、Wnt5aの発現は増加し、S1Pの添加によりWnt5aの発現はさらに増加した。また、S1Pは脂肪細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化を促進した。以上の結果から、S1PはWnt10bおよびWnt5aの発現調節を介して、未分化間葉系幹細胞の分化に関与する可能性が示唆された。

P-31

2504

マウス下顎切歯根尖部の多能性幹細胞におけるSox2の発現

丸尾 直樹

キーワード：多能性幹細胞、Sox2, cervical loop

【目的】近年、齲蝕や咬耗・摩耗により喪失したエナメル質実質欠損、歯周病により喪失した歯根膜などに対して、組織再生療法の研究が注目されている。今回、生涯伸び続けるマウスの下顎切歯、特に未分化の多能性幹細胞を有するその根尖部(cervical loop部)に着目しマウス下顎切歯根尖部に存在する幹細胞の位置と動態について観察、検討した。また、根尖部の生体内における異所性の硬組織形成能についても評価した。

【材料および方法】胎生15, 17, 19日齢、生後2, 4日齢のマウスから下顎切歯を含むように組織を単離し、直ちに10%ホルマリンに固定し、通法に従い切片の作製を行った。HE染色にて組織部位を確認後、Sex-determining region Y-box 2 (Sox2)にて免疫組織化学的評価を行った。また、生後2日齢マウスの下顎切歯根尖部を速やかに取り出し、4週齢マウスの腎臓皮膜下に移植し、硬組織形成の評価を行った。

【結果および考察】Sox2は転写の調節やクロマチン構造の調節に重要な転写因子の一つである。Sox2の発現部位とその経時的变化について免疫組織化学的に検討し評価したところ、胎生期および生後マウスにおいてSox2は口腔粘膜上皮や歯胚に発現していた。さらに胎生期から生後までの間に、マウス切歯のエナメル質形成に関与するLabial cervical loop部に限局して発現することが明らかとなった。また、腎臓へのcervical loop移植実験に関して、マイクロCT装置にて石灰化物の生成が認められた。

P-30

3103

骨髄間葉系幹細胞の培養および継代過程における機能的解析

石田 充

キーワード：骨髄間葉系幹細胞、増殖能、遺伝子マーカー

【目的】骨髄間葉系幹細胞(MSC)は、骨髄中にわずかに存在する細胞で、多分化能を有することから、様々な再生医療の研究、医療現場での応用に用いられている。しかし、MSCの機能制御に関しては、解明されていないことが数多く存在している。そこで、本研究ではMSCの機能的解析を基礎的な側面から検討し、MSCの培養過程および継代過程における形態、増殖能、表面マーカーおよび転写因子の関係を解明することを目的とした。

【材料および方法】細胞は広島大学にて承認されたプロトコル(承認番号 第19号)に準じた方法で採取、凍結保存されている患者MSCを用いた。基礎培地として10%FBSを添加したDMEMを使用し、MSCの形態、増殖能、表面マーカーおよび転写因子について、培養過程および継代過程における変化を検討した。

【結果および考察】MSCの形態は、線維芽細胞様の紡錘形を呈しており、これを継代過程ごとに観察すると、培養初期では細胞の大きさが比較的小さいのに対し、継代を重ねることで大きな扁平形を呈した細胞の割合が増加することが確認された。また、継代を重ねることによって、徐々に増殖能は低下し、最終的にはほぼプラトー状態に達することが確認された。また、表面マーカーのCD73, CD90, CD105については継代過程において一貫して80-90%の高い発現量を維持し継代における影響は認められなかった。STRO-1については、継代別の発現量に差が認められたが、継代過程における一貫した傾向は認められなかった。MSCの未分化マーカーである転写因子GATA6については増加傾向、SOX11については減少傾向が認められた。

P-32

2299

ヒト脱分化脂肪細胞とヒト歯肉由来血管内皮細胞の共培養による血管内皮細胞分化の検討

清水 豊

キーワード：脱分化脂肪細胞、血管内皮細胞、共培養

【目的】脱分化脂肪細胞(dedifferentiated fat cells: DFATs)は、多分化能を有し、骨髄間葉系幹細胞と近似した細胞表面抗原発現パターンを有するため、再生療法の新たな細胞源として期待されている。本研究では、歯周組織の血管再生にDFATsを応用するため、ヒト脱分化脂肪細胞(HDFATs)とヒト歯肉由来血管内皮細胞(HGECs)の共培養を行い、HDFATsの血管内皮細胞分化について検討した。

【材料および方法】HDFATsは、皮下脂肪組織より成熟脂肪細胞を分離し、天井培養にて獲得した。HGECsは、ヒト歯肉細胞より抗CD31抗体コーティング・マグネットビーズを用いて獲得した。対照には、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞を用いた。各細胞は、5%FBS含有血管内皮細胞用培地(5%FBS/EGM-2)でそれぞれ単層培養を行った。HDFATsと各血管内皮細胞の共培養は、5%FBS/EGM-2でメンブレンフィルターを介して行い、共培養後のHDFATsを実験に用いた。各細胞は、免疫細胞化学染色にてCD31, von Willebrand 因子(vWF), Ulex europaeus agglutinin 1 レクチン(UEA-1)の発現を確認した。また、機能的評価として、管腔形成能とアセチル化低密度リポタンパク質(Ace-LDL)の取り込みについて観察し評価した。

【結果および考察】CD31, vWF, UEA-1の発現とAce-LDLの取り込みは、5%FBS/EGM-2で培養したHDFATsではわずかであったが、共培養後のHDFATsではいずれも広範囲で認めた。HDFATsとHGECsの共培養は、HDFATsの血管内皮細胞分化を促進する可能性を示した。

P-33

インディアンヘッジホッグシグナル阻害による歯周組織への影響

2299

安部 雅世

キーワード：シクロバミン, Ihh, 歯周組織

【目的】インディアンヘッジホッグ (Ihh) は、骨格や様々な組織の発生や形成過程において重要な役割を果たしており、特に骨芽細胞や軟骨細胞の分化を制御するなど、骨形成に深く関与している。しかしながら、歯周組織への影響についてはよく知られていない。そこで本研究では、ヘッジホッグシグナル経路の阻害剤であるシクロバミンを用いて歯周組織における影響について検討した。

【材料および方法】本研究は生後7日目のCD1マウスを屠殺後、下顎骨を取り出し、培養液にシクロバミンを加えて、7日間器官培養を行った。培養0日目、4日目、7日目に培養液にEdUが10 μ Mになるように加え、その後、4%PFA固定液を用いて回収、10%EDTAにて脱灰、脱水後、通報に従い、パラフィン包埋を行い、パラフィン切片を作製した。切片はサフラニンOファーストグリーン染色、EdU染色などを用いて組織学的に観察を行った。また、培養0日目、4日目、7日目に4% PFA固定液を用いて固定、脱水後、アルシアンブルー、アリザリンレッドを用いて透明骨格標本作製、比較検討を行った。

【結果および考察】ヘッジホッグシグナル阻害剤である、シクロバミンを用いたものでは、増殖軟骨細胞層の減少など、増殖が抑制されることを確認した。

P-34

多孔質性カルシウム製材のタンパク質徐放性

3103

富永 和也

キーワード：多孔質性カルシウム製材, タンパク質徐放性

【目的】エナメル基質タンパクをラット背部に皮下注射すると軟骨が形成され、その軟骨周囲組織には多数の好酸体が出現する。この好酸体の分析によって、得られたアミノ酸配列と同配列のペプチドを人工的に作製し、ラット背部に徐放性を付与して皮下注射した場合、骨と軟骨とが形成されるが、徐放性がない場合は7日程度で完全吸収される。今回、スキャホールドとしての多孔質性カルシウム製材 (POCA) にアルブミンを添加してPOCAの徐放性について検討した。

【材料および方法】医薬品の溶媒として用いられるプロピレングリコール (PG) とリン酸緩衝液 (PBS) との等量混合液1 mLにウシ血清アルブミン15 mg (Alb) を溶解させたものを対照群試料とし、陰圧をかけてPOCA中に同溶液を浸み込ませたものを実験群試料とした。それぞれの試料0.5 mLをPBS 6.5 mLを入れた遠沈管内に静置した。遠沈管中の試料の上清を14日後まで、経日的に採取した。Coomassie Brilliant Blue Gを利用して、波長590 nmの吸光度を計測し、採取したPBS中のAlb濃度を比色定量法により測定した。

【結果および考察】対照群のAlb濃度は実験期間を通して大きな変化はなかったが、実験群では5日目まで経日的にAlb濃度は上昇した。すなわち、蛋白質を浸み込ませたPOCAはPBS内にてタンパク質を徐放していた。以上より、POCAは、徐放性をもったスキャホールドとして利用できる可能性が示唆された。

P-35

ラット頭蓋冠上の骨新生における足場とシグナルの効果

2202

森 慎一郎

キーワード：垂直的骨増大, ラット頭蓋冠モデル, 足場, シグナル

【目的】組織再生においては、「足場」「細胞」および「シグナル」が必要とされる。本研究では、ラット頭蓋冠上の垂直的骨増大術モデルにおいて足場とシグナルの骨新生効果を比較・検討した。

【材料および方法】10週令オスのSDラットを50匹使用した。①徐放性担体 (MedGel[®]) のみとMedGel[®]にそれぞれ②シンプラスチン、③ブラバスタチンあるいは④BMP-2を含浸させた実験群および⑤ β -TCPを添入した5つの実験群に分けた。麻酔下でラット頭頂部で皮膚骨膜弁を作成し、各群のチタンキャップを2個ずつ設置後に縫合した。8週間後にラットを安楽死させて標本作製し、H・E染色、TRAP染色、OCN、OPN、sclerostin (SOST)、PCNAおよびED1を用いた免疫染色を行った。また、各実験群の骨新生量を定量した。

【結果および考察】 β -TCP添加群では β -TCP顆粒が残存しており、周囲には成熟した新生骨を認め、新生組織中における骨髓組織の占める割合が低かった。MedGel[®]を担体とした実験群ではrhBMP-2添加群のみが骨新生を有意に促進した ($p < 0.05$)。新生骨周辺にはOCN陽性細胞、新生骨中にはOPNとSOST陽性細胞を認めた。いずれの実験群においても新生骨周囲骨髓中の細胞が活発に増殖していた。ED1陽性細胞は骨髓および軟組織中では単核で骨周辺では多核であった。新生組織中の骨髓組織の割合と多核マクロファージ系細胞の浸潤様態が骨新生量に影響する可能性がある。垂直的骨増大術においてはシグナルよりも足場の工夫が有効な可能性が考えられた。

P-36

ゼラチンハイドロゲル, 歯根膜細胞, rhFGF-2を併用した歯周組織再生-イヌ根分岐部骨欠損-

2504

星 嵩

キーワード：ゼラチンハイドロゲル, PDL, rhFGF-2

【目的】歯周組織再生治療においてティッシュエンジニアリングの概念が応用されてきた。歯根膜細胞 (PDL) や線維芽細胞増殖因子 (rhFGF-2) を使用した報告が数多くされている。しかしながら、細胞、細胞増殖因子、スキャフォールドを全て併用した歯周組織再生における報告は少ない。本研究ではイヌ根分岐部骨欠損にゼラチンハイドロゲルをスキャフォールドとし、rhFGF-2、PDLを併用し、歯周組織の治療を観察することを目的とした。

【材料および方法】ビーグル成犬5頭 (オス) を使用した。上顎第二・三前臼歯にII度根分岐部欠損 (垂直的5mm, 頬舌2mm) を作製し、ゼラチンハイドロゲルをスキャフォールドとしPDL・rhFGF-2群, PDL群, rhFGF-2群, スキャフォールドのみの群とランダムに適用した。術後8週で屠殺・還流固定し、標本ブロックを採取した。計測はマイクロCTにて行った。脱灰切片を作製し、H.E.染色およびAzan染色を行い、光学顕微鏡下で組織学的に評価を行った。本研究は、東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得た上で行った。

【結果および考察】口腔内所見では著明な炎症は認められず良好な治癒が認められた。マイクロCTでの計測ではゼラチンハイドロゲル, PDL, rhFGF-2を全て併用した群が他の群に比べ、水平的、垂直的な骨形成量が大い傾向を示した。本研究の結果から歯周組織再生治療においてスキャフォールド, 細胞, 細胞増殖因子を併用する治療法の有効性が示唆された。本研究で使用したrhFGF-2は科研製薬株式会社より提供された。本研究は文部科学省科学研究費補助金により行われた。

P-37

3104

微小気泡と超音波遺伝子導入法を併用した歯肉への *in vivo* 遺伝子導入

菅野 真莉加

キーワード：超音波遺伝子導入法、微小気泡、歯肉

【目的】 目的とする遺伝子を歯周組織局所で発現誘導することは、歯周治療における創傷治癒促進や組織再生のために有用であると考えられる。これまでに我々は、微小気泡として独自に開発してきたバブルリポソーム (Bubble liposome; BL) を超音波と併用し、様々な生体組織において遺伝子導入を行い、高い導入効率を示してきた。そこで本研究では、超音波とBLを用いて歯肉への遺伝子導入を行い、歯周治療への応用の可能性について検討した。

【材料および方法】 7週齢 Wistar rat の下顎切歯唇側歯肉にBLとプラスミド (ルシフェラーゼまたはEGFP) の混合溶液を注入し、直後に超音波を照射した (1MHz, 50% duty cycle, 0-4.0W/cm², 0-120秒)。導入効果の評価は、経時的に剥離回収した歯肉のタンパク量当たりのルシフェラーゼ活性の測定と、導入部位から作製した脱灰凍結切片の組織学的観察によって行った。

【結果および考察】 BLと超音波の併用群において、他群に比べて有意に高いルシフェラーゼ活性が認められた。また、組織学的評価の結果、超音波照射部位の歯肉上皮および結合組織に明瞭なGFP発現細胞が観察された。導入部位における組織障害性や合併症は局所のおよび全身的にも認められなかった。本結果より、超音波遺伝子導入法に微小気泡としてBLを併用すると、導入効率が増強することが示された。ただし、本導入法は標的組織ごとに超音波条件などを最適化する必要がある、歯周治療への応用に際しては更なる効率化に向けた検討が必要である。また、今後は候補となる治療用遺伝子の導入も行い、その効果を評価する必要がある。

P-38

2499

Par14はIRS-1と結合することによりインスリン誘発性のIRS-1リン酸化を増強し、糖・脂質代謝を向上させる

新城 尊徳

キーワード：Par14、インスリンシグナル、IRS-1

【目的】 近年、Peptidyl-prolyl cis trans isomerase (PPIase) であるPin1がインスリン受容体基質1 (IRS-1) に結合しインスリンシグナル増強に働くことが報告されている。その一方でPin1にはPar14という異性体が存在するが、その機能については未だ大部分が解明されていない。そこで、Par14がIRS-1との結合能を有するか、またその場合におけるインスリンシグナルへの影響および糖・脂質代謝への影響を検討することとした。

【材料および方法】 Par14とIRS-1の結合を検討するため、タグ化したPar14を過剰発現させたヒト肝臓がん由来細胞株HepG2細胞を用いて免疫沈降法を行った。次に、HepG2細胞にPar14を過剰発現・発現抑制した際のインスリンシグナルへの影響を同シグナル下流分子について検討した。また、ob/obマウス・Pin1KOマウスの肝臓特異的にPar14をそれぞれ過剰発現・発現抑制した際の糖・脂質代謝について検討を行った。

【結果および考察】 Par14はIRS-1と結合し、HepG2細胞にPar14を過剰発現するとインスリンシグナルは増強し、発現抑制すると減弱した。ob/obマウスでは肝臓特異的にPar14過剰発現によって糖新生系の抑制・脂肪合成系の亢進が見られた。Pin1KOマウス肝臓特異的にPar14発現抑制すると糖新生系の亢進・脂肪合成系の抑制が見られた。以上より、Par14はIRS-1に結合し、インスリンシグナル増強効果を発揮することが分かり、この作用は歯周病などによるインスリン抵抗性改善に有益な効果をもたらす可能性が示唆された。

P-39

2299

高グルコース条件下によるヒト歯根膜由来血管内皮細胞の影響

丸山 昂介

キーワード：高グルコース、血管内皮細胞、アポトーシス

【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、口腔内の慢性疾患である歯周病は、冠動脈心疾患や糖尿病といった全身疾患との関連性が報告されている。特に糖尿病の合併症の一つとして微小血管障害があるが、ヒト歯根膜由来血管内皮細胞との関連性を報告したものはない。そこで本研究では、高グルコース条件下におけるヒト歯根膜由来血管内皮細胞の影響を検討することを目的とした。

【材料および方法】 ヒト歯根膜由来血管内皮細胞は、歯根膜線維芽細胞を抜去歯の歯根膜から獲得し、継代培養後、抗CD31コーティング・マグネットビーズにて分離した。獲得した細胞は、高血糖群 (グルコース200mg/dl) とコントロール群 (100mg/dl) の2群に分け、それぞれ培養した。培養した細胞は、細胞増殖能、フローサイトメトリーによってアポトーシス陽性細胞の割合を測定した。また、マトリゲル基底膜マトリックスを基質とした培養により、管腔形成の経時的変化を観察した。コントロールには、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。

【結果および考察】 ヒト歯根膜由来血管内皮細胞は、高血糖群では、コントロール群と比較して、細胞増殖速度が遅く、アポトーシス陽性細胞の割合が増加した。また、管腔形成の経時的変化では、高血糖群にて、管腔形成が遅延する傾向を認めた。本研究の結果より、糖尿病は、歯周組織の微小血管障害を惹起し、歯周病の病態を悪化させると考えられる。

P-40

2202

糖尿病モデルラットの歯周組織創傷治癒に fibroblast growth factor (FGF)-2 が及ぼす影響

備前島 崇浩

キーワード：糖尿病、歯周組織再生、FGF-2

【目的】 糖尿病は歯周病の重要なリスクファクターである。コントロールされていない糖尿病患者では、歯周組織の治癒に問題があることが指摘されている。歯周組織再生療法の臨床応用が進むなかで糖尿病患者における再生療法の効果については未だ不明な点が多い。そこで本研究では糖尿病モデルラットに形成した歯周組織欠損にFGF-2を応用し、治癒に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】 10週齢の雄性Wistarラットにストレプトゾトシンを投与し糖尿病を誘発させた。発症確認後、両側上顎臼歯部に外科的に歯周組織欠損を作成し実験側には0.3% FGF-2、対照側にはhydroxypropyl cellulose (HPC) のみを応用した。術後2週で安楽死させマイクロCT撮影後、通法に従い固定、脱灰した。その後厚さ5μmのパラフィン切片を作成し、H-E染色、PCNAによる免疫染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

【結果および考察】 組織学的観察では糖尿病群で上皮の深行増殖が観察された。PCNAによる免疫染色では糖尿病群に比べて健常群で欠損部の新生骨周囲に陽性細胞が多く観察された。マイクロCTによる骨梁構造解析では糖尿病群で新生骨の骨体積、骨梁数と幅が有意に少なかった ($p<0.05$)。FGF-2の応用により、糖尿病群で上皮の深行増殖は抑制されていたが、セメント質新生は健常群にのみ観察された。またFGF-2の応用により糖尿病群でも骨体積、骨梁幅がHPC群に比べて有意に大きかった ($p<0.05$)。以上より、FGF-2は糖尿病ラットにおいて、健常群より劣るものの歯周組織の治癒を促進することが示唆された。

P-41

2504

Porphyromonas gingivalis LPSが2型糖尿病モデル
ラットの骨髄細胞の硬組織分化誘導に与える影響
奥田 麻貴子

キーワード：2型糖尿病，骨髄細胞，硬組織分化

【目的】歯周病は糖尿病の第6番目の合併症であり，双方向的関係は従来より報告されている。しかし，糖尿病が硬組織分化誘導に与える影響について報告は少ない。今回，ラット骨髄細胞の硬組織分化誘導に及ぼす*Porphyromonas gingivalis* LPSとグルコース濃度の影響について検討した。

【材料および方法】生後8週齢のGK雄性ラットから骨髄間葉細胞を採取し，培養3代目を実験に供した。通常のグルコース濃度を5.5 mMとし，高濃度のグルコース濃度を25 mMとしLPS無添加群，低濃度LPS添加群，高濃度LPS添加群と6つの培養系で硬組織分化誘導を行った。評価として分化誘導開始7日目のALP活性をELISA法で，28日目のOsteocalcin mRNAの発現をリアルタイムPCR法で，石灰化するナトリウムカルシウムの析出について比色定量法とアリザリンレッド染色にて比較，検討を行った。

【結果および考察】7日目のALP活性，28日目のOsteocalcin mRNAの発現，カルシウムの析出ともにLPSの刺激によって低下し高濃度LPSの刺激によってより低下することが分かった。グルコースに関しても高濃度のほうが低濃度に比べて硬組織分化誘導が低下することが分かった。以上のことから硬組織を誘導する歯周治療を行う場合，術前の口腔内の歯周病原細菌の量，体内のグルコース濃度が予後に大きな影響を及ぼすことが示唆された。

P-42

2504

糖尿病患者における歯周病原性細菌の血清抗体価
に関する調査

飯島 佑斗

キーワード：糖尿病，血清抗体価

【目的】歯周病は糖尿病の6番目の合併症と言われている。前回，糖尿病合併症と歯周病との関連について報告したが，今回は内科における歯周病のスクリーニングテストとして歯周病原性細菌の血清抗体価が有用であるかどうか調査した。

【材料および方法】被験者は，2010年7月から2011年12月までに慶應義塾大学病院腎臓・内分泌・代謝内科に入院または外来受診した糖尿病患者のうちすべての同意が得られ，治療を終了し再評価まで行った患者32名とした。被験者には初診時の歯周精密検査を施行後，歯周病の状態に合わせて歯周基本治療を行い，1ヶ月後に再評価した。評価項目は以下の通り。

○背景因子：年齢・性別・体格指標（BMI）・糖尿病罹患期間・血圧・既往歴

○血液指標：血清抗体価（*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*:A.a., *Eikenella corrodens*:E.c., *Prevotella intermedia*:P.i., *Porphyromonas gingivalis*:P.g.）・HbA1c・随時血糖値・白血球数・総コレステロール・HDL・LDL・中性脂肪・C-ペプチド

○口腔内診査：現在歯数・プロービングポケットの深さ（PPD）・プロービング時の出血（BOP）・動揺度・重症度

【結果および考察】初診時の歯周病所見とP.g.の血清抗体価は相関を認め，抗体価が高いほど歯周病症状も進行していた。また歯周基本治療を行うことによって，治療前と比較してP.g.の血清抗体価は有意に減少した。

糖尿病患者の歯周病罹患状態の評価において，血清抗体価検査は有用であると言える。

P-43

3001

滋賀県における歯周病と糖尿病との関連性による
歯科医科連携推進事業
＜第1報＞計画の立案，実行，評価について

小川 益弘

キーワード：歯周病，糖尿病，歯科医科連携

【目的】歯周病は糖尿病の第6の合併症とされている。滋賀県においては糖尿病患者への歯周治療を円滑にすすめる為に，県の事業として平成23年度より「糖尿病治療における歯科医科連携推進モデル事業」が開始された。今回その事業計画の立案，実行，評価について報告する。

【材料および方法】歯科医師12名（歯周病専門医3名含），医師会1名，病院内科2名（糖尿病専門医2名），病院歯科2名からなる連携推進協議会が事業を立案した。まず県民への啓発事業としてポスター，テレビCMの作製が企画され県内7つに分けられた各ブロックにて講演会，研修会，内科医との検討会が行われた。さらに，歯科医科連携の進展状況を紹介患者数で把握する為に滋賀県歯科医師会会員474診療所，病院口腔外科15病院を対象にアンケート調査を行った。事業内容は評価委員会にて評価された。

【結果および考察】評価委員会の評価は概ね良好であり，研修会には歯科医師の他，歯科衛生士，医師，看護師，薬剤師，保健師，管理栄養士，行政職員が参加した。患者情報提供数については滋賀県歯科医師会会員診療所における連携件数が117件（25%），病院口腔外科における院内，外部診療所との連携が344件（75%）であり医科から歯科への患者情報提供数は311件（67%），歯科から医科への患者情報提供数は150件（33%）であった。連携様式については紹介状を用いての連携様式が多かった。今後は今回の評価結果を踏まえ，問題点を改善し歯科と医科のより緊密な連携体制構築に向けての検討を継続していく必要があると考える。

P-44

2203

滋賀県における歯周病と糖尿病との関連性による
歯科医科連携推進事業
＜第2報＞糖尿病患者の歯周病原性細菌の検索

高山 真一

キーワード：糖尿病，*Porphyromonas gingivalis*，*FimA* genotype

【目的】糖尿病患者に重度歯周炎が多く認められるが，その理由はまだ明らかにされていない。我々は，糖尿病患者に認められる歯周病原性細菌が健常者の歯周病患者と何らかの違いが認められるのかどうかを検索した。

【材料および方法】滋賀県歯科医師会会員の歯科診療室（16診療所）を受診した患者のうち，98名の唾液検体のP.g. A.a. T.f. T.d.の半定量検査をBML社にて外注依頼した。唾液検体からP.g.が一定量以上検出された60検体について，P.g.の*FimA* genotype I型からV型の検出有無を調べた。このうち糖尿病罹患の有無が確認できた58検体について，糖尿病罹患とP.g.の*FimA* genotypeに傾向が認められるかどうかを検索した。

【結果および考察】糖尿病罹患患者52名と健常者患者44名の唾液中に検出されるP.g. A.a. T.f. T.d.の多寡による分布に統計学的な相違は認められなかった。P.g.の*FimA* genotypeの解析結果では，糖尿病患者でI型陰性がやや多く観察される傾向が認められた（ $p=0.067$ ）。また，糖尿病患者でIV型陽性およびV型陽性がやや多く観察された（ $p=0.380$ ， $p=0.164$ ）。現存歯数や歯周病罹患の重篤度を基にした解析を行ったが，統計学的に有意な差は認められなかった。糖尿病患者において特徴的なP.g.の*FimA* genotypeの分布があるかどうか今後の詳細な検討が必要であろう。

【研究協力者】佐藤誠，住井正勝，大槻芳夫，高森泰彦，堀口徹，山口成司，澤秀樹，松井泰成，植野淳，原田直一，加藤順子，西村貴宏（滋賀県歯科医師会）

P-45

2499

Porphyromonas gingivalis 感染が関節リウマチ発現に及ぼす影響についての実験的解析

山川 真宏

キーワード: *Pg* 感染, シトルリン化, 関節リウマチ

【目的】歯周炎は, *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) を主とした感染症であり, 関節リウマチ (RA) などの全身疾患との関連が報告されている。近年, 抗環状シトルリン化タンパク (CCP) 抗体の陽性化がRA診断に重要なマーカーになっている。この抗体が認識するシトルリン化タンパクは*Pg*によって生成されるという報告がある。そこで本研究では, *Pg*感染がRA発症にどのように影響するかについて検討した。

【材料および方法】ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) を培養後, *Pg* W83 (10^8 CFU/ml) と共培養し, シトルリン化タンパクをWestern blotting法にて解析した。またRAモデルとしてSKGマウス (日本クレア) にLaminarin (LA, 1μg/g/mice) を腹腔内投与したものを用いた。実験群は, ①*Pg* (4.0×10^6 CFU/g/mice) とLA (*Pg*+LA群), ②LAのみ (LA群), ③PBSのみ (PBS群) を28日後に解析した。*in vivo*の実験では関節炎の評価にArthritis score (AS) を用いた。また, *Pg*およびCCPに対する血清抗体価と, MMP-3産生量をELISA法によって解析した。

【結果および考察】HGF構成タンパクは*Pg* W83, 3分間の処理でシトルリン化された。*in vivo*の実験では①*Pg*+LA群では, ②LA群および③PBS群と比較して, ASの有意な上昇がみられた。*Pg*に対する血清抗体価は, ①*Pg*+LA群が, ②LA群および③PBS群と比較して上昇が認められた。また, CCPに対する血清抗体価および血清中のMMP-3量は, ①*Pg*+LA群が, ②LA群および③PBS群と比較すると, 有意な上昇が認められた。本研究から, *Pg*は歯周組織局所のタンパクのシトルリン化を介して, RAを誘導または増悪に関与することが示唆された。

P-47

2203

Porphyromonas gingivalis 口腔感染により進展する動脈硬化におけるインフラマソームの関与

山口 陽平

キーワード: 歯周病原性細菌, 動脈硬化, インフラマソーム

【目的】近年の疫学的研究から歯周疾患が動脈硬化の誘因となることが示唆されている。また動脈硬化病巣から歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の存在が確認されている。*P. gingivalis* 感染が動脈硬化の発症機序に関与する要因には数々のものがありその一つにインフラマソームがあげられるが, その詳細な機序については明らかではない。そこで我々は, *P. gingivalis* 感染による動脈硬化発症機序におけるインフラマソームの関与を検討した。

【材料および方法】11週齢雄のApoe^{shl}マウスにCMC (カルボキシメシルセルロース) に懸濁した*P. gingivalis* ATCC33277株, *P. gingivalis* ATCC33277由来のジンジバイン欠損株, 線毛欠損株, あるいは基剤のみを口腔より投与した (5回/週×3週)。感染終了の4週間後に, 麻酔後眼窩静脈叢より採血を行った。その後安楽死させ, 心臓, 大動脈弓, 肝臓, 脾臓, 上顎骨, 歯肉を採取した。上顎骨はマイクロスコブを用いて歯槽骨吸収度を測定した。心臓の組織切片を作成し脂肪染色することで動脈硬化の進展度を, また大動脈弓及び歯肉組織からRNAを精製し動脈硬化関連遺伝子の発現レベルについて解析を行った。

【結果および考察】*P. gingivalis* ATCC33277感染群は欠損株群と比較して歯槽骨吸収, 動脈硬化進展度 (大動脈洞内のプラーク形成面積), 歯肉と大動脈におけるNLRP3遺伝子発現の有意な上昇を認めた。以上の結果から, 歯周病原性細菌感染によりNLRP3が誘導する炎症反応を介して動脈硬化を発症する重要な役割を担っている可能性が示唆された。

P-46

2402

関節リウマチ患者における歯周状態のTNF標的療法反応性に及ぼす影響

横山 智子

キーワード: 関節リウマチ, 歯周炎, TNF標的療法

【目的】関節リウマチ (RA) と歯周炎は病因・病態の点で共通性が認められ, 腫瘍壊死因子 (TNF) 標的療法によってRAと同様に歯周状態にも改善をもたらすことが報告されている。しかし, 歯周炎の併発がTNF標的療法に及ぼす影響については未だ検証されていない。そこで, ヒト型抗ヒトTNF-αモノクローナル抗体製剤 (アダリムマブ) 投与後反応性への歯周炎併発の影響を検証するため, 第一段階として, アダリムマブ投与前後の歯周・RA臨床指標の評価ならびに血清タンパク質の網羅的解析を行った。

【材料および方法】インフォームドコンセントが得られた, アダリムマブ投与予定の歯周炎併発RA患者4名, 歯周炎非併発RA患者4名について, 投与前と投与3カ月後にRA検査, 歯周検査, 血液採取を行った。投与前後における臨床指標を比較, TNF-α, インターロイキン6 (IL-6) についてELISA測定を行った。各群1名について, SYPRO Ruby染色にて2次元電気泳動を行なった。

【結果および考察】RA活動度は全被検者で投与前より軽減し, 予後は歯周炎併発群, 非併発群ともに良好であった。投与前後では歯周炎併発群でPD, CALに有意な改善が, 歯周炎非併発群では血清中のリウマチ因子 (RF), TNF-α, IL-6レベルが有意に減少した。また, 血清タンパク質の2次元電気泳動には, 投与前後でスポット強度の変動が認められ, アダリムマブ投与による血清タンパク質への影響が示唆された。今後は, 変動の見られたスポットと歯周炎併発の影響, 臨床指標との関連について検証する。会員外共同研究者: 村澤 章博士, 伊藤 聡博士, 小林 大介博士 (新潟県立リウマチセンター)

P-48

2402

歯周病の新重症度分類を用いた心臓血管疾患患者の分析

岩井 由紀子

キーワード: 新重症度分類, 心臓血管疾患, 高感度CRP

【目的】近年, 歯周病と心臓血管疾患との関連が疫学的に報告されている。しかし, システマティックレビューはほとんど存在しない。その理由の一つとして歯周病を評価する統一基準がなかったことがあげられる。そこで, 本研究では日本歯周病学会が策定した高感度CRP値と骨吸収率による新重症度分類を用いて, 心臓血管疾患患者の分析を行い, 高感度CRPと同じ急性炎症タンパクの一つである血清アミロイドA (serum amyloid A: SAA) の炎症マーカーとしての有用性も検討することを目的とする。

【材料および方法】松本歯科大学病院人間ドックを受診した患者に対して, 高感度CRP値, 血中SAA濃度の測定を行った。また, パノラマX線写真からScheiらの歯槽骨吸収率を求めた。心臓血管疾患患者群, コントロール群に分け, 新重症度分類を用いて各々の群における患者の歯周病の重症度の分布を求めた。また, 高感度CRP値と血中SAA濃度との相関を調べた。

【結果および考察】心臓血管疾患患者を新重症度分類にて分類したところ, I A群がもっとも多く, II A群, I B群と続いた。また, 高感度CRP値と血中SAA濃度間に相関が認められた。今後, 新重症度分類を用いてデータを蓄積し, 日本人における全身疾患と歯周病の関連を追及していきたい。

P-49

歯周炎と骨密度の関係にIL-6遺伝型が与える影響の解析

2499

花井 悠貴

キーワード：IL-6, 遺伝型, 骨減少症

【目的】従来国外で歯周炎との関連性が多く報告されているIL-6プロモーターの-174G/C多型の頻度は、日本人では極めて低い。そこで今回我々は、日本人閉経後女性について、IL-6 -572C/G多型が、歯周炎と骨代謝に対しどのような影響を与えているかを調べた。

【材料および方法】新潟市横越地区の閉経後女性300名の血液より、抽出したゲノムDNAについて制限酵素切断断片長多型法にてIL-6 -572C/G多型を決定し各遺伝型における骨代謝関連血清データ (NTX, Osteocalcin, Vitamin D)・歯周病臨床データ (PD, LA, BOP) を比較・考察した。また、この遺伝子多型が骨密度と歯周炎の関係に影響を与えるか否かを統計学的に解析した。大腿骨近位におけるBMDの値が、若年成人平均値に比較し80%以上を健康者とし、80%未満の者を骨減少症者として分類した。

【結果および考察】血清中のOsteocalcinにおいて、IL-6 -572C/Gの遺伝型間に有意差が見られた (Kruskal-Wallis test: $P=0.020$)。また、Gアレルの非保有者においてのみ、健康者に比較して骨減少症者におけるPD ≥ 4 mmの部位の割合が高く (Mann-Whitney U test: $P=0.021$)、Gアレル保有者では同様の差は認められなかった。

結論として、IL-6-572C/G多型が骨密度と歯周炎の関係に影響を与える可能性が示唆された。

P-50

新規マウスモデルを用いた非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に対する予防及び治療効果の検討

2402

小沼 邦葉

キーワード：慢性炎症, LPS, 脂肪性肝炎

【目的】非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は、メタボリックシンドロームの肝臓における表現型と考えられ、肝硬変や肝臓に進展し得る病態として注目されている。病態の進行には歯周病原細菌を含むグラム陰性桿菌由来のLPSなどの関連が指摘されるが、その発症機序には不明な点が多く、有効な治療法も確立していない。本研究では、我々が確立した新規NASHモデルを用いて、脂肪肝に対するエイコサペンタエン酸 (EPA) の効果を検討した。

【材料および方法】メラノコレチン4型受容体欠損マウス (MC4R-KO) に対して、高脂肪高ショ糖食にEPAあるいはパルミチン酸 (対照) を5% (w/w) 混和した飼料を投与した。予防的投与としてEPA混餌飼料を24週負荷し、治療的投与としてNASH発症後に4週負荷し観察した。

【結果および考察】予防的投与では、体重や脂肪組織重量は両群間に差を認めなかったが、肝重量、肝中性脂肪含量および血中ALT値はEPA群で著明に減少した。組織学的解析では、EPA群において、脂肪肝の改善のみならず、線維化領域の減少を認めた。一方、治療的投与群では脂肪肝の改善と線維化進展の抑制が認められた。このように、MC4R-KOにおいて、EPAによる肝脂肪蓄積や肝線維化の抑制効果が認められたことから、EPAはNASHの発症・進展予防に有効である可能性が示唆された。

P-51

入院中の妊婦における歯周組織の状態

2499

横山 知美

キーワード：妊婦, 歯周組織, 入院

【目的】妊婦は増加する女性ホルモンの影響で歯肉炎等の問題が起きやすいことが知られている。しかし、妊婦が切迫早産などで入院を余儀なくされると、数ヶ月にわたって歯科に通院することが困難となる場合がある。そこで、今回入院中の妊婦において、歯周組織がどのような状況にあるのかを調査したので、報告する。

【材料および方法】対象は日本医科大学多摩永山病院女性診療科・産科に入院中の、同意の得られた妊婦95名とし、16, 11, 24, 36, 31, 44の6歯について、歯周組織の状態を6点法にて測定した。測定項目はプラーク指数 (PII), プロービングデプス (PD), プロービング時の出血 (BOP) とした。

【結果および考察】入院中の妊婦の平均年齢は33.7歳 (19~44歳)、平均妊娠週数は30週 (7~38週) であった。入院理由は、約半数が切迫早産であり、その他、子宮内胎児発育不全や重症妊娠悪阻などであった。歯周組織の状態は、平均PIIが0.44、平均PDが2.2mmであり、BOPは平均で被検部位の17.7%に認められた。PDが4mm以上の部位は被検者の56.8%に認められ、前歯部よりも臼歯部に多く認められた。BOPが20%以上の者は被検者の31.6%であり、50%以上の者も6.3%に認められた。

入院中の妊婦の口腔衛生状態は比較的良好に保たれていたが、歯周治療が必要と考えられる妊婦も存在した。このような妊婦を早期に発見し、入院となる前から対処することが望ましいと考えられた。

なお、この研究は日本歯科大学附属病院および日本医科大学多摩永山病院の倫理委員会の承認を得ている。

P-52

唾液を用いた高齢者の口腔健康状態把握のための基盤的研究

2906

福井 誠

キーワード：唾液, サイトカイン, 高齢者

【目的】唾液中には各種サイトカインを含む様々な生理活性物質が存在する。唾液は血液に比べて侵襲性なく容易に採取することができるため、臨床検査の検体としての利用が期待されている。高齢者を対象として、唾液を試料とする非侵襲性の新しい口腔健康状態検査法を開発することを目標として、そのための基盤的データを得るために本研究を実施した。

【材料および方法】徳島大学病院歯科診療部門を受診している65歳以上の患者44名 (男性22名、女性22名、平均年齢 73.7 ± 5.5 歳) からインフォームド・コンセントを得た後に、全身健康状態と服薬情報を詳細に聴取するとともに、唾液の採取と歯周組織検査を行った。唾液はサリベットコットンを用いて刺激唾液を採取した。唾液中サイトカインは、Bio-Plexサスペンションアレイシステムにて、IL-1 α , IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-18, IFN- γ , LIF, M-CSF, MIG, PDGF-bb, TNF- α , VEGFの15種のサイトカイン濃度を測定し、歯周状態および全身状態や服薬状態との関連性を多角的に分析した。

【結果および考察】有歯顎者は無歯顎者に比べて唾液中IL-1 β およびLIF濃度が有意に高かった。また歯周疾患を有する者は歯周組織が健康な者に比べて唾液中の炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α) 濃度が有意に高かった。今後は対象者を増やすとともに、歯周治療による歯周組織の健康状態の改善と、上記サイトカインの唾液中濃度の変動との関連性を縦断的調査で確認したい。

P-53

3102

歯根穿孔と歯周骨内欠損を併発した部位に対して
超高気孔率ハイドロキシアパタイトにて対処した
症例：3ヶ月予後

白井 義英

キーワード：歯根穿孔，歯周骨内欠損，超高気孔率ハイドロキシアパタイト

【目的】慢性歯周炎により生じた歯周骨内欠損へ超高気孔率ハイドロキシアパタイトの応用については，過去の学会にて発表した様に成果を得てきた。そこで，今回は歯根穿孔と歯周疾患により骨内欠損を生じた部位に対して，穿孔部を閉鎖後，超高気孔率ハイドロキシアパタイトを応用して治療を行った3ヶ月予後について評価を行った。

【材料および方法】当医院にて歯周基本治療終了後に同意の得られた患者（男性，49才）を被験者とした。歯根穿孔部へは接着充填材料にて閉鎖，超高気孔率ハイドロキシアパタイトを過不足無く埋塞，歯肉弁にて完全に被覆した。臨床評価については術前と術後3ヶ月におけるポケット深さ（PD），クリニカルアタッチメントレベル（CAL），規格エックス線写真より計測された骨欠損深さ（IBD）を用いた。また，計測にはステントを用いて規格化する様に実施した。

【結果および考察】術前では，PDは6mm，CALは6mm，IBDは6mmであったものが，3ヶ月予後では，PDは3mm，CALは3mm，IBDは2mmと骨欠損の改善が有意に行われていることを認めた。今回は，歯周骨内欠損がその他の要因により2次的に生じた歯周疾患による骨吸収を生じたものであるが，原因除去を確実にすることにより，様々な原因等により歯周疾患を併発し骨吸収を生じる様な症例においても，さらなる応用が可能になると思われる。

P-55

2504

慢性歯周炎に対する抗菌光線力学療法の有効性に関する臨床的検討

林 鋼兵

キーワード：抗菌光線力学療法，歯肉溝滲出液，歯周病原細菌

【目的】慢性歯周炎に対し抗菌薬を用いた薬物療法は，耐性菌や副作用等の問題を有する。そこで，抗菌光線力学療法（a-PDT）が注目されている。a-PDTはメチレンブルー（MB）などの光感受性物質に低出力半導体レーザーを照射することで一重項酸素を発生させ，細菌を殺菌する治療法であるが，慢性歯周炎に対する有効性は未だ不明である。そこで，慢性歯周炎患者にSRPとa-PDTを併用した際の治療効果を臨床パラメータ，歯肉溝滲出液（GCF）量，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）酵素活性および細菌学的評価から検討した。尚本研究は，明海大学歯学部倫理委員会の承認のもと実施した（承認番号：A1012）。

【材料および方法】明海大学病院歯周病科に来院した慢性歯周炎患者7名に対し，SRPのみ行うCont群，SRP後MBを注入するMB群，レーザー照射を行うレーザー群，MB注入後，レーザー照射を行うa-PDT群を無作為に設定し，処置前，後4週（4w）のPII，GL，PPD，BOP，GR，CAL，GCF量，AST酵素活性，各種細菌の総菌数，*P. gingivalis*（*P. g.*），*A. actinomycetemcomitans*（*A. a.*），*T. denticola*（*T. d.*），*T. forsythia*（*T. f.*），*P. intermedia*（*P. i.*）の菌数および対総菌数比率を求めた。

【結果および考察】PPD，CAL，GR，PII，AST酵素活性，細菌検査結果では，術前，4wを比較し群間の有意差を認めなかった。BOPは，a-PDT群が52%（術前）から7.1%（4w）と減少傾向を認め，GCF量はa-PDT群が最も減少していた。以上の結果からa-PDT群で，BOP，GCF量が減少したことから，慢性歯周炎治療において，SRPとa-PDTの併用療法の有効性が示唆された。

P-54

2504

重度のニフェジピン歯肉増殖症患者に対し，SRP
および歯周外科治療で良好な結果を得た一症例
宮田 隆

キーワード：ニフェジピン歯肉増殖症，歯周外科，コルヌス義歯

【目的】ニフェジピン歯肉増殖症は降圧剤の一種であるカルシウム拮抗剤による副作用と考えられている。本症例は同系の降圧剤を長期服用し，深刻な歯肉増殖症状を呈していた。徹底的な口腔衛生指導に加え，SRPおよび歯周外科を施行したところ，良好な歯周病のコントロールができ，最終補綴をコルヌス義歯で対応した。【材料および方法】患者は65歳の男性で，10年以上カルシウム拮抗剤を服用していた。数年前から，深刻な歯肉増殖症状が発現し，近医を受診したが，対応できないと断られ，紹介で本院を受診した。歯周ポケット（仮性を含む）は測定不可能なほど深く，一部は歯牙を覆うほどに増殖していた。SRPを全歯牙に対して行ったところ，症状の緩解が認められ，一部ポケットの改善が認められなかった部位には歯周外科を行った。

【結果および考察】ニフェジピン歯肉増殖症はカルシウム拮抗剤の副作用として多くの報告がある。それらを総覧すると，カルシウム拮抗剤を一時的に中止することによって緩解したケースが多い。本症例は投薬を中止することなく，極めて良好な治療成果が得られた。その原因として，早期にプロビジョナル・レストレーションにて咬合回復を図ったこと。禁煙指導，栄養指導など，増殖を促進するリスク因子の排除に徹底したこと。さらに，ニフェジピン歯肉増殖症促進因子として不良な口腔環境が指摘されていることから，口腔衛生指導を徹底し，さらに，歯根面のデブリメントが奏功したものと考えられた。

P-56

2308

慢性歯周炎の急性症状に対するシタフロキサシン
経口投与の効果について

笠井 俊輔

キーワード：シタフロキサシン，急性症状，歯周病原細菌

【目的】慢性歯周炎の急性症状を呈する患者に対し，シタフロキサシン（STFX）を経口投与し，臨床所見および歯周ポケット内の歯周病原細菌への効果について検討した。

【材料および方法】慢性歯周炎の急性症状を呈している患者30名を対象とした。急発部位（A）を実験群とし，同一口腔内で同程度のブロービングデプスを有する部位（C）を対照群とした。臨床所見の診査後，歯周ポケット最深部より歯肉縁下プラークをペーパーポイントで採取し，PCR-Invader法で歯周病原細菌5菌種の検出を試みた。サンプリングは，STFX投与（100 mg/day，5日間）前（A1，C1）と投与後6～8日（A2，C2）に行った。

【結果および考察】STFX投与後，A群で臨床所見の項目のうち動揺度以外のすべての項目で有意な改善を認め，C群では発赤とBOPの項目に改善を認めた。また，効果判定ではA群の疼痛の項目と排膿の項目で『著効』，C群の発赤と排膿の項目で『著効』と判定された。A1では *Tannerella forsythia*（*Tf*），*Treponema denticola*（*Td*）が多く検出され，C1では *Tf*，*Porphyromonas gingivalis*（*Pg*）が多く検出された。A2，C2において *Pg*，*Tf* が有意に減少した。*Td* も有意差はないが減少した。100%除菌できた部位の割合は，*Pg* が最も高く（A群：71%，C群：93%），ついで *Tf*（A群：32%，C群：50%），*Td*（A群：19% C群：36%）の順であった。以上の結果より，STFXは慢性歯周炎の急性症状に対し，高い効果があることが示唆された。なお，本研究は慶應義塾大学医学部および東京歯科大学倫理委員会の承認を得て実施した。

P-57

2504

シタフロキサシン経口投与による歯周炎急発部位の細菌叢の変化と薬剤感受性の検討

富田 幸代

キーワード：シタフロキサシン，口腔細菌，薬剤感受性試験

【目的】急性症状部位を有する慢性歯周炎患者に対し，シタフロキサシン（STFX）を経口投与し，培養法による歯周ポケット内細菌の検出およびそれらに対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度（MIC）の測定を行い，抗菌効果を検討した。

【材料および方法】慢性歯周炎の急性症状を呈する患者20名を対象に，急発部位（A）とコントロール部位（C）からペーパーポイントにて歯肉縁下プラークを採取し，細菌の分離・培養，MIC測定を行った。サンプリングは，STFX投与（100 mg/day，5日間）前（A1，C1）と投与後6～8日（A2，C2）に行った。

【結果および考察】好気・嫌気培養法により，26種類の菌が分離・同定された。A1では偏性嫌気性菌である *Parvimonas micra*（55%）が最も多く，次いで *Prevotella intermedia*，*Streptococcus mitis*（45%）が検出された。A2，C1，C2ではバイオフィーム形成時の early colonizer である *S. mitis* や *S. oralis* が多く検出された。薬剤感受性試験では，STFXは *P. intermedia* に対して MIC が 0.03 μg/ml 以下と高い抗菌力を示した。また，STFX投与前後で検出された全ての菌において，MICは0.008～4 μg/mlであった。一方，同じニューキノロン系のレボフロキサシンやマクロライド系のアジスロマイシン，クラリスロマイシンにおいては *S. mitis* や *S. oralis* で耐性菌が検出された。以上の結果より，慢性歯周炎患者の急発部位の歯周ポケット内細菌に対し，STFXの投与は有効であることが示唆された。なお，本研究は慶應義塾大学医学部および東京歯科大学倫理委員会の承認を得て実施した。

P-58

2504

歯周病安定期治療中の活動性歯周ポケットに対する経口抗菌療法の細菌学的効果（第2報）

中島 貴子

キーワード：シタフロキサシン，アジスロマイシン，SPT

【目的】我々は歯周病安定期治療（SPT）中に活動性となった歯周ポケットに対して，ニューキノロン系抗菌薬シタフロキサシン（STFX）の経口投与が3か月後までは浸潤麻酔下でのSRPに劣らない細菌学的，臨床的效果があることを示した。一方，マクロライド系抗生物質アジスロマイシン（AZM）は，SRPとの併用効果が報告され用いられる機会が増えてきている。今回，STFX経口抗菌療法の長期効果，ならびにSTFXとAZMの細菌学的効果の違いを検討した。

【材料および方法】SPT中でポケット深さ5mm以上かつBOP陽性の歯周ポケットを2か所以上有する患者のうち本研究への参加同意の得られた者をランダムに2群に分けた。STFXを5日間またはAZMを3日間，経口服薬してもらい，ベースライン，1，3，6，12か月後に歯周ポケット内細菌検査，臨床検査，血清中抗 *Porphyromonas gingivalis* 抗体価検査を行った。

【結果および考察】両群ともに服薬1か月後に，red complex細菌の総数および割合は有意に減少した。STFX群では既報の浸潤下SRP群同様3か月後に，AZM群では6か月後にベースラインの比率近くまで戻った。 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の検出率はSTFX群において1，3，6か月後に0であった。ポケット深さ，アタッチメントレベル，BOPは両群とも1か月後には改善を認め，3，6か月後においても効果は持続していた。経口抗菌薬の効果は種類により異なることが示唆され，機械的デブリッドメントとの併用法にさらなる検討が必要である。

P-59

2504

フルオロアルミノシリケートガラス分散液による歯根面へのプラーク付着防止効果の検討

黒瀬 慎太郎

キーワード：ナノシール[®]，露出歯根，プラーク付着

【目的】知覚過敏抑制剤であるナノシール[®]の有効成分であるフルオロアルミノシリケートガラス分散液は歯根表面に耐酸性ナノ粒子層を形成し知覚過敏を抑制するだけでなく，歯根表面のプラークの付着抑制が期待される。本研究ではナノシール[®]のプラーク付着抑制効果を牛歯片による *in vitro* 実験および歯根露出患者を用いた *in vivo* 実験により評価することを目的とする。

【材料および方法】ナノシール[®]を塗布および未塗布の牛歯片を *S. mutans* 菌液とともに48時間培養後バイオフィームの形成付着状態をFE-SEMにて観察した。また歯根露出のある患者10名を対象とし二重盲検法にてナノシール[®]と偽薬の塗布をブロックごとに行った。塗布前，塗布2週間後および4週間後に歯垢染色液により染色し口腔内写真を撮影し，歯垢染色部分を歯根面積当たりの%で評価した。ナノシール[®]群と偽薬群間の比較および歯種間の比較・検討を行った。

【結果および考察】 *In vitro* では牛歯片牙質面にナノシール[®]を塗布することで *S. m* のバイオフィームの試験片への付着は弱く，容易に除去出来ることが示されたことからプラークの付着抑制効果があると考えられた。 *In vivo* では塗布前と比較して塗布後に偽薬群と比較してナノシール[®]塗布群においてプラーク付着率が低い傾向が認められたが有意差はなかった。また1回塗布および2回塗布間にも差を認めなかった。さらに歯種別においてもナノシール[®]群とコントロール群に差は認められなかった。今後はブラッシング後のプラーク除去率についても検討する予定である。

P-60

3102

アセス[®]専用試作歯ブラシのプラーク除去効果の検討

白川 哲

キーワード：試作歯ブラシ，プラーク除去率，アセス[®]

【目的】歯周病治療薬アセス[®]は歯周病の炎症を改善することが報告されている。しかし，ペースト状の薬剤がやや硬いことから歯ブラシへの保持性が悪く口腔への適応に問題があった。そこで歯ブラシへの保持性を改善するためにU字植毛を行ったアセス[®]専用の歯ブラシを試作した。本研究では試作歯ブラシのプラーク除去効果とアセス[®]の保持性を評価することを目的とした。

【材料および方法】試作歯ブラシA（やわらかめ（レギュラータイプ）以下A），試作歯ブラシB（やわらかめ（ソフトタイプ）以下B）およびS社製市販歯ブラシ（硬さ：普通，以下C）を用いた。各歯ブラシはアセス[®]を用いて1週間使用した後，来院前日にブラッシングを中止させ，来院時に臨床パラメーターの測定およびプラーク付着量を測定した。次いで5分間のブラッシングを行わせた後，再度プラーク付着量を測定しプラーク除去率を算出した。

【結果および考察】プラーク除去率はどの歯ブラシにおいても差は認められなかった。一方，AおよびBにおいて臨床パラメーターの改善が認められた。しかし，最後に用いたCではベースラインとはほぼ同じレベルにまで臨床パラメーターが戻っていた。また，アンケートよりA・BはCと比べアセスを乗せやすく，またアセス[®]が落ちにくいことが示された。以上より，試作歯ブラシA・Bは市販の歯ブラシとはほぼ同程度のプラーク除去効果を有し，U字植毛を行ったことでアセス[®]を良好に保持し口腔に適応できることからアセス[®]が効果的に作用し臨床パラメーターの改善につながったと考えられた。

P-61

電子歯ブラシのプラーク抑制効果

2504

安原 雄介

キーワード：電子歯ブラシ，細菌数

【目的】プラークコントロールは歯周病の予防・治療において，重要な要素であり，患者自身が行える最も効果的で容易な方法である。近年，陰イオンを放出する電子歯ブラシが開発されている。歯垢は唾液中の陽イオンで歯面に吸着（架橋結合）するため，リチウム電池の陰イオンが作用した場合，Ca架橋を仲介とするペリクルと細菌の結合を阻害し細菌のペリクルへの吸着を防げることができる。本研究では，電子歯ブラシ（キスユーイオン歯ブラシ：フクパデンタル株式会社）の歯口清掃の有効性を評価・検討することを目的とした。

【材料および方法】本研究内容に同意し歯科の基準を満たした東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病学分野医局員30名を対象とした。電池内蔵（以下実験群）または非内蔵（以下対照群）の電子歯ブラシを，歯磨剤不使用下で3週間使用させた。検査項目は，1）細菌数検査：リアルタイムPCRにてtotal Bacteria 及び *P.g* の菌数の評価 2）Plaque Index, 3）Gingival Index, 4）PPD, 5）BOP とし，統計学的検定にはWilcoxon 順位検定を用いた。

【結果および考察】術前においてはすべての項目で2群間に有意な差は認められなかった。一方，術前・術後間においては，対照群では改善傾向を認めるものの有意な差は認められなかったのに対して，実験群では2），5）の項目において有意な差を認めた。

本研究から，電子歯ブラシのプラーク抑制効果が示唆された。

P-62

音波式電動歯ブラシと歯ブラシの清掃効率の比較検討

3002

田中 真喜

キーワード：音波式電動歯ブラシ，歯ブラシ，細菌検査

【目的】現在，数多くの清掃器具が製造・販売されているがそれらのプラーク除去効果に関しては詳細な細菌学的報告がなされていないのが現状である。音波式電動歯ブラシと歯ブラシでそれぞれ口腔内清掃を行い，清掃前後の唾液中の口腔内総細菌数をPCR-IVD法で解析し，細菌学的見地から清掃効率を検証する。

【材料および方法】被験者は歯周病・カリエスの罹患状況は問わず，過去1ヶ月以内に歯科治療・定期検診を受けていない，20～50代の男女30名を対象とした。検査1週間前より含嗽剤の使用を禁止し，検査1日目は起床時に5分間の刺激唾液を採取した後に歯ブラシにて2分間口腔清掃を行い，再度5分間刺激唾液を採取した。検査2日目は起床時に5分間の刺激唾液を採取した後に，音波式電動歯ブラシにて2分間口腔清掃を行い，再度5分間刺激唾液を採取した。採取した唾液の総菌数をPCR-IVD法を用いて定量した。音波式電動歯ブラシは，フィリップス ソニックエアー フレックスエアー ブラチナ®にインターケアー スタンダードブラシ®を装着し使用した。歯ブラシは被験者が選んだ任意のものを使用した。

【結果および考察】歯ブラシに比べ，音波式電動歯ブラシを使用した場合の方がブラッシング前後の細菌除去率が高かった。このことより，音波式電動歯ブラシは歯ブラシに比べ清掃効果が高いことが示唆された。しかし音波式電動歯ブラシの方が，細菌除去率が低かった被験者もあり，プラークの除去効率はブラシの当て方にも依存する可能性が示唆された。

P-63

リステリン®ナチュラルケアの *Streptococcus mutans* バイオフィルムに対する膜傷害効果

3002

竹中 彰治

キーワード：洗口液，バイオフィルム，浸透

【目的】リステリンはバイオフィルム中の細菌に対しても短時間で優れた膜傷害効果が得られるが，溶剤としてエタノールを含むため粘膜への刺激が強いことが短所であった。本研究では，ノンアルコールタイプのリステリン®ナチュラルケア（J&J，N群）の *Streptococcus mutans* バイオフィルムに対する膜傷害効果について，従来型リステリン（F群）と比較検討した。

【材料および方法】ガラスベースディッシュ上に形成した24時間培養の *Streptococcus mutans* ATCC25175株バイオフィルムにCalcein-AMを2時間作用させ生菌を染色した後，N群，F群およびコントロール（バッファー，C群）を作用させ，共焦点レーザー顕微鏡を用いて作用直後から15秒間隔で5分間共焦点画像をリアルタイムに採取した。採取した共焦点画像から無作為に最もバイオフィルムの厚みがある部位を含む三領域（25mm四方）の厚み（概算値）および蛍光量の減少率を，Metamorphソフトウェアを用いて解析した。また，N群，F群およびC群を30秒作用させた後のバイオフィルム底面の生死をLive/Dead染色（SYTO9/Propidium Iodide[PI]）を用いて観察した。

【結果および考察】N群，F群ともに，最大75秒以内に領域内の蛍光量が50%減少した。蛍光量が50%減少するまでの時間はバイオフィルムの厚みと正の相関関係にあり，両群の膜傷害効果の発現様式は同様で有意な差は認められなかった。Live/Dead染色では，N群，F群ともに30秒作用後で99%がPI陽性であり，迅速な膜傷害効果を示していた。本実験で用いたバイオフィルムでは，N群とF群は同程度の浸透・膜傷害効果を示した。

P-64

歯周炎患者における塩酸クロルヘキシジンおよびCPC配合洗口液の抗菌作用

2599

杉田 典子

キーワード：洗口液，クロルヘキシジン，CPC

【目的】化学的プラークコントロール法としてグルコン酸クロルヘキシジン（CHG）配合洗口液が効果的であるが，アレルギーなどの副作用が問題視されている。そこで今回，塩酸クロルヘキシジン（CHH）とCPCを抗菌成分として配合した洗口液を開発し，基本治療終了後の歯周炎患者が4週間使用した場合の口腔細菌に対する効果を評価した。

【材料および方法】新潟大学医歯学総合病院歯周病科を受診中の20歯以上を有し歯周基本治療後5mm以上の歯周ポケットを1から7部位有する歯周炎患者25名を対象とした。上記の新洗口液（CHH+CPC），CHG配合のコンクールF（CHG），抗菌成分を含まないコントロール洗口液（Control）を使用する3群にランダムに割付け二重盲検法で比較した。ベースラインおよび使用4週後に唾液・舌苔・歯肉縁上プラークを採取し，総菌数，総レンサ球菌数，*P. gingivalis* および *S. mutans* の菌数を測定した。

【結果および考察】いずれの洗口液でも有害事象は認められなかった。ベースラインと4週目を比較した結果，CHH+CPC群において唾液・舌苔・歯肉縁上プラーク中総菌数および総レンサ球菌数，舌苔中総菌数が有意に減少していた。CHG群においては唾液・舌苔・歯肉縁上プラーク中総菌数および総レンサ球菌も減少の傾向があったが有意には達しなかった。Control群ではいずれも有意な変化が認められなかった。これらの結果よりCHH+CPC配合洗口液は，より安全に使用でき，CHG配合洗口液と同程度以上の抗菌効果を持つことが示唆された。

P-65

2504

オゾン水を用いた含嗽による口腔内細菌への殺菌効果

根本 賢治

キーワード：オゾン水、殺菌効果、含嗽

【目的】我々はこれまでに、オゾン水が歯肉縁下プラーク中の細菌に対し高い殺菌効果を持つこと、さらに、ヒト歯肉線維芽細胞に対する障害性が低いことを報告してきた。そこで今回の研究では、オゾン水を実際に口腔内へ使用し、歯肉縁下プラーク、舌苔や唾液液中などの口腔内細菌に対する効果について検討することを目的とした。

【材料および方法】本研究に同意を得られた4mm以上の歯周ポケットを有する歯周炎罹患患者に対し、オゾン水（4ppm）50mlと精製水50mlを用いて、それぞれ30秒間含嗽させた。含嗽後のオゾン水を実験群、含嗽後の精製水をコントロール群とした。それぞれの含嗽液を羊血液寒天培地に塗布後、37℃のインキュベーター内にて5日間培養し、発育コロニー数を計測し、その結果を比較、検討した。

【結果および考察】4ppmのオゾン水で含嗽させた実験群ではコントロール群と比較して、歯肉縁下プラークや唾液中の細菌に対する殺菌効果が認められた。しかし、オゾン水で含嗽するだけでは歯肉縁下中の細菌を根絶することは困難であった。これらのことから、オゾン水はブラッシング等のプラークコントロールに補助的役割を果たす有用な電解水であると考えられた。さらに、様々な場所において容易にオゾン水は生成できることから、専門的な医療機関のみならず、一般的に使用することが可能だと考えられた。

P-67

2299

プロバイオティクス乳酸菌 *Lactobacillus crispatus* (KT-11) による歯周組織における抗炎症性効果

田口 千恵子

キーワード：L. crispatus、歯周病、S-IgA

【目的】乳酸桿菌属に属する *Lactobacillus crispatus* (L. crispatus) KT-11 (KT-11) は、健康乳児の糞便から分離され、複数の免疫調節効果を示したとの報告がある。しかし、菌を支持している組織の慢性破壊的な炎症性疾患である歯周病についての報告はない。本研究では、歯周病に対するプロバイオティク KT-11 の抗炎症効果に対する影響を評価した。

【材料および方法】BALB/cマウスを用いて死菌体KT-11を6週間にわたり市販粉末飼料と共に自由摂取させ、摂取4週間後に109 cfuの *Porphyromonas gingivalis* (P. gingivalis) を2週間で計15回口腔感染させた (KT-11摂取群)。また、死菌体KT-11を含まない粉末飼料を自由摂取させたマウスにも同様にP. gingivalis口腔感染させた (KT-11非摂取群)。6週間後、唾液、血漿および糞便中の全IgGまたは全分泌型IgA (S-IgA) をELISA法にて定量した。P. gingivalis最終感染後30日経過したKT-11摂取群、KT-11非摂取群の歯槽骨の損失レベルを評価した。

【結果および考察】KT-11摂取群は、KT-11非摂取群と比較し、歯槽骨の吸収レベルが顕著に抑えられていた。また、KT-11摂取群では糞便を除く血漿中全IgGと唾液中全S-IgA抗体の誘導が示された。以上のことからL. crispatus KT-11の自由摂取により口腔内局所での免疫応答を調節する可能性が示唆され、P. gingivalis口腔感染による歯周組織の炎症抑制に有用であると考えられる。今後さらに炎症性サイトカインや抗菌ペプチドの遺伝子発現などを加え検討する予定である。

P-66

2206

電解酸性機能水によって誘導される human beta-defensin 2 のシグナル伝達経路の解明

五條堀 孝廣

キーワード：電解酸性機能水、dsRNA、hBD2

【目的】電解酸性機能水 (FW) が口腔癌由来株化細胞 (HSC3, Ca9-22) に対してIL-1α遺伝子発現の増強効果を有することを前回の日本歯周病学会で報告した。そこで、FWによる遺伝子発現の変化を包括的に分析するためにmicroarray解析を行ったところ、多くの遺伝子発現に変化が認められ、なかでも、抗菌作用をもつhuman beta-defensin 2 (hBD2) は顕著に遺伝子発現が増強することが分かった。本研究の目的は、FWの作用で増強するhBD2のシグナル伝達経路の解明を検討することを目的とした。

【材料および方法】HSC3, Ca9-22にFWまたはdouble-strand RNA (dsRNA) を作用させ、hBD2の遺伝子発現の変化をreal time PCR法で検討した。また、hBD2のタンパク発現の比較は免疫蛍光染色法で検討した。さらに、hBD2の遺伝子発現に関与する転写調節因子の影響についてはluciferase assayを行い、シグナル伝達経路の検討を行った。

【結果および考察】FW、およびdsRNAの作用はHSC3, Ca9-22に対してhBD2の遺伝子発現を増強することが認められた。また、免疫蛍光染色により、FW刺激では、タンパクレベルでも発現が認められた。また、両作用に対するhBD2遺伝子発現の増強は転写レベルで調節されていることが明らかとなった。そこで、luciferase assayにより、さらなる検討を行ったところ、dsRNAの作用では、hBD2の遺伝子発現にNF-κBの関与が認められた。一方、FWの作用では、NF-κB活性の抑制が認められたことから、FWの作用によるhBD2の遺伝子発現には、NF-κB以外の転写調節因子が関与する可能性が示唆された。

P-68

2504

口腔清掃後の歯肉溝滲出液 (GCF) に観察された出血反応 (Hemoglobin) の推移

倉治 竜太郎

キーワード：歯肉溝滲出液 (GCF)、Hemoglobin (Hb)、口腔清掃

【目的】GCF検査において重要なことは、純粋にGCFのみを採取することである。我々は、口腔清掃のような機械的刺激が微細な組織損傷を生じさせていると推察した。そこで、GCF採取における理想的な条件の設定を目的とし、GCFのHbを指標として、①口腔清掃による出血の有無、②口腔清掃後の出血反応の推移、を検索した。

【材料および方法】健康な全身状態と健康な歯周組織を有する非喫煙者である男性被験者を対象とした。GCF採取1週間前から、歯周病専門医によるスクラッピング法の口腔清掃指導とPMTCを行い、PIIとGIが0、PPD3mm以下、BOP (-) の状態とした。GCF採取部位は上顎左右犬歯近心面とした。GCFにおける出血の評価は、Hbのヒトモノクローナル抗体を用いた高感度のイムノクロマトグラフィー法での検出ラインの着色と、デンストメーターにより行った。

【結果および考察】口腔清掃後、歯肉溝内では目視できない出血がGCF中のHb検出により観察された。なお、このHbの検出は3時間以降減少する傾向が認められた。従って、GCF中のHb検査は口腔清掃後4時間以上経過後に行うことが望ましいと考えられた。

本研究は文部省科学研究費助成金：基盤研究C、課題番号：20592437・25463267の助成を受けて行われた。

P-69
2504

歯肉溝滲出液 (GCF) 中 Hemoglobin (Hb) 検出
を応用した歯周病迅速診断キットの概要
沼部 幸博

キーワード：歯肉溝滲出液 (GCF), Hemoglobin (Hb), 歯周組織検査

【目的】歯周組織検査への GCF 成分解析の応用で、より精度の高い歯周病診断を行うことが期待されている。これまで我々は、PPD と BOP 検査の限界を報告し、それを補完する検査指標として、GCF 中の Hb 検出が有効であることを報告してきた。今回は、チェアサイドで迅速に GCF 中の Hb の存在を検出できるキットを開発したので、その歯周病検査への応用について報告する。

【材料および方法】SPT に移行した歯周病患者の 103 部位から GCF をペリオオーバー (Oraflow Inc.) 30 秒間挿入により採取後、直ちに Hb をヒトモノクローナル抗体を用いたイムノクロマトグラフィー (IC) 法にて検出するとともに、Hb をデンストメーターで定量化した。また採取した GCF に関しては、液量および他の生化学マーカー測定も行った。その他、PII, GI, CAL, PPD, BOP を評価し、GCF 検索結果との関連を解析した (本研究は倫理委員会の承認済み (承認番号 2111))。

【結果および考察】BOP (-) にかかわらず Hb (+) を示した部位の GCF 量、生化学マーカーの ALP および AST 活性、さらに蛋白質量は、Hb (-) 部位と比べていずれも統計学的有意に高値を示した。これらのことから Hb 検査は歯周病の診断指標の一つとなる可能性が示された。

本研究は文部省科学研究費助成金：基盤研究 C、課題番号：23593072・25463267 の助成を受けた。

P-71
2302

イムノクロマト法を用いた歯肉溝滲出液中のカル
プロテクチン測定による歯周病診断
木戸 淳一

キーワード：カルプロテクチン, イムノクロマト法, POCT

【目的】カルプロテクチン (Calprotectin: CPT) は、好中球、マクロファージや上皮細胞で発現するカルシウム結合蛋白である。CPT の産生・遊離は、局所での細菌感染などにより増加することから、歯周病診断マーカーとなりうる考えられる。本研究では、歯肉溝滲出液 (GCF) 中の CPT 量のイムノクロマト法による測定が、歯周病診断への応用に繋がる可能性を検討した。

【材料および方法】被験者は、徳島大学、広島大学、大阪大学、新潟大学、昭和大学および東京医科歯科大学の各病院に来院した歯周病患者、および非歯周病患者 (健康者) とした (計 39 名、平均年齢 55.1 歳)。被験者から研究参加へのインフォームドコンセントを取得後、臨床検査と GCF 採取を行った。ブロービングポケット深さ (PPD) : 5~6 mm と歯肉炎指数 (GI) : 2 を示す部位を罹患部位とし、PPD: 2mm 以下で GI: 0 を示す部位を健康部位とした。GCF サンプルはペーパーストリップスを用いて採取し、その抽出液を新規 CPT 検出用イムノクロマトデバイスに供した。なお、本研究は、各医療機関の IRB 承認の下に行った。

【結果および考察】GCF サンプルをイムノクロマトで展開し、CPT 蛋白のラインを目視により確認した。イムノクロマトリーダーを用いて CPT ラインの発色強度を測定した結果、罹患部位の GCF サンプルの平均 CPT 値は健康部位の値より有意に高い値を示し、設定したカットオフ値により罹患部位と健康部位を識別することができた。また、CPT 測定値は臨床パラメーターと有意な正の相関を示した。これらの結果より、イムノクロマト法による GCF 中 CPT 量の測定による歯周病診断の可能性が示唆された。

P-70
2504

喫煙は歯周治療における超過医療費因子となりうるか？ - 禁煙治療の歯科保険導入を目指して -
伊藤 弘

キーワード：禁煙外来, 血漿中コチニン, 歯肉溝滲出液 (GCF)

【目的】歯科領域における禁煙の有効性を示すには、日本人の禁煙による明らかに良好な治療成果の獲得と医療費軽減に関するエビデンスの構築が必須である。我々はパイロットスタディーとして、禁煙外来受診による禁煙達成を、血漿中コチニン量を指標として評価した。同時に GCF 酵素活性・血漿サイトカインの生化学的変化から禁煙外来受診の有効性を検索した。

【材料および方法】歯周病罹患患者において禁煙外来への受診を希望した者 7 名に対し、受診前後の生化学マーカーとして血漿中コチニン、IL-1 β , TNF- α , 高感度 CRP, ALP を測定し、同時に GCF 酵素活性も検索した。コントロール群として、非喫煙者と禁煙を希望しない喫煙者各 4 名を設定し、同様の検査を行った。なお本研究は日本歯科大学倫理委員会の承認のもと遂行された (承認番号 08-21)。

【結果および考察】禁煙外来受診により、明らかな血漿中コチニン量の減少を認めた。これは、改めて禁煙外来の存在意義を強く支持するものであり、喫煙者の歯周治療に禁煙外来を紹介する基盤となると考えている。現在 (抄録提出時現在)、各種生化学的マーカーとの関連性を検索しており、本研究発表ではその結果と歯周治療における禁煙外来の位置づけ、さらには将来展望を述べる予定である。

本研究は平成 24 年度日本歯周病学会 (企画) 研究費、文部省科学研究費助成金：基盤研究 C、課題番号：20592437・25463267 の助成を受けて行われた。

P-72
2504

唾液中細菌検査および血漿抗体価検査による SPT
期進行の予知判定
角田 衣理加

キーワード：SPT, 唾液中細菌, 血漿抗体価

【目的】動的治疗から SPT へ移行する際の判断基準は、現時点では組織破壊の蓄積であるポケット深さやブロービング時の出血であり、必ずしも実際の病態を反映しているとはいえない。本研究において我々は、SPT 開始後 2 年間にわたり臨床、細菌学および血漿学的検査を行い、病状進行の予知判定基準を検討した。

【材料および方法】17 施設からエントリーされた動的治疗終了後の慢性歯周炎患者 163 名が 3 ヶ月毎のリコールで 2 年間モニタリングされ、歯周病検査や唾液採取、指尖毛細血管からの採血が 2~5 回行われた。これら検体を用い主要歯周病原細菌に対する定量解析 (modified Invader Plus assay) および血漿 IgG 抗体価測定 (ELISA 法) を行い、臨床データと併せ時系列的・横断的に解析した。

【結果および考察】プログラムを完遂した 124 名中、62 名が進行 (CAL $\geq$ 3mm 部位が 1 カ所以上存在) していた。歯周炎の進行に対し、各項目について ROC 曲線を用いてカットオフ値を決定し、感度や特異度を算出した。その結果、診断マーカーとして有意に有用なものは、単独では *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) 比率 (カットオフ値 0.00285%) のみ、組み合わせでは「*P. g* 数 (カットオフ値 1.128 log₁₀) と *P. g* 抗体価 (カットオフ値 1.355)」および「*P. g* 比率と *P. g* 抗体価」であった。一方、*P. g* 比率と *P. g* 抗体価が共に陽性のタイプにおいては進行者が有意に多かった。以上の結果から、唾液中細菌検査および血漿抗体価検査は動的治疗後の歯周炎進行の予知において有用である可能性が示唆された。

P-73

2504

歯周ポケット内細菌検査および血漿抗体価検査によるSPT期進行の予知判定

野村 義明

キーワード：SPT、歯周ポケット内ブラーク、血漿抗体価
【目的】 動的治療からSPTへ移行する際の判断基準は、現時点では組織破壊の蓄積であるポケットデプスやプロービング時の出血であり、必ずしも実際の病態を反映しているとはいえない。本研究において我々は、SPT開始後2年間にわたり臨床、細菌学および血漿学的検査を行い、病状進行の予知判定基準を検討した。
【材料および方法】 17施設からエントリーされた動的治療終了後の慢性歯周炎患者163名が3ヶ月毎のリコールで2年間モニタリングされた。最深部1カ所を対象とし、歯周病検査や歯肉縁下ブラーク採取、指尖毛細血管からの採血を2～5回行った。これら検体を用い主要歯周病原細菌に対する定量解析（modified Invader Plus assay）および血漿IgG抗体価測定（ELISA法）を行い、臨床データと併せ時系列的・横断的に解析した。
【結果および考察】 プログラムを完遂した124名中、19名の対象部位が進行（CAL $\geq$ 2mm）していた。歯周炎の進行に対し、各項目についてROC曲線を用いてカットオフ値を決定し、感度や特異度を算出した。その結果、診断マーカーとして有意に有用なものは、単独ではPorphyromonas gingivalis（P. g）数、P. g比率、Prevotella intermedia（P. i）数およびP. i比率（いずれもカットオフ値 >0 ）であった。組み合わせでは「P. g数とP. g抗体価（カットオフ値1.355）」および「P. g比率とP. g抗体価」であった。一方、P. g比率とP. g抗体価が共に陽性のタイプにおいては進行者が有意に多かった。以上の結果から、歯周ポケット内細菌検査および血漿抗体価検査は動的治療後の歯周炎進行の予知において有用である可能性が示唆された。

P-75

2609

各種フッ素含有歯磨剤および試作フッ素未含有歯磨剤のチタン表面に与える腐食の影響

五味 由季子

キーワード：チタン、フッ素、腐食
【目的】 インプラントは一般的な治療として広く行われている。インプラント体は主にチタンよりなるが、最近になりフッ素の影響によりチタンインプラント体に腐食が生じることが報告されている。しかし、市販の歯磨剤の多くはフッ素含有の製品である。本研究では市販歯磨剤と試作したフッ素未含有歯磨剤のチタン表面に与える影響について比較検討することを目的とする。
【材料および方法】 試験片として純チタンおよびチタン合金を用い、各試料を市販の歯磨剤3種類、フッ素塗布剤3種類および試作したフッ素未含有歯磨剤に3日及び7日間浸漬し試験片表面の状態をSEMならびにコンフォーカル顕微鏡を用いて観察した。
【結果および考察】 フッ素塗布剤ではフッ素濃度が高い製品において著しいチタンの腐食が確認された。フッ素含有の市販歯磨剤では浸漬期間が長くなるにつれて表面の腐食が生じた。特に純チタンはチタン合金と比較して腐食傾向が強いことが示された。一方、フッ素未含有の試作歯磨剤ではチタン表面に与える影響は認められなかった。以上より、インプラントを有する口腔に日常的にフッ素含有歯磨剤を用いることはインプラントの腐食が進行することが考えられ注意が必要と思われる。また、腐食に伴い表面の粗さが増すことで、腐食したチタン表面はブラークリテンションファクターとなりインプラント周囲炎を引き起こす因子となることも考えられる。インプラント治療を受けた患者に対しては、フッ素による腐食リスクを避けるためにも試作した歯磨剤のようなフッ素を含有しないインプラント専用の歯磨剤が必要であると思われる。

P-74

2203

歯肉溝滲出液中のTannerella forsythia forsythia detaching factorに対する分解酵素活性の治療効果判定への応用

大西 英知

キーワード：Tannerella forsythia, FDF, 歯肉溝滲出液
【目的】 Forsythia detaching factor（FDF）はTannerella forsythiaが保有する病原因子の一つである。これまでにFDFは慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液（GCF）中のプロテアーゼによりLys²⁶⁸残基C末端側で切断されFDFcが生じること、またFDF Lys²⁶⁸残基のN末端配列を模した合成ペプチドAc-RAK-pNAを使用し、GCF中に存在するFDFを分解することが可能な酵素活性（FDF分解酵素活性）を測定した結果、健康者と比較して慢性歯周炎患者で高いことが明らかとなっている。本研究では、歯周治療前後の当該酵素活性を測定し、歯周治療効果の判定指標としての有用性を検討した。
【材料および方法】 被験者は本学歯周病科に来院した慢性歯周炎患者7名とした。初診時（BL）と歯周治療後（PT）に歯周ポケット深さ（PPD）、クリニカルアタッチメントレベル（CAL）、プロービング時の出血（BOP）を測定した。GCFはPPD $\geq$ 3 mmの健常部位（CH）、PPD $\leq$ 6 mmかつBOP陽性部位（DB）、PPD $\leq$ 6 mmかつBOP陰性部位（DNB）からそれぞれ採取した。FDF分解酵素活性の測定はGCFとAc-RAK-pNA合成基質を用いた。本研究は本学倫理審査委員会の承認を得ている。
【結果および考察】 歯周治療前後でPPD、CALおよびFDF分解酵素活性はCH、DB、DNBで有意に減少した。歯周治療によりPPD、CALが減少し、FDF分解酵素活性が有意に減少したことより、当該酵素活性が簡易な歯周治療効果の判定指標として有用である可能性が示唆された。

P-76

2609

各種セメントのエックス線不透過性に関する研究

小川 智久

キーワード：セメント、エックス線不透過性、インプラント周囲炎
【目的】 歯周炎やインプラント周囲炎の原因として、余剰セメントの残存が挙げられる。特に、審美性を重要視した前歯部におけるインプラント処置においては余剰セメントの残存が生じやすく、できるだけ早期の診断が求められる。そこで、本研究において各種セメントを用いてエックス線不透過性を測定・比較することにより、臨床における発症前の診断に用いることが期待できる。
【材料および方法】 本研究に供したセメントはジーシー フリージノールテンポラリーバック（ジーシー）、ハイボンドテンポラリーセメント ソフト（松風）、ハイボンドテンポラリーセメント ハード（松風）、ジーシー フジTEMP（ジーシー）、ジーシー フジIX GP（ジーシー）、ジーシー フジルーティングセメント（ジーシー）、ビトレマルーティングセメント（3M）、リライエックス（3M）、クリアフィル エステティックセメント（クラレメディカル）の9種類を対象とした。各種セメントを練和後、厚さ0.5mmになるようスライドガラスで挟み込み均一の厚さに調整し、レントゲン撮影を行なった。イメージングプレートを用い、60kVp、7mA、0.1秒、ssp20cmの設定でAlステップウエッジを用いて撮影後、NIH Imageにて測定を行なった。
【結果および考察】 セメントの種類により、エックス線不透過性は異なり、特に仮着用のセメントで高い値となった。合着用セメントではフジIX GPが最も高い値を示した。エックス線の撮影条件や現像法などにより異なるが、本研究においてはセメントの不透過性に差があり、臨床にその特性には注意が必要である。

P-77

2598

歯科学学生に対する歯周ポケット測定訓練用顎模型の訓練効果

原田 悠介

キーワード：歯周ポケット測定、歯学教育、顎模型、模型実習

【目的】私共は、様々な歯周ポケット形態を経験でき、ポケット底の触知、探査を含めた測定訓練ができる歯周ポケット測定訓練用顎模型（以下、本模型）を開発し、模型実習後の学生、歯科医師、歯科衛生士等の測定訓練に応用可能であることを示してきた。今回は、歯周ポケット測定訓練が未経験の学生に使用させ、本模型による訓練が学生の測定技術の向上に有効か否かを検証した。

【材料および方法】歯周ポケット測定に関する講義、実習前の学生（東京医科歯科大学歯学部歯学科4年生）20名を対象とした。歯周ポケット測定訓練用顎模型（500H-PRO：ニッシン）をマネキンに装着し、測定は6点法で行った。測定部位は、あらかじめ6歯ずつの4パターンに分けられており、学生はパターン毎に計測、答え合わせ、再確認をし、合計24歯の測定を行った。各パターンにおける正解率と測定に要した時間を、訓練効果の指標として分析した。また、全ての測定終了後に質問紙調査に回答してもらい模型の評価を行った。

【結果および考察】全体の正解率は、 $90.9 \pm 4.3\%$ （平均値±標準偏差：以下同様）、測定時間は 1238 ± 285 秒であった。計測の順番による正解率の推移は、1番目に計測したパターンから4番目まで順に、 $83.8 \pm 9.5\%$ 、 $90.1 \pm 6.4\%$ 、 $93.29 \pm 4.0\%$ 、 $96.5 \pm 2.2\%$ であり、計測を重ねるほど有意に上昇した。また、計測の順番による測定時間の推移は、 357 ± 107 秒、 313 ± 81 秒、 294 ± 57 秒、 275 ± 59 秒であり、計測を重ねるほど有意に短縮された。このことから、本模型を用いた訓練により、学生の測定技術が向上したことが示唆された。

P-79

2305

メンテナンスと歯科衛生士の問題について

南崎 信樹

キーワード：メンテナンス、歯科衛生士、患者管理

【目的】歯周治療において歯科衛生士の役割は、基本治療からメンテナンスにかけて重要な部分を占める。その中でも、メンテナンスは長期間にわたり患者管理の面ばかりでなく、衛生士の問題も少なくはない。中でも、種々の理由により担当衛生士の変更をせざるをえない場合がある。担当衛生士の変更は、長期メンテナンスにおいて考えねばならないことが少なくない。今回19年にわたる長期メンテナンスの症例を通して、3名の衛生士による問題点を検討する。

【材料および方法】患者は1994年3月初診、51歳、女性、会社事務員で、中等度の歯周炎患者である。開院して3年目で当時卒業2年目の衛生士が担当した。治療は、歯周基本治療とクラウンなどの歯冠補綴を1年間行い、それから半年に1回のメンテナンスに移行した。その後2003年に退職することで、2人目の衛生士に引き継ぎし、9年間継続管理した。その間、メンテナンス間隔を3か月に1度と短縮をした。現在は、3人目衛生士が2012年よりメンテナンスを行っている。初診から19年間の歯周組織などの諸検査、衛生士の業務記録、患者の感想をもとにメンテナンスと歯科衛生士の問題点を検討した。

【結果および考察】本症例では、19年間にわたり歯周組織は健全に管理できたものの、患者と衛生士の相性、担当衛生士の着目点の違い、19年の間における清掃用具の変化、医院全体の成長による対応の変化など様々なことがわかった。

P-78

2113

特微量を用いたパノラマX線写真における頸部石灰化領域についての誤検出領域の削除方法の検討
内田 啓一

キーワード：特微量、頸部石灰化、パノラマX線写真、動脈硬化

【目的】高齢者において、パノラマX線画像で検出される頸動脈石灰化は動脈硬化の進行と関連があることが報告されている。パノラマX線画像から自動的に頸動脈石灰化領域を検出することが可能となってきた。輝度勾配による頸部石灰化領域検出法では、領域の検出数の増加がみられ、その有効性を示していた。しかしながら、石灰化領域でない誤検出が多く存在することが解った。そこで、今回われわれは、石灰化領域の特微量と機械学習を用いてさらなる誤検出の低減を検討したので報告する。

【材料および方法】頸部石灰化領域を有するパノラマX線写真170枚に対して、より正確な下顎骨下部の除去法を適用する。その画像において、検出された石灰化領域に対して、領域の形状や輝度値などの特微量について、石灰化領域と誤検出領域の違いを区別できるしきい値を検討した。これらの特微量のおよびしきい値による誤検出の削除と機械学習を組合せることにより、さらに誤検出数を低減する方法について検討を行った。

【結果および考察】提案手法において、検出数は104例、誤検出数は838例であり、検出率は67%、石灰化領域の分類率は74%であった。これまでの、輝度勾配による方法と比較すると、誤検出数を約80%減少できた。したがって、石灰化領域の特微量と機械学習を用いて誤検出数を低減する方法は有効であることがわかった。今後の課題として、石灰化領域と誤検出領域を正確に分類する特微量について、さらに検討を行うことが必要である。

P-80

2599

高萩市民における角化歯肉幅と歯周組織の健康状態との関連性について-2年間の縦断研究結果-
関野 倫

キーワード：角化歯肉幅、歯周組織、縦断研究

【目的】我々は、茨城県高萩市の一般市民を対象に、角化歯肉幅が歯周組織の健康状態に与える影響を断面的に調査し、その結果、角化歯肉幅と歯周組織の健康状態との間に相関がなかったことを報告した。今回我々は角化歯肉幅の歯周組織の健康状態に対する影響を2年間の縦断研究により評価した。

【材料および方法】茨城県高萩市に在住する25歳～83歳の一般市民116名に対して全身疾患、自覚症状等についてのアンケート調査を行ったのちプローブにより角化歯肉幅（歯肉辺縁から歯肉歯槽粘膜移行部までの距離）を測定した。角化歯肉幅2mm未満の歯（実験群）とその隣在歯または反対側の同名歯で角化歯肉幅2mm以上の歯（対照群）のブローピングデプス（PPD）、臨床的アタッチメントレベル（CAL）、ブローピング時の出血（BOP）、プラーク指数（PII）の測定を行った。2年後に同様の検査を行い、実験群と対照群における各臨床パラメータの比較を行った。

【結果および考察】2年の観察期間において、実験群では平均PPDは0.2mm、平均CALは0.2mm、平均BOPは2.6%、PIIスコアは平均0.1減少した。対照群においては平均PPDは0.1mm、平均CALは0.3mm減少、平均BOPは7.2%、平均PIIスコアは0.2増加した。平均PPD、平均CAL、平均BOPについて2群間で統計学的有意差はみられなかった。結論として、縦断研究においても角化歯肉幅と歯周組織の健康状態との関連はみられなかった。

キーワード：健康被害、ラオス人民民主共和国、歯科・口腔保健、
疾病予防

【目的】ラオスにはデンタル・ナース制度がなく、歯科・口腔保健を担う人材が極端に不足している。特活）歯科医学教育国際支援機構は2000年よりラオスの歯科・口腔保健活動に支援を続けてきたが、2012年8月より外務省NGO連携無償資金協力を得て、看護師及び看護学校に対して歯科・口腔保健教育を実施したところ、デンタル・ナースの代替としての有用性が担保された。

【材料および方法】モデル地区はビエンチャン県Phone Hong地区で、当該地域のヘルスセンターに勤務する看護師40名及び看護学校の学生、教員27名の合計67名である。歯科に関する基礎的な知識の技術移転の後、歯科・口腔疾患の予防について、歯科衛生士の立場から講義と実習を行った。看護師の理解度、実地実効性についてはアンケート、対面考査及び専門家による評価とした。

【結果および考察】参加した看護師、看護学生すべてにおいて、歯科・口腔保健に対する高い理解度が示された。さらに、歯科・口腔疾患予防に対する高いモチベーションの確立が見られ、デンタル・ナースの代替としての活動の有用性が担保された。本活動を通し看護師、看護学生が歯科・口腔保健を初めて学習する場となった。しかし、住民サービスの一環として歯科・口腔保健活動を実施できるようになるまでは今後さらなるトレーニングが必要である。途上国においてデンタル・ナース制度を新たに確立するには多額の予算が必要なことから、このように看護師教育を介して、歯科・口腔保健の普及を図る新しい試みとして注目される。