一般演題成又多一

(ポスター会場)

ポスター会場 JSP-001~010 P-01~40

5月23日(金) ポスター準備 8:30~10:00

ポスター掲示 10:00~16:10

ポスター討論 16:10~17:10

JSP-1

Effect of azithromycin on *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide-induced production of interleukin-6 in murine macrophages

Sung-Jo Kim

Keywords: azithromycin, *Prevotella intermedia*, lipopolysaccharide, interleukin-6, NF-κB, STAT1, STAT3, SOCS1

Objectives: IL-6 is a key proinflammatory cytokine which plays a central role in the pathogenesis of periodontal disease. The present study was designed to investigate the effect of the macrolide antibiotic azithromycin on IL-6 generation in murine macrophages treated with LPS from *Prevotella intermedia*, a pathogen implicated in inflammatory periodontal disease, and its mechanisms of action.

Material and Methods: LPS was prepared from *P. intermedia* ATCC 25611 cells using the standard hot phenol-water method. Culture supernatants were collected and assayed for IL-6. Real-time PCR analysis was carried out to quantify IL-6 and SOCS1 mRNA expression. The levels of signaling proteins were monitored by immunoblot analysis. DNA-binding activities of NF-κB subunits were analysed by using the ELISA-based assay kits.

Results: Azithromycin significantly suppressed IL-6 production as well as its mRNA expression in P. intermedia LPS-activated RAW264.7 cells. LPS-induced activation of JNK and p38 was not affected by azithromycin treatment. Azithromycin failed to prevent P. intermedia LPS from degrading IkB- α . Instead, azithromycin significantly diminished nuclear translocation and DNA binding activity of NF-kB p50 subunit induced with LPS. Azithromycin inhibited P. intermedia LPS-induced STAT1 and STAT3 phosphorylation. In addition, azithromycin up-regulated the mRNA level of SOCS1 in cells treated with LPS.

Conclusions: Azithromycin significantly attenuated *P. intermedia* LPS-induced production of IL-6 in murine macrophages via inhibition of NF-κB, STAT1 and STAT3 activation, which is possibly related to the activation of SOCS1 signaling.

JSP-3

Involvement of the Por secretion system in biofilm formation of Capnocytophaga ochracea

Daichi Kita

Keywords: protein secretion system; biofilm; oral anaerobic bacterium

Objectives: Capnocytophaga ochracea has been implicated in the pathogenesis and progression of periodontal disease. Although this bacterium does not have flagella, it can glide on agar. Many members of the phylum that *C. ochracea* belongs to possess Por secretion system (PorSS) that is involved in the translocation of cell-surface adhesins-mediated gliding motility, and genes homologous to the PorSS-related genes (Coch_1748) are also found in genomes of *C. ochracea*. In this study, Coch_1748 was investigated to determine its role in biofilm formation.

Materials and methods: To construct the Coch_1748 mutant, PCR was used to fuse the upstream and downstream fragments of Coch_1748 to ermF-ermAM and then electrotransformed into C. ochracea ATCC27872 (wild-type: wd). To evaluate biofilm formation of C. ochracea, wd and mutant were inoculated into 96-well cell culture polystyrene plates containing tryptic soy broth. After 6 to 24h incubation, biofilm mass was assessed by measuring the absorbance at 595 nm after staining with crystal violet

Results: The growth rate of the mutant was almost at the same level compared with the wd.

Inactivation of Coch_1748 resulted in a loss of gliding motility on agar. Biofilm formation of the mutant was significantly lower than that of the wd (6h: 45%, 8h: 57%, 24h: 45%).

Conclusions: These results suggested that proteins translocated by the PorSS were involved in biofilm formation of *C. ochracea*.



The regenerative treatment on a deep intrabony defect using an enamel matrix derivative combined with Bio-Oss

Yasuo Ikeda

Keywords: Intrabony defect, enamel matrix derivative, Bio-Oss **Introduction:** A 54 year old healthy female patient presented complaining about gingival swelling at the site of tooth 24. On clinical and radiological examination, a deep intrabony defect was found at the palatal to tooth 24 that was associated with traumatic occlusion.

Therapy plan: Treatment procedures consisted of a regenerative therapy using enamel matrix derivative (EMD) and grafts of Bio-Oss combined with autogenous bone.

Process and results: 16 months after the surgery clinical attachment gain of 8 mm was measured and a intrabony defect demonstrated excellent bone fill as CBCT.

Discussion and Conclusions: Within the limits of the present case, the regenerative therapy resulted in significant PD reductions and CAL gains 16 month after surgery.



Prevalence of *Porphyromonas gingivalis fimA* genotypes in peri-implant sulcus of Koreans using new primer

Kyung-In Ha

Keywords: Porphyromonas gingivalis, fimbrillin, genotype, peri-implantitis, DNA primers Objectives: The purpose of this study was to ascertain the relationship between inflammatory status of peri-implant tissue and distribution of *P. gingivalis fimA* genotype using new primers in Koreans.

Material and methods: To investigate *P. gingivalis fimA* genotype in peri-implant sulcus, a group of patients who has visited Department of Periodontology, Kyung Hee University Dental Hospital, Republic of Korea from January 2007 to November 2011 with history of implant placement was selected. The study was comprised of 184 subjects and 248 plaque samples. Patients were divided into three groups by the state of peri-implant tissue [Control - probing depth(PD)s5mm, bleeding on probing(BOP)-); Test I - PD>5mm, BOP(+); P. gingivalis and genotype in peri-implant sulcus was confirmed with DNA extracted from the plaque samples by PCR, using the six *fimA* type-specific primers (type I-V, Ib) including the newly suggested primer for type II *fimA*. The prevalence of *P. gingivalis* and the frequency of each *fimA* genotype detection were compared and analyzed by chi-squared or Fisher's exact test. To assess relationship between status of peri-implant tissue and frequency of *fimA* genotype detection, odds ratio was calculated to 95% confidence intervals.

Results:

- Presence of P. gingivalis in each specimen showed no statistical difference: 93.4% in control group, 95.1% in test group I, 98.2% in test group II.
- 2. In the control group, the most frequently detected P. gingivalis fimA genotype was type II (56.0%), and the second mostly detected was type I (12.1%). For test group I, fimA type II (61.4%) was detected the most, followed by type IV (13.9%). Test group II showed type II (57.1%) the most, followed by type Ib (21.4%).
- fimA genotype showed no statistical difference in Test group I whereas prevalence of type Ib fimA showed statistically significant difference in test group II compared to the control group (p = 0.007).
- fimA type Ib of P. gingivalis was more frequently detected in test group II (probing depth exceeding 5mm) than in test group I (probing depth 5mm or less) with statistical significance (p = 0.031).
- P. gingivalis with type Ib fimA showed significant correlation with peri-implant inflammatory lesion compared to other genotypes of fimA (OR 4.69).

Conclusions: This study suggested that finA type Ib of P. gingivalis plays critical role in destruction of peri-implant tissue and its possible role as a risk indicator of peri-implantitis.

JSP-5

Clinical and microbiological study about subgingival debridement by air polishing

Hyun-Su Kim

Keywords: air polishing, biofilm, chronic periodontitis, scaling and root planing

Objectives: Biofilm, which is an organizational group of microorganism on tooth surface, makes periodontal disease. It is important to remove biofilm mechanically for treatment and preservation of periodontal disease. Air polishing is a method to remove biofilm on tooth surface by spraying pressed air mixed powder with water. The purpose of this study is to evaluate the efficacy of air-polishing compared to SRP Material and Methods: In this study, 15 patients diagnosed as chronic periodontitis and single-root tooth over 5mm of pocket depth symmetrically in left and right quadrant. was investigated. Subgingival debridement is performed by scaling and root planing(SRP) and airpolishing. And the results are evaluated and compared clinically and microbiologically. Probing pocket depth(PPD), bleeding on probing(BOP), relative attachment level(RAL) and change of gingival crevicular fluid(GCF) were assessed before treatment and 14 and 60 days after treatment. Microbial analysis was assessed at pre treatment, post-treatment and 14 and 60 days after treatment.

Results: After treatment, PPD and BOP was decreased, and attachment gain was observed in air polishing. There was no clinical difference compared to SRP. The volume of GCF decreased at 14 days and increased again at 60 days. Comparing to SRP, there was a statistical significance of the volume of GCF at 60 days in air-polishing. In microorganism, high-risk bacteria to cause periodontal disease decreased remarkably. It decreased immediately after treatment but increased again as time went by.

Conclusions: For this study, subginigival debridement by air-polishing was effective for decrease of pocket depth, attachment gain, decrease of GCF and inhibition of microorganism. The further study should compare Air-polishing to SRP according to degree of pocket depth and calculus existence.

JSP-7

Effect of nitric oxide and N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist on human periodontal ligament fibroblast cell apoptosis

Jung-Ju Kim

Nitric oxide (NO), a free radical synthesized from L-arginine by NO synthases (NOS), can modulate various tissue and cell activities, including vasodilation, neurotransmission, immune responses, and death control. NO is also involved in the regulation of bone metabolism through the several biological process.

Previous studies have revealed that glutamate NMDA receptors in osteoblasts may be involved in regulation of bone formation. Recently, we have also reported that NMDA receptors are involved in periodontal ligament fibroblast (PDLF) differentiation but not their proliferation. However, the function of NMDA receptor in NO-mediated PDLF cell damage has not been well characterized. We investigated the relationship between the effect of excessively produced NO using sodium nitroprusside (SNP) and NMDA receptor antagonist.

Human PDLFs were treated with various concentrations (0 to 4 mM) of sodium nitroprusside (SNP) with or without 200 μ M MK801 in culture media for 16 hours and the cell medium was then removed and replaced by fresh medium containing MTS reagent for cell proliferation assay. Western blot analysis was performed to investigate the effects of SNP on the expression of Bax, cytochrome c, and caspase-3 proteins. The differences for each value among the sample groups were compared using analysis of variance with 95% confidence intervals.

In the case of SNP treatment, as a NO donor, cell viability was significantly decreased in a concentration-dependent manner. In addition, a synergistic effect was shown when both SNP and NMDA receptor antagonist was added to the medium. SNP treated PDLFs exhibited a round shape in culture conditions and were dramatically reduced in cell number. SNP treatment also increased levels of apoptotic marker protein, such as Bax and cytochrome c, and reduced caspase-3 in PDLFs. Mitogen-activated protein kinase signaling was activated by treatment of SNP and NMDA receptor antagonist

JSP-6

Periodontal status and dental prosthodontic option in periodontal patients with osteoporosis in Korean women.

Jae-Mok Lee

Keywords: Osteoporosis, tooth loss, crestal bone height, periodontal disease, prosthodontic potion

objectives: The purpose of this study was to examine the association between osteoporosis and tooth loss and to compare the changes in crestal bone height during full SPT among patients with and without osteoporosis. Also prosthodontic options after extraction of teeth were investigated.

material and methods: 193 osteoporotic patients and 198 medically healthy patients were included in the study. Clinical data were collected the number of lost teeth, dental implants, pontics of fixed partial dentures at the first and last visit in out clinic. The crestal bone change was measured by using two panoramic views.

results: The osteoporosis group showed a higher number of lost teeth per patient than the control group at the first dental examination. (P<0.05) But during the active therapy and SPT, the two groups did not differ significantly in the number of extracted teeth. (P=0.469) Osteoporosis patients had a significantly lower number of placed implants, pontics of crown & bridge. (P<0.05) However, the number of dentures per patient was significantly greater in the osteoporosis group than in the control group. (P<0.05) And on the comparison of crestal bone change during the SPT periods, the two groups did not differ significantly. (P=0.943) conclusions: Osteoporosis patients should be aware that osteoporosis could be aggravated periodontal disease, so early diagnosis and treatment of periodontitis is crucial for them as well as periodic maintenance therapy.

JSP-8

Epigenetic modifications and canonical WNT signaling enable trans-differentiation of non-osteogenic cells into osteoblasts

Young-Dan Cho

Keywords: Bone regeneration, Trans-differentiation, Epigenetic modification, Wnt3a, BMP2

Objectives: Mesenchymal cells alter and retain their phenotype during skeletal development through activation or suppression of signaling pathways. For example, we have shown that Wnt3a only stimulates osteoblast differentiation in cells with intrinsic osteogenic potential (e.g., MC3T3-E1 pre-osteoblasts) and not in fat cell precursors or fibroblasts. Here, we show that the promoter regions of the genes for *Bmp2* and the osteoblast marker *Alp* are epigenetically locked to prevent their expression in non-osteogenic cells.

Methods and Results: Both genes have conserved CpG islands that exhibit increased CpG methylation, as well as decreased acetylation and increased methylation of histone H3 lysine 9 (H3-K9) specifically in non-osteogenic cells. Treatment of preadipocytes or fibroblasts with the CpG demethylating agent 5' –aza-2'-deoxycytidine (5'-aza-dC) or the histone deacetylase inhbitor trichostatin-A (TSA) renders Bmp2 and Alp responsive to Wnt3a. Hence, drug-induced epigenetic activation of Bmp2 gene expression contributes to Wnt3a mediated direct transdifferentiation of pre-adipocytes or fibroblasts into osteoblasts.

Conclusion: We propose that direct conversion of non-osteogenic cells into osteoblastic cell types without inducing pluripotency may improve prospects for novel epigenetic therapies to bone regeneration.



JSP-9

The effect of non-surgical therapy on a severely generalized chronic perodontitis patient

Masami Satou

Keywords: Non-Surgical therapy, Brushing, Rootplaning, Oral physiotherapy

introduction: When we treat severely generalized chronic periodontitis, a surgical operation is usually planned. However, we performed non-surgical therapy with successful results. Here we provide details about a four-year follow-up course of non-surgical therapy on a patient with severe generalized chronic periodontitis.

therapy plan: The patient was a 45-year-old female who complained of swelling of the gingiva in the full mouth and had difficulty masticating because of teeth mobility. Probing depth of 44, 45 and 47 were in the range of 5 to 10mm. Non-surgical therapy was selected because the patient did not wish surgical treatment. The initial preparations such as oral hygiene instruction, full-mouth scaling, and root planing were chosen as the main treatments for this patient.

process and results: The patient was brushing for 10 minutes three times a day. The roots were planed with just a hand scaler. Oral physiotherapy was introduced for recovery of periodontal tissue. One year later, the gingival condition improved significantly, to the extent that the probing depth of 44, 45 and 47 were in the range of 2 to 3mm.

discussion: The treatment results clearly demonstrate that nonsurgical therapy with oral physiotherapy and the rootplaning is highly effective in treating severely generalized chronic periodontitis patients.

conclusion: It is important to combine good support of brushing methods with rootplaning while respecting patients' preferences for effective non-surgical therapy.

P-01 2504 genipin は TNF- α が誘導するヒト歯根膜由来細胞 の IL-6 産生を抑制する

北中 祐太郎

キーワード:ゲニピン, IL-6, ヒト歯根膜由来細胞

【目的】IL-6は歯周炎病変局所において歯槽骨吸収に関与している炎症性サイトカインである事が明らかとなっている。また、genipin はクチナシに含まれる成分であり、抗炎症作用を始めとした様々な生理活性作用がある事が報告されている。本研究では TNF- α が誘導するヒト歯根膜由来細胞(HPDLC)のIL-6産生に与える genipin の影響を細胞内シグナル伝達機構(NF- κ B)も含めて解析する事を目的とし実験を行った。

【材料および方法】HPDLC はTaKaRa社より購入した。HPDLC を様々な濃度のgenipinにて1時間処理後にTNF-α (10 ng/ml) 刺激を行い、培養上清中のIL-6濃度をELISA法により、HPDLC 細胞内のNF-κB p65、IκB-αのリン酸化およびIκB-α分解は western blot法を用い解析した。

【結果および考察】TNF- α が誘導したHPDLCのIL-6産生は genipin処理により濃度依存的に抑制された。また、TNF- α が誘導したNF- κ B p65と $I\kappa$ B- α リン酸化および $I\kappa$ B- α 分解は genipin処理により抑制された。さらに、NF- κ B 阻害剤はTNF- α が誘導したIL-6産生を抑制した。この結果より、genipin はNF- κ B pathwayの活性化を抑制する事により TNF- α が誘導する HPDLCの IL-6産生を減少させる事が明らかとなった。

【結論】genipin は歯周炎病変局所においてIL-6産生を抑制する事により炎症性骨吸収を抑えることが考えられ、genipin を歯周ポケット内に投与する事などにより歯周炎治療に用いる事ができる可能性が考えられた。

JSP-10

Severe Periodontal Disease exacerbate Diabetic Nephropathythrough Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4

Shunsuke Takata

Keywords: toll-like receptor, diabetic

Background: Advanced glycation end products (AGE) that are cause of diabetic nephropathy recognized through receptors on kidney tissue cells and monocytes and induces the expression of the innate immune receptor, toll-like receptor (TLR). TLR2/4 induces cytokine production by recognizing microbial components, therefore responses triggered microbial components entering the renal circulation through TLR is considered to lead to glomerular sclerosis kidney tissue.

Objective We examined the expression of TLR2/4 in glomerular endothelial cells of diabetic mouse model, and the promotion of diabetic nephropathy by periodontal pathogen-derived TLR ligands.

Materials and Methods: Streptozotocin injection in ICR mice were listed type 1 diabetic mice, and a high-fat diet feed (HF) KK/TaJcl mice were type 2 diabetic mice. We were performed immunostaining, in situ hybridization, and real-time PCR. To examine the LPS susceptible to diabetic mice, a volume of $100\mu g / w$ of LPS derived Porphyromonas gingivalis were administered intraperitoneally.

Results: TLR expression that was not found in the blood vessels of other tissues was observed in the glomeruli in the kidneys of diabetic mice. Diabetic mice treated with LPS, TLR ligand, died of renal failure is the total number early in the total number survival of the control. In addition, increased production of collagen and expression of significant inflammatory factor occurred in the renal glomeruli of the mice that died.

Discussion: Diabetic mice treated with LPS, ligand for TLR2/4 is the total number died of kidney disease in the total number survival of the control, therefore it was considered that the expression of $TNF-\alpha_i LL-6$ and $TGF-\beta_i TLR-induced$ cytokine in the glomerulus was observed, and was activated glomerular endothelial LPS through TLR. Increase in the amount of type I collagen in glomeruli of diabetic mice treated with LPS was thought to be a result that mesangial cells adjacent to the glomerular blood vessels, were activated by cytokines derived endothelium. In severe periodontal disease, brushing leads to bacteremia easily. Also the structure of the yarn-like ball of renal glomeruli is likely to tie up blood substance. From these anatomical reasons, periodontal disease may be a the risk factor of developing diabetic nephropathy.

Conclusion: Glomerular endothelial cells express TLR2 and TLR4 under diabetic condition. As a result, renal disease exacerbates by glomerular sclerosis in recognition of periodontal pathogen-derived TLR ligands of circulating.

P-02

骨分化した羊膜上培養歯髄由来細胞シートの免疫 組織化学的検討

2299

本城 賢一

キーワード:歯髄由来細胞,羊膜,骨分化

【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細胞シート、培養歯髄細胞シートの作成方法を確立、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、新たな再生医療として有用かつ有効であることを報告している。また、第56回春季学術大会において培養歯髄細胞シートの骨分化能について示した。今回、さらに免疫組織化学的検討を加えたので報告する。

【材料および方法】歯髄由来細胞は、抜去された智歯より、歯髄組織のみを採取、10% FBS/DMEM培養液にて分離培養した。3~4代継代培養後、羊膜上にこれら歯髄由来細胞を播種し、10% FBS/DMEM(control群)あるいは骨分化誘導培地(アスコルビン酸、β-グリセロリン酸、デキサメサゾン添加10% FBS/DMEM培地)(骨分化群)にて4週間培養。その後、免疫組織化学的検討を行った。

【結果および考察】歯髄由来細胞は、control群及び骨分化群ともに羊膜上で層状構造であり、シート状を示した。また、骨分化群がcontrol群と比べ、アリザリンレッドS染色では高い染色性を示し、免疫組織化学的検討にてosetocalcinの高い発現性を認めた。以上の結果から、シート上に存在する歯髄幹細胞の骨分化による歯周組織再生の可能性が示唆された。

SPT期におけるテトラサイクリン・エピジヒドロ コレステリン含有軟膏を用いた塗布塗擦法の有効 性評価

久保田 健彦

キーワード:テトラサイクリン・エピジヒドロコレステリン含有 軟膏、塗布塗擦、SPT

【目的】テトラサイクリン・エピジヒドロコレステリン含有軟膏は 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歯肉への 塗布塗擦法が可能である。前回、本学会にて本剤のポケット注入 の有効性の検討結果について報告したが、今回は症例を追加して 塗布塗擦法の有効性について更に評価・検討した。

【材料および方法】新潟大学医歯学総合病院および研究協力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32名を対象とした。SPT期で歯周炎部位: PPD 6-8mm, BOP (+) を有する慢性歯周炎患者を実薬群 (T群)、プラセボ群(P群) に無作為に割付け二重盲検法にて評価した。薬剤の投与法は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。臨床指標(PII、GI、PPD、CAL、BOP)、細菌数(総菌数、P.i、P.g、T.f、T.d菌数)、生化学的検査(GCF中のMMP-8、IL-6量)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】臨床的指標の全ての項目で両群ともに軟膏塗布 塗擦による改善を示した。特に、炎症の強い患者(Baseline GIが 2)を対象とした層別解析では7日後のBOPでT群はP群に比し有 意な改善を示した(Primary endpoint)。一方、細菌学的指標では 両群ともに改善が見られたが、群間比較で有意な差は認められな かった。生化学的指標では両群に明確な変動は認められなかった。 以上のことから、本剤の塗布塗擦法は<u>臨床的指標であるBOPを改</u> 善させ、より炎症の強い部位に有効であると考えられた。

P-05

不織布フィルターを用いた閉鎖系システムによる 顎骨骨髄からの間葉系幹細胞分離

林 丈一朗

2504

キーワード: 間葉系幹細胞, 顎骨骨髄, 不織布フィルター, 再生療法

【目的】近年、歯周組織やインプラント周囲組織の再生において、間葉系幹細胞の移植が臨床的に有効であることが示されている。間葉系幹細胞の供給源として、これまで主に腸骨から採取した骨髄液が利用されてきたが、顎骨の歯槽堤から採取した骨髄液を利用することが可能になれば、間葉系幹細胞の移植は、より簡便に低侵襲に行えるものと考えられる。本研究では、間葉系幹細胞に親和性が高い不織布フィルターを組み込んだ閉鎖系デバイスが、顎骨からの骨髄間葉系幹細胞の分離において、有用であるか否かを検討した。

【材料および方法】明海大学病院歯周病科に来院した患者35人から、44検体の骨髄液をインプラント埋入手術時に顎骨歯槽堤から採取した。間葉系幹細胞分離デバイスを用いて回収した細胞は、細胞培養用シャーレに播種した。また、コントロールとして、本デバイスを用いず、遠心分離して上清を除き、細胞を直接シャーレに播種した。培養14日後に顕微鏡観察にてコロニー形成を確認した。

【結果および考察】本デバイスを用いたところ、30検体中10検体(33.3%)からコロニー形成細胞を分離することができた。一方、コントロールでコロニー形成が確認されたのは、14検体中3検体(21.4%)であり、コロニー形成細胞を分離できた検体の割合は、統計学的に有意な差はみられなかったが、デバイスを用いた方が高い傾向がみられた。本研究結果から、不織布フィルターを用いたデバイスにより、顎骨から得られる少量の骨髄液から、間葉系幹細胞を閉鎖系で効率よく分離できる可能性が示唆された。

P-04

歯周病とメタボリックシンドロームとの関係につ いて横断的研究

2499

西垣 勝

キーワード: 歯周病、メタボリックシンドローム、地域歯周疾患 指数、歯肉溝滲出貯留液

【目的】CPI(Community Periodontal Index): 地域歯周疾患指数) 検査およびGCF(Gingival Crevicular Fluid): 歯肉溝浸出貯留液)バイオマーカー検査とMSおよびMS関連指標との関係について検討した。

【方法】健診医療機関の協力を得て、人間ドックへの受診者のうち、歯科検診希望者を対象とした。MS関連指標としては、肥満 (BMI \geq 25、腹囲 \geq 男性85cm、女性90cm),高血圧(収縮期血圧 \geq 130mmHg又は拡張期血圧 \geq 85mmHg),脂質異常(TG \geq 150mg \neq dl,HDL - C<40mg \neq dl)および高血糖(空腹時血糖 \geq 110mg/dl)を陽性とした。歯周病の指標は、歯周ポケットの有無 (CPI \geq スコア3;有、CPI \leq スコア2;無)にて評価した。また、GCF中のラクトフェリン(LF)、 α 1-アンチトリプシン(AT)、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ(AST)の定量的分析を行い、各種指標に関して、統計学的に検討を加えた。

【結果】対象者は1038名であった。歯周ポケットの有無とGCFバイオマーカーの発現との関係は、有意な関係は認められなかった。MSおよびMS関連指標の所見の有無別でGCF検査値を比較した結果、ASTは腹囲、MSで有意差を認めた(P<0.05)。さらに、MS関連指標とCPIおよびGCFバイオマーカーとの関係をロジスティック回帰分析した結果、それぞれにおいて明らかな有意差は認められなかった。

【結論】CPIおよびGCFバイオマーカーとMSおよびMS関連指標との関連性は認められなかった。

P-06

G型フーリエ記述子を用いたパノラマX線画像に おける頸部石灰化領域の誤検出の検討

2113

内田 啓一

キーワード:頸部石灰化、G型フーリエ記述子、パノラマ X線画像 【目的】パノラマ X線画像から頚動脈の石灰化の有無を診断行い、血管障害の発症の可能性を説明し、血管障害を未然に防ぐことができると考えられる。そのためパノラマ X線写真から石灰化領域の有無を診断するための画像処理や解析が行われている。今回、G型フーリエ記述子を用いた頸部石灰化領域の誤検出の低減に関する検討を行ったので報告する。

【方法】石灰化領域を単なる局所最大ではなく山型の形状と考え、これを利用して石灰化領域の輪郭を検出するために、ミーンシフトクラスタリングを用いた。この方法では検出数は増加するが、それに伴い誤検出数も増加するため、輪郭線形状が複雑なものを誤検出と定義し、G型フーリエ記述子を用いて誤検出領域の検出と削除を行った。

【結果および考察】輝度勾配による石灰化領域の検出数は323例中102例であり、それに対して、ミーンシフトクラスタリングを用いた場合では、石灰化領域の検出数は323例中288例であり約2.8倍増加させることができた。誤検出数は、輝度勾配による検討では914例である。ミーンシフトクラスタリングを用いるとその数は約11.4倍となった。また、G型フーリエ記述子および顎骨領域の除去を適用することによって、誤検出数は15137例から10386例となった。G型フーリエ記述子および顎骨の除去を適用した場合、石灰化領域の検出数は288例からは減少するが、石灰化領域を有する画像の323例中251例の石灰化領域を検出することができた。この結果から検出率を向上させるという点では、ある程度の結果が得られたと考えることができた。今後の課題として、検出数を維持しつつ、誤検出箇所のみ削除する方法を開発することが必要である。



日本人成人における口腔健康指標とラクナ梗塞リスクの関係

2402

三木 学

キーワード:ラクナ梗塞,口腔衛生,磁気共鳴画像診断,加齢,高血圧

【背景】高齢者における口腔衛生の低下は、認知症リスク増加と関連があると報告されており、両者を結ぶ経路としてラクナ梗塞の増加が考えられる。口腔衛生の低下と虚血性脳血管疾患リスク増加の関係は、口腔の感染-炎症経路で認められたが、口腔衛生の低下とラクナ梗塞の進行の関係は不明である。そこで、本研究では、磁気共鳴撮像法(MRI)で発見されるラクナ梗塞の程度と口腔衛生指標の関連性を調べた。

【方法】被験者は、本研究について了解を得られた松本歯科大学病院歯周病科に通院中の患者(27~76歳)で、合計110名(女性:58名、男性:52名)であった。被験者は、全顎デンタルX線写真撮影、および脳MRI検査を受けた。被験者のライフスタイルと全身既往歴も質問紙法にて聴取した。さらに、歯周病専門医が歯周組織検査を施行し、口腔衛生指標としてPD、CALを評価した。歯科放射線専門医がデンタルX線写真から歯槽骨吸収を測定、米国循環器専門医と脳神経外科専門医の2名が脳MRIを読像し、ラクナ梗塞数を測定した。隣接カテゴリーロジットモデルにて、ラクナ梗塞数より分類した。群を従属変数として、口腔衛生指標との関係を評価した。本研究は松本歯科大学倫理委員会の承認(132号)を受け、施行した。

【結果】被験者110名中,61名にラクナ梗塞を認め,19名には複数存在した。加齢、高血圧(+)、高脂血症(-)、糖尿病(+)、身体活動時間の増加、および歯槽骨吸収の増加が調整モデルでは有意な関連を有したが、後者2つは調整前モデルでは関連を有さなかった。一方で、PDの増加はラクナ梗塞数の分類と関係する傾向があった。

【結論】ラクナ梗塞とPDの増加には関連があることが示唆された。

P-09

歯周組織再生療法の長期予後について

2504

南崎 信樹

キーワード:歯周組織再生療法,開業歯科医,長期予後

【目的】開業医における歯周組織再生療法の臨床経過を検討する目的で、長期間の予後経過の認められる9症例を検討した。

【材料と方法】歯周病専門医として開業している2つの歯科医院において歯周組織再生療法を受け、その後定期的メインテナンスに受診している患者8名(年齢47から69歳、男性2名、女性6名)の9部位を検討の対象とした。各患者から歯周組織検査(PD、BOP、動揺度)、口腔内写真、デンタルX線写真などの基礎的な資料を採得した。処置歯は単根歯2歯、大臼歯7歯(分岐部1歯)である。また、外科処置の際に、分岐部病変以外は、骨欠損形態を(1壁性、2壁性、3壁性、囲繞性)の4種に分類した。再生療法には、すべてエムドゲイン®を用いた。また自家骨による移植を併用したのが2症例である。検討対象歯は、外科処置後4年以上経過しているものとした。

【結果と考察】今回,症例数は少ないものの術後の歯周組織検査, X線において悪化したものは,認められなかった。レントゲン所 見では,顕著な歯槽骨再生が認められた症例もあった。骨再生が 認められたものは、3壁性の骨欠損が、多かった。しかしながら、 一部の症例では歯周ポケットが残存しており術式の適応、方法、 メインテナンスに関して検討が必要であると思われた。

【結論】歯周組織再生療法は、我々開業歯科医にとっても予知性が 高く臨床に有益な結果をもたらすことがわかった。今後は、今回 の検討を踏まえて歯周外科処置おいて積極的に再生療法を行って いきたい。 P-08

職域成人における歯周病と脂肪肝との関連性

2499

森田 十營子

キーワード:歯周病,脂肪肝

【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。非アルコール性脂肪性肝臓疾患(NAFLD)はメタボリックシンドロームの肝臓での表現形と考えられており、脂肪肝から肝硬変および肝癌へ移行する可能性があることから、その予防が重要視されている。しかし、歯周病とNAFLDとの関連性を調べた疫学研究の報告は少なく、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、本研究では、職域成人の歯科および医科の健診結果を 分析し、歯周ポケットの保有状況と脂肪肝との関連性を横断研究 によって明らかにすることを目的とした。

【対象および方法】対象は、某事業所従業員のうち、2012年にドック健診と歯科健診を受診した1,510名(男性1,218名,女性292名,平均年齢50.4歳,年齢幅39~64歳)とした。歯周組織はCPI法で、肝蔵は腹部超音波検査でそれぞれ診査し、歯周ポケットと脂肪肝の有無を判定した。歯周ポケットの保有状況と脂肪肝との関連性は多重ロジスティック回帰分析により解析した。

【結果および考察】脂肪肝は、男性の38%、女性の14% に認められ、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、脂肪肝の人の割合が有意に高かった。脂肪肝を目的変数として解析した結果、年齢、性別、喫煙習慣、飲酒習慣および肥満などのメタボリックシンドローム項目で調整しても、歯周ポケット保有は有意に高いオッズ比を示した。

以上の結果から、歯周病は脂肪肝と関連している可能性が示唆された。

P-10

シタフロキサシンの人工バイオフィルムに対する 抗菌力の検討

2504

大石 匠

キーワード:シタフロキサシン、バイオフィルム、マイクロ流体デバイス

【目的】シタフロキサシンは口腔内嫌気性菌を含む広域な抗菌スペクトラムを有するキノロン系抗菌薬であり、これまで浮遊菌に対する抗菌力については検討されているが、バイオフィルムに関する研究はほとんどない。そこで、本研究ではin vitroバイオフィルムモデルを作成しそれに対するシタフロキサシンの効果を検討した。

【材料と方法】マイクロ流体デバイス(BioFlux)を用い、嫌気的条件下で流路にPorphyromonas gingivalis ATCC33277とStreptococcus gordonii ATCC35105の複数菌種によるバイオフィルムを形成させた。これにヒト常用量投与時の歯肉組織および歯肉溝滲出液中濃度(推定値を含む)を踏まえ、シタフロキサシン(0.65および1.30 $\mu g/$ mL),対照薬としてアジスロマイシン(2.92、3.95および7.90 $\mu g/$ mL)存在下で 37℃で5日間培養を行った。薬剤作用後の生菌・死菌の定量は、LIVE/DEAD BacLightにて染色後、画像解析にて実施した。

【結果と考察】抗菌薬を作用させたすべての群において、生菌数の減少を認めた。シタフロキサシンを作用させた後の生菌数は、アジスロマイシン各群と比較して有意に少なかった(p<0.01)。以上の結果より、シタフロキサシンは複数菌バイオフィルムに対して優れた破壊効果および形成抑制効果を有することが示唆された。

DPP4阻害薬anagliptinは、活性化マクロファー ジおよびマクロファージ共培養下脂肪細胞の炎症 反応を抑制する

山下 明子

キーワード: DPP4阻害薬,炎症反応,マクロファージ 【目的】DPP4阻害薬は副作用の少ない経口糖尿病治療薬として広 く使用されており、今後本薬剤を服用している糖尿病合併歯周病 患者に遭遇する機会の増加が想定される。肥満状態では脂肪細胞 からDPP4の発現・放出が上昇することが報告されており、DPP4 は炎症反応において重要な役割を果たすことが推測される。そこ で、本研究ではDPP4阻害薬 anagliptin (三和化学研究所) を用い て,マクロファージの浸潤した脂肪組織の炎症反応へ及ぼす影響 を検討した。

【材料および方法】マウスマクロファージ由来細胞(RAW細胞) にE.coli 由来 lipopolysaccharide (LPS) 刺激 と anagliptin 添加を 行い、炎症性サイトカインのmRNA 発現とNF-κB・AP-1経路へ の影響を検討した。次に脂肪組織におけるマクロファージの浸潤 を想定してトランスウェルシステムを用い. マウス繊維芽細胞由 来脂肪細胞(3T3-L1細胞)とRAW細胞を共培養してLPS刺激と anagliptin添加を行い、3T3-L1細胞における炎症性アディポサイ トカインのmRNA発現および分泌量を検討した。

【結果および考察】anagliptin添加により,LPS刺激RAW細胞に おいてTNFα, IL-1β, IL-6, IL-12のmRNA発現上昇の抑制, IκBαの分解およびp65, JNK, p38MAPKのリン酸化の抑制, さ らにNF-κBとAP-1のプロモーター活性の減弱が見られた。ま た共培養下3T3-L1細胞ではanagliptin添加によりTNFα, IL-6, IL-12, MCP-1のmRNA 発現量と分泌量が抑制された。以上の結 果から、anagliptin は脂肪組織の炎症反応に対し抑制的な作用を 果たし、歯周病由来の慢性炎症状態に対しても抗炎症効果を発揮 することが示唆された。

P-13

子宮内膜症病変組織におけるPorphyromonas gingivalisの検出

2404

中村 梢

キーワード: Porphyromonas gingivalis,歯周病,子宮内膜症

【目的】子宮内膜症の女性は歯周病に対する危険率が1.6倍であると の報告(Kavousseiら, 2009) があるが、歯周病と子宮内膜症の関 連性は不明な点が多い。本研究は、子宮内膜症の患者の口腔内検査 を行うとともに、唾液、歯肉縁下プラーク、および子宮内膜症病変 組織における歯周病原細菌の検出を行うことで、歯周病と子宮内膜 症の関連性を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】被験者は鹿児島市立病院に入院中の、子宮内膜症の 手術予定の女性(30名)と、卵巣腫瘍の手術時に正常卵巣組織を切 除する必要のある女性(20名)とした。手術時に婦人科の医師が 子宮内膜症病変組織または正常卵巣組織を採取した。手術後3日以 内に、歯周組織検査と、唾液と歯肉縁下プラークの採取を行った。 採取サンプルからDNAを抽出し、歯周病原細菌 (P. gingivalis, F. nucleatum, P. intermedia, T. forsythia, A. actinomycetemcomitans, T. denticola) の検出をPCR法を用いて行った。

【結果および考察】30名の子宮内膜症うち6名からP. gingivalis が検 出されたが、正常組織からは検出されなかった。P. gingivalis以外 の歯周病原細菌は両組織に検出されなかった。子宮内膜症の中で P. gingivalis が検出された女性は、検出されなかった女性と比べて、 Probing Depth値, BoP率, Plaque Index値が有意に高く,手術理 由は月経困難症が有意に多かった。これらのことから、子宮内膜 症の病態に、歯周組織の健康状態や子宮内膜症病変に存在するP. gingivalisが関与する可能性が示唆された。

【結論】本研究より、歯周病と子宮内膜症の病態が関連する可能性 が示された。

【共同研究者】波多江正紀(鹿児島市立病院 産婦人科)

P-12

複眼撮影システムの歯周治療への応用

2199

緒方 智壽子

キーワード:歯肉、口腔計測、複眼カメラ、3次元形状

【目的】医療分野における光技術応用の中でも、歯科分野は対象 が明確であり、光技術との適合性が高いなど、大きな可能性を秘 めている。本研究では、歯周疾患による歯肉状態や形態の変化を とらえ歯周治療における新手法を構築するとともに、効果的なス クリーニング技術の開発をめざす。 複眼撮像システム TOMBO を ベースに、3次元形状計測、狭帯域波長画像・偏光画像取得、パ ターン投影機構などを組み込んだ多機能口腔計測システムを開発 し, 臨床利用を通して, 歯周治療の診断や治療効果のモニタリン グにおける有効性を検証する。

【材料と方法】複眼撮像システムTOMBOは個眼ごとに独立した 撮像チャンネルを持つ。そこで、各個眼チャンネルにバンドパス フィルターや偏光フィルターを配置して、複数種の情報を一括取 得する。また、二つ以上の個眼から得られる視差情報をもとに、 歯肉の3次元形状を計測する。これらの手法を統合し、マイクロ プロジェクターと波長切り換え照明系を組み込んだプロトタイプ システムを構成した。被験者の上下顎前歯部で、歯から歯肉歯槽 粘膜部までを10mm程度の距離から撮影し、ステレオマッチング 法により、3次元形状の計測精度と偏光撮像の有効性を確認した。 【結果と考察】2個眼による歯肉形状計測において、パターン投影 と適切なウインドウサイズの設定により、計測精度0.2mmを得 た。また、偏光撮像により、パターン投影なしで同等の計測性能 が得られることも確認した。

【結論】これらの結果は、臨床において有効な歯肉形状の定量的 データが取得できることを示唆する。今後、各種の歯周組織情報 の計測機能を個眼チャンネルに割り当て、高性能かつ有効な歯周 病診断システムの開発を進める。

P-14

歯肉溝滲出液および唾液成分の歯周病検査におけ る有用性の比較

2504

伊藤 弘

キーワード:歯肉溝滲出液, 唾液, ヘモグロビン

【目的】歯周領域で用いられている生化学検査の対象となる試料に はGCFと唾液がある。両者とも、非侵襲的な試料採取が可能なた め従来行われているPPDとBOPに加えることにより、より精度 の高い検査の遂行が期待されている。今回、同一被験者のGCFと 唾液の生化学成分の比較を行いその有用性を検討した。

【材料および方法】被験者は日本歯科大学附属病院にSPTとし て来院した41名とした。歯周組織検査である臨床パラメータ は、PII、GI、PPD、BOP、CALとした。生化学検査の試料とし て刺激唾液と、ペーパーストリップスを応用してGCFを採取し た。生化学検査は、エラスターゼ活性、AST活性、蛋白質量、 Hb量, ルミノール反応とした。特に, Hb量の測定にはimmunochromatography法を用いた。本研究は日本歯科大学倫理委員会 承認の下遂行された(承認番号08-21)。

【結果および考察】GCFでは出血の証拠となるHb量やルミノール 反応と臨床パラメータとの間に高い相関関係が認められたが唾液 では観察されなかった。また、ほぼすべての唾液からHbが検出 されルミノール反応は陽性を示した。これにより、GCF検査の方 が検査部位の歯周病の病態を明確に反映していることが示唆され 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: 20592437・25463267の助成を受けて行われた。



自己血由来多血小板フィブリン膜による歯周組織 再生効果

2504

中島 悠

キーワード:多血小板フィブリン膜, β-第三リン酸カルシウム, 歯周組織再牛

【目的】多血小板フィブリン膜(PRF)を β -第三リン酸カルシウム(β -TCP)とともに歯周骨内欠損に応用し、その6か月予後について報告する。尚、本研究は本学歯学部倫理委員会の承認済み(24-R24-Ol-18)で患者に文書を用いて十分説明し同意を得た。【材料および方法】1名の患者で6 mm以上のポケット(PD)と6 mm以上の付着レベル(CAL)、規格エックス写真より3 mm以上の骨欠損深さ(IBD)を示す部位に対して、炎症性組織を掻爬し後、 β -TCP(セラソルブM)を填塞し、その上を被覆するようにPRFを設置した。

【結果】症例1:右上1番近心,ベースラインではPDは9 mm, CALは12 mm, IBDは3.9 mmであった。6か月予後では、PDは3 mm, CALは6 mm, IBDは1.4 mmであった。症例2:右上3番遠心,ベースラインではPDは8 mm, CALは9 mm, IBDは3.9 mmであった。6か月予後では、PDは3 mm, CALは7 mm, IBDは1.1 mm であった。

【考察】歯周骨内欠損部にPRFを β -TCPともに用いたところ6か月予後で臨床的に有効に作用した。要因としてPRF 膜がPDGFアイソフォームを高レベルで含有し、かつ有為に細胞増殖、及び血管新生を誘導(Kobayashi et al., Biologicals, 2012)したことに加え、 β -TCPがスキャフォールドとして適切に作用したことが考えられる。今後症例数を増やし、長期的予後を追跡するとともに、GTR膜との効果を比較検討する予定である。

P-17

LIPUS 刺激は LPS 存在下における骨芽細胞の IL-1α 産生を抑制する

2206

長尾 麻由

キーワード: 低出力超音波, リポ多糖体, インターロイキン-1a,

【目的】歯周病発症と進行に関わるグラム陰性細菌のリポ多糖体 (LPS) は、歯槽骨の破壊を引き起こすことが知られている。 LPS が骨芽細胞に作用すると、炎症性サイトカインの1つであるIL-1が産生され、骨吸収を促進することが報告されている。一方、骨芽細胞は様々なメカニカルストレスに応答することが知られており、演者らのグループは、低出力超音波(Low-intensity pulsed ultrasound: LIPUS)が骨芽細胞の骨形成を促進すると報告した「Takayama et al, 2007)。しかし、歯周炎における歯槽骨吸収の原因の1つであるLPSとLIPUSとの関係については不明な点が多い。そこで、LPS存在下で骨芽細胞が産生する炎症性サイトカインに及ほすLIPUS刺激の影響について細胞生物学的に検証した。

【材料と方法】マウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞(MC3T3-E1細胞)を 6 well プレートに播種し、3、7、14 日間LIPUS刺激(超音波出力 30 mW/cm²・発振周波数 3.0 MHz・刺激時間 30 分/日)を OSTEOTRON D²(伊藤超短波株式会社、東京)を用いて与えた。 LPSは Escherichia coli 由来(10 ng/ml)を使用した。サンプル回収後、炎症性サイトカインとそのレセプター群の遺伝子発現について real-time PCR 法を用いて調べた。

【結果】MC3T3-E1 細胞のIL- 1α 遺伝子発現は、LPS添加によってコントロールに比べて顕著に増加した。また、LPS存在下におけるMC3T3-E1 細胞のIL- 1α 遺伝子発現は、LIPUS刺激によってLPS単独添加群に比べ有意に減少した。一方、IL-1 レセプター遺伝子発現は、コントロール群および実験群で有意差は認められなかった。【考察】LPS存在下におけるMC3T3-E1 細胞へのLIPUS刺激は、骨芽細胞の炎症性サイトカイン発現を抑制することが示された。

P-16

GFPマウス骨髄由来間葉系幹細胞の株化とサイトカイン関連遺伝子群の発現解析

2504

澤田 俊輔

キーワード: 間葉系幹細胞, サイトカイン, 歯周組織再生

【目的】間葉系幹細胞(MSCs)は骨、軟骨、脂肪細胞等への多分化能を有した体性幹細胞である。主として骨髄に存在するMSCsは血流を介し、炎症部位へ到達し、組織修復や再生に関与するとされている。近年では抗炎症作用への関与も注目され、歯周組織再生療法への応用を目的とした研究が進んでいる。我々は、in vivo イメージング解析に有利なGFPマウス骨髄由来MSCsを不死化、株化し、細胞株間のサイトカイン関連遺伝子群のmRNA発現を検討した。

【材料および方法】岩手医科大学動物研究センターより供与されたGFPマウスの頸骨より細胞を採取した。接着性細胞のみを低酸素条件下,MSCs増殖培地にて培養してMSCs様細胞を選択的に増殖させた。増殖した細胞にhTERTおよびSV40遺伝子のプラスミドベクターを導入し,薬剤耐性選択後,限界希釈法にて単一細胞由来細胞株を樹立した。細胞株間の分化能の検討を行った後,サイトカイン関連分子のmRNA発現をPrimerArray(Takara)を用いて評価を行った。

【結果および考察】分化能の異なる複数のMSCs培養株の樹立に成功した。これらの細胞間においてサイトカイン関連遺伝子の発現量を比較したところCCL22、Cx3cr1、Prl、Flt3、CCL12、CXCL13、CCL8の発現に差が認められた。本研究で樹立された細胞株の違いを詳細に比較することで、これらの差異を生かした部位特異的な幹細胞治療に繋がる可能性が期待される。さらに、これらの細胞株を利用したin vivoイメージング解析をはじめとするトランスレーショナルリサーチへの応用が期待される。蛍光発現MSC株の樹立と解析は歯科臨床応用において欠かせないと考える

P-18

口腔ケア処置前後による口腔内細菌数の変動について

2504

河合 崇普

キーワード:口腔ケア、口腔乾燥、高齢者

【目的】超高齢化社会においては入院患者における口腔ケアは重要であり、その実際の効果を具体的に把握することは有効な口腔ケアを展開する上で欠かせない。我々は口腔ケアによる口腔内細菌数の変動および炎症の改善程度について調査したので報告する。【材料および方法】国立病院機構盛岡病院に入院している患者(対象32名、平均年齢72.3歳)を対象とした。患者の口腔ケア開始前に口腔内細菌カウンタ®(Panasonic社)を用いて舌背部細菌数を測定すると共に口腔水分計ムーカス®(Life社)を用いて口腔乾燥度も併せて測定した。口腔ケア終了後にも再度細菌数を測定し、同一患者における口腔ケア前後での細菌数を比較した。また残存歯を有する患者については初診時およびSRP後の歯周組織検査を比較した。

【結果および考察】口腔ケア開始前と比較して、口腔ケア後は口腔内細菌数が有意に減少(P<0.05)しており、口腔ケアによって口腔内細菌数は実際に減少することが確認された。初診時に口腔乾燥傾向が強い患者では口腔内細菌数が高値であり口腔細菌数と口腔乾燥度に密接な相関関係(r=0.46305)を確認した。また残存歯を有する患者では歯周ポケットからの出血がSRP終了後に有意に減少(P<0.05)し、口腔ケアが歯周組織の炎症改善に有効であった。

【結論】口腔ケア後に細菌数が有意に減少し、炎症改善も確認されたことから、口腔ケアの有効性が示された。細菌カウンタは簡便に利用可能なので口腔ケアによる改善の指標に有用と思われる。また今回の結果から口腔ケアにおける口腔内の保湿チェックの重要性も示された。

口腔上皮におけるニコチンによる低比重リポタン パク受容体 (LDLR) の発現誘導

2202

伊藤 聖

キーワード: Ca9-22, ニコチン, 低比重リポタンパク受容体 【目的】これまで我々は、ニコチンが口腔上皮細胞に及ぼす影響 について microarray により検討し、低比重リポタンパク受容体 (LDLR) 遺伝子の発現が増強することを報告している。 今回, 口 腔上皮細胞におけるニコチンによるLDLR遺伝子発現を誘導する シグナル伝達のメカニズムについて検討した。

【材料と方法】Ca9-22に100 μMのニコチンを作用させ、real-time PCRにより比較した。タンパク発現は免疫蛍光染色にて検討し た。 シグナル伝達経路については、LDLR遺伝子の発現調節領域 をクローニングし、luciferase assayにより検討した。 転写因子に ついてはsmall interfering RNA(siRNA)によるSp1の遺伝子サ イレンシングを行った。また、ニコチンの受容体である nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) の関与については特異的アンタ ゴニストである α-bungarotoxin (αBtx) を用いて検討を行った。 【結果と考察】LDLR遺伝子発現は、ニコチン濃度100 μMにお いて刺激6時間後でピークを示し、免疫蛍光染色によりタンパク レベルでも上昇が確認できた。luciferase assayの結果, LDLR遺 伝子の発現上昇は転写レベルで制御されていることが確認され た。LDLRの発現調節領域には、転写因子Sp1の結合領域が3か所 (R1, R2, R3) 存在し、これらを欠失した変異体を用いた実験か ら、R2はLDLR遺伝子発現に抑制的に、R3は促進的に関与するこ とが示され、特にR3に転写因子Sp1が結合することにより遺伝子 発現が増強することを確認した。また、αBtxを用いた実験からニ コチン刺激はnAChRを介して伝達されることが明らかとなった。 【結論】ニコチンによるLDLRの発現はnAChRを介しシグナル伝 達され、Sp1が重要な機能を果たしていると考えられた。

P-21

グリチルリチン酸経口投与によるin vivo歯周組織 治癒効果

2504

井手口 英隆

キーワード:歯周炎モデルマウス,治癒,グリチルリチン酸 【目的】グリチルリチン酸(GA)は、抗炎症、抗アレルギー、お よびステロイド様作用等、様々な薬効が知られており、歯周病に 対しては近年に骨吸収抑制作用が報告された。そこで我々は、患 者自身による自己投与が可能なグリチルリチン酸製剤を想定して, 歯周炎モデルマウスにグリチルリチン酸を経口投与することに よって、その歯周組織の治癒効果を検証した。

【材料および方法】10週齢C57BL/6Jマウスの上顎左側第二大 臼歯に6-0絹糸を巻き付け、37℃で嫌気培養した膿瘍形成株で あるPorphyromonas gingivalis W83 (Pg) を絹糸に浸透させて感 染を持続させ、歯周炎モデルマウス (Pg群) を作製した。一 方, グリチルリチン酸水溶液を飲料水に含有し摂取させた (平 均 22.4 mg/匹) グリチルリチン酸経口投与群 (GA群)。2週後 に両群の歯周組織の状態を, computed tomography (CT) およ び切片のhematoxylin-eosin (HE) 染色とtartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色を行い、歯髄腔と歯根根尖を指標とし て骨量を定量解析した。なお、陰性対照は各マウスの上顎右側第 二大臼歯部とした。

【結果】Pg-GA群では、Pg群と比較して 1. 歯肉上皮下結合組織 に浸潤した好中球数が減少した。2. 骨表面のTRAP陽性細胞数 が減少した。3. 歯槽骨の吸収度が著明に抑制されていた。

【考察と結論】Pg感染による歯周炎モデルにおけるグリチルリチ ン酸の経口投与は、歯周組織の抗炎症および骨吸収抑制に有用で あることが分かった。今後の展望として、歯周組織治癒効果にお いてグリチルリチン酸がどのようなメカニズムで関与しているか の詳細を調べることによって、ターゲットを絞った予防法や治療 法の開発に繋がると考えられる。

P-20

ヒト脱分化脂肪細胞を用いた歯周組織微小血管再 生能の検討

2299

清水 曹

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(DFATs)は、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、DFATsを歯周組織の血管 再生に応用するため、ヒト脱分化脂肪細胞 (HDFATs) をヒト歯 肉由来血管内皮細胞 (HGECs) と共培養し、その特性についてin vitroにて検討を行った。

【材料および方法】HDFATsは、ヒト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。HDFATsとHGECsの共培養は、5%FBS含有血管内皮細胞 用培地 (5%FBS/EGM-2) で0.4μm孔径のポリカーボネート膜を 介して7日間行った。各細胞は、リアルタイムPCR法により血管 壁細胞マーカーである NG2, α-smooth muscle actin (αSMA) の 発現について解析を行った。

【結果および考察】HDFATsにおけるNG2, αSMAの発現は、 HGECsとの共培養により有意な増加が認められた。血管内皮細 胞は、増殖の過程で線維芽細胞増殖因子(FGF)や血小板由来増 殖因子 (PDGF), 形質転換増殖因子-β (TGF-β) などを放出し, これらの増殖因子は、微小血管の構築において、間葉系前駆細胞 の血管壁細胞分化を誘導することが報告されている。血管壁細胞 マーカーの発現は、微小血管の成熟や血管構造の維持に密接に関 与している可能性が考えられる。HDFATsは、HGECsとの共培 養により、微小血管の成熟安定化に関与する血管壁細胞への分化 が促進されることが示唆された。

P-22

T-RFLP法による明頭領域の細菌叢解析と口臭と の関連

2807

岩村 侑樹

キーワード:T-RFLP、メチルメルカプタン、咽頭領域

【目的】病的口臭は歯科疾患由来・耳鼻咽喉科疾患由来のものが多 く、細菌が深く関わっていると考えられている。咽頭領域におけ る細菌感染は口臭に関与している可能性があるものの、咽頭領域 の細菌叢と口臭との関連性については、明確には解明されていな い。今回、被験者を口臭の主な成分の1つであるメチルメルカプ タン濃度で3群に分け、咽頭領域の細菌叢をTerminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 法にて解析し、比 較検討を行った。

【材料および方法】被験者は、口臭治療の為に愛知学院大学歯学部 附属病院口臭治療科に来科し、歯周疾患を有しておらず、研究協 力の得られた計22名とした(愛知学院大学倫理委員会 承認番号 227)。オーラルクロマによる口臭測定を行い、メチルメルカプタ ン高値群 (n=10), 低値群 (n=8), 境界群 (n=4) の3群に分類し た。また、咽頭領域の細菌叢は同院耳鼻咽喉科にて口蓋扁桃表層 より採取した。DNAを抽出し、末端を蛍光標識したプライマーを 用いたPCRにて16SrRNA遺伝子を増幅後、HaeIIIにて断片化し た。高値群と低値群にて、同一の塩基対数 (bp) を持つ断片にお ける蛍光強度の各々のピーク面積/全面積(R)の比較検討を行っ

【結果および考察】469bpのRの値はメチルメルカプタン高値群 では低値群と比較して、有意に小さかった (p=0.007)。高値群で は低値群と比較して、Rの値が有意に大きいbpは存在しなかっ たが、201bpではRの値が大きい傾向が認められた(p=0.085)。 これより201bpの断片を有する細菌群では口臭の亢進が、また 469bpの断片を有する細菌群は口臭の抑制が生じる可能性が示唆 された。



IGF-1を用いた化学修飾法によるジルコニア表面 の生体活性化

2299

伊藤 大輔

キーワード:インスリン様成長因子1,ラミニン-5,細菌付着性 【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体 (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) の伸 展挙動および接着能を調べた。また、IGF-1およびlaminin-5を固定 化した表面における初期付着細胞の割合および細菌付着性を調べた。 【材料および方法】化学修飾法によりIGF-1を固定化し,その固定化 した表面上でHGECを培養し、形態学的観察および接着能の評価を 行った。また、IGF-1およびlaminin-5を固定化した表面において、 初期付着するHGECの割合の計測と、細菌付着性の評価を行った。 【結果および考察】培養72時間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が 有意に伸展し、integrinβ4およびlaminin-5のmRNA発現が有意に 上昇した。また、HGECにTrypsin-EDTAを一定時間作用させた後 も、IGF-1を固定化した試料表面に残存したHGECの割合が有意に 高かった (p < 0.05)。一方で、初期付着したHGECの割合の計測お よび細菌付着性の評価において、IGF-1を固定化した試料および研 磨した試料と比較してlaminin-5を固定化した試料は、初期付着した HGECの割合が有意に高かった (p < 0.05)。また、各試料の間で付 着した細菌量に有意な差は認められなかった。

【結論】IGF-1を固定化した試料では、培養72時間後においてHGECの伸展および接着能が亢進すること、細胞接着分子の発現が有意に上昇することが明らかとなった。また、laminin-5を固定化した試料では初期付着するHGECの割合が有意に高くなることが明らかとなった。

P-25

極細毛音波歯ブラシのプラーク除去効果と歯肉への傷害

3101

長﨑 満里子

キーワード:極細毛、音波歯ブラシ、歯肉傷害、プラーク除去 【目的】手用歯ブラシには極細毛を用いた歯ブラシがあり、歯肉溝へのプラークコントロール効果を示している。しかし音波歯ブラシに極細毛を応用した報告は少ない。そこで音波歯ブラシに極細毛を応用し、その段差がプラーク除去効果と歯肉に対する傷害の程度を調べることを目的とした。

【材料および方法】被験者は欠損歯がない歯肉炎あるいは軽度の歯周炎を有する52名。音波歯ブラシの極細毛の段差3mm (1群), 2mm (2群), 1 mm (3群) と極細毛の手用歯ブラシ4群 (各13名) に分け0, 2, 4週で1. 歯肉擦過傷 (右上4番), 2. 歯肉溝滲出液 (GCF) (左上4番), 3. PD, 4. BOP, 5. GI, 6. PCR (全額) を使用し、対象歯は上記1, 2, 6以外はRamfjrdの6歯を用いた。

【結果および考察】1群において歯肉の擦過傷は最も少なく、GCFは経時的に減少が認められた。またGIについても1群において経時的に改善が認められ、BOPは1、2、4群で減少を示した。一方、PCRは各群間で不変であり、PDも誤差範囲であり変化は認められなかった。1群において歯肉縁上のプラークを示すPCRが不変にもかかわらず炎症状態の改善を示すGCF、GI、BOPが改善していることから段差3mmの極細毛がポケット内のプラークの改善に有効に作用したことが考えられる。また、歯肉の擦過傷害も全体が極細毛の4群よりも少なく安全性も高いと考えられた。以上より、段差3mmの極細毛歯ブラシは、歯肉への傷害の危険性も少なく、音波振動ブラシとの併用によりポケット内プラークのコントロールに優れ、歯肉の炎症の改善につながったと考えられた。

P-24

口腔常在菌叢による歯周組織への影響

2202

入江 浩一郎

キーワード:口腔常在菌叢,歯周組織,自然免疫機構

【目的】常在菌は宿主の恒常性の維持に大きく関与している。例えば、腸内細菌叢は健康的な腸の機能や形態に重要な役割を果たしている。しかし、口腔常在菌叢が歯周組織に対してどのような影響を与えているのかは明らかではない。本研究の目的は、無菌マウスと通常菌叢マウスの歯周組織を組織学的に比較検討し、口腔常在菌叢の歯周組織への影響を明らかにすることである。

【材料と方法】12週齢のGerm-free (GF) マウス (n=6) と Specific-pathogen-free (SPF) マウス (n=6) の臼歯を含む歯周組織を摘出し、パラフィン包埋後、連続切片を作成した。ヘマトキシリン・エオジン染色、tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色の他、好中球およびT細胞関連抗体を用いた免疫染色を行い、組織定量分析を行った。

【結果と考察】歯肉上皮における好中球およびT細胞の遊走は、GFマウスよりもSPFマウスにおいて多く認められた(p<0.01)。セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離(歯槽骨レベル)は、GFマウスよりもSPFマウスの方が有意に大きかった(p<0.01)。歯槽骨表面におけるTRAP陽性破骨細胞数も、SPFマウスにおいてGFマウスよりも多く観察された(p<0.01)。さらに臼歯部歯周組織を近遠心的に比較すると、SPFマウスは中央部よりも近遠心部において、好中球の遊走や歯槽骨吸収が大きくなっていた(p<0.01)。

【結論】常在菌叢を有するマウス(SPFマウス)は、無菌状態のマウス(GFマウス)と比べて好中球やT細胞の遊走および歯槽骨吸収が強く認められた。炎症を介する歯周組織の破壊や免疫応答に対しては、歯周病原細菌だけでなく口腔常在菌叢もまた何らかの影響を及ほしている可能性が示唆された。

P-26

マイクロ・ナノパターンを付与したコンポジット レジン上への細胞接着

3102

今村 琢也

キーワード:コンポジットレジン、マイクロ・ナノパターン、細胞接着

【目的】マイクロ・ナノ構造は細胞の増殖や形態に強く影響を与えることが知られている。そこでコンポジットレジン (CR) 表面の生体適合性向上を目的として、CRに9種類のマイクロ・ナノパターンを付与後、細胞接着性を評価した。

【材料および方法】PET製のマイクロ・ナノインプリント用モールドを作製後、CR(ユニフィルフロー、GC)を圧接光硬化してマイクロ・ナノパターン化CRを作製した。パターンとしてグルーブ、ホール、ピラー形状(深さ: 2μ m、ピッチ:0.5、1.0、 2.0μ m)を設定した。次に各パターンのSEM観察、対水接触角測定により表面特性を評価した。続いてCR表面をプラズマ処理後、Saos-2細胞を各パターンに播種して1時間インキュベートした。細胞接着は、光学顕微鏡による細胞形態、接着細胞数、伸展細胞率により評価した。

【結果および考察】インプリント法によりマイクロ・ナノパターン化CRを得ることができた。パターン化CR表面は疎水性が向上し、また細胞接着試験の結果、接着細胞の形態に差を認めた。グルーブ形状において細胞はグルーブに沿って細長く伸展し、ホール、ピラー形状では放射状に伸展した。接着細胞数はパターン化CRにおいてプレーンに比較して増加傾向であった。各パターン間では大きな差は認めなかった。また伸展細胞率はパターン化CRで80%程度、プレーンで30%程度であった。以上より、CR表面に付与されたマイクロ・ナノパターンは細胞の形態や配向性に影響を与え、さらに初期接着性を向上する可能性が示唆された。

in vivoモデルにおけるヒト歯周炎歯肉を用いた hBD-2 および IL-1β 発現と臨床病態との関連に ついての検討

清水 智子

キーワード: hBD-2, IL-1β, P. gingivalis

【目的】歯肉上皮細胞では細菌や炎症性サイトカインの刺激によって human β -defensin-2 (hBD-2) が産生され、抗菌作用を示し初期防御に関与する。しかし、この発現メカニズムを含めた免疫応答に関してヒト歯肉を用いて直接的に解析した報告は未だない。そこでヒト歯肉組織を再構築したin vivoモデルを用いて細菌感染に対する反応を解析し、hBD-2 およびIL-1 β の発現動態と臨床病態との関連について検討を行った。

【方法】歯周外科手術または抜歯術を行った軽・中等度慢性歯周炎患者27名、重度慢性歯周炎患者17名より歯肉を採取した。そして、Tsukinokiら(J Periodont Res 2007)の方法をもとにヒト歯肉組織再現モデルをヌードマウス皮下にて作製した。その後ヒト歯肉に対して Porphyromonas. gingivalis を感染させ、定量PCRを用いてhBD-2、IL-1βのmRNA 発現を解析した。

【結果と考察】軽・中等度慢性歯周炎群において、P. gingivalis 感染はhBD-2の発現を有意(p<0.05)に増加したが、重度慢性歯周炎群では有意な増加を認めなかった。また、IL-1βとhBD-2は相関(r=0.421、p<0.05)した。これらの結果から、重度慢性歯周炎群では感染後hBD-2の発現が抑制されており、慢性歯周炎の臨床病態の違いとhBD-2の発現動態(感染後の歯肉上皮の反応性)の間には関連がある可能性が示唆された。

P-28

免疫不全マウスを用いたヒト歯肉粘膜のin vivo実験モデルの開発

2202

槻木 恵一

キーワード:免疫不全マウス,ヒト歯肉,実験モデル

【目的】本実験の目的は、ヒト歯肉を免疫不全マウス皮下で3次元 構築を維持した状態で再現し、ヒト組織に対して実験的な検討を 行える移植法を開発することである。

【方法】移植にはヌースキッドマウス(実験動物中央研究所供与)を使用した。移植サンプルは、インフォームドコンセントの得られた15例(歯肉:11例、口蓋:1例、舌:3例)を用いた。移植方法は3種類を検討した。移植方法1と2は、マウス皮下に移植した。移植方法1:マウス上皮下結合組織とヒト扁平上皮組織を接合。移植方法2:マウス上皮下結合組織とヒト上皮下結合組織を接合。移植方法3:マウス皮膚とヒト粘膜を縫合。移植後60日および80日において組織学的検索を行った。さらに、80日後のサンプルを用いてヒトの形質を保つかどうか免疫組織化学的に検討した。

【結果と考察】第1法と第3法は生着しなかった。一方,第2法は生着し、80日まで移植前と同様の組織構築を示した。また,このマウス皮下でのヒト歯肉は,免疫組織化学的に毛細血管以外はヒト形質を示した。ヌースキッドマウスは,ヒト皮膚の移植に適したマウスである。このマウスを用いてヒト歯肉の移植を試みたところ,組織学的には3次元構築を維持し,ヒト形質も保持する移植方法を見出すことができた。本実験系は,ヒト歯肉組織に対して実験的な検討が行えるモデルあり,本モデルを用いた感染実験は培養細胞や動物実験の結果を検証するのに有用であった。

P-29

P. gingivalis LPS刺激による細胞内クロストークを介するWnt5a遺伝子発現

南原 弘美

2504

キーワード: Wnt5a, P. gingivalis LPS, THP-1

【目的】Wntは組織の分化・発生と深く関わっている糖タンパクとして知られている。近年、canonical Wntシグナルは間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を促進することが報告されている。一方、non-canonical Wntシグナルは炎症の組織破壊において重要な役割を果たすことが報告された。そこで、我々は組織の破壊と再生の双方を統合する分子としてWntシグナルに着目し、特に歯周炎の発症過程を解明する為にnon-canonicalシグナルを介するWnt5aに焦点をおいた。我々はこれまでに、慢性歯周炎組織においてWnt5a mRNA発現が有意に上昇していることを報告している。本研究ではヒト単球系細胞THP-1を用いてP. gingivalis LPS誘導のWnt5a遺伝子の発現メカニズムを検討する。

【材料と方法】THP-1を用いて特異的シグナル阻害剤 (PI3K (Wortmannin・LY294002)・mTOR (Rapamycin)・STAT3 (STA21))にて前処理後、P. gingivalis LPSによる刺激を行った。real-time RT-PCR法 によりWnt5a mRNA発現、western blot 法によりIκBαタンパク発現、luciferase reporter assayによりNF-κBの転写活性を測定し、P. gingivalis LPS誘導のWnt5a発現とNF-κB経路およびPI3K/Akt/mTOR経路の関与を検討した。

【結果と考察】real-time RT-PCR法より、P. gingivalis LPS誘導の Wnt5a mRNA 発現がPI3Kインヒビター Wortmannin により増強 した。western blot法より、P. gingivalis LPS誘導の IκBα分解が Wortmannin により促進した。luciferase reporter assayより、P. gingivalis LPS誘導のNF-κBの転写活性が Wortmannin により増強 した。

【結論】PI3KはP. gingivalis LPS誘導のNF-κB活性およびWnt5a発現の負の調節因子であることが示唆された。

P-30

多孔性炭酸含有アパタイト-bFGF複合体のイン プラント周囲骨への応用

2504

向井 景祐

キーワード:炭酸含有アパタイト、bFGF、インプラント、骨欠損【目的】動物実験モデルで炭酸含有アパタイト (CA) 多孔体を塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) の担体として用いた歯周組織再生の有効性を報告してきた。CAは、骨伝導能に優れ吸収性を持つため骨再生の足場として、また増殖因子を保持する担体として期待できる。bFGFは歯槽骨欠損部において骨形成を促進することが報告されている。CAをbFGFの担体とした複合体にすることで、より大型の骨造成が期待できることから、インブラント周囲の骨造成においても有効であると考えられる。 本研究では、インプラント周囲の骨造成において、CAを担体としbFGFを添加した複合体の有効性を検討した。

【材料と方法】雄性ビーグル犬3頭を用いた。全身麻酔下で P3, P4 部に歯肉溝内切開を加え剥離後,分割抜歯を行い,縫合した。抜歯後12週に、全身麻酔下でP3, P4部を全層弁で剥離後,インプラント窩を作製。インプラント窩頬側に横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))を埋入した。CAのみを填入したものをCA群,bFGFのみを填入したものをFGF群,bFGF-CA複合体を填入したものをFGF+CA群,欠損のみをコントロール群とした。術後8週に屠殺後,試料を採取し4% PFAで固定した。マイクロCTにて骨塩量(BMD)計測後、樹脂切片を作製し組織学的評価及び新生骨量,新生骨高さ、CA残存率の計測を行った。

【結果と考察】CA顆粒の残存は認められたが、FGF+CA群で著明な骨再生が観察された。また、FGF+CA群ではCA群と比較してCA残存率は有意に低かった。インプラント周囲骨欠損に対しCAをbFGFの担体として用いることが骨造成に有効であることが示唆された。





BMP-2対するヒト歯周靱帯由来線維芽細胞の走 化性反応

2504

和田 淳

キーワード:BMP-2、ヒト歯周靱帯由来線維芽細胞、走化性 【目的】現在、歯周病により失われた組織の回復に各種成長因子を用いたサイトカイン療法が盛んに行われ、良好な治療成績が報告されている。近年、組織再生において細胞の分化、増殖に加え再生初期における細胞走化性が重要と考えられている。これまで、走化性を評価する方法として、Boyden chamber法が用いられてきたが、この方法では濃度勾配が得られにくい点や、経時的な情報が得られにくい点など様々な問題が存在した。これに対し、EZ-TAXIScanTMはそれらの問題点を解決し、細胞走化性という動的な過程を経時的に観察するこができ、走化性を定量的に評価することができる。本研究の目的は骨形成タンパク2(BMP-2)に対する歯根膜由来線維芽細胞の走化性についてEZ-TAXIScanTMを用いて評価することである。

【材料および方法】細胞は正常ヒト歯周靭帯線維芽細胞(HPdLF)を3継代培養して使用した。走化性因子はBMP-2を用い、10ng/ml, 100ng/ml, $1\mu g/ml$, $10\mu g/ml$ の各濃度で作用させた。走化性反応はEZ-TAXIScanTMを用いて記録、走化速度、走化性細胞の割合、方向性を濃度により比較検討した。

【結果および考察】HPdLFはBMP-2 100ng/mlに対し最も高い走化性を認めた。BMP-2は歯周組織再生初期の細胞走化性を亢進させる可能性が示唆された。細胞は走化性因子のわずかな濃度差を認識することで走化性を亢進させる。組織再生において成長因子に対する細胞の至適濃度を探索することは非常に重要であると考えられた。

P-33

歯周組織欠損部のX線CTデータをもとに作製した3Dモデリングと移植材の適合性

2504

齋藤 彰

キーワード: CT, 3Dモデリング, バイオマテリアル, 歯周組織再生【目的】バイオマテリアルの移植は, 歯周組織再生に有効であると考えられているが, 移植時の整形が困難な場合や, 移植後の顆粒の脱離等が指摘されてきた。我々は, 予め移植材を欠損形態に合わせて準備することができれば, 移植処置が容易になり, 移植材の適合も向上するのではないかと考え, 欠損部のCTデータをもとに3次元データを編集して移植材を作製, 準備して移植手術を行う新しい歯周再生療法を考案した。本研究の目的は, 作製した3Dモデリングおよび設計した移植材の精度について検索することである。

【材料と方法】ビーグル犬の前臼歯に Π 級根分岐部欠損、水平性骨欠損を外科的に作製し、10日後にト殺した。標本は以下の3条件でX 線CT撮影を行った。S群(VD 0.076mm,FOV40,130KV,40 μ A),DH群(VD 0.125mm,FOV80,120KV,5mA),DL群(VD 0.400mm,FOV80,120KV,5mA)。その後、標本の軟組織を除去して、光学印象を行い対照(C群)とした。各データの3Dモデリングを行い、根分岐部欠損の幅、高さ及び深さを計測してC群と比較した。移植材の設計は、水平性骨欠損部及び既存骨の厚みが小さい部位に移植材を覆うように行い、C群との適合状態を比較した。

【結果と考察】根分岐部欠損の幅、高さ及び深さは、S群が最も対照に近似し、DL群との差が最も大きかった。CTデータをもとに3Dモデリングが可能であることが示唆された。移植材の設計ではS、DH群が対照に適合し、DL群の差が大きかった。歯科用CTを用いたDH群は、良好な適合であると考えられるが、今後は生体に移植を行って検索する必要があると考えられた。

【結論】歯周組織欠損部のCTデータは、3Dモデリング及び移植材の設計に利用できる可能性が示唆された。

P-32 2402 歯周病の重症度別分類を用いた心臓血管疾患,糖 尿病およびメタボリックシンドロームにおける歯 周病患者の割合

岩井 由紀子

キーワード:重症度別分類、心臓血管疾患、糖尿病、メタボリックシンドローム

【目的】20年程前より、種々の全身疾患と歯周病の関連性が疫学的に報告されている。しかし、日本人における詳細な疫学データは存在しない。その理由の一つとして、歯周病を評価する統一基準がなく、データの蓄積が不可能であ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新たに策定した重症度別分類を用いて、心臓血管疾患、糖尿病、メタボリックシンドロームとの関連性を明らかにすることを目的とする。さらに、重症度別分類では高感度CRP(C-reactive protein)値と歯槽骨吸収率を指標としているが、炎症マーカーとしての血清アミロイドA (serum amyloid A:SAA)の可能性も検討する。

【材料および方法】松本歯科大学病院健診センターの人間ドックを受診し、本研究に同意の得られた者120名に対して、高感度CRP値、血中SAA濃度測定、パノラマX線写真撮影から歯槽骨吸収率を計測し、各疾患群およびコントロール群における歯周病の重症度の分布を検討し、高感度CRP値と血中SAA濃度の相関の有無を調べた。

【結果および考察】心臓血管疾患罹患者群、メタボリックシンドローム群では歯槽骨吸収率の軽度~中等度の患者が多く、高感度CRP値には、ばらつきがみられた。糖尿病罹患者群では他の群に比べ、高感度CRP値および歯槽骨吸収率が重度の者が多かった。一方、コントロール群では半数以上の患者が高感度CRP値、歯槽骨吸収率ともに軽度なIA群に集中していた。さらに、高感度CRP値と血中SAA濃度間に相関がみられたことにより、SAAは高感度CRPと同様に炎症マーカーとして使用出来る可能性が考えられた。

【結論】日本歯周病学会の重症度別分類の新たな有用性が示唆された。

P-34

オゾンの局所止血作用効果

3199

益野 一哉

キーワード:オゾン,止血作用,歯周外科治療

【目的】現在、オゾンは抗菌活性や抗炎症作用から歯周炎、口内炎や口腔内洗浄など歯科臨床に応用され、急速に普及している。最近では、歯周外科などの際にオゾンを用いた場合に止血効果の報告が相次いだ。このような背景から、本研究ではオゾンを歯周病治療に伴う小出血への状況を想定し、マウス尾部切断創におけるオゾンの局所止血作用効果を検討した。

【実験動物と材料】5週齢SPFのICR系雄性マウスを使用した。被験薬には、オゾン水、オゾンジェル、局所止血薬ボスミン、トロンビン局所溶液、歯科用TDゼットを用いた。出血時間の測定は、マウスの尾部切断創を用いる方法に準拠した。マウスの尾尖部をカミソリで出血状態を作り、オゾンならびに歯科で用いられる局所用止血薬を切断創に適用して止血に要する時間を比較した。

【結果と考察】オゾン水、オゾンジェルはマウスの尾部切断創の 出血時間を有意に短縮し、それはボスミン液、トロンビン、TD ゼット同等か同等以上だった。また、オゾン水、オゾンジェルは 血球細胞に障害はみとめられなかった。オゾンの止血作用のメカ ニズムは、血小板の粘着、凝集、活性化に関与していると考えら れる。また、局所止血薬と違い過剰投与による副作用もなく、誤 飲も安全である。

【結論】オゾンジェル、オゾン水が、歯周外科治療や。口腔粘膜への微小出血を伴うケースにおいて臨床応用に期待できる。

ヒト骨髄間葉系幹細胞に対するエナメルマトリックス由来合成ペプチドによる効果

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】歯周組織の再生を促す製剤として、市販のエムドゲイン®を基に合成ペプチドを開発した。骨髄間葉系幹細胞は、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高い。今回の目的は、ヒト骨髄間葉系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】ヒト骨髄間葉系幹細胞は理化学研究所から提供をうけた。この骨髄間葉系幹細胞は免疫組織化学的にビメンチンおよびSTRO-1の発現によって幹細胞の性質を確認した。細胞の増殖能については合成ペプチド(1, 10, 100, 1000 ng/mL)をそれぞれ添加した通常,または骨形成培地中で骨髄間葉系幹細胞を培養し検討した。骨芽細胞分化はアルカリホスファターゼ(ALP)活性,石灰化、カルシウム沈着を測定することにより評価した。対照として合成ペプチド無添加を用いた。

【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10 ng/mLの濃度で細胞は顕著に増殖した。骨芽細胞分化能の指標である、ALP活性およびオステオカルシン産生はいずれも、合成ペプチド10 ng/mLの濃度において顕著に増加した。これらの結果、合成ペプチドは10 ng/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-37 3103 PTH (1-34) の間歇投与によるラット GBA モデルにおける骨増生への影響

キーワード:副甲状腺ホルモン,骨増生

【目的】副甲状腺ホルモン (PTH) は、生体内のカルシウム濃度を調節するホルモンである。現在、PTH (1-34) は、広く骨粗鬆症薬として使用されており、骨芽細胞に作用し、骨形成を促進させることが知られている。そこで本研究では、ラットGBAモデルに対するPTH (1-34) の骨増生への影響を検討した。

【材料と方法】12週齢のラット(F344/jcl)の 頭頂骨を露出させ、左右対称に5 mmの外周溝をトレフィンバーにて作製、その内側に5 rmの骨髄穿通をラウンドバーにて形成し、規格化されたプラスティックキャップ(内径 4.4 mm、高さ 1.5 mm)を設置した。実験群には、週3 回PTH(1-34)を $35 \mu g/kg$ 投与し、対照群には同量の生理食塩水を週3回投与した。手術日を0 週とし、実験動物用 3D マイクロ CT(マイクロ CT)を用いて、12 週まで隔週撮影した。

【結果と考察】マイクロCT観察の結果から実験群および対照群ともに、術後2週から術後12週まで新生骨の形成が観察された。また、実験群では術後8週から術後12週まで対照群と比較して有意に新生骨が形成された(p<0.05)。

【結論】PTHの間歇投与はラット頭頂骨GBAモデルにおける骨外側方向への骨増生を増加させることが示唆された。

P-36

新規合成ペプチドによる歯周組織再生に関する組 織学的研究

2504

P-38

3103

南堂 百映

吉巻 友裕

キーワード:新規合成ペプチド, von willebrand因子 (Factor VIII)

【目的】エナメル基質タンパクからin vivoで誘導発現する好酸体の解析によって得られたアミノ酸配列を基に人工的に新規物質ペプチド合成した。本実験の目的は、ラットに作製した人工的歯周組織欠損部に新規合成ペプチドを貼付し、欠損部歯周組織の再生過程を形態的に観察することで、その有用性を明らかにすることである。

【材料および方法】生後8週齢のSD系雄性ラット20匹を、実験群と対照群の2群に分け、上顎左右側第一臼歯口蓋側中央根を含む歯周組織を実験部位とした。歯肉を切開、剥離し、直径1mmのラウンドバーを用いて歯周組織欠損を作製した。実験群には歯周組織欠損部に新規合成ペプチドを貼付した。新規合成ペプチドを貼付しないものを対照群とした。両群ともに歯肉弁を復位し、1糸縫合した。術後7、14日に、ラットを各5匹ずつ、ペントバルビタールの腹腔内過剰投与によって安楽がさせ、10%中性緩衝ホルマリンで灌流固定後、被験歯根を含む歯周組織を一塊として摘出し脱灰した。その後、切片を作製し、HE染色、抗von willebrand 因子(Factor VIII)抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。

【結果および考察】HE染色では、対照群に比べて実験群の方が早期に炎症細胞浸潤が消退していた。抗von willebrand因子 (Factor VIII) 抗体染色では、実験群の方が術後早期に豊富な血管増生が認められた。以上より、新規合成ペプチドが創傷治癒機転を早め、歯周組織再生療法に有用であることが示唆された。

ラクトフェリンの全身投与はラット頭頂骨内側性

津徳 亮成

骨欠損の骨再生を促進する

キーワード: ラクトフェリン、骨再生、内側性骨欠損 【目的】ラクトフェリン(LF)は、トランスフェリンファミリーに 属する80 kDaの鉄結合性糖タンパクであり、骨形成を誘導することが知られている。本研究では、ラット頭頂骨骨欠損部における 骨再生への LF の影響を全身下において検討した。

【材料と方法】11 週齢の雄性近交系 Fischer ラット F344/jcl 30 匹 に対し、頭頂骨の左右に直径2.7 mmのトレファインバーを用いて 骨欠損を形成した。骨欠損部に生理食塩水を含浸させた吸収性コ ラーゲンスポンジを設置し、骨欠損部を完全に被覆するように縫 合した。ウシラクトフェリン (bLF) 100 mg/kgおよび10 mg/kg 投与群, 対照群として生理食塩水投与群の3 群に分け, 各郡の頭 数を10 匹とし、実験期間中、1 日1 回腹腔内投与した。骨再生の 経日的な変化は、実験動物用3D マイクロ CTを用いて観察し、新 生骨様組織骨量 (mm3) を測定した。また、術後4 週で組織切片 を作製してヘマトキシリン・エオジン染色を施し、骨欠損の閉鎖 率 (%). 骨欠損内部における新生骨様組織の占有率 (%) を算出 し、骨芽細胞様細胞数を光学顕微鏡下でカウントした。各群の比 較にはMann-Whitney U testを用いて行い, 危険率を5%とした。 【結果と考察】マイクロ CT 観察の結果, 4 週でbLF 100 mg/kg 投与群は術後他の群と比べ顕著な形成を認めた。 定量的評価では, bLF 100 mg/kg投与群では対照群と比較して術後1 週から4 週ま で有意に高値であった。骨芽細胞様細胞は、bLF 投与群において、 対照群よりも有意に高値であった。また、欠損部の骨閉鎖率およ び新生骨様組織占有率ではbLF 100 mg/kg投与群において有意に 高値であった。

【結論】以上のことから、頭頂骨欠損ラットモデルに対するbLFの全身投与は、欠損部の骨再生を促進すると示された。



高血糖はヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化, および石灰化を阻害する

2202

嘉藤 弘仁

キーワード:歯根膜幹細胞,骨芽細胞,糖尿病

【目的】歯周組織再生において、歯根膜幹細胞(PDLSCs)は重要な細胞である。また、糖尿病は歯周組織破壊のリスクファクターの一つであると報告されている。しかしながら、糖尿病と歯周組織再生の関連はいまだ明らかではない。したがって、本研究では各種グルコース濃度によるPDLSCsの増殖、骨芽細胞分化、石灰化への影響について検討を行った。

【材料と方法】PDLSCs は、ヒト抜去歯の歯根膜より分離・培養した。Garciaらの方法を用いて、PDLSCsを各種グルコース濃度(5.5 mM, 8.0 mM, 12.0 mM, 24.0 mM) に調整した培地で1日~21日間培養を行い、細胞増殖、Runx2 mRNA、オステオネクチン(OSN)mRNAの発現、Alkaline phosphatase(ALP)活性、procollagen Type I C-peptide(PIP)産生量、Osteocalcin(OCN)産生量、カルシウム析出量、および Alizarin red染色による石灰化の検討を行った。

【結果と考察】グルコース濃度依存的にPDLSCsの細胞増殖, Runx2, OSN mRNAの発現, ALP活性, PIP産生量, OCN産生量, 石灰化を抑制した。これらの結果より, 高濃度のグルコースはPDLSCsの細胞増殖, 骨芽細胞分化および石灰華を抑制することが示唆された。

【結論】糖尿病による高血糖状態によって, 歯周組織再生が阻害される可能性が示唆された。これらの結果は糖尿病と歯周組織再生の関係を明らかにする一助となると考えられる。

P-40 2504 ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞の骨芽細胞分化における secreted frizzled-related proteins (SFRPs) の作用

山田 梓

キーワード: 間葉系幹細胞, ヒト歯根膜, 骨芽細胞分化

【目的】ヒト歯根膜細胞には歯周組織再生能があると言われ再生治療への活用が期待されているが、その性質には明らかでない点も多い。そこで本研究ではヒト歯根膜細胞由来間葉系幹細胞(hMSCs)の骨芽細胞分化における分化制御因子の探索を行い、歯周組織再生治療への応用の可能性を検討した。

【材料と方法】抜去歯より採取したhMSCsを石灰化誘導培地 (OIM) で5日間培養しALP活性を測定した。誘導4,7,14日目に mRNAを回収しPCR arrayを行い、有意に発現の変化を認めた遺伝子に関しTaqMan PCR assayを行った。またloss- and gainof function実験およびin vitro protein binding assayを実施した。【結果と考察】OIMにより上昇したALP活性はWNTカノニカル経路阻害剤(XAV939)により抑制されたことから、hMSCsの骨芽細胞分化にはカノニカル経路が関与することが示唆された。またPCRによりhMSCsをOIMで培養するとWNTの細胞外アンタゴニストであるsecreted frizzled-related protein 3(SFRP3)の発現は上昇する一方、SFRP4の発現は抑制された。機能的解析においてhMSCの骨芽細胞分化はSFRP3により促進されたがSFRP4により抑制された。さらにSFRP3はノンカノニカル経路の代表的リガンドであるWNT5Aと結合した。

【結論】SFRP3およびSFRP4は、WNTシグナルのカノニカル経路およびノンカノニカル経路を介しhMSCsの骨芽細胞分化を制御する可能性があることから、SFRP3およびSFRP4は骨分化の制御因子として再生医療に応用できる可能性が示唆された。