

一般演題ポスター

(ポスター展示会場)

ポスター展示会場

P-01~66

9月12日(土)	ポスター準備	8:30~10:00
	ポスター展示	10:00~18:40
	ポスター討論	16:30~17:30
	ポスター撤去	18:40~18:50

P-01
2504
FGF-2 歯周組織再生試験（プラセボ対照・第III相
検証的試験）-安全性評価-
山田 聡

キーワード：FGF-2, 歯周組織再生, 治験
【目的】我々は、これまでに歯周炎患者を対象とした治験（第II相）において、0.3%の塩基性線維芽細胞成長因子（FGF-2）が2壁性及び3壁性骨欠損の歯周組織再生に有効である可能性を報告した。今回、プラセボを対照としてFGF-2の歯周組織再生効果を検証し、安全性を検討することを目的とした検証的試験（第III相）を23施設で実施した。本演題では安全性に関する成績を報告する。
【材料と方法】登録前のX線写真で深さ3 mm以上の垂直性骨欠損を有する20～78歳の歯周炎患者を対象として、0.3 %FGF-2含有HPC (hydroxypropyl cellulose) 製剤又はプラセボ (HPCのみ) 各々200 µLをフラップ手術施行時に単回投与した。登録前、投与前、投与1, 2, 4週後に臨床検査を実施し、投与前、投与2, 4週後の血中抗FGF-2抗体を測定した。また、自覚症状・他覚所見（全身及び投与歯・隣接歯を除く口腔内：投与4週後まで、投与歯・隣接歯：投与36週後まで）を調査した。
【結果と考察】プラセボ群108名、FGF-2群215名、計323名の安全性を検討した結果、投与群間で有害事象及び副作用（因果関係の否定できない有害事象）の発現頻度に違いはなかった。また、歯肉の異常増生やアンキロシス等の有害事象は認められなかった。FGF-2群で認められた副作用は治療を要さない臨床検査値の変動のみであり、高度な副作用はなかった。また、FGF-2投与による血中抗FGF-2抗体の産生は認められなかった。
【結論】FGF-2を投与した場合の安全性にフラップ手術のみを実施した場合との差異はなく、一般臨床下でも安全に使用できると考えられた。
（本治験は科研製薬株式会社の依頼を受け、GCPを遵守して実施された。）

P-03
2504
FGF-2検証的試験 日本大学松戸歯学部付属病院での症例
小方 頼昌

キーワード：塩基性線維芽細胞成長因子, 歯周組織再生, 治験
【症例の概要】歯周炎患者を対象とした治験（「FGF-2歯周組織再生試験（プラセボ対照・第III相検証的試験）」及び「歯周炎を対象としたFGF-2のエムドゲイン®ゲルとの比較試験（第III相）」）において、0.3% FGF-2を投与した症例について報告する。（症例1）45歳、女性、被験部位：下顎右側第1大臼歯遠心部、骨欠損形態：2壁性、投与前所見（X線の骨欠損深さ7.89 mm, PPD 6 mm）。（症例2）68歳、女性、被験部位：上顎左側第1小臼歯近心部、骨欠損形態：2, 3壁性混合、投与前所見（X線の骨欠損深さ6.71 mm, PPD 6mm）。
【治療方針】フラップ手術を行い、骨欠損部に治験薬（0.3% FGF-2）を単回投与する。
【治療経過】フラップ手術後、36週まで経過観察した。その間、規格X線写真撮影及び臨床的アタッチメントレベル（CAL）を含む歯周病検査を行い、有効性を評価した。なお、X線写真上の歯槽骨の増加率は第三者機関にて評価された。
【治療成績】治験薬投与36週後成績（症例1）歯槽骨の増加率105.94%、CAL獲得量3 mm、PPDの減少4 mm、副作用の発現なし。（症例2）歯槽骨の増加率74.08%、CAL獲得量2 mm、PPDの減少3 mm、副作用の発現なし。
【考察】両症例において治験薬投与後に臨床症状の改善と共に歯槽骨の再生が認められた。また、副作用の発現がなかったことから、治験薬の安全性にも臨床問題も認めなかった。
【結論】治験薬（0.3% FGF-2）の歯周組織再生効果が臨床例で確認された。（本治験は科研製薬株式会社の依頼を受け、GCPを遵守して実施された。）

P-02
2504
FGF-2検証的試験 大阪大学歯学部附属病院での症例
野崎 剛徳

キーワード：FGF-2, 歯周組織再生, 治験
【症例の概要】歯周炎患者を対象とした治験（「FGF-2歯周組織再生試験（プラセボ対照・第III相検証的試験）」及び「歯周炎を対象としたFGF-2のエムドゲイン®ゲルとの比較試験（第III相）」）において、0.3%FGF-2を投与した症例について報告する。（症例1）45歳、男性、被験部位：下顎右側第1小臼歯遠心部、骨欠損形態：2壁性、投与前所見（X線の骨欠損深さ5.56 mm, PPD：プロービング深さ5 mm）（症例2）66歳、男性、被験部位：下顎右側第1大臼歯近心部、骨欠損形態：2, 3壁性混合、投与前所見（X線の骨欠損深さ8.08 mm, PPD 8 mm）
【治療方針】フラップ手術を行い、骨欠損部に治験薬（0.3%FGF-2）を単回投与した。
【治療経過】フラップ手術後、36週まで経過観察した。その間、規格X線写真撮影及び臨床的アタッチメントレベル（CAL）を含む歯周組織検査を実施し、有効性を評価した。なお、X線写真上の歯槽骨の増加率は第三者機関にて評価された。
【治療成績】治験薬投与36週後において（症例1）歯槽骨の増加率74.67%、CALの獲得量3 mm、PPDの減少1 mm、副作用の発現なし。（症例2）歯槽骨の増加率39.48%、CALの獲得量3 mm、PPDの減少4 mm、副作用の発現なし。
【考察】両症例において、治験薬投与後に臨床症状の改善と共に歯槽骨の増加が認められた。また、副作用の発現がなかったことから、治験薬の安全性にも臨床問題も認めなかった。
【結論】治験薬（0.3%FGF-2）の歯周組織再生効果が臨床例で確認された。
（本治験は科研製薬株式会社の依頼を受け、GCPを遵守して実施された。）

P-04
2504
FGF-2検証的試験 北海道医療大学歯科クリニックでの症例
長澤 敏行

キーワード：FGF-2, 歯周組織再生, 治験
【症例の概要】歯周炎患者を対象とした治験（「歯周炎を対象としたFGF-2のエムドゲイン®ゲルとの比較試験（第III相）」）において、0.3%FGF-2を投与した症例について報告する。（症例）54歳、男性、被験部位：上顎右側犬歯近心部、骨欠損形態：2・3壁性、投与前所見（X線の骨欠損深さ6.05 mm, PPD：プロービング深さ7 mm）、喫煙：1日30本（30年間）。
【治療方針】上顎右側犬歯近心部に対しFGF-2検証的試験のフラップ手術を行うこととした。
【治療経過】フラップ手術を行い、骨欠損部に治験薬（0.3%FGF-2）を単回投与した。フラップ手術後、36週まで経過観察した。その間、規格X線写真撮影及び臨床的アタッチメントレベル（CAL）を含む歯周組織検査を実施し、有効性を評価した。なお、X線写真上の歯槽骨の増加率は第三者機関にて評価された。
【治療成績】治験薬投与36週後において歯槽骨の増加率57%、CALの獲得量1 mm、PPDの減少5 mm、副作用の発現は認められなかった。
【考察】本症例は重度喫煙者であるが、治験薬投与後に臨床症状の改善と共に歯槽骨の増加が認められた。また、副作用の発現がなかったことから、治験薬の安全性にも臨床問題も認めなかった。
【結論】治験薬（0.3%FGF-2）の歯周組織再生効果が臨床例で確認された。（本治験は科研製薬株式会社の依頼を受け、GCPを遵守して実施された。）

P-05

FGF-2検証の研究 日本大学歯学部付属歯科病院での症例

3103

吉沼 直人

キーワード：FGF-2, 歯周組織再生, 治験

【症例の概要】歯周炎患者を対象とした治験（「歯周炎を対象としたFGF-2のエムドゲインゲルとの比較試験（第III相）」）において、0.3%FGF-2を投与した症例について報告する。（症例）34歳，男性，被験部位：下顎左側第二小臼歯近心部，骨欠損形態：2・3壁性，投与前所見（X線的骨欠損深さ6.02 mm，PPD：プロービング深さ5 mm），喫煙：なし

【治療方針】フラップ手術を行い，骨欠損部に治験薬（0.3%FGF-2）を単回投与した。

【治療経過】フラップ手術後，36週まで経過観察した。その間，規格X線写真撮影及び臨床的アタッチメントレベル（CAL）を含む歯周組織検査を実施し，有効性を評価した。なお，X線写真上の歯槽骨の増加率は第三者機関にて評価された。

【治療成績】治験薬投与36週後において歯槽骨の増加率86.92%，CALの獲得量3 mm，PPDの減少2 mm，治験薬との因果関係を否定できない有害事象あり。

【考察】本症例では，治験薬投与後に臨床症状の改善と共に歯槽骨の増加が認められた。また，治験薬との因果関係を否定できない有害事象2件（尿検査2項目の変動）がみられたが，無処置で治験期間中に回復しており，治験薬の安全性には臨床問題と認めなかった。

【結論】治験薬（0.3%FGF-2）の歯周組織再生効果が臨床例で確認された。（本治験は科研製薬株式会社の依頼を受け，GCPを遵守して実施された）

P-06

エナメル基質タンパク及び脱タンパクウシ骨基質を用いた歯周組織再生療法においてコラーゲン膜の併用は有効か？～6か月後

2504

根本 康子

キーワード：再生療法, EMD, 脱タンパクウシ骨, コラーゲン膜

【目的】歯周組織の再生治療において，成長因子エナメル基質タンパク（EMD）と足場となる脱タンパクウシ骨基質（ABBM）の併用による有効性は報告されている。本研究では，さらに吸収性コラーゲン膜（CM）の併用による効果を検討すべく，慢性歯周炎により生じた歯周骨内欠損および分岐部病変に対し，EMDとABBMによる歯周組織再生治療において，CMの併用の有無の歯周組織再生に対する有効性について臨床的に比較検討した。

【材料と方法】インフォームドコンセントの得られた慢性歯周炎患者25名を無作為に2群（実験群，対照群）に割り当て，PD6mm以上の部位を選定し，実験群はEMDとABBMとコラーゲン膜を併用し，対照群はEMDとABBMで歯周組織再生療法を行った。治療前，6ヶ月の時点で，歯周ポケット深さ，付着の喪失，エックス線的骨欠損深さ，プロービング時出血，動揺度を測定した。また歯科用コーンビームCT（CBCT）により6か月後の新生硬組織の体積を測定し，それがベースライン時の骨欠損量に占める割合を測定した。これらの指標により2群間の比較検討を行った。統計分析には，Wilcoxon S.R.検定を用いた。

【結果と考察】実験群，対照群と感染等合併症も無く，概ね良好に経過した。術後6か月時点で，群内比較において両群とも6週後にはPD，CAL，BOP，は有意に改善した（ $p < 0.05$ ）。動揺は両群とも有意差は無かった。対照群と比較して実験群のPD，CAL，新生骨体積（%）とも変化の割合に有意差はなかった。（実験群で68.6%，対照群で63.1%の欠損部のbone fill%）今後，症例数の追加と更なる経過（12か月後）を評価するとともに，術前の喫煙状態，骨欠損形態，軟組織の状態等の影響も併せて検索する必要がある。

P-07

ヒトの歯肉線維芽細胞および歯根膜幹細胞に対するEMD由来合成ペプチドの影響

2504

野口 正皓

キーワード：ヒト歯肉線維芽細胞, ヒト歯根膜幹細胞, EMD

【目的】我々は未知の病原性のリスクを排除するため，歯周再生治療において広く臨床応用されているエムドゲイン®を基に合成ペプチドを開発した。本研究の目的は，歯周組織の再生に重要な役割を果たしている歯肉線維芽細胞（HGFs）および歯根膜幹細胞（HPDLSCs）に対する合成ペプチドの影響を検討することである。

【材料および方法】HGFsは臨床的に健康なヒト歯肉から，HPDLSCsは矯正の便宜抜去歯あるいは抜去した埋伏歯の歯根膜からそれぞれ分離・培養した。実験群は，合成ペプチド（1,10,100,1000 ng / mL）を添加したFBS含有DMEM培地，対照群は合成ペプチド無添加の培地でそれぞれ培養し，HGFsとHPDLSCsの増殖能および合成ペプチドに対する接着能を検討し，合成ペプチドの至適濃度を決定した。細胞の増殖や分化・成長に関わるERK1/2の活性化をウエスタンブロット法にて観察し，さらにERK1/2経路を阻害することで，MAPKsシグナル経路について検討した。

【結果および考察】合成ペプチド100 ng / mLの濃度で，HGFs，HPDLSCsの増殖や接着が促進された。ウエスタンブロット法では，合成ペプチド添加群でERK1/2の活性化が認められ，ERK1/2経路を阻害することによって増殖や接着が抑制された。これらの結果により，合成ペプチドはMAPKsシグナル系においてERK1/2を活性化させることで，HGFsやHPDLSCsの増殖や合成ペプチドに対する接着を促進させることが示唆された。

P-08

ラット水平性骨欠損モデルに対する脱分化脂肪細胞を用いた歯周組織再生治療の検討

2504

鈴木 大悟

キーワード：脱分化脂肪細胞, 歯周組織再生, 水平性骨欠損

【目的】現在，行われている歯周外科手術は，水平的な骨欠損や，広範囲の骨欠損に対して適応が限られている。しかし，近年，間葉系幹細胞を用いた新しい再生療法が試みられ，その可能性が示唆されている。その中で，皮下脂肪組織から単離した脂肪細胞は，自発的に脱分化することで均一な増殖および多分化能力をもつ脱分化脂肪細胞（DFAT）となる。DFATは血管新生作用などを備えることから多種多様な疾患への治療用細胞として有用になると考えられている。今回は，ラットに水平性骨欠損モデルを作製し，DFAT移植を行い，欠損部の歯周組織再生を観察する。

【材料と方法】ラット皮下脂肪組織を酵素処理後に成熟脂肪細胞分画を採取し，天井培養することでDFATを調整した。次に，ラット上顎第一臼歯近心の歯槽骨を超音波スケーラーにて2 mm × 2 mm × 2 mm削除後，手用スケーラーにて機械的にセメント質を除去し，外科的に水平性骨欠損モデルを作製した。欠損部に調整したDFATを移植し，マイクロCTにより再生された歯槽骨の観察とその量の経時的変化を測定した。さらに，HE染色，アザン染色を用いた組織学的な評価を行った。

【結果と考察】DFAT移植群では，歯根吸収や骨性癒着することなくセメント質の再生を含めた骨再生が確認された。また，上皮のダウングロースは対照群と比較して少なくなる傾向が観察された。

【結論】ラットに作製した水平的骨欠損モデルに対し，DFATによる歯周組織再生の可能性が示唆された。

P-09
2504

ナノハイドロキシアパタイトによる歯小囊細胞の
Wnt/ β -catenin シグナル誘導

向阪 幸彦

キーワード：歯小囊細胞、ハイドロキシアパタイト、Wnt シグナル、細胞分化

【目的】ハイドロキシアパタイトは、高い生体適合性と骨伝導性を有する骨補填材である。ナノサイズ化 (nano-HA) により骨置換性に変換し、その表面性から薬物の徐放能を有するドラッグデリバリー材料であると同時に遺伝子デリバリーシステムとしての有用な材料である。加えて、合成高分子生体吸収性材料との組み合わせにより立体的な賦形が可能であることから歯周組織再生療法におけるスキャフォールドの開発に最適な生体材料と考えられる。しかしながら、nano-HA 自体の生物学的活性は不明な点が多い。本研究ではマウス歯小囊細胞に対する nano-HA の作用について、骨・セメント質形成に深く関与する Wnt シグナルに焦点を当てて検討を行った。

【材料と方法】マウス歯小囊細胞株 SVF4 (Dr. Somerman M. より供与) を nano-HA ($\phi < 200$ nm; Sigma) 存在下で培養し、以下の方法にて機能解析を行った。1) 遺伝子発現：定量リアルタイム PCR 法、2) タンパク質の発現：免疫細胞化学法、3) 古典的 Wnt シグナルの転写活性：TOPflash プラスミドを用いたレポーターアッセイ法

【結果と考察】1) nano-HA は濃度依存的に Wnt シグナル標的遺伝子 Fra-1 の発現を誘導した。2) nano-HA による Fra-1 の誘導は Wnt シグナル阻害剤 (IWR-1) により部分的に阻害された。3) nano-HA は β -catenin の核内移行ならびにその転写活性を誘導した。これらの結果から、nano-HA は Fra-1 発現を誘導すること、そしてその誘導には Wnt/ β -catenin シグナルの活性化が関与することが示唆された。

【結論】本研究の結果は、nano-HA 自体が分化誘導能を有している可能性を示唆するものであり、ドラッグデリバリーシステムを応用した歯周組織再生療法の開発に寄与するものと考えられる。

P-11
2504

PTH (1-34) によるラット頭蓋骨欠損の骨再生

水野 真央

キーワード：副甲状腺ホルモン、骨再生、間歇的投与

【目的】間歇的 PTH (1-34) の投与は骨量を増加させ、骨粗鬆症の治療に使用されている。本研究の目的はラットの頭蓋骨欠損部への PTH 間歇的投与の影響を検討することである。

【材料および方法】8週齢の雄性 Wistar ラット 12匹を3群に分け、頭頂骨を露出させ左右に直径 4.3mm のドリルを用いて骨欠損を作製した。2群 (PTH-3, PTH-1) は欠損部に PTH (1-34) 14.1 μ g/kg を含浸させた吸収性コラーゲンスポンジを設置し、縫合した。コントロール群は欠損を作製しそのまま縫合した。その後 PTH-3 群は 14.1 μ g/kg のテリパラチドを1週間に1回皮下投与し、PTH-1 群とコントロール群は生理食塩水を1週間に1回皮下投与した。それぞれ、頭頂部に2回投与した。術後3週目に屠殺し欠損部を μ -CT を用いて BMD を測定した。切片を作製し組織化学染色と免疫組織化学染色を行った。組織切片は HE 染色、TRAP 染色を行った。また、免疫組織化学的染色では抗 ALP 抗体と抗 DMP1 抗体を用いた。

【結果および考察】BMD では PTH-3 群はコントロール群に比べて有意に増加した。HE 染色では局所的骨形成率 (N/D%: 新生骨面積/欠損面積) を測定し、PTH-3 群はコントロール群に比べて増加した。また、PTH-1 群もコントロール群に比べて増加した。TRAP 染色では、破骨細胞数において各群有意差なかった。ALP 染色では、PTH-3 群は PTH-1、コントロール群と比較して多くの陽性反応が認められた。DMP1 染色では、PTH-3 群は PTH-1、コントロール群と比較して広く陽性反応を認めた。

【結論】ラット頭蓋骨欠損部への PTH (1-34) 間歇的投与は骨再生を促進することが示唆された。PTH (1-34) の局所的間歇投与が歯周組織再生に応用されることが期待される。

P-10
2504

ラットの頭頂骨内側性骨欠損に対する PLGA/ β -TCP 応用の効果

備前島 崇浩

キーワード：歯周組織再生、PLGA/ β -TCP、足場

【目的】近年、歯周組織再生療法の臨床応用が進むなかで骨補填材は、再生療法における足場材料として注目が高まっている。Poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) -coated β -tricalcium phosphate (TCP) は生体親和性を維持しながら、高いスペースメイキング能を有することが報告されている。しかしながら、PLGA/ β -TCP 応用後の、骨の治療動態に関する臨床前研究は不足しているのが現状である。本研究では、PLGA/ β -TCP がラットの頭頂骨欠損部の治療に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】12週齢雄性 SD ラットの頭頂骨に直径 5 mm の両側性欠損を作製した。実験群には PLGA/ β -TCP を応用し、対照群には β -TCP、または欠損のみとした。術後4週、6週で安楽死させマイクロ CT 撮影後、パラフィン切片を作成し、H-E 染色、TRAP 染色、PCNA による免疫染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

【結果と考察】組織学的観察では術後4週で PLGA/ β -TCP、 β -TCP 群で補填材への細胞侵入が認められた。術後6週の β -TCP 群の欠損閉鎖率は他の群と比較して有意に大きかった。PLGA/ β -TCP、 β -TCP 群は欠損のみと比較して新生骨形成量は有意に大きかった。PCNA 陽性細胞は術後4週、6週ともに補填材周囲と内部に観察された。TRAP 陽性細胞は補填材周囲に認められ、骨リモデリングが生じていると考えられた。補填材の残存率に統計学的有意差は認められなかったが、PLGA/ β -TCP 群において残存率が大きい傾向を示した。

【結論】PLGA/ β -TCP の応用はラット頭頂骨欠損部の治療の早期において有用であることが示唆された。

P-12
2202

Eight-Week Histologic Evaluation of Grafted Calvarial Defects with Adjunctive Hyperbaric Oxygen Therapy in Rats

Sungtae Kim

Keywords: bone substitute, biphasic calcium phosphate, EGCG, BMP-2, hyperbaric oxygen therapy

Objectives: The aim of this study was to assess the influences of adjunctive hyperbaric oxygen (HBO) therapy on bony defect healing.

Material and methods: Sprague-Dawley rats (n=28) were used in the study. These rats were divided into two groups according to the application of adjunctive HBO therapy; One group with HBO [HBO group (n=14)] and the other group without HBO [NHBO group (n=14)]. Each group had two subgroups according to the type of bone substitutes; biphasic calcium phosphate (BCP) subgroup and surface-modified BCP (mBCP) subgroup. For preparation of mBCP, Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and escherichia coli-derived recombinant human bone morphogenetic protein 2 (ErhBMP-2) were used in the surface modification procedure. Two identical circular defects with 6 mm diameter were made in the right and left parietal bones of each rat. One defect was filled with bone substitute (BCP or mBCP). The other defect was not filled. During 8 weeks of healing from the surgery, HBO group experienced 2-week HBO therapy (1hour, 5 times a week). Eight weeks after surgery, the rats were sacrificed. The specimens were prepared for histologic analysis.

Results: More new bone formation was found in the 8-week group than 4-week group (data in the previously published paper). In BCP subgroup, the difference of new bone formation between HBO and NHBO group was not found. However, in mBCP subgroup, more new bone formation was found in NHBO group than HBO group. In NHBO group, more new bone formation was found in mBCP subgroup than BCP subgroup. In HBO group, more new bone formation was found in BCP subgroup than mBCP subgroup.

Conclusions: Within the limitations of this study, HBO didn't seem to have beneficial effects on bone formation in 8-week group irrespective of bone substitutes applied.

P-13

3103

Acceleration of bone regeneration by BMP-2-loaded collagenated biphasic calcium phosphate in rabbit sinus

Jae Kook Cha

Keywords: bone regeneration, bone substitutes, bone tissue engineering, sinus augmentation

Objectives: The objective of this study was to determine the effectiveness of collagenated biphasic calcium phosphate (CBCP) as a carrier for bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) at the early stage of healing in rabbit sinus.

Material and methods: In 16 rabbits, BMP-2-loaded CBCP was grafted into one sinus (the BMP group) and saline-soaked CBCP was grafted into another sinus (the CTL group). The groups were assigned randomly. After 2 weeks (n = 8) or 4 weeks (n = 8), radiographic and histological analysis was performed.

Results: Total augmented volume was significantly larger in the BMP group at both healing periods. Furthermore, new bone volume was significantly greater in the BMP group at 4 weeks. Marked bone formation near the Schneiderian membrane was found in the BMP groups at the early healing period. At 4 weeks, evenly distributed new bone was observed in the BMP group, whereas the new bone was sparsely distributed in the central portion in the CTL group.

Conclusions: It can be concluded that the addition of BMP-2 to CBCP resulted in a greater initial augmented volume as a result of postoperative swelling, which is replaced by early bone formation, and it was prominent near the Schneiderian membrane.

P-14

2504

歯周組織構成細胞関連転写因子の抑制による軟骨芽細胞への誘導

高井 英樹

キーワード：遺伝子発現, 転写因子, 歯周組織構成細胞

【目的】 歯周組織再生療法の確立は各々の歯周組織（歯槽骨, 歯根膜, 歯肉およびセメント質）に存在する細胞（歯周組織構成細胞）の生物学的特性を理解する事が重要である。骨格系形成細胞（骨芽細胞, 軟骨細胞, 筋芽細胞および脂肪細胞）は共通の間葉系細胞から分化し, 骨芽細胞はRunx2およびOsterix, 軟骨細胞はSoxファミリー, 筋芽細胞から筋管はMyoDファミリー, 脂肪細胞はCEBPファミリーとPPAR γ 2がそれぞれ必要な役割を果たしている。このことから, 転写因子の発現をコントロールする事により, ターゲットとした細胞を異なる細胞に誘導する可能性が示されている。そこで我々は, 歯周組織構成細胞に発現している転写因子のmRNAおよびタンパク質量の検索を行うことで, 歯周組織構成細胞で重要な転写因子の検索を行った。

【材料および方法】 ヒト骨肉腫細胞由来骨芽細胞様細胞 (Saos2) を α MEM培地, ヒト歯肉線維芽細胞およびヒト歯根膜線維芽細胞をDMEM培地で培養し, 細胞を回収後, 種々の転写因子mRNAを検索した。さらにsiRNAを用いて歯周組織構成細胞で優位な転写因子の発現を抑制後, 細胞を回収し, 転写因子mRNA量およびタンパク質量の変化を検索した。

【結果および考察】 歯周組織構成細胞で, KLF12, Twist2およびPax9が重要な転写因子であると考えられた。siRNAを用いた結果から, 歯根膜線維芽細胞でKLF12, Twist2およびPax9を抑制すると, Sox5 mRNAの発現が上昇した。以上の結果から, 3つの転写因子を抑制する事で歯根膜線維芽細胞は軟骨芽細胞に誘導される事が示唆された。

P-15

2504

骨芽細胞とセメント芽細胞における骨シアロタンパク質の転写調節機構の比較検討

能田 佳祐

キーワード：骨シアロタンパク質, 骨芽細胞, セメント芽細胞

【目的】 骨シアロタンパク質 (BSP) は, 石灰化結合組織特異的に発現し, アパタイト結晶形成能を有する糖タンパク質である。BSPはセメント質で高発現するため, セメント芽細胞でのBSPの転写調節が, 骨芽細胞と異なる可能性が考えられる。そこで, 両細胞でのBSPの遺伝子発現とFGF2およびフォルスコリン (FSK) に対する応答性の違いを検索した。

【材料および方法】 Saos2ヒト骨芽細胞様細胞と, HCEM-hTERTヒト不死化セメント芽細胞様細胞を用い, FGF2 (10 ng/ml) およびFSK (1 μ M) 刺激後のBSP mRNA量の変化をreal-time PCRで検索した。ヒトBSP遺伝子プロモーター配列を挿入したルシフェラーゼコンストラクトを両細胞に導入し, FGF2およびFSK刺激後のルシフェラーゼ活性の変化を検索した。さらにBSP遺伝子プロモーター配列と両細胞の核内タンパク質との結合をゲルシフトアッセイで検索した。

【結果および考察】 無刺激のSaos2細胞とHCEM-hTERT細胞を比較すると, Saos2細胞の方が高いBSP mRNAの発現を示した。-184塩基対上流までのBSP遺伝子プロモーターを含むルシフェラーゼコンストラクトをFGF2およびFSKで刺激するとSaos2細胞で転写活性が増加し, HCEM-hTERT細胞では-248塩基対上流までのルシフェラーゼ活性が増加した。ゲルシフトアッセイの結果, FGF2応答配列 (FRE) への両細胞の核内タンパク質の結合パターンは類似していたが, cAMP応答配列 (CRE) およびAP1配列への核内タンパク質の結合パターンが両細胞間で異なっていた。今後, Saos2細胞とHCEM-hTERT細胞のさらなる比較検討を行う予定である。

P-16

2499

歯周炎患者におけるPISAと血中マーカーとの関連性

本田 朋之

キーワード：歯周炎患者, PISA, 全身炎症マーカー

【目的】 歯周炎は様々な全身疾患と関連することが報告され, 病変部から全身循環に侵入した歯周病原細菌や炎症メディエーターが遠隔組織に作用することがそのメカニズムのひとつとして考えられている。我々はこれまでに歯周炎患者において全身炎症マーカーや脂質代謝に関わる血中PCSK9が上昇していることを報告した。歯周ポケット内面から全身へ暴露し得る歯周組織の表面積を定量的に評価できるPISA: Periodontal inflamed surface area (Nesse *et al.*, J Clin Periodontol, 2008) を用いて血中マーカーとの関連性を検討したので報告する。

【材料と方法】 新潟大学医歯学総合病院歯周病診療室を受診した中等度から重度の歯周炎患者33名を対象とした。初診時における歯周ポケット深さおよびBOPの測定結果からNesseらの報告に従ってPISAを算出した。各被験者より血清を採取し, IL-6, TNF- α , PCSK9, *P. gingivalis* に対する抗体価をELISA法にて, 高感度CRPを免疫比濁法にて, 脂質プロファイルを高感度ゲルろ過HPLC法にて測定した。

【結果と考察】 本対象者におけるPISAの中央値 (IQR) は349.1 (143.9-723.9) mm²であった。PISAと血清IL-6レベルとの間に有意な相関が認められたが (Spearman $r = 0.5836$, $P = 0.0004$), 他の血中マーカーとの間には相関は認められなかった。CRP値により3分位に群分けしPISAを比較すると, CRP値のより高い群においてPISAが大きい傾向が認められた。全身炎症マーカーの上昇, とりわけIL-6レベルは歯周ポケット内面の炎症の程度 (面積大きさ) を反映している可能性が示唆された。

P-17
2402

歯周炎併発関節リウマチ患者における *Porphyromonas gingivalis* PAD に対する血清抗体価

島田 博史

キーワード：関節リウマチ、歯周炎、*Porphyromonas gingivalis*

【目的】近年、*P. gingivalis* は peptidylarginine deiminase (PAD) を産生して蛋白シトルリン化を介して関節リウマチ (RA) の病態形成に関与することが報告されている。本研究の目的は、*P. gingivalis* PAD (PPAD) ・抗環状シトルリン化ペプチド (CCP) に対する血清抗体価が RA の有無で異なるか比較・検討することである。さらに、歯周治療の影響についても併せて検討した。

【材料および方法】インフォームドコンセントが得られた歯周炎併発 RA 患者 52 名 (RA 群) および歯周炎患者 26 名 (非 RA 群) を対象に RA 検査、歯周検査、血液検査を各々実施した。血清を抽出後に、抗 PPAD 抗体レベル、抗 CCP 抗体レベルを ELISA にて測定した。また、RA 群より 26 名を無作為抽出し非外科的歯周治療を行い、2ヶ月後に再評価として同様な検査を行った。

【結果および考察】RA 群では非 RA 群と比べて、血清中の抗 PPAD 抗体レベル、抗 CCP 抗体レベルは有意に高く、両者の抗体レベルの間には有意な正の相関を認めた。さらに、年齢、性別、喫煙状態を調整した多重ロジスティック解析の結果、抗 PPAD 抗体レベルと RA との間には有意な関連が認められた。歯周治療群では非治療群と比べて歯周状態や RA 活動度の改善を認めたが、抗 PPAD 抗体レベル、抗 CCP 抗体レベルに有意な変動は認められなかった。以上の結果から、対象患者の歯周炎症が軽度であったものの、PPAD が RA に関連してタンパクシトルリン化に関与する可能性が示唆された。会員外共同研究者：村澤 章博士、中園 清博士、伊藤 聡博士 (新潟県立リウマチセンター)

P-19
2402

NAFLD 線維化進展症例の絞り込みにおける歯周プロービング値の有用性

海老沢 政人

キーワード：非アルコール性脂肪肝疾患、非アルコール性脂肪肝炎、プロービングポケットデプス、健康診断

【目的】非アルコール性脂肪肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) の一部は、非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis: NASH) に進展し、肝硬変、肝細胞癌を発症するとされ、日本でも増加傾向にある。NASH は肝生検により確定診断されるが、臨床的には NAFLD 患者の肝線維化進展症例について、非侵襲的な診断方法 (簡易式スコア) による絞り込みが望まれている。今回、進展症例の推定について、プロービング値の有用性を検討した。

【対象と方法】自衛隊呉病院で健康診断を受けた成人男性 328 名 (平均 46.2 歳) のうち、アルコール摂取量 20g/日以下、HBV・HCV の非感染者 196 名に対して、NAFLD fibrosis score (NFS) を算出した。NFS の高値 (High cut off point: >0.676) と不確定 (Indeterminate: -1.445~0.676) に対して肝線維化マーカー (ヒアルロン酸、IV型コラーゲン 7S) を検査し、陽性を NAFLD 線維化進展症例とした。probing depth (PD) は、全歯 6 点法で最大値を 4、6、8mm で区分し、NAFLD 線維化進展症例に対する感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率を求めた。

【結果と考察】NFS の高値と不確定は 38 名、このうち線維化マーカー陽性は 12 名で全体の 3.7% と推定された。陽性と陰性における PD6mm 以上の割合には有意差が認められた (83.3% vs 48.1%, p=0.04)。NAFLD 線維化進展症例に対する PD の各基準値の感度/特異度/陽性的中率/陰性的中率は、同様に、PD4mm: 1.00/0.23/0.37/1.00、PD6mm: 0.83/0.50/0.43/0.86、PD8mm: 0.08/1.00/1.00/0.70 であった。PD8mm の陽性的中率と PD4mm の陰性的中率は高く、NAFLD 線維化進展症例の絞り込みにプロービング値が有用である可能性が示唆された。

P-18
2504

慢性歯周炎における細胞内グルコルチコイド活性化酵素 11β-HSD1 発現の増加

藤田 敦子

キーワード：11β-HSD1、グルコルチコイド、メタボリックシンドローム

【目的】近年の研究で、グルコルチコイド活性化酵素である 11β-HSD1 の過剰な活性化はアディポサイトカイン分泌異常を引き起こし、11β-HSD1 が脂肪組織で過剰発現するトランジェニックマウスは内臓脂肪組織の蓄積、インスリン抵抗性、高血圧、脂肪肝を伴うことより、メタボリックシンドロームにおいて多大な影響を与えることが明らかになっている。メタボリックシンドロームは脂肪組織の慢性炎症状態と考えられており、関節リウマチや炎症性腸疾患など、他の組織の慢性炎症においても 11β-HSD1 の関与が報告されている。慢性歯周炎と 11β-HSD1 との関係性を明らかにすることで、グルコルチコイド活性化制御による、歯周治療への応用も期待できる。そこで本研究では慢性歯周炎患者の歯周組織における 11β-HSD1 の発現について検討した。

【材料および方法】大阪歯科大学附属病院を受診し本研究に同意を得た患者を対象として、基本治療終了後に 4mm 以上の歯周ポケットを有する慢性歯周炎と診断された患者を歯周炎群、矯正治療のために健全歯牙を抜歯した患者を対照群とした。それぞれ歯周組織を採取し、採取した組織から total RNA を抽出し Real-time PCR を行い、比較検討した。

【結果および考察】歯周炎群での 11β-HSD1 の発現は対照群と比較して有意に高く、またグルコルチコイド不活性化酵素である 11β-HSD2 の発現は対照群と比較してわずかに低かった。11β-HSD1 対 11β-HSD2 の比は対照群と比較して歯周炎群で有意に高い結果となった。したがって慢性歯周炎における 11β-HSD1 の関与が示唆された。今後、歯周病モデル実験動物を用いて、慢性歯周炎と 11β-HSD1 の関連性を検討していきたい。

P-20
2402

歯周病原細菌に対する指尖血漿 IgG 抗体価検査が感染性心内膜炎の起炎菌推定に繋がった一症例

磯島 大地

キーワード：感染性心内膜炎、血漿 IgG 抗体価検査、歯周病原細菌
【症例の概要】歯周病原細菌に対する血漿 IgG 抗体価検査 (IgG 抗体価検査) が、感染性心内膜炎 (IE) 患者の起炎菌同定に寄与した症例である。

【患者】患者：女性 69 歳

現病歴：全身管理状態の良い血液透析患者だが、全顎的に歯肉が発赤腫脹し、IgG 抗体価検査で抗 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 抗体価が 711 と高値であった。その後、頻脈発作と労作時息切れを訴え、重度大動脈弁狭窄症と発作性心房細動の診断を受けた。周術期に歯周治療を受け、生体弁置換術および肺動脈離断術を受けた。しかし、術後も発熱を繰り返し、IE を疑い再度弁置換術を受けた。

【検査方法】1) IgG 抗体価検査：指尖採血で得た血漿から歯周病原細菌 (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Aa, Pg, *Prevotella intermedia*: Pi, *Eikenella corrodens*: Ec) に対する IgG 抗体価を調べた。

2) 歯周病原細菌 DNA の検出：弁組織から得た DNA から、各菌に特異的なプライマーを用いた Polymerase Chain Reaction (PCR) 法と DNA シークエンス法にて、上記 4 菌種と *Streptococcus mutans* (Sm) の DNA の検出を試みた。

【検査結果】抗 Pg IgG 抗体価が初回に 711 と高値であった。弁組織からは、Aa, Pg の DNA 断片が検出された。

【考察】IgG 抗体価検査から Pg 感染が重度であると考えられ、IE の起炎菌として歯周病原細菌が疑われる。IgG 抗体価検査で捉えられやすい Pg の検査は、血管障害に関連する Pg 菌血症検査として有用である。
【結論】IgG 抗体価検査が、IE の起炎菌推定に寄与する可能性が示唆された。

(本症例報告に際して、患者の了解を得ている)

(会員外協力者：しのベクリニック 篠道道隆、美好腎クリニック 中西祥子、医療法人社団 町田慶泉病院 中西京)

P-21

歯周病治療中のパノラマエックス線写真で頸動脈石灰化を指摘された1症例

2499

内田 啓一

キーワード：歯周治療、頸動脈石灰化、パノラマエックス線写真

【緒言】パノラマX線写真において観察される頸動脈石灰化は、血管障害の発生に関連することが知られている。歯科治療のために撮影されたパノラマX線写真を利用して、頸動脈石灰化の有無を歯科医師が確認できることに着目して、血管障害の発症の可能性を患者に説明を行い、医科への受診を促すことで血管障害の急な発症を未然に防ぐことが考えられる。今回われわれは、歯周病治療中のパノラマエックス線写真で頸動脈石灰化を指摘された1症例を経験したので、その概要を画像とともに報告する。

【症例】患者は63歳の男性であり、歯の動揺および歯肉出血を主訴して来院した。本学歯周病科にて歯周基本治療を開始した。再評価の際のパノラマエックス線写真において、両側頸動脈の石灰化物を疑う所見を認めたため、脳神経外科病院へ対診を行った。その結果、右側頸動脈血栓および左側頸動脈狭窄と診断され、頸動脈血栓内膜剥離術(carotid endarterectomy: CEA)の施行を行った。

【考察・まとめ】パノラマエックス線写真で認められる頸動脈石灰化が必ずしも動脈硬化性疾患の有無を診断するものではないが、パノラマエックス線写真は歯、顎全体および軟組織部の石灰化を一枚のエックス線画像で把握できるものである。パノラマエックス線写真を利用して脳卒中傾向にある患者のスクリーニングとして活用でき、動脈硬化の危険因子の指摘を受けてない患者においてもパノラマエックス線写真において頸動脈石灰化を見出すことができる可能性は高いと思われる。

P-22

歯周炎を伴う脳膿瘍の一症例

2402

村井 治

キーワード：脳膿瘍、歯周炎、ポルフィロモナス・ジンジバリス

【症例の概要】66歳男性 主訴：感染巣の精査依頼現病歴：2014年3月4日に38℃以上の発熱を認め近医受診したが原因は不明であった。右不全麻痺が疑われたため岩手医科大学医学部を受診し、造影CTにて右側頭葉から後頭葉に異常像が認められ本学脳外科へ緊急入院した。その後WBCおよびCRPの著しい上昇および意識の混濁、右上肢の痙攣を認めた。頭部MRIで右側放線冠や左視床、右頭長後頭葉に類円形の高信号性病変を認める多発性脳膿瘍の所見を認めた。病巣不明のため呼吸器内科および心腎内科で精査したが感染巣を確認できず、歯科医療センター歯周病外来に依頼され診査した。軽度の開口障害と全顎にわたる歯垢歯石の付着および感染源として上顎左右第一大臼歯を中心とした重度の歯周炎を認めた。*Porphyromonas gingivalis*の血中IgG抗体価は基準値の16倍の高値を示し、歯周炎病変部からの血行性播種による病巣感染が疑われた。

【治療方針】歯周基本治療（上顎両側第一大臼歯抜歯 口腔清掃 歯石除去）

【治療経過・治療成績】脳外科での処方、抜歯および口腔清掃開始後に、意識の混濁および失語症状は改善傾向を示した。抜歯後経過は良好であり、術後3ヶ月の右側頭葉から後頭葉のMRI、造影CTでは初診時の異常像は改善傾向を示した。口腔内清掃状況および歯周組織の炎症も改善傾向を示し、入院4か月目で退院。経過観察となった。

【考察・結論】本症例は、*Porphyromonas gingivalis*の抗体価の変動データ等からも歯周病による病巣感染が脳膿瘍の原因と考えられた。今後、歯周病が感染源となって全身に影響を及ぼしている実態を医科とより密接に連携し説明する必要があると思われる。

P-23

歯周組織局所の炎症および*P. gingivalis*による腸内細菌叢の変動が全身に及ぼす影響とその分子機構の比較

2499

松田 由実

キーワード：結紮誘導歯周炎、炎症、腸内細菌

【目的】歯周疾患は様々な全身疾患と関連することが報告されているが、その分子機構については未だ不明な点が多い。我々は嚥下された*P. gingivalis*が腸管の細菌叢の変化とそれに伴う代謝性内毒素血症を引き起こすことで、肝臓・脂肪組織に炎症を誘導し、インスリン抵抗性を惹起することを報告した。今回、新たに結紮誘導性歯周炎モデルを用いて歯周組織局所の炎症が全身に及ぼす影響とその分子機構を*P. gingivalis*経口投与モデルと比較した。

【材料と方法】10週齢雄C57BL/6マウスを、絹糸による歯牙結紮群、*P. gingivalis* W83株の経口投与群、これらを組み合わせた群に分けた。14日後に糞便の細菌叢をメタ16S rRNA解析し、歯肉および肝臓における炎症関連遺伝子および糖・脂質代謝関連遺伝子の発現をReal-time PCR法にて解析した。更に、上顎骨を採取し歯槽骨吸収を測定し、血清中の炎症関連分子の発現をELISA法にて解析した。

【結果と考察】歯槽骨吸収および歯肉の炎症は歯牙結紮によるのみ誘導されたが、腸内細菌叢の変動は*P. gingivalis*経口投与によるのみ誘導された。更に、肝臓における炎症関連分子および脂質代謝関連分子であるFitm2およびAcacaの遺伝子発現、血清中のSAAおよびIL-6の有意な上昇は*P. gingivalis*経口投与によるのみ誘導された。そのうち、血清中のIL-6とSAAの発現レベルは歯牙結紮と*P. gingivalis*経口投与を組み合わせた群において最も高い結果となった。

【結論】歯周疾患が全身疾患に及ぼす影響において、嚥下した*P. gingivalis*による腸内細菌叢の変動は歯周組織局所の炎症と比較して、より重要な因子となることが示唆された。

P-24

糖尿病モデルマウスにおける結紮誘導歯周炎の解析

2504

前川 祥吾

キーワード：結紮誘導歯周炎、炎症、糖尿病

【目的】糖尿病による高血糖状態は、慢性的に炎症を起こしていることが知られている。糖尿病患者において歯周炎が悪化することは多く報告されているが、その詳細なメカニズムは未だ解明されていない。本研究は、ストレプトゾトシン糖尿病モデルマウスに結紮誘導歯周炎を誘導し、歯周組織の状態について検討した。

【材料と方法】6週齢雄C57BL/6Jマウスに5日間連続でストレプトゾトシンを腹腔内注射し、糖尿病を発症させた(STZ)。9週齢時にマウスの上顎左側第2臼歯を黒絹糸6-0にて結紮を行った。対照群として、9週齢雄C57BL/6Jマウス(WT)にも同様に結紮を行った。結紮の3日後および7日後に臼歯部歯肉を採取し、炎症性サイトカイン、骨代謝関連の遺伝子発現をreal-time PCR法にて解析した。また、骨標本および組織切片を作成し、形態組織学的評価を行った。

【結果】STZ群はWT群と比較して歯周組織におけるTNF- α 、Osteoprotegerinの有意な上昇、Osteocalcinの有意な減少が認められた。特に結紮3日後においてSTZ群で歯肉のTRAPmRNA発現が有意に上昇しており、組織切片におけるTRAP/ALP染色においても破骨細胞の数の有意な上昇が認められた。非結紮側と比較して、STZ群では結紮3日後および7日後、WT群は7日後に有意な骨吸収の増加を認めた。

【考察】STZ群では、WT群と比較して恒常的に歯周組織に炎症が起こっており、結紮後の早い段階から破骨細胞の活性化が起ると考えられる。本研究により高血糖状態は骨吸収を促進させることが示唆された。

P-25

最終糖化産物はヒト口腔上皮細胞の遺伝子発現を調節する

2504

坂本 英次郎

キーワード：糖尿病関連歯周炎，最終糖化産物，リポ多糖，口腔上皮細胞，遺伝子発現

【目的】歯周病は糖尿病（DM）の合併症の1つであり，糖尿病関連歯周炎では重篤な病態を示すことが多い。我々は，DM合併症の主因子である最終糖化産物（AGEs）が骨芽細胞の分化を抑制し，歯周組織に有害作用を及ぼすことを示唆した（第56回春季日本歯周病学会学術大会）。本研究では，AGEが口腔上皮細胞の遺伝子発現に及ぼす影響を調べ，糖尿病関連歯周炎の重篤化とAGEの関連を検討した。

【材料および方法】ヒト口腔上皮細胞（TR146）をAGE（0.5 mg/ml）や*P.gingivalis*由来LPS（P-LPS）の存在下で24-72時間培養し，通常に従ってRNAを抽出した。分離したRNAを用いてRT-PCR法や定量的real time PCR法で炎症関連因子，抗菌ペプチドおよび上皮細胞分化関連因子などの遺伝子発現レベルを調べた。

【結果および考察】AGEは，炎症に関連するIL-1 β ，IL-6やVEGFの遺伝子発現を増加させた。P-LPSはIL-6とVEGFの遺伝子発現を増加させたが，AGE+LPSの明らかな効果は認められなかった。また，AGEはIL-8，TNF- α やMMPなどの発現には影響を及ぼさなかった。一方，P-LPSは抗菌ペプチドのSI00A8や上皮細胞分化に関連したInvolucrinの遺伝子発現を増加したが，AGEはこれらの遺伝子の発現を抑制した。また，TR146細胞はRAGE遺伝子を発現していたが，AGEやP-LPSによるRAGE遺伝子の発現レベルの変化はみられなかった。以上の結果より，AGEは口腔上皮細胞の炎症や免疫反応に作用することにより，糖尿病関連歯周炎の病態に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

P-27

歯周病原細菌がヒト冠状動脈内皮細胞に及ぼす影響

2203

張 端良

キーワード：冠状動脈内皮細胞，LPS，炎症性サイトカイン

【目的】近年，心血管系疾患と歯周病との関係についての報告が多数認められ，歯周病原細菌のLPSや菌体構成成分などが冠状動脈内皮細胞や心内膜細胞に影響を与える可能性が示唆されている。

そこで本研究では，ヒト冠状動脈内皮細胞（HCAECs; Human Coronary Artery Endothelial Cells）を用いて，*P.gingivalis* LPS刺激に対する炎症性サイトカインを測定し，歯周病原細菌がヒト冠状動脈内皮細胞に及ぼす影響について検討を行った。

【材料と方法】HCAECsは，増殖因子EGM-2MV（EBMTM-2 Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 Single QuotsTM Supplements and Growth Factors）を添加したEBM-2（Endothelial Cell Basal Medium-2）培地にて培養し，24穴プレートに1 \times 10⁵播種後，*P.gingivalis* LPS（0.1，1，10 μ g/ml）刺激を行った。刺激6，24時間後のIL-6，IL-1 β ，TNF- α の遺伝子をreal-time PCR法とELISA法にて測定した。

【結果と考察】LPS刺激6，24時間後のHCAECsにおいて，時間依存的にIL-6，IL-1 β ，TNF- α の発現増加を示した。また，LPS刺激後のHCAECsにおいてIL-6の産生増加を示した。

以上より，歯周病原細菌がヒト冠状動脈内皮細胞における炎症反応の起炎菌と成りうる可能性が示唆された。

【結論】*P.gingivalis*由来LPS刺激により，HCAECsにおいて，IL-6，IL-1 β ，TNF- α の発現ならびにIL-6の産生増加を認めた。

P-26

マクロファージと共培養した α および β 細胞におけるLPS誘導性遺伝子発現の網羅的解析

2499

松永 結明

キーワード：歯周病，脾臓，2型糖尿病

【目的】2型糖尿病では脾臓構成細胞である α 細胞， β 細胞の機能不全が生じ，脾臓内へ炎症細胞が浸潤する。そこで， α および β 細胞-マクロファージ共培養系において細菌LPSが2型糖尿病の病態形成にかかわる遺伝子発現に影響を及ぼすと仮説を立てた。これに基づき， α および β 細胞-マクロファージ共培養系にLPS刺激を行った際，各脾臓細胞で発現変動する遺伝子群を網羅的に解析した。

【材料と方法】1.細胞および培養マウスマクロファージ由来細胞株RAW264.7，マウス α 細胞株 α TC1，マウス β 細胞株 β TC6を使用した。2.共培養およびLPS刺激 α TC1， β TC6とRAW264.7をトランスウェルシステムで共培養し，両細胞をE. coli LPS（1ng/ml）で刺激した。同時に対照としてLPS未刺激の系も設けた。3.RNAの回収刺激開始から4，8，16時間経過時に，RNeasy Mini Kit（Qiagen）を用いて α TC1， β TC6からRNAを回収した。4.遺伝子解析DNA microarray法にて各設定時間において，LPS刺激した α TC1， β TC6の発現遺伝子群をそれぞれLPS未刺激時の発現遺伝子群と比較した。

【結果と考察】LPS刺激群は未刺激群と比較して，Ccl2の遺伝子発現が亢進した。上清中のMCP-1蛋白量をELISA法にて検討した結果，LPS刺激により蛋白量の産生も亢進した。これは，本アレイ解析の有効性が蛋白質の翻訳レベルで確認できたことを示唆している。解析の結果 α TC1， β TC6で共にインターフェロン誘導タンパク遺伝子が発現亢進していることがわかった。

【結論】インターフェロン誘導タンパクは細胞のアポトーシスに関与することが報告されていることから，LPSによって惹起される微細慢性炎症状態が，脾臓の機能異常に関与する可能性が示唆された。

P-28

血清アミロイドA（SAA）の血管内皮細胞への影響

2499

高橋 弘太郎

【目的】多くの研究から，歯周病と動脈硬化症の関連が報告されており，炎症によるC反応性タンパク（CRP），血清アミロイドA（SAA）の血中濃度の増加とアテローム性動脈硬化症との関連も報告されている。しかし，歯周病から動脈硬化症へ至る経路は依然不明である。我々は，マウスの歯周組織にインターロイキン6（IL-6）を投与することにより，肝からのSAAの産生が上昇し，動脈硬化症が増悪することを報告してきた。そこで，*in vitro*で血管内皮細胞にSAA刺激を行い，SAAレセプター，接着因子の発現への影響を検討した。

【材料および方法】ヒト大動脈血管内皮細胞（HAECs）はLONZA社より購入した。HAECsにSAA（25 μ g/ml）を添加，刺激し，10日，20日間経過後にmRNAを回収した。cDNAに逆転写後，SAAレセプターとして報告されているTLR2，TLR4，ABCA1，ABCA7，AGER，FPR2，CST3，接着因子のICAM1，VCAM1，単球走化因子のMCP1のmRNA発現をreal-time PCRにて解析した。さらに，発現が最も上昇したSAAレセプターであるTLR2に対する中和抗体（10 μ g/ml）により，SAA刺激をブロックした場合のICAM1，VCAM1，MCP1のmRNA発現を解析した。

【結果】SAA添加によりSAAレセプターのTLR2，TLR4の発現が上昇し，ICAM1，VCAM1，MCP1の発現も上昇した。また，抗TLR2抗体を添加することによりICAM1，VCAM1，MCP1の発現上昇が抑制された。

【考察および結論】血管内皮細胞が，歯周炎により産生されたIL-6を介して産生されるSAAにより刺激され，SAA受容体のTLR2の発現が上昇することにより，ICAM1，VCAM1，MCP1の発現が上昇し，マクロファージの浸潤，動脈硬化症が進行する可能性がある経路の存在が示唆された。

P-29

要介護高齢者における歯周炎と全身疾患との関連

2906

関野 愉

キーワード：要介護高齢者，全身疾患，歯周炎

【目的】 介護老人福祉施設入居者における歯周炎と全身疾患および全身状態との関連について調査を行った。

【材料と方法】 東京都台東区の介護老人福祉施設6カ所の入居者のうち、歯を有する55歳～102歳の151名（男性34名，女性117名）を対象とした。全ての被験者にプロービングデプス，臨床的アタッチメントレベル，プロービング時の出血を含む全顎の歯周組織検査を行い，6mm以上の歯周ポケットを2部位以上有する被験者を歯周炎群，その他を健常者群とした。両群における，性別，年齢，ADL，BMIの分布状態を解析した。また定期検診により，脳血管障害，高血圧症，糖尿病，虚血心疾患，高脂血症，認知症，骨粗鬆症，肺炎と診断された患者の，各群における頻度を年齢群（80歳未満，80歳～89歳，90歳以上）ごとに計算した。カイ二乗検定により，それぞれの疾患の頻度違いが解析された。

【結果と考察】 80歳代のグループにおいては，高血圧を有する被験者の頻度は，歯周炎群で50.0%であったのに対し，健常群では36.7%で，統計学的有意差がみられた。その他の疾患については，すべての年齢群において歯周炎群と健常群で差異がみられなかった。本研究は断面調査であるため，重度の全身疾患で死亡したケース，歯周病の進行，歯の喪失などの状況を分析に含むことができなかった。今後はより大規模な前向き研究により追跡する必要がある。

【結論】 介護老人福祉施設入居者において，80歳代において歯周炎と高血圧症との関連がみられたが，その他の疾患については関連がみられなかった。

P-31

歯周組織の加齢変化に対する口腔常在菌の影響

2202

入江 浩一郎

キーワード：常在菌，宿主の免疫応答，歯周組織

【目的】 腸内の常在菌は宿主の免疫応答や組織の構造に多大な影響を与えているが，口腔常在菌の歯周組織に対する影響には不明な点が多い。本研究では，無菌状態のgerm-free (GF) マウスと口腔常在菌を有するspecific-pathogen-free (SPF) マウスを用いて，歯周組織の加齢変化に対する口腔常在菌の影響について検討した。

【材料と方法】 8週齢と22週齢のGF・SPFマウスを6匹ずつ用いた。血清中の骨形成マーカーおよび骨吸収マーカーとして，osteocalcinとtartrate-resistant acid phosphatase form 5b (TRACP 5b) とを定量した。マイクロCTを用いて，上顎骨のセメント・エナメル境から歯槽骨骨頂間の距離と歯槽骨密度を計測した。さらに，加齢による歯肉の遺伝子発現の変化も網羅的に解析した。

【結果と考察】 22週齢において，osteocalcin濃度は，SPFマウスよりもGFマウスの方が有意に高かった ($p < 0.01$)。TRACP 5b濃度は，8週齢と22週齢のいずれにおいても，GFマウスよりもSPFマウスの方が有意に高かった ($p < 0.01$)。歯周組織では，セメント・エナメル境から歯槽骨骨頂間の距離は，GFマウスよりもSPFマウスの方が，いずれの週齢においても有意に大きかった ($p < 0.01$)。さらに，SPFマウスでは，加齢に伴う歯槽骨吸収の有意な増加を認めたが ($p < 0.01$)，GFマウスでは加齢変化は小さかった。これらの結果は，口腔常在菌を有するSPFマウスの方が無菌状態であるGFマウスよりも加齢に伴う歯槽骨吸収が大きいのを示唆している。また，SPFマウスでは加齢による歯肉中のIL-17aの発現の増加もみられ，加齢に伴う炎症性反応もみられたと考えられる。

【結論】 口腔常在菌は，加齢に伴う顎骨吸収や炎症性反応の増加に影響を与えていると推測される。

P-30

歯周炎罹患歯肉組織におけるNepriylisin (Alzheimer病関連遺伝子) の発現

2504

根津 新

キーワード：ネプリライシン

【目的】 Alzheimer病 (AD) と歯周炎の発症には加齢や慢性炎症など共通因子がある。歯周炎はADのリスク因子であるとも言われているが，両者の関係については未だ不明な点が多い。我々は健常歯肉組織と歯周炎罹患歯肉組織のTranscriptomeを比較し，AD経路が歯周炎で有為に上昇している事を明らかにした。また，AD関連遺伝子であるアミロイドβ (Aβ) 前駆体タンパク (APP) およびIL-1β, C1QAの発現が歯周炎で有為に亢進する事が分かった。本研究ではAβの主な分解酵素であるNepriylisin (NEP) とAPPのmRNA発現レベルを分析し，その歯肉炎罹患歯肉組織中でのタンパク局在を調べる事を目的とした。

【材料と方法】 健常歯肉 (H) と重度慢性歯周炎罹患歯肉 (P) をそれぞれ16検体用いた。得られた歯肉組織からTotal RNAの抽出及び逆転写を行い，定量逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (qRT-PCR) によりAPPとNEPのmRNA発現量を調べ，Mann-Whitney U検定にて両群を比較した。また，免疫組織化学 (IHC) にてAPPとNEPの局在を調べた。

【結果】 APPとNEPのmRNAは共にH群よりP群で発現が亢進している。APPは主にマクロファージに発現し，NEPは炎症の急性期では好中球に，慢性期では線維芽細胞に発現する事が分かった。

【考察および結論】 歯周炎におけるNEPの発現亢進は歯肉組織中のAβを分解してその蓄積を抑制し，APPの発現亢進に対してAβ量のバランスを維持している可能性がある。NEPは様々な細胞に発現する事が知られているが，歯周炎罹患歯肉組織においては炎症のステージによって発現する細胞が異なる事が分かった。これまでに歯肉組織におけるNEPの発現や局在を調べた研究は無く，本研究が初めての報告となる。今後更なる研究が求められる。

P-32

アメリロチンの遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響

2504

山崎 瑞穂

キーワード：アメリロチン，転写調節，TNF-α，IL-1β

【目的】 アメリロチン (AMTN) は新規のエナメルタンパク質であり，その発現は，成熟期エナメル芽細胞の基底膜および接合上皮の内側基底版に限局することが報告されている。我々は，炎症歯周組織におけるAMTNの転写調節機構を解明するために，上皮細胞でのAMTNの遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響について検索した。

【材料と方法】 ヒト歯肉癌由来上皮細胞 (Ca9-22) を，TNF-α (10 ng/ml) またはIL-1β (1 ng/ml) で経時的に刺激後，全RNAを抽出し，AMTN mRNA量の変化をreal-time PCRで検索した。種々の長さのヒトAMTN遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼコンストラクトを作製し，Ca9-22細胞に導入後，TNF-αまたはIL-1βで24時間刺激し，AMTN遺伝子プロモーターの転写活性に対する炎症性サイトカインの影響を検索した。TNF-αまたはIL-1βで刺激したCa9-22細胞から核内タンパク質を抽出し，AMTN遺伝子プロモーター中の転写因子応答配列との結合をゲルシフトアッセイで検索した。

【結果と考察】 Ca9-22細胞をTNF-αとIL-1βで24時間刺激すると，AMTNのmRNA量は，それぞれ無刺激時の約35倍および2.4倍に増加した。Ca9-22細胞をTNF-αで刺激すると，転写開始点から-211および-353塩基対上流のプロモーター配列を含むコンストラクトで転写活性が上昇し，IL-1β刺激では，-100塩基対上流のプロモーター配列を含むコンストラクトで転写活性が上昇した。TNF-αとIL-1βで刺激したCa9-22細胞の核内タンパク質とC/EBPおよびYY1との結合は3および6時間後に増加した。現在，AMTN遺伝子プロモーター中のTNF-αとIL-1βに応答する配列を検索中である。

P-33

ヒト FDC-SP 遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響

2504

岩井 泰伸

キーワード：濾胞性樹状細胞分泌タンパク質、炎症性サイトカイン、遺伝子発現

【目的】Follicular dendritic cell-secreted protein (FDC-SP) は、濾胞樹状細胞で発現する低分子の分泌タンパク質であるが、歯周組織では歯根膜および接合上皮での発現が報告されている。我々は、歯根膜および上皮細胞での FDC-SP の遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響を検索した。

【材料および方法】不死化ヒト歯根膜細胞 (HPL-hTERT) およびヒト歯肉癌由来上皮細胞 (Ca9-22) を IL-1 β (1 ng/ml) および TNF- α (10 ng/ml) で経時的に刺激し、FDC-SP mRNA 量の変化を real-time PCR で検索した。種々の長さに調整したヒト FDC-SP のプロモーター配列を挿入したルシフェラーゼコンストラクトを作成し、ルシフェラーゼアッセイを行った。さらに、HPL-hTERT を IL-1 β および TNF- α で刺激後、核内タンパク質を抽出し、FDC-SP プロモーター中の転写因子応答配列との結合をゲルシフトアッセイで検索した。

【結果および考察】HPL-hTERT 細胞を IL-1 β で刺激すると、FDC-SP mRNA 量は 6 時間後に増加し、Ca9-22 細胞では、TNF- α 刺激 24 時間後に最大となった。FDC-SP ルシフェラーゼコンストラクトを HPL-hTERT および Ca9-22 細胞に導入し、IL-1 β および TNF- α で刺激すると、-116~-948 塩基対上流までのプロモーター配列を含むコンストラクトの転写活性が上昇した。GATA および CREB 配列への HPL-hTERT の核内タンパク質の結合は、IL-1 β 刺激 3 時間後に増加し 12 時間後に最大となった。以上のことから、ヒト FDC-SP 遺伝子の転写開始点から -116~-948 塩基対上流のプロモーターに存在する応答配列への転写因子の結合が、炎症性サイトカインにより調節されていると考えられた。

P-35

日本人歯周炎患者のゲノムワイド関連解析

2504

清水 伸太郎

キーワード：歯周炎、遺伝子、GWAS、喫煙

【目的】歯周炎の遺伝子研究ではこれまで様々な候補遺伝子に焦点が当てられてきたが、未だ一致した結論は得られていない。近年ゲノム全体を網羅的に調べ、疾患関連遺伝子を同定する手法である Genome Wide Association Study (GWAS) が欧米人の歯周炎を対象として行われている。本研究は日本人を対象とした歯周炎の疾患関連遺伝子を同定することを目的として GWAS を行った。

【材料および方法】バイオバンク・ジャパン (BBJ) で収集された歯周炎 1,593 人、対照者 7,980 人について、Human Omni Express BeadChip を使用し、597,434 SNP の遺伝子型同定を行った。関連解析で $P \leq 5.0 \times 10^{-4}$ を示した 250 SNP について、北海道医療大学、及び東京医科大学で収集された歯周炎 1,167 人と BBJ 対照者 7,178 人を用いて、再現性の検討を行った。

【結果と考察】統合解析の結果、ゲノムワイド有意水準を満たす SNP は同定されなかったが、歯周炎と関連が示唆される 2 領域 (KCNQ5, GPR141-NME8) を同定した。遺伝子と環境要因との関連を解析したところ、GPR141-NME8 と喫煙歴の間に遺伝子環境相互作用 (Interaction) を認めた ($P_{\text{interaction}}=0.03$)。よって GPR141-NME8 は喫煙に対する感受性を介して歯周炎に関連する可能性が示唆された。

【結論】本研究は日本人で初の歯周炎 GWAS を行い、歯周炎と関連が示唆される 2 領域を同定した。歯周炎の遺伝的要因は環境要因の感受性と関連する可能性があることが示唆された。また今後の日本人の歯周炎を対象とした遺伝子研究とのメタ解析を行うことで、GWAS 有意水準を満たす遺伝子を同定できる可能性が示唆された。

P-34

Del-1 発現制御メカニズムの解析と炎症性疾患の治療への展開

2504

前川 知樹

キーワード：炎症性疾患、歯周炎マウスモデル

【目的】Del-1 は、生体恒常性を維持する機能を持つ分子であり、内皮細胞が主に産生する。歯周組織、神経系・脳など多様な組織において炎症を抑制している。我々はこれまでに、Del-1 をマウス、サルにおける歯周炎に投与することで効果を評価し、ヒト歯周炎治療への展開を模索してきた。歯周炎を含む炎症性疾患では、全身、炎症局所ともに Del-1 の発現は減少している。しかしながらヒト、マウスにおいて Del-1 の産生がどのように制御されているのかは未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、炎症性サイトカインである IL-17 に着目し、IL-17 による Del-1 制御のメカニズムを血管内皮細胞・マウス歯周炎モデルを用いて検索した。

【材料と方法】ヒト血管内皮細胞に IL-17 を添加すると同時に、候補となるシグナル阻害剤を添加し、Del-1 制御に関連する経路を同定した。同定された転写因子の過剰発現と抑制による Del-1 発現への影響を検索し、同時に ChIP assay, レポーターアッセイにより転写因子による Del-1 発現調整機能を解析した。さらに Del-1 ノックアウトマウスを用い、IL-17 と Del-1 の歯周炎への影響を解析した。

【結果と考察】Del-1 の発現は、GSK-3 β 依存的に転写因子 C/EBP β によって制御されていることが明らかとなった。加えて、pro-resolution agent である RVD1 が、PI3K/Akt 経路依存的に IL-17 による Del-1 産生の抑制効果を阻害した。さらにマウス歯周炎モデルにおいて、RVD1 投与により Del-1 が誘導されることで、歯周炎の抑制が認められた。

【結論】RVD1-Del-1 軸による Del-1 制御メカニズムの解明は、Del-1 の発現低下によって生じる歯周炎や多発性硬化症など炎症性疾患への新しい治療戦略になる可能性がある。

P-36

UCP2 遺伝子多型が閉経後女性の歯周炎と腎機能の関係に及ぼす影響

2499

杉田 典子

キーワード：遺伝子多型、脱共役タンパク、腎機能

【目的】脱共役タンパク (uncoupling protein, UCP) はミトコンドリア内膜に存在しエネルギーを熱として放散させる機能を持つ。UCP2 は白色脂肪細胞や白血球に分布し、骨代謝、脂質代謝および活性酸素産生に影響を及ぼす。近年は UCP2 と免疫・炎症との関わりが主に動物実験から示唆されている。我々はこれまでに UCP2 遺伝型が重度歯周炎に関連することを報告した。また一方、歯周炎と腎機能の関連性が報告されている。そこで今回、閉経後日本人女性において歯周炎と腎機能および UCP2 遺伝型との間の関連性を調べた。

【材料と方法】対象は新潟市横越地区の閉経後女性 354 名 (年齢 55 から 75 歳) であった。喫煙、生活習慣などを問診した後、歯周検査を行った。同意を得て末梢血からゲノム DNA を抽出し UCP2 (rs659366) 遺伝型を同定した。また血液検査を行い腎機能の指標として血清シスチン推算法 eGFR_{cys} を算出した。

【結果と考察】年齢でコントロールした偏相関分析を行った結果、UCP2 遺伝型のうち G アレル保有者において PPD4mm 以上の部位のパーセンテージおよび BOP パーセンテージが eGFR_{cys} との間に有意な負の相関を示した。しかしながら CALPPD4mm 以上の部位のパーセンテージあるいは平均 CAL と eGFR_{cys} の間にはいずれの遺伝型でも相関は認められなかった。

【結論】UCP2 遺伝型が歯周炎と腎機能の関係に影響を与える可能性が示唆された。

P-37

2504

Porphyromonas gingivalis LPSによるTLR2を介したThrombospondin 1産生

御給 美沙

キーワード：トロンボスポンジン1, 歯周炎

【目的】歯周炎はグラム陰性細菌によって引き起こされる慢性炎症性疾患であり、特に *P. gingivalis* は主要な歯周病原細菌として知られている。歯周炎局所での歯肉結合組織や歯槽骨の破壊には、細菌に対する炎症応答が深く関わる。本研究ではDNAマイクロアレイによる網羅的解析により、*P. gingivalis* LPS刺激によりヒト単球系細胞THP-1からThrombospondin-1 (TSP-1) の発現が亢進することに注目した。TSP-1は多機能な細胞外マトリックスタンパクであり、炎症過程において発現が上昇することが知られているが、歯周炎におけるTSP-1発現については不明な点が多い。本研究の目的は、歯周炎局所のTSP-1発現および *P. gingivalis* LPSによるTSP-1産生について解析することである。

【材料と方法】細胞はTHP-1, PMA-treated THP-1, HGF-1を用いた。TSP-1発現に対して、*P. gingivalis* LPS, HKPG, Pam2CSK4, *E. coli* LPS, IL-4, IFN- γ , IL-17A, IL-17F, TLR2中和抗体, TLR4中和抗体, MG-132の影響を検討した。また本学歯周病外来の患者から歯周外科時に歯肉組織を採取した。TSP-1発現の解析として、細胞と歯肉組織を用い、real-time RT-PCRによってmRNA発現量を、ELISAによってタンパク産生量を測定した。

【結果と考察】炎症性歯肉組織と *P. gingivalis* LPSで刺激した細胞において、TSP-1 mRNAの有意な発現上昇が認められた。また、THP-1におけるTSP-1発現はTLR2を介し、NF- κ Bシグナルに依存すること、IL-17Fにより相乗的にTSP-1を誘導することが明らかとなった。

【結論】TSP-1が歯周炎の進行において、病態を修飾する因子として、重要な役割をもつ可能性が示された。

P-39

2299

好中球エラストラーゼ阻害剤が実験的マウス歯周病の歯肉組織に与える影響

氏家 優子

キーワード：好中球エラストラーゼ, シベレスタット, 実験的マウス歯周病

【目的】我々はこれまでに好中球エラストラーゼ (NE) と歯周病における歯肉組織破壊との関連について調べてきた。NEは好中球アズール顆粒で産生されるセリンプロテアーゼであり、炎症に伴い弾性線維の崩壊とNEの局在が認められる。我々の研究では、NEによって歯根膜の弾性線維とコラーゲン線維間に存在する非コラーゲン性タンパク質 (NCP) が分解され、この破壊がNE阻害剤 (シベレスタット: Siv) によって抑制されていた。またSivが破骨細胞への分化を抑制することも示唆してきた。しかしSivが歯肉組織に及ぼす影響は明らかにされていないため、本実験では実験的マウス歯周病にSivを静脈内持続投与し、Sivが歯肉組織に与える影響について調べた。

【材料と方法】C57BL/6NcrSlc雄12週齢を用いた。歯周病感染モデルは、5-0シルク結紮糸で右側上顎第二臼歯を結紮し、*Porphyromonas gingivalis* 標準菌株の培養液にCarboxymethyl celluloseを添加したものを、1日おきに口腔内に10日間付与して作成した。浸透圧ポンプを用いてマウスの頸静脈からSiv (注射用エラスボール100) を666 μ g/kgbw/hrの濃度で10日間持続投与した。屠殺後、パラフィン包埋後切片を作成し組織学的観察を行った。Sivを含む注射剤 (Siv群) あるいは基剤のみ (Cont群) を投与した群を比較した。

【結果と考察】H-E染色像において、実験群の骨量の減少はコントロール群よりも抑制されていた。さらに実験群では、歯根膜NCPの分解がコントロール群よりも抑制されていた。Siv投与群のこれらの所見はこれまでに我々が報告してきた結果と一致していた。

【結論】Sivの持続投与により骨量の吸収は抑制され、NCPの分解も抑制されていた。

P-38

2504

低酸素環境が誘導するヒト口腔上皮細胞における遺伝子発現の解析

梶浦 由加里

キーワード：低酸素環境, 口腔上皮細胞, 遺伝子発現, DNAマイクロアレイ解析

【目的】歯肉ポケット内は嫌気性細菌の生存から低酸素状態であると考えられる。体内での低酸素環境は、炎症や血管新生などの生体反応を誘導することが知られているが歯肉組織の変化についての報告は少ない。本研究では、低酸素環境がヒト口腔上皮細胞における遺伝子発現に与える影響を網羅的に検討した。

【材料および方法】ヒト口腔上皮細胞 (TR146) を低酸素分圧下 (1% O₂) および正常酸素分圧下で24時間培養し、通常法に従ってRNAを抽出した。分離したRNAを用いてDNAマイクロアレイ法にて、遺伝子発現レベルを網羅的に解析した。また、一部の遺伝子では通常法に従ってRT-PCRにて発現変化の確認を行った。

【結果および考察】低酸素環境では正常酸素環境と比較して273個の遺伝子が約1.6倍以上の発現増加を示し、670個の遺伝子が約0.6倍以下の発現低下を示した。炎症や血管新生・機能に関連するangiopoietin-like 4, adrenomedullin, integrin α 5, IL-8, TGF- β , CCL20やTNF等の遺伝子発現が増加した。一方、S100A8やlipocalin 2の抗菌ペプチド、細胞分化や増殖に関連するepiregulin, tryptophany-tRNA synthetase, ornithine decarboxylase 1やkeratin13, 免疫に関連するUL16 binding protein 1やCD14, 細胞イオン調整に影響するtransferrin receptor等の遺伝子発現が減少した。歯肉ポケット内の低酸素環境は、上皮細胞に対して炎症、血管新生・障害、免疫反応や細胞増殖・分化などの様々な生体反応への作用を介して、歯周病での歯肉組織病態に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

P-40

2402

ナタマメエキスの細胞傷害性と炎症に対する効果について

松本 光生

キーワード：ナタマメ, 細胞傷害性, TNF- α

【目的】歯周病は、細菌感染によって歯肉組織に炎症が生じ、様々なサイトカインが産生され、歯肉組織を破壊するとされている。一方で、ナタマメ (sword beans) はマメ科の植物であり、古くから膿とり豆として知られていて、漢方薬として使用されてきた。我々は、ナタマメが *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) に対する抗菌効果を有し、また、*P. g.* のジンジバインの活性を抑制すること、さらに、ラット実験的歯周炎における骨吸収を抑制したことを報告した。本研究では、SBEが、歯周炎の炎症に対して、どのような効果を示すのかを検討するために、SBEのヒト単球細胞に対する傷害性と、炎症性サイトカインであるTNF- α の産生に対する効果を *in vitro* で検討することを目的とした。

【材料および方法】ナタマメを50%エタノールで抽出後、凍結乾燥し、ナタマメ抽出液 (Sword Beans Extract; SBE) を調製した。SBEのヒト単球細胞株 (THP-1) に対する傷害性について死細胞率を測定した。また、THP-1を *P. g.* のLPSで刺激し、各濃度のSBEを作用させ、TNF- α の産生への効果について、ELISA法を用いて調べた。

【結果および考察】SBEのTHP-1に対する細胞傷害性は、500 μ g/ml以下では有意に低かった。また、SBEは250 μ g/ml, 500 μ g/mlでTNF- α の産生を有意に抑制したが、125 μ g/mlでは抑制していなかった。以上の結果から、500 μ g/ml, 250 μ g/mlでSBEを作用させると細胞傷害性は少なく、さらにTNF- α の産生を抑制することが明らかになった。

P-41

マウス歯周炎モデルに対する骨髄間質細胞を用いた歯周炎抑制の検討

2504

井口 慎也

【目的】 現在、歯科治療において炎症のコントロールは、感染物の除去もしくは、抗生物質の投与により消炎を行っている。一方で、近年、間葉系幹細胞の新しい働きの一つとして、抗炎症作用があることが報告され、幹細胞が薬の代替になるのではという発想から医学分野において注目されている。そこで、歯科領域における一つの炎症性疾患である歯周病に対しても幹細胞の抗炎症作用の有効性を明らかにすることが本実験の目的である。本実験では、マウスの歯槽骨に歯周病を発症させて、幹細胞の間歇投与により歯周組織の破壊程度について細胞移植を行わない群と比較することで、その有効性を明らかにする。**【材料と方法】** 8週齢のマウスより骨髄由来幹細胞を単離・培養し、8週齢のマウスの上顎第二臼歯に結紮を行い、人工的に歯周病を発症させ、マウス上顎臼歯部に歯槽骨欠損を生じさせる。培養した細胞を、マウスにおいて生じさせた歯槽骨欠損部もしくはマウス尾静脈に投与する。コントロール群にはPBSの投与を行う。移植後1, 3, 5, 7日とCTおよび組織切片を作製し、形態的および組織学的に解析した。**【結果と考察】** 細胞移植群では、歯槽骨の吸収の抑制が確認された。また、上皮のダウングロースは結紮のみの群と比較して少なくなる傾向が観察された。**【結論】** マウスに作製した歯周炎モデルに対し、骨髄間質細胞による歯周炎抑制の可能性が示唆された。

P-43

高出力赤色LED照射によりヒト歯根膜幹細胞の増殖は促進される

2504

山内 伸浩

キーワード: 赤色発光ダイオード, ヒト歯根膜幹細胞, ERK 1/2
【目的】 近年、光線力学療法の新たな光源として、Light Emitting Diode (LED) が注目されている。線維芽細胞や歯髓細胞については、LED照射により細胞の増殖や分化が促進されることが報告されているが、ヒト歯根膜幹細胞 (hPDLSCs) に対する高出力赤色LED照射の影響は報告されていない。そこで本研究では、高出力赤色LED照射によるhPDLSCsの増殖、および細胞内シグナル伝達経路の一つであるERKの関与について検討した。**【材料および方法】** hPDLSCsは、ヒト抜去歯の歯根膜より分離・培養した。光源として(株)モリタより供与されたLedEngin社製高出力の赤色LED(中心波長: 650 nm)を用いて、照射時間を変えることによりエネルギー量(最大10 J/cm²)を調節し照射した。2×10⁴個/mLのhPDLSCsを播種し、24時間後に照射を行い、細胞増殖を生細胞プロテアーゼ(LCP)、ミトコンドリア活性を示すユビキノ還元酵素(NADH)、アデニン三リン酸(ATP)を対象とし検討した。さらにwestern blot法でLED照射の有無によるERK 1/2タンパク発現を検討した。**【結果および考察】** LED照射により、hPDLSCsのLCP活性、ミトコンドリア活性、ATPレベルは有意に増加した。またp-ERKのタンパク発現はLED照射群で増強した。これらの結果より、LED照射により、hPDLSCsの増殖が促進され、その作用機序はMAPK/ERK 1/2経路が関与する可能性が示唆された。**【結論】** hPDLSCsに対して高出力赤色LED照射を行うことにより細胞増殖が促進される。今後、さらに硬組織分化誘導に対する至適条件を検討し、歯周組織再生治療に応用したいと考えている。

P-42

ラット口腔内実験に用いる開口器の開発-実験的歯周炎モデルへの応用

2504

倉治 竜太郎

キーワード: 開口器, 実験的歯周炎, ラット, 口腔内動物実験
【目的】 歯周病学を初めとする口腔内の研究において、ラットなど齧歯類を対象として実験を行うことが多い。こうした動物の口腔内を対象に種々の処置を行う場合には、開口状態の保持や視野確保が実験手技を安定させる上で極めて重要な要素となる。しかし、従来から犬、猫、ウサギに用いる開口器は存在するが、ラットなど小動物の開口を保持する器具はほとんど提案されていない。そこで我々は、幅広い週齢のラットに適応しうる規格化された開口器の作製を目的とし、開発を行ったのでここに報告する。**【材料と方法】** 本考案は、3mmステンレス線を用いた長方形の歯係止フレーム(1)と、フレーム内側に対向して連結された口角鉤(2)、フレーム基部部に取り付けられた開口調節体(3)から構成されるラット開口器である。各週齢ラットの口腔形態に応じた本器の適応を評価するため、6週齢、12週齢、20週齢Wistarラットを対象に、開口保持効果と口角鉤部の適合性を観察した。また実験的歯周炎の作製例として、縫合糸をラット上顎臼歯に結紮し、本器を用いた場合の処置時の視野確保、器具の到達性を検討した。**【結果と考察】** 本考案の開口器により、ラットの開口状態は安定して保持され、口腔内観察及び実験を良好に実施できた。また本器は開口調節体により体重の異なる全週齢のラットに適合した。一方、本器の口角鉤部は緩やかな傾斜付与により、開口器装着時の粘膜損傷を防止した。本器は総ステンレス製であるのでオートクレーブ、乾熱滅菌が可能であった。**【結論】** 本考案による規格化ラット開口器は、各週齢ラットの口腔内実験において優れた開口保持効果を有した。本器は実用新案登録済みである(公開番号2014-004789)。

P-44

310nm紫外線LEDの口腔内細菌に対する殺菌作用の検討

3101

高田 鮎子

キーワード: 殺菌作用, 口腔内細菌, 310nm, 紫外線LED
【目的】 310nm紫外線LED照射器の口腔内細菌に対する殺菌作用を調べ、同機器の口腔内での活用法の検討とその安全性について評価する。**【材料と方法】** *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556, および*Streptococcus mutans* ATCC 25175 の計4種の口腔内細菌をPBSに懸濁後、310nm紫外線LEDを0~120秒間照射した。その後、同懸濁液を寒天平板培地へ塗布し、形成されたコロニーを数えた。非照射群を100%とした時の各照射群の細菌生存率によって殺菌作用を評価した。また、陽性対照として265nm紫外線LEDを用いた。次に、歯肉扁平上皮細胞株Ca9-22の培養系に310nm紫外線LEDを照射し、同細胞への障害性を乳酸脱水素酵素(LDH)法によって検討した。**【結果と考察】** *P. gingivalis* においては60秒以上の310nm紫外線LED照射で生存率が60~30%に、*F. nucleatum* においては30秒以上の照射で70~50%になった。また*S. sanguinis* は10秒以上の照射で生存率は40%まで低下し、*S. mutans* では60秒以上の照射で生存率が60~50%まで低下した。一方、265nm紫外線LEDでは10秒以上の照射で全ての菌の生存率はほぼ0%になった。更に、310nm紫外線LEDは60秒以内の照射ではCa9-22細胞を障害しなかったが、265nm紫外線LEDは10秒以上の照射で有意に高い障害性を示した。265nmには劣るが310nm紫外線LEDにも殺菌作用があることが明らかになった。一方、310nm紫外線LEDには265nmと比較して細胞障害性が少ないことも明らかになった。310nm紫外線LEDには265nm紫外線LEDの強い殺菌作用とは違う機序の殺菌作用や利用法が期待できる。**【結論】** 310nm紫外線LEDは口腔内細菌に対する殺菌作用がある。

P-45

光干渉断層画像診断法 (OCT) を用いた歯周組織の観察及び分析

2504

柿崎 翔

キーワード：OCT, 光干渉断層画像診断法, 歯周組織, 生物学的幅径

【目的】Optical Coherence Tomography (OCT: 光干渉断層画像診断法) は近赤外光を用いた画像診断法であり, 従来の画像診断法と比較して低侵襲かつ高解像度の断層画像をリアルタイムで得ることができる。医科では眼科領域で臨床応用されており, 歯科への応用が期待されている。これまでに私どもは, OCTが歯周組織の基本的な解剖学的構造物を描出可能であることを報告した。本研究では, OCTを用いて健全な歯周組織の断層撮影を行い, 上皮, 歯肉および歯槽骨の観察と分析を行った。

【材料と方法】健全な歯肉を有するボランティア15名を対象として, 歯科用SS-OCT機器 (パナソニックヘルスケア社, Prototype2) を用いて, 下顎前歯計6歯に対し歯肉溝深さの計測を行い, それぞれの唇側中央部のOCT撮影を行った。OCT画像上で, 唇側歯肉の厚さ, 上皮の厚さ, 歯肉縁から歯槽骨頂部までの距離などの組織計測を行った。また, 計測値の深さ方向の補正はブタ歯肉の屈折率を計測して行った。(東京医科歯科大学歯学部倫理委員会承認No578)

【結果と考察】OCTにより, 歯肉の上皮, 結合組織の断層像を詳細に観察することができたが, 歯肉の厚みが1.5mmを超える症例に関してはそれよりも深部の像を得ることは困難であった。歯肉の薄い症例ではさらに歯槽骨が明瞭に観察可能であった。一部の症例では口腔上皮だけでなく, 歯肉溝上皮, さらに接合上皮が観察された。また, 歯肉縁から歯槽骨頂部までの距離と歯肉溝深さの計測値より生物学的幅径は約2.0mmと算出された。

【結論】OCTは歯周組織の断層像を明瞭に詳細に容易に描出できるだけでなく, 生物学的幅径の計測も可能で, 歯周組織診断に対して有用である可能性が示唆された。

P-47

歯肉溝滲出液におけるhemoglobin検査とBOP検査との比較

2504

伊藤 弘

キーワード：歯肉溝滲出液 (GCF), hemoglobin (Hb), BOP

【目的】歯周病検査において, 正確な状況の把握に加えて無痛の検査の遂行は重要である。特に, プロービングは炎症に伴い疼痛を伴うことから無痛の検査の確立が望まれている。今回我々は, 無痛的に採取できるGCFのHb検査に注目し, その有用性に対する考察を加えた。

【材料および方法】被験者は, 日本歯科大学附属病院に来院しているSPT患者とし, 臨床パラメータは, PII, GI, PPD, CAL, BOPとした。GCFの採取にはペリオペーパー (Oraflow Inc.) を用い, 歯肉溝に抵抗感があるまで挿入し30秒静置した。PII測定後GCFを採取し, 各臨床パラメータを測定した。GCFのHb量の測定にはヒトモノクローナル抗体を用いたimmuno-chromatography (IC) 法を用いた。なお, 視覚的にペリオペーパーに出血が認められた試料は排除した。

【結果および考察】BOPの有無とIC法によるHbの有無による比較では, 各種臨床パラメータ結果をBOP検査とHb検査の陰性・陽性で統計的に解析したところ, 両者の間に高い相関性が認められ, Hb検査の有用性が示唆された。

【倫理的配慮】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2111)。

【資金源】文部省科学研究費助成金: 基盤C, 課題番号: 25463267・26463146, および平成26年度日本歯科大学生命歯学部研究プロジェクトの援助を受けた。

P-46

歯周病検査用SAWバイオセンサの開発

2302

小貝 崇

キーワード：歯周病検査, SAWバイオセンサ, バイオセンサ, ポイントオブケア検査

【目的】近年, 歯周病検査を目的とした弾性表面波 (SAW) バイオセンサの実用化が期待されている。SAWバイオセンサは, 抗原抗体反応を利用した小型でシンプルな電気回路で構成されており, その実用化により, 誰でも簡単に, 短時間で歯周病検査が可能となる。本研究では, SAWバイオセンサによる唾液からのヘモグロビン (Hb) 検出を検討した。

【材料と方法】センサには開発中のSAWバイオセンサ (日本無線) を使用した。抗原にはHb (abcam) を用い, 抗体には金コロイド標識抗Hbモノクローナル抗体 (abcam) を用いた。測定方法は, まずセンサチップ表面に検出対象のHbを0, 1, 10, 100 μg/mlの濃度で, それぞれ固定化し, その後, 当該抗体を滴下しHbとの抗原抗体反応によるシグナルの変化を測定した。本研究は明海大学歯学部倫理委員会の承認を得て行った (承認番号A1419)。

【結果と考察】認識抗体による反応は, 滴下開始から1分後にHb濃度が判定可能で, 反応は5分後で飽和した。Hb濃度の測定の結果, 抗原抗体反応によるシグナルの増加が, Hb濃度依存的に認められたことより, SAWバイオセンサによるHb定量が可能であることが示唆された。

【結論】本研究で用いたSAWバイオセンサは, 抗原および抗体の結合を, チップ上を伝搬するSAWの伝搬速度の変化として, リアルタイムで数値的に検出できることから, 迅速なHb検出が可能であることが示唆された。今後, 当該センサを用いて, 歯周炎患者から採取した唾液中のHbの検出とともに, 他の歯周病バイオマーカーの検討も行っていく予定である。

P-48

唾液中の歯周病原細菌と血清抗酸化物質の関係

2402

渡邊 裕之

キーワード：抗酸化物質, 歯周炎, 尿酸

【目的】歯周炎患者で唾液中の抗酸化物質の低下がみられ, 治療に伴って回復する可能性が報告されている。しかし歯周病原細菌と血液中の抗酸化物質との関係については十分に明らかになっていない。本研究では血液中の抗酸化物質と歯周病原細菌の関係を調べることを目的として, 唾液中のP.gingivalis細菌およびA.actinomycescomitans細菌量と血液中の抗酸化物質 (尿酸およびスーパーオキシドジスムターゼ (SOD)) との関係を検討した。

【材料と方法】北海道医療大学病院内科に通院する患者130名を被験者とした。Real time PCR法を用いて唾液中のP.gingivalis細菌量およびA.actinomycescomitans細菌量を測定した。またP.gingivalisおよびA.actinomycescomitansに対する血清抗体価, 血清尿酸濃度, SOD濃度を測定した。歯数, Probing pocket depth (PPD), Clinical attachment level (CAL), Bleeding on probing (BOP) を測定した。各測定項目間の関係をSpearman's rank correlation testで検討した。P.gingivalis細菌量を従属変数に設定し, 歯科検査項目, 年齢および内科検査項目を独立変数に設定して重回帰分析を行った。

【結果と考察】P.gingivalis細菌量は尿酸と有意な負の相関を示した。A.actinomycescomitans細菌量と各測定値の間には有意な相関が認められなかった。重回帰分析の結果, 全被験者においてP.gingivalis細菌量とPPD ≥ 4mmと尿酸に有意な相関が認められた。SODと尿酸に負の相関が認められた。

【結論】血液中の尿酸の減少はP.gingivalisの増加に関与する可能性が示唆された。

P-49
2504

Detection of Bacterial Species in Chronic Periodontitis Tissues at Different Stages of Disease Severity

Jae-Mok Lee

Keywords: chronic periodontitis, oral bacteria, PCR detection

Objectives: The goal of this research was to determine the relationship between the stage of chronic periodontitis and the presence of six bacterial pathogens. (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: AA, *Fusobacterium nucleatum*: FN, *Porphyromonas gingivalis*: PG, *Prevotella intermedia*: PI, *Enterococcus faecalis*: EF, and *Parvimonas micra*: PM)

Materials and methods: Forty-six chronic periodontitis patients visiting a dental hospital were included in this investigation. They were classified into four chronic periodontitis stages based on the sulcus bleeding index value and the probing depth. The tissue samples from the periodontal surgery were used for anaerobic bacterial culturing and either 16S rRNA gene sequencing or a direct PCR detection assay. A total of 49 samples from 46 patients were collected and classified into four chronic periodontitis groups (N: 6, P1: 13, P2: 18, P3: 12).

Results: Bacterial culture and 16S rRNA sequencing did not provide prevalence data for the six bacterial pathogens. The PCR assay, however, showed that FN, PI, and PM were involved from the beginning of chronic periodontitis (P1), while AA and PG existed regardless of the disease stages. EF was strongly linked to the P3 stage of the disease.

Conclusions: In summary, this is the first report on six chronic periodontitis-associated pathogens and their association with stages of chronic periodontitis in Korea. Findings of this study could suggest the direction for assessment of treatment of chronic periodontitis through the recognition of pathogens. In order to assess the effect of dental treatments on chronic periodontitis patients, EF would be a critical marker for P3 patients, while FN, PI, and PM would be good indicators for chronic periodontitis patients overall.

P-51
2107

福岡市における歯周疾患検診普及のためのとりくみ

鎮守 信弘

キーワード: 歯周疾患検診, 福岡市, 普及

【目的】 第57回日本歯周病学会秋季学術大会で、平成15年度から10年間の福岡市における歯周疾患検診受診者4,842名の歯科保健状況の概要を報告した。今回は、福岡市の歯周疾患検診の受診率とそのとりくみについて報告する。

【対象および方法】 福岡市および福岡市歯科医師会の保有する歯周疾患検診事業に関する資料を用い、歯周疾患検診の年度別、年齢別、月別受診率の推移、協力医療機関のうち当該年度中に検診を実施した医療機関の割合の推移等を分析し、受診率について検討した。

【結果および考察】 歯周疾患検診の受診率は、事業の開始直後は2.3%であった。その後、受診率は年々減少し、平成21、22年度には0.5%まで減少した。平成23年度から年0.4%程度の増加傾向に転じ、平成26年度の受診率は2.1%となった。この間の対象年齢は、事業当初は40歳のみで、平成18年度から50、60、70歳を対象に加え、さらに平成24年度から35歳を追加している。事業開始以来、検診対象者に対する周知は、年度当初に市政だよりとともに全戸配布する健康診断の案内のなかに、歯周疾患検診について掲載するのみであった。しかし、平成24年度から対象年齢は限定されているものの、ダイレクトメールによる個別通知を開始した。さらに、検診協力医療機関数や検診実施医療機関数も増加しており、市民だけでなく歯科医師会員への啓発も効果的に行われたことがわかった。これらのことから福岡市民の8020達成者を増加させ、歯周疾患罹患状況を改善させるためには、受診率の増加をさらに推進するとともに、歯科医師会、行政、市民が一体となり、これらの結果を成人歯科保健対策に反映させることが必要であると考えられた。

P-50
3101

口腔内バイオフィーム解析用オーラルケアチップの開発

野澤 あい

キーワード: 歯周病, バイオフィーム, 細菌

【目的】 歯周病は、複数の細菌が関与するバイオフィーム感染症であることが知られている。本研究では、これら歯周病原性細菌をはじめ、口腔内のバイオフィームに棲息する細菌を定量的に検出・分析するための新規デバイスの開発を目指す。

【材料と方法】 繊維型DNAチップ ジェノパール (三菱レイヨン社) に、歯周病細菌検出プローブ、総菌量検出プローブ、コントロールDNA検出プローブを搭載し、オーラルケアチップとして製造した。細菌検出プローブには16S rRNAのうち各細菌特異的配列を、また総菌量検出プローブにはコンセンサス配列を、それぞれ利用した。ポジティブコントロールには、*P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitance*, *Streptococcus* 属などの細菌由来ゲノムDNAを利用し、16S rRNAの一部配列をPCRにて増幅した。PCRにはCy5にて標識したプライマーを用い、得られたPCR産物をオーラルケアチップにハイブリダイゼーションした後、チップ上の各スポットの蛍光強度を測定した。

【結果と考察】 14種類の細菌の細菌数と総菌数に関して、PCRに用いたテンプレートDNAの濃度と蛍光強度の間に、相関が得られた。またDNAが10 pg以下の範囲で、ゲノムコピー数を算出する式を取得したところ、各細菌でPCR効率およびハイブリダイゼーション効率が異なることから、それぞれ算出式の係数が異なる値となった。さらに、この算出式を用いて、被験者から採取したプラークや唾液などの検体に含まれる、各細菌のコピー数を算出することが可能となった。

【結論】 歯周病原性細菌をはじめ、口腔内でバイオフィームを形成する細菌を包括的、かつ、定量的に測定するデバイスを開発した。

P-52
3001

ハンセン病元患者の歯周管理に関する考察

園井 教裕

【緒言】 国立ハンセン病療養所栗生楽泉園に住む入園者の平均年齢は現在約85歳と超高齢である。さらには、ハンセン病の後遺症として手が不自由であるなどの理由のため、口腔内のセルフコントロールは難しい。ところが、平成25年の本園歯科健診結果を平成23年歯科疾患実態調査 (厚生労働省) の結果と比較したところ、1人平均現在歯数及び20本以上の歯を持つ者の割合は差異がないことがわかった。そこで、今回は歯周疾患を中心に考察を深めたので報告する。

【方法】 1) 入園者歯科健診時に、歯周疾患の状態をWHOのCPI (Community Periodontal Index) に準じて調べた (平成25年5~7月、受診者数77名、受診率73%)。その際、無歯顎者の人数も抽出し、これらを平成23年歯科疾患実態調査 (80~84歳) と比較した。2) 1) でCPI個人コードが得られた入園者 (54名) のうち、1年後の平成26年入園者歯科健診で追跡可能であった者 (37名) については、CPI個人コードを比較した。

【結果および考察】 全健診者の中で、個人CPIコードが3である者の割合は、歯科疾患実態調査の結果に比べて10%以上高く、逆に無歯顎者である者の割合は10%以上低かった。また、入園者の歯周状態はこの1年間で、約3割が改善し、約6割は変化していなかった。これらの結果は、歯科が療養所内にあることで、歯科受診がしやすく、セルフケアが困難な入園者の歯周管理を長年サポートできていたと考えられた。

【結論】 入園者の歯周疾患の状態は、歯科が中心となって、口腔内の感染制御に努めた結果、可及的に歯周管理できていることが示唆された。

P-53

音波ブラシのプラーク除去効果と臨床パラメーターの改善効果

2504

白川 哲

キーワード：音波ブラシ、プラーク除去効果、細菌検査

【目的】近年、音波ブラシが普及し、プラーク除去効果については様々な検討が行われている。本研究では音波ブラシを用いてプラークの除去、臨床パラメーターの改善ならびに細菌検査を行いその有効性について検討することとした。

【材料および方法】音波ブラシにはPHILIPSのフレックスケアーブラシチナ®（硬さ：普通、ST群）、C社製菌ブラシ（硬さ：普通、MT群）を用いた。両群共に初回の臨床パラメーター、細菌検査、プラークの染め出しを行った。各菌ブラシを用いTBIを行い、再度染色後、プラーク付着量の測定を行った。その後継続使用させ、2週ならびに4週使用後で臨床パラメーター、プラーク付着量の測定を行い、また4週では細菌検査を合わせて行った。

【結果および考察】2および4週使用後でGIならびにBOPは両群とも改善した。しかしながら、2週後においてBOPはST群でMT群に比べ速やかな改善を示した。また、PPDはST群においてのみ改善を示した。プラーク付着量はTBIを行った直後ではST群で有意な付着量の低下が認められたが、2週ならびに4週で違いは認められなかった。細菌検査では両群とも減少が認められた。以上より、プラーク付着量は両群とも同程度であったが、BOP、PPDの改善はST群で速やかかつ効果的であった。これは緑下細菌叢の変化によるものと考えられる一方、STの歯肉へのマッサージ効果によるものと考えられた。

【結論】音波ブラシ使用群では短期間で臨床パラメーターの改善効果が認められた。

P-54

2つの機能を備えた「生葉極幅ブラシ」の歯科衛生士からの使用感評価：アンケート調査からの検討

3002

岩切 美奈

キーワード：歯周病、歯ブラシ、歯科衛生士、アンケート

【目的】歯周病対応において効率的なプラークコントロールは必須である。そのために必要な歯ブラシの開発は重要と思われる。今回我々は、2つの機能（プラーク除去と歯肉マッサージ効果）を備えた生葉極幅ブラシ（小林製薬㈱）が効率的なプラークコントロールに立つのではないかということから、アンケート調査をふまえて検討したので報告する。

【対象と方法】対象は歯科衛生士45名（20～49歳）とした。社名・商品名を伏せた状態で、生葉極幅ブラシ2本（ふつう/やわらかめ）を渡し、好みの方を使用してもらった。まず使用前に形状や触感で選択肢形式・文字記入形式にて回答してもらった後、生葉極幅ブラシを10日間使用後に再度回答してもらった。

【結果と考察】45名にアンケートを実施、返却のあったものは39名、回収率は86.7%であった。ブラシのかたさは“ふつう”を選んだ者は28名（72%）、“やわらかめ”を選んだ者は10名（26%）、未回答1名であった。“「50-60代のシニア向けの歯周病対策歯ブラシ」として患者さんにお薦めしたいですか”という項目において、使用前には“薦めたい・やや薦めたい”と回答した者が33.3%であったのに対し、使用後には46.2%になり、評価が上がっていた。さらに、“「中央の毛が歯周ポケットの歯垢を取り除く」「歯を磨きながら歯ぐきをやさしくマッサージする」という特徴に、どうお感じになりますか”という質問に対し“良い・どちらかといえば良い”と回答した者はそれぞれ46.2%、71.8%であった。

【結論】生葉極幅ブラシは、歯周病患者に幅広く対応し得る歯ブラシであると考えられる。

P-55

舌清掃器具による舌損傷程度の検討

3002

土田 智子

キーワード：舌苔、舌清掃器具

【目的】舌清掃器具は多種多様なものが開発され市販されているが、各々の器具の安全性や除去効果などを詳細に検討した研究報告は少ない。今回、形状の異なる舌清掃器具を用い、舌清掃の安全性を比較検討した。

【材料および方法】不織布ディスプレイタイプ（以下、不織布）、スクレーパータイプ（以下、スクレーパー）、ブラシタイプ（以下、ブラシ）の3種類の舌清掃器具を使用した。本研究の主旨に同意した健康女性8名（平均年齢37.8歳）を被験者とし、不織布およびスクレーパーを使用する群と不織布およびブラシを用いる群に分け、それぞれストローク5回・10回・15回のパターンで舌清掃を実施させた。安全性の確認のため、マイクロスコープ（Dino-Lite, ANMO Electronics Corporation）による清掃前後の舌表面撮影および潜血反応検査（ペリオスクリーン、サンスター（株））を併用し、舌損傷程度を確認した。なお、使用清掃器具にはストレンゲージ（Strain Gages, (株)共和電業）を貼付しストローク圧も測定した。

【結果および考察】ブラシによる清掃で潜血反応を示したものがいた。マイクロスコープによる撮影ではストローク回数が増加するに従って、糸状乳頭の形状変化が認められたが、損傷程度は確認できなかった。また、ストローク圧の平均は大きい順にブラシ（329.4gf）、スクレーパー（189.6gf）、不織布（157.5gf）であった。今回の結果では明らかな損傷程度の判別はできなかったが、潜血反応を示したブラシはストローク圧も高い傾向が認められたことから、清掃時の安全なストローク圧の検討が必要と考えた。

P-56

天然多糖プルランリン酸化化合物と塩化セチルピリジニウム混合液の口腔ケア剤としての優位性の検討

3002

河田 有祐

キーワード：CPC、プルラン、口腔ケア剤

【目的】抗菌作用をもつ陽イオン性の塩化セチルピリジニウム（CPC）は、歯磨剤や洗口剤の成分としてよく使用されている。われわれはCPCを歯面への停滞させる特性を有したリン酸化プルラン（PP）を開発し、抗菌作用への影響を研究している。本研究では、PP-CPC混合液の臨床応用の優位性を検討するため、①S. mutansおよびC. albicansに対する抗菌効果、②PP-CPC以外のリン酸化多糖と陽イオン性抗菌剤の組み合わせとしてリン酸化マンナン（PM）と塩化ベンゼトニウム（BTC）の混合液との抗菌性の比較、③市販されている口腔ケア剤との抗菌性の比較を行った。

【材料および方法】＜抗菌性試験＞試験溶液としてPP-CPC溶液、対照溶液としてPM-BTC溶液、CPC単独溶液、市販されている口腔ケア剤、そしてリン酸緩衝液を用いた。人工歯面（ハイドロキシアパタイトプレート：HAp）への抗菌効果の持続性を検証するため、試験溶液にHApを各種時間で浸漬させた後に超純水にて2回洗浄し、さらにHApを菌液（S. mutansもしくはC. albicans）中で12時間培養した。そして菌液中の細菌のアデノシン三リン酸活性を測定することによって、抗菌効果を調べた。

【結果および考察】PP-CPCでは、抗菌効果が持続し、S. mutansおよびC. albicansに対して優れた抗菌性を示した。PM-CPCでは、PP-CPCほど抗菌性を示さなかった。さらに、市販されている口腔ケア剤と比較すると、PP-CPCは抗菌効果が歯面に残り、優れた抗菌性を有する事が示唆された。PPとCPCの組み合わせによって、これまでにない効果と使用方法が期待できる。

P-57

知的障害者に対する経口アジスロマイシン投与を併用したOne-stage full-mouth disinfectionの効果

2504

関野 仁

キーワード：知的障害者、One-stage full-mouth disinfection、全身麻酔

【目的】知的障害者はホームケアや歯科治療への協力性の問題から標準的な歯周治療が困難となることが少なくない。本研究では、中等度から重度の歯周炎に罹患した知的障害者に対して、全身麻酔下にてアジスロマイシン（AZM）を併用したOne-stage full-mouth disinfection（FMD）を行い、治療効果について臨床的および細菌学的評価を行った。

【材料と方法】被験者は東京都立心身障害者口腔保健センターに来院した知的障害者で、中等度以上の歯周炎患者12名とした。ブラークコントロール、歯肉縁上スクレーリング終了後をBaseline（BL）とし、全身麻酔下でのFMD時、FMD施行1, 3, 6, 12ヶ月後にブラーク付着（PCR）、プロービングデプス（PD）、プロービング時の出血（BOP）の計測と細菌学的評価としてPCR-Invader法にて総細菌数、*Porphyromonas gingivalis*（*P.g.*）、*Tannerella forsythia*（*T.f.*）、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*（*A.a.*）の定量を行った。AZMはFMD施行2日前に服用とした。FMDは超音波スクレーラーを主体に行い、終了後は毎月のメンテナンスを継続した。

【結果と考察】PCRは研究期間中一貫して高い状態であったが、FMD後にPD、BOP、総細菌数、*P.g.*数、*T.f.*数は有意に減少し維持された。これは集中的かつ継続的に歯周病原細菌が排除されたためと思われる。*A.a.*は研究期間中どの被験者からも検出されなかった。発熱が生じた被験者は認められなかった。全身的风险が高く、症状を明確に訴えることが難しい知的障害者では、多角的に抗菌療法の妥当性を検討する必要があると考えられる。

【結論】ブラークコントロール不良な知的障害者に対してAZMを併用したFMDは有効であることが示唆された。

P-59

成人矯正歯科治療における臨床的歯冠長の変化-小白歯抜歯症例-

2905

尾関 佑美

【目的】矯正治療が歯周組織に及ぼす影響を知る目的で、動的治療後における臨床的歯冠長の変化を検討した。

【資料と方法】初診時年齢20歳以上の成人不正咬合者のうち、第一小白歯または第二小白歯を抜歯しマルチブラケット装置により矯正治療を行った21例（女性18例、男性3例、平均年齢26.1歳：20～56歳）から採得した歯列石膏模型を研究対象とした。初診時と動的治療後の歯列石膏模型を3DスキャナーC Proデンタルシステム（Panasonic社）でスキャンし、表面形状をSTLデータとして保存した。三次元データ解析ソフトを用い3D歯列モデルを再構築し、治療前後それぞれのモデルより下顎左側中切歯の歯冠を抽出し、Iterative Closest Point（ICP）法を用い両者の重ね合わせを行った。3D歯列モデル上で唇側歯肉縁点および舌側歯肉縁点を計測し、治療前後の両者の歯軸方向の変化を算出し、唇舌側における臨床的歯冠長の変化を検討した。

【結果】下顎中切歯の初診時および動的治療終了時の歯肉縁点の垂直的变化（正符号：歯肉退縮）は、唇側で $0.25 \pm 0.72\text{mm}$ （ $-1.45 \sim 1.67\text{mm}$ ）、舌側で $-0.01 \pm 0.61\text{mm}$ （ $-1.34 \sim 1.30\text{mm}$ ）で、治療前後で有意な差を認めなかった（Wilcoxon signed-rank, $P > 0.05$ ）。

【考察】適正な口腔清掃管理下での成人矯正治療は、歯周組織への悪影響は少ないと考察された。

【結論】三次元画像工学技術を応用することで、矯正治療による臨床的歯冠長の変化を高精度で検討することが可能となった。下顎左側中切歯の臨床的歯冠長に対し、マルチブラケット法による矯正治療の影響は認められなかった。

P-58

Full-mouth SRP後の生体応答と臨床効果

2504

両角 俊哉

キーワード：Full-mouth SRP、生体応答、バイオマーカー

【目的】Full-mouth SRP（FM-SRP）は、治療後に歯周病原細菌が口腔内伝播するのを防ぐ目的で考案され、その臨床的效果については多くの報告がある。一方で、処置後の歯血症が生体に及ぼす影響について、その詳細は明らかでない。本研究の目的は、FM-SRP後の生体における細菌学・生化学的変化および臨床的治療効果を検討することである。

【材料と方法】中等度～重度の広汎型慢性歯周炎患者18名においてone stage FM-SRPを行った。末梢血と歯肉溝滲出液（GCF）の採取を計3回（処置前、処置翌日、6週後）、縁下ブラーク採取と歯周病検査を計2回（処置前、6週後）行った。得られた試料からInvader PLUSアッセイによる歯周病原細菌数の定量、ELISA法によるそれら細菌に対する血清抗体価および比濁時間分析法による血中エンドトキシン濃度を測定した。また、血清およびGCF中のバイオマーカーをマルチプレックアレイにて網羅的に解析した。

【結果と考察】処置前と翌日の比較で、血清中CRP、IFN- γ 、IL-6、IL-12p70、TNF- α が、GCFではCRP、IL-5、IL-6、IL-12p70、TNF- α レベルが有意に上昇した。処置前と6週後の比較では、総細菌数、*P. gingivalis*数、*P. intermedia*数および各比率（対総細菌数）が有意に減少した。歯肉炎指数、BOP陽性率、プロービングポケットデプス、臨床的アタッチメントレベルも6週後に有意な減少を示した。

【結論】FM-SRPは高い治療効果を示す一方、処置直後では全身と局所において炎症性サイトカインを著しく上昇させていることが示唆された。

P-60

歯周病患者における適切なSPT間隔

2305

中里 昭仁

キーワード：SPT、SPT間隔、再発リスク、抜歯

【目的】歯周病患者では、治療後も安定した状態を長期間持続させるために定期的な管理が必要とされている。歯周病の再発リスク低減のための適切なSPT間隔について、いまのところ明確な基準はなく、術者の経験によってなされているのが現状である。本研究では歯周治療後のSPT間隔の影響について後ろ向きに調査したので報告する。

【材料と方法】2014年8月から2015年2月までに東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来に来院しSPT移行後2年以上（平均 5.4 ± 2.8 年）経過した患者768名を対象とした。このうち、初診時、SPT移行時、最終来院時のプロービングポケットデプス（PPD）、Bleeding on probing（BOP）が記録されていた患者320名（男性96名、女性224名）を抽出し、歯周組織の状態、抜歯、来院履歴、全身疾患の有無などのデータを用いて統計解析を行った。

【結果と考察】歯周治療によりSPT移行時の歯周組織の状態は初診時と比較して有意に改善した。またSPT移行時と最終来院時とを比較して4mm以上の歯周ポケットの割合に有意な変化はなかった。3か月以上のSPT間隔の被験者群ではBOPの有意な上昇が認められたが、PPD $>5\text{mm}$ の割合に有意な変化は認められなかった。比例ハザード分析を用いた解析では、SPT移行時に6mm以上の歯周ポケットを有する歯は、SPT間隔が2か月以上であると、抜歯に至るオッズ比は2.6（ $p = 0.03$ ）であった。

【結論】SPT間隔は3か月以内であることが望ましく、歯周治療後も歯周ポケット6mm以上の歯を有する場合には2か月以内のSPTが望ましいことが示唆された。

P-61

グリシン含有歯面研磨剤噴射後の純チタン上のヒト歯肉上皮細胞の挙動について

3102

小石 玲子

キーワード：歯面研磨剤，チタン表面，歯肉上皮細胞

【目的】インプラント材料としてチタン金属は広く用いられ、アパットメントでも従来のチタン金属を使用されている場合が多い。今回、従来の炭酸水素ナトリウムではないグリシン含有歯面研磨剤を用いて研磨剤噴射後の純チタンの表面性状の観察と上皮細胞の動態について検討した。

【材料および方法】市販の直径15mm、厚さ1.5mmのJIS2級純チタン平板を用い、グリシン含有歯面研磨剤（平均粒子径25.65μm）と従来の炭酸水素ナトリウム含有歯面研磨剤（平均粒子径65μm）を噴射剤として用いた。平板上に各種研磨剤を噴射し、超音波洗浄を行い使用した。対照群は研磨した無処理のチタン平板とした。表面性状は、走査型電子顕微鏡と走査型プローブ顕微鏡で観察し平均表面粗さ（Ra）を評価した。各平板を乾熱滅菌を行い、大阪大学 村上伸也教授より供与されたヒト歯肉上皮細胞epi4を播種し72時間培養後までの細胞増殖と72時間培養後の細胞接着に関する遺伝子発現を検討した。統計解析は一元分散分析で行い、有意水準は5%とした。

【結果および考察】表面性状は、対照群のフラットな構造に対し噴射群はフラットな表面に一樣に傷を帯び、高倍率では一樣な表面改質ではないことが観察され、Ra値が平均粒子径に相関することが認められた。細胞増殖では、播種後6時間までは差はみられないが24、72時間ではグリシン25μmの歯面研磨剤のほうが有意に大きかった。また遺伝子発現ではグリシン25μmの歯面研磨剤のほうが対照群と類似した発現が認められた。

【結論】インプラント周囲溝の清掃では、従来の歯面研磨剤よりも小さい粒子のグリシン含有歯面研磨剤を用いたほうが生体適合性が高いことが示唆される。

P-62

上顎臼歯欠損部に行った口腔インプラント治療の臨床評価

2609

羽鳥 智也

キーワード：歯周病，オステオトームを用いた上顎洞挙上術，口腔インプラント

【目的】歯周病によって上顎臼歯部を欠損した場合、各種骨増大術を行った後に口腔インプラント治療が適応される症例が増えている。本報告では、骨移植材を用いずにOsteotome Sinus Floor Elevation (OSFE)を併用して口腔インプラント治療を行った10症例の臨床成績を評価した。

【材料と方法】全身疾患を有さず、慢性歯周炎が原因で抜歯した10症例（男性3名、女性7名）。患者の年齢は52歳（36～60歳）であった。2009年10月から2014年11月の間に局所麻酔下で合計20本（POI EX Finatite 18本、BranemarkMK III Groovy 2本）の口腔インプラントを埋入した。上顎洞底部までの距離が4mm以下であった3症例については、事前に垂直的GBR法を適応した。術前の歯槽骨頂から上顎洞底部までの距離は全てCT画像上で計測し、平均6.66mmであった。埋入後に鼻出血および上顎洞の感染を疑う所見は認めなかった。全ての症例で2回法を選択した。口腔インプラント埋入後、平均5.2ヵ月後に二次手術は行い、平均7.9ヵ月後にプロビジョナルレストレーションを装着した。経過観察後、上部構造を装着した。咬合荷重を付与してからの観察期間は平均25.6ヵ月であった。埋入後平均33.7ヵ月後にパノラマエックス線写真を用いて予後を評価した。

【結果と考察】埋入した20本は生存率および成功率共に100%であった（成功率はトロント会議のインプラント治療に対する成功の基準に従った）。骨再生量は平均3.50mmであった。

【結論】歯周病により歯周組織の破壊が進行した上顎臼歯部の歯槽骨吸収症例に対してOSFEを併用して口腔インプラント治療を行い、良好な予後を得ている。

P-63

Evaluation of the cleaning efficiency of two different rotating brushes on implant surface (one with stainless bristle and the other with titanium bristle)

2609

Ji-Eun Lee

Keywords: Peri-implantitis, Implant, Debridement

Objectives: Mechanical instrumentation is widely used for debridement of dental implants and rotating brushes with bristles have been introduced for cleaning the contaminated implant surfaces. The objective of this study was to investigate the efficacy of two different rotating instruments on the removal of painted ink from the implant and compare changes in surface roughness after instrumentation.

Material and methods: Total of nine titanium fixtures (Implantium; Dentium, Seoul, Korea) were dip-coated with ink and six implants were treated with stainless rotating brush or titanium rotating brush for 1 minute. Paint was left on areas, which were not accessible for cleaning, and digital images (D300; Nikon, Tokyo, Japan) of implants were taken under standardized conditions. Areas of residual paint were calculated using computer program (Image J; Fiji, Madison, Wisconsin, USA). The percentage of cleaned surfaces was planimetrically determined using this software. The change in surface roughness after treatment with two instruments was measured by confocal microscopy.

Results: A statistically significant decrease in the arithmetic mean value (Ra) of titanium implant surface was observed after treatment by using stainless rotating brush. Complete surface decontamination could not be performed in both of the rotating instrument, but the stainless rotating brush was more efficient than the titanium brush.

Conclusions: Although a complete surface decontamination could not be performed, we suggest that the use of a stainless metal tip may be more effective than titanium brushes in debriding contaminated surfaces.

P-64

歯周病学模型実習の教育実態の把握と実習内容の分析

2598

海瀬 聖仁

キーワード：歯周病学，模型実習，実習評価

【目的】松本歯科大学では、2007年度以後、講義、実習内容に関する学生アンケート調査を施行し、学生教育へのフィードバックを図っている。今回は、第4学年に実施している歯周病学模型実習における実習状況の把握、実習内容の反省と改善のため、9年間にわたるアンケート調査結果を評価、分析することを目的とした。

【方法】対象者は、2007年度（91名）、2008年度（111名）、2009年度（123名）、2010年度（88名）、2011年度（83名）、2012年度（59名）、2013年度（53名）、2014年度（64名）、2015年度（94名）の9年間における松本歯科大学第4学年生とした。アンケート項目は13項目で構成されており、各々を5段階評価方式で評価し、上位2段階が占める割合を満足割合、下位2段階を不満足割合とした。さらに、不満足度得点を算出し、これを指標に全項目間、各項目と学生数の相関関係を算出、検討した。統計学的分析は、Pearsonの相関係数の順位差検定を用いた。

【結果】班分け、座席、デモ機では、学生数が多い年度ほど不満足割合が多くなる傾向が認められた。全項目間の相関では、「インストラクター」領域内で有意な相関が認められた。また、学生数と「自分の座席の位置」の相関のように、実習環境が、学生の満足度に与える影響が大きいことが判明した。

【考察】指導者のレベルが高い評価の場合、学生は指導全般にあたって前向きに評価すると考えられた。また、学生数の減少により、少数体制で指導を受けられたことが相関がみられた1つの理由と考えられる。今回、不満足度得点を算出してアンケート結果を数値化することで、各設問間、学生数の変動との相関関係を認識でき、実習改善に効果的なアンケート活用法を提案できた。

P-65

歯周病学教育における明海大学型少人数制グループ
実習「Vertical Tier」の効果

2504

鈴木 允文

【目的】平成20年度より明海大学歯学部では1, 3, 5学年の学生で構成される, 少人数制のグループ実習「Vertical Tier」を行っている。これは各臨床科目の外來診療見学と, 5年生が1, 3年生に対して行う, 与えられた課題に関する講義から構成されている。本研究の目的は実習終了時のアンケート調査の結果から歯周病学教育における「Vertical Tier」の効果を調べることである。

【材料と方法】歯周病学の実習に参加した平成26年度明海大学歯学部1年生17名, 3年生16名, 5年生8名を対象にした。1, 3, 5年の各学年1名以上からなる3, 4人のグループに分け, 5年生が1, 3年生に対し「歯周病について説明する」という課題の講義(45分)を行った。講義時, 5年生には顎模型, 歯周プローブ, 説明用資料, メモ用紙を配布し, 自由に使用することを許可した。また本実習への参加回数は, 5年生は2週間の期間内に3回, 1, 3年生は1回のみであった。実習終了時, 5年生に対しては講義内容, 内容構成, 時間配分, 使用器材, 実習満足度, 感想(自由記載)の項目, 1, 3年生に対しては実習満足度, 講義内容(自由記載)の項目からなるアンケート調査を行った。

【結果と考察】アンケート調査の結果から5年生は知識不足の自覚や説明の難しさを述べる記載が多いものの, 回数を重ねるごとに講義内容や使用器材の幅が広がり, 時間配分も最適化される傾向が示された。また1, 3年生の実習満足度はいずれの回も高く, 講義内容もおおむね正しく記載されていた。

【結論】少人数制グループ実習「Vertical Tier」は各学年の歯周病学の理解を深める上で有用であると考えられる。

P-66

研修歯科医による専門的機械的歯面清掃を検証する

2398

伊藤 晴江

キーワード: 研修歯科医, 専門的機械的歯面清掃

【目的】専門的機械的歯面清掃(以下PMTC)は頻度の高い処置であり, ほとんどの研修歯科医が学生時代に経験している。しかしながら口腔内全体のプラークと歯石を除去する為には適切なポジショニングと全部の歯面に対して適切に器具をアクセスする事が必要となり容易ではない。そこで今回, その後の指導に役立てる為に研修開始直後の研修歯科医がどの歯面に対して器具のアクセスを困難としているのか, またどの様な理由で困難としているのかについて検証を行うこととした。

【対象および方法】2014年度に新潟大学歯科医師臨床研修単独型プログラムで研修を行った研修歯科医26名を対象とした。臨床研修開始直後の4月上旬において2名もしくは3名を1グループとしてPMTCの相互研修を行った。相互研修前には自身の苦手とする部位とその理由について調査をおこなった。PMTCは超音波スケーラーを用いての縁上スケーリング後に回転ブラシを用いての清掃を行わせた。PMTC終了後に歯垢染色液を用いて残存しているプラーク付着部位を指導医が評価した。また相互研修終了後に自己評価を行わせ, また患者役からも評価をさせてフィードバックを行った。

【結果と考察】事前調査において左右上顎大白歯頰側, 右上顎大白歯口蓋側, 右下顎大白歯舌側, 上顎前歯口蓋側が苦手との回答が多かった。PMTC終了後に術者がプラークを残存させた部位は上下大白歯部に多く認められたとともに研修歯科医が苦手と回答しなかった下顎左右小臼歯部にも3割程度の割合でプラークの残存を認めた。研修歯科医にとって自己認識だけではなく客観的に自身の苦手部位を確認させる事が今後の指導に有効と考えられた。