

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

P-01～53

5月15日（金）	ポスター準備	8：30～10：00
	ポスター展示	10：00～16：40
	ポスター討論	16：40～17：30
	ポスター撤去	17：30～18：00

P-01

2504

高血糖状態はNF- κ B経路を介してヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を抑制する

嘉藤 弘仁

キーワード：糖尿病，歯根膜幹細胞，NF- κ B経路

【目的】ヒト歯根膜幹細胞（hPDLSCs）は歯周組織再生に重要な役割を担うことが明らかになってきた。また，糖尿病は歯周病の重要なリスクファクターであるとされている。しかし，糖尿病が歯周組織再生に及ぼす影響は未解明であり，基礎的研究によるエビデンスはほとんど報告されていない。そこで，本研究では4種のグルコース濃度に調整した培地を糖尿病モデルとして実験に使用し，hPDLSCsの硬組織分化誘導，炎症性サイトカインの発現への影響について検討した。

【材料と方法】hPDLSCsはヒト抜去歯より採取した。hPDLSCsを4種のグルコース濃度（5.5 mM, 8.0 mM, 12.0 mM, 24.0 mM）に調整した分化誘導培地で培養し，Runx2 mRNA, Alkaline phosphatase (ALP) 活性，ALP染色，Osteocalcin (OCN) 産生量，カルシウム析出量，Alizarin red染色による石灰化物形成能，およびIL-6, IL-8のmRNA発現について検討した。さらにwestern blot法によりIkB α , NF- κ Bタンパク発現を検討し，糖尿病モデル培地によって誘導されるNF- κ B経路の関与を検討した。またNF- κ B経路阻害剤（BAY-117082）を用いて同様の実験を行った。

【結果と考察】hPDLSCsのALP活性，ALP染色，OCN産生量，石灰化物形成能はグルコース濃度依存的に抑制された。またRunx2, IL-6, IL-8の各mRNA発現，IkB α , NF- κ Bの各タンパク発現は高グルコース濃度群で有意に増強した。さらにBAY-117082によって，高グルコース濃度による骨芽細胞分化の抑制とIL-6のmRNA発現の増強を改善したことから，NF- κ B経路が関与していることが示唆された。

【結論】糖尿病による高血糖状態はNF- κ B経路を介してヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を抑制し，歯周組織再生を阻害する可能性が示唆された。

P-03

2504

ヒト歯根膜由来血管内皮細胞に対するCCN2/CTGFの血管形成に関する研究

五十嵐（武内）寛子

キーワード：血管形成，ヒト歯根膜由来血管内皮細胞，結合組織成長因子

【目的】ヒト結合組織成長因子（CCN2/CTGF）は，当初，血管内皮細胞の培養上清中に存在する線維芽細胞の遊走・増殖因子として発見され，細胞増殖，分化など多彩な作用が報告されている。今回我々は，ヒトの歯根膜より分離した血管内皮細胞を用いて，CCN2/CTGFの血管形成作用について観察した。

【材料・方法】ヒトの歯根膜より分離した血管内皮細胞の同定として第8因子抗体による免疫蛍光染色を行った。中央部のみが円形ガラスでできている35mmのガラスボトム・ディッシュに2%寒天を塗布し，血管内皮細胞を1% FBS/DMEM-F12にて播種し6時間培養した。対照群は2%寒天のみを塗布したもの，実験群は50g/ml rCCN2/CTGF含有2%寒天を塗布したものとした。CCN2/CTGFの細胞増殖への影響，光学顕微鏡，倒立型リサーチ顕微鏡による経時的形態変化の観察および電子顕微鏡による細胞内小器官の観察を行った。

【結果・考察】血管内皮細胞は第8因子抗体により染色が認められた。増殖への影響は50g/ml rCCN2/CTGFが最も増殖率が高かったことから，本実験において使用するrCCN2/CTGF濃度を50g/mlとした。対照群の血管内皮細胞はTubeを作ることなく寒天上に付着していたが，実験群は，播種2時間後よりTube Formationが観察された。また，もう1群の対照群である実験群の円形ガラス外のプラスチック部分の細胞は，Tubeの形成は見られず，モノレイヤー状に増殖していた。光学顕微鏡および電子顕微鏡による観察においても，管腔構造が認められた。

【結論】今回の研究により，CCN2/CTGFがヒト歯根膜由来血管内皮細胞に対しTube Formationを誘導しCCN2/CTGFは血管形成の初期に関わるファクターであることが示唆された。

P-02

2299

高グルコース条件下におけるヒト歯根膜由来血管内皮細胞のICAM-1およびVCAM-1の発現の検討

丸山 昂介

キーワード：高グルコース，血管内皮細胞，細胞間接着因子

【目的】血管内皮細胞は，血管の内腔を一層覆う細胞であり，血管の新生，物質の透過や血管の弛緩等の重要な役割を果たしている。また，血管内皮細胞に障害が起こることで，炎症や動脈硬化，血栓の形成が起こるという報告がされている。一方，口腔内の慢性疾患である歯周病は，近年の研究により心疾患や糖尿病といった全身疾患との関連が明らかになっている。特に糖尿病の合併症の一つとして微小血管障害があげられるが，ヒト歯周組織由来血管内皮細胞との関連を報告したものは少ない。われわれはこれまでに高グルコース条件下でヒト歯根膜由来血管内皮細胞を培養した際の，細胞増殖の抑制，アポトーシス陽性細胞の増加について報告してきた。そこで本研究では，高グルコース条件下における血管内皮細胞の炎症マーカーとされる細胞間接着因子の発現を検討することとした。

【材料と方法】ヒト歯根膜由来血管内皮細胞は，抜去歯の歯根膜から歯根膜細胞を獲得し，抗CD31コーティング・マグネットビーズにて分離した。獲得した細胞は，高血糖群（グルコース200, 400mg/dl）とコントロール群（100mg/dl）の2群に分け，それぞれ培養を行った。培養した細胞は，ELISAとReal-time PCRを用いてintercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)の発現を測定した。

【結果と考察】ELISAおよびReal-time PCRによるICAM-1, VCAM-1の測定では，培養2日では有意な差を認めなかった。培養6日では，コントロールと比較し高血糖群で有意に発現量が増加した。本研究の結果より，糖尿病による高血糖状態は，歯周組織の微小血管に炎症を惹起し，歯周病の病態をより進行させると考えられる。

P-04

2299

血管新生に対する胎盤由来間葉系幹細胞培養上清の効果

小牧 基浩

キーワード：血管新生効果，細胞外膜小胞，間葉系幹細胞

【目的】間葉系幹細胞（MSC）は成体各臓器に存在し，血管新生効果など創傷治癒を促進する。最近，タンパク質や核酸を内部に有する細胞外膜小胞（EXO）が種々の細胞から分泌され，様々な生理活性を示すことが報告された。しかしながら，MSC由来EXOの作用は十分理解されていない。胎盤は妊娠時に一時的に子宮内に形成される胎児附属器官であり娩出時に廃棄されるため低侵襲なMSC採取を可能にする。本研究の目的は胎盤由来MSCを分離培養し，その培養上清（CM）の血管新生に対する効果と作用メカニズムについて基礎的に検討することである。

【材料と方法】東京医科歯科大学医学部附属病院を受診した患者の満期産胎盤より酵素処理によりMSCを分離培養した。FACSにてMSCマーカーと分化能を確認した。無血清DMEMを添加し48時間後に培養上清（CM）を回収した。またEXOは超速心法を用いて回収し，電顕，ウェスタンブロット法，動的光散乱法により確認した。EXOのMSCにおける局在ならびにヒト臍帯由来血管内皮細胞（HUVEC）への取込みはnMase2-GFPトランスフェクションならびにPKH76蛍光標識EXOにて確認した。細胞の増殖，遊走と血管新生作用はWST1, wound scratch assay, tube formation assayを用いて検討した。

【結果】ヒト胎盤よりMSCが採取された。MSC-CMは，HUVECの増殖および遊走を促進した。MSC細胞内ならびに培養上清中にEXOが確認された。MSC-CMは血管新生を促進するが，EXOを除くところの効果が消失した。EXOはHUVECのtube formationを促進する傾向が認められた。

【結論】胎盤由来間葉系幹細胞の培養上清ならびに細胞外膜小胞は血管新生を促進し，創傷治癒促進する新たな治療法への応用の可能性が示唆された。

P-05

胎盤製剤（プラセンタ）による骨芽細胞への影響

2204

益野 一哉

キーワード：胎盤製剤，炎症性サイトカイン，歯周病治療薬，骨芽細胞

【目的】ヒトの胎盤エキ스는注射薬，ブタの胎盤エキ스는漢方薬や健康食品，化粧品に利用されている。現在，医科では胎盤製剤として，筋肉・皮下注射で更年期障害改善と乳汁分泌不全解消，慢性肝疾患における肝機能改善に対して保険適用で用いられている。一方，歯科では過去に慢性歯周病治療に適応症があり，その臨床研究の報告は多数ある。近年，歯科医療において，プラセンタ療法が普及する背景から，プラセンタの骨芽細胞への増殖能，コラーゲン産生能，炎症性サイトカインへの影響を検討した。

【材料および方法】胎盤製剤はエキス製剤（原末）を用いた。細胞は骨芽細胞を用いた。細胞増殖能はMTT assayとBrdU Cell Proliferation Assay Kit，Collagen産生能はELISA法で解析した。歯周病原因菌*P. g. LPS*と胎盤製剤をそれぞれ細胞に刺激し，炎症性サイトカイン産生（IL-6, 8）をELISA法で計測した。

【結果および考察】プラセンタとは，哺乳動物の「胎盤」を指す言葉である。しかし基礎研究の報告はない。本実験から，細胞増殖能，コラーゲン産生能，炎症性サイトカイン抑制能を確認できた。プラセンタは，基礎代謝向上，細胞活性化，疲労回復，自律神経調節，免疫強化，活性酸素除去，創傷回復促進，抗炎症作用など種々の生理活性物質を含有している。プラセンタには，タンパク質・脂質・糖質の三大栄養素や少なくとも100種類を超える酵素が含まれていることも確認されている。しかし，本剤の有効成分を単一または数種の物質に特定することはできない。歯周病治療を想定してプラセンタの薬理作用は，骨系細胞への細胞増殖能，コラーゲン産生能，炎症性サイトカイン抑制による可能性があると考ええる。

P-07

ヒト歯根膜線維芽細胞に対するプロポリスの効果

2204

織田 洋武

キーワード：プロポリス，歯根膜線維芽細胞，細胞毒性

【目的】口腔内の主要な疾患として，う蝕と歯周病がある。これら疾患の主な原因は歯の周囲に沈着する多種類の細菌から構成されているデンタルプラークである。我々は，広い抗菌作用と抗炎症作用を持つプロポリスに注目し，口腔内病原細菌に対する影響を報告してきた。しかし，歯周組織細胞に対するプロポリスの効果はあまり報告されていないため，プロポリスの歯根膜線維芽細胞に対する影響を検討した。

【材料および方法】ヒト歯根膜線維芽細胞は，治療上の理由で抜去された歯根の周囲の歯根膜よりout growth法にて獲得した。細胞生存率は，各濃度のプロポリスを含有した血清培地で24時間培養後，評価を行った。細胞増殖は，各濃度のプロポリスを含有した血清培地を1, 3, 5, 10分間作用させ，5%CO₂，37℃下にて8日間培養し，評価を行った。評価は，ミトコンドリア還元染色を用いた蛍光度測定を行った。

【結果および考察】50～1000g/mlのプロポリスは，歯根膜線維芽細胞の生存率の有意な低下を認めなかった。そして，1500～2000g/mlのプロポリスは歯根膜線維芽細胞の生存率の有意な低下を認めたが，2000g/mlの濃度においてもLD50は観察されなかった。歯根膜線維芽細胞の細胞増殖は，2000g/mlのプロポリスのみ有意な細胞増殖の抑制を認めた。今回の実験で，ヒト歯根膜線維芽細胞に対するプロポリスの毒性は非常に低かった。このことから，プロポリスは化学的プラークコントロールに有用な物質であることが示唆された。

P-06

エッセンシャルオイル配合洗口液がヒト歯肉上皮細胞の機能に及ぼす影響

2504

吉川 幸輝

キーワード：エッセンシャルオイル，歯肉上皮細胞，遊走能

【目的】エッセンシャルオイル（EO）配合洗口液は優れたプラークへの浸透性や付着抑制能，抗炎症作用があり，機械的清掃が及ばない部位に対する効果も報告されている。しかし，歯周組織の治療過程への影響については明らかにされていない点が多い。そこで本研究では，EO洗口液がヒト歯肉上皮細胞の機能，とくに遊走能および増殖能に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】ヒト歯肉上皮細胞株（Ca9-22）10%FBS添加培地にてセミコンフルエントに達するまで培養した。希釈したアルコール含有EO洗口液，非含有EO洗口液，塩化セチルピリジニウム（CPC）配合洗口液を60秒間作用，洗浄，24時間培養後，細胞遊走能をWound healing assay，増殖能をWST-1によって評価した。

【結果と考察】アルコール含有EO群とCPC群は，コントロール群（PBS）と比較してCa9-22の遊走能，増殖能に有意な影響を与えなかった。一方，アルコール非含有EO群は，増殖能を約20%に低下させた。アルコール非含有EO洗口液の作用直後に細胞形態の変化を認め，wound assayにおいてスクラッチ後の細胞剥離が生じたため，この実験系では遊走能の評価はできなかった。この細胞形態の変化と剥離は，界面活性剤の影響によるものが考えられた。

【結論】アルコール含有EO洗口液は，歯肉上皮細胞の増殖能，遊走能を阻害しなかった。アルコール非含有EO洗口液については増殖能の低下という影響が認められたが，創傷治癒への影響については更なる検討が必要である。

P-08

純チタンの細胞親和性に及ぼす次亜塩素酸ナトリウム処理の影響

2207

市岡 勇輝

キーワード：次亜塩素酸ナトリウム，純チタン，細胞親和性

【目的】本研究では，強い酸化力を有する次亜塩素酸ナトリウムを用いてTi表面を処理することにより，Ti表面の親水性および細胞親和性を向上させることを目的とした。

【材料と方法】本研究では，Ti（JIS第2種）の円板試料を用いた。コロイダルシリカを用いて表面を鏡面に仕上げた試料を12穴ウェルディッシュに入れ，暗所で14日間保管した（コントロール群）。その後，実験群は5%次亜塩素酸ナトリウム溶液（NaOCl群）に24時間浸漬し，脱イオン水を用いて十分に洗浄した。試料表面の親水性は，水膜の状態を目視で確認し，定性的に評価した。表面処理後の皮膜厚さの評価はX線光電子分光分析装置（ESCA-850，島津製作所）を用いて評価した。細胞親和性は，各試料表面にヒト骨髄間葉系幹細胞（hBMMSC）を播種し，4時間培養後に付着していた細胞数を血球計算板で測定しSEMにて細胞形態と密度を評価した。

【結果と考察】NaOCl群のTi表面は，コントロール群と比較して顕著に親水化していた。さらに，NaOCl群のTi表面における初期細胞付着数は，コントロール群と比較して約2倍に増加していた。ESCAにおける，酸化皮膜の評価はNaOCl群で厚みが増加していた。このことから，皮膜が熟成し親水化することによって細胞親和性が向上したと考える。NaOClは酸化力が強いので，より短時間で良い結果をもたらす可能性がある。したがって，今後，処理時間について検討する予定である。

【結論】本研究の結果から，NaOClに24時間浸漬することによって，Ti表面を親水化し，細胞親和性を向上できることが示唆された。

P-09
2504

ヒト歯肉線維芽細胞における炎症性サイトカイン産生をmiR-223が調節する

松井 沙莉

キーワード：歯肉線維芽細胞，炎症性サイトカイン，miR-223

【目的】MicroRNA (miRNA) は、長さ約22塩基の一本鎖ノンコーディングRNAで、標的mRNAの3'末端非翻訳領域に結合して遺伝子発現を調節する。歯周炎の発症と進行へのmiRNAの役割を解明するため、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) での炎症性サイトカイン遺伝子発現に対するmiRNAの影響について検索した。

【材料と方法】フラップ手術時およびインプラント2次手術時に得られた炎症性および非炎症性歯肉を用いてmiRNAマイクロアレイを行った結果、炎症性歯肉でmiR-223の発現が上昇した。miR-223発現プラスミドをHGFに導入後、IL-1 β (1 ng/ml) またはTNF- α (10 ng/ml) で24時間刺激し、炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6, TNF- α) とmiR-223の標的であるI κ B kinase α (IKK α) の遺伝子発現レベルをリアルタイムPCR、タンパク発現をWestern blotで検索した。

【結果と考察】IL-6 mRNA量は、IL-1 β またはTNF- α 刺激で約40倍または約10倍増加し、miR-223を過剰発現後にIL-1 β またはTNF- α で刺激すると、さらに約2倍増加した。TNF- α mRNA量は、IL-1 β およびTNF- α 刺激で約20倍増加し、miR-223を過剰発現下でIL-1 β またはTNF- α で刺激すると、さらに約6倍または3倍増加した。IL-1 β mRNA量は、IL-1 β またはTNF- α 刺激で約400倍または約90倍増加し、miR-223の過剰発現後にIL-1 β で刺激するとさらに約2倍増加したが、miR-223の過剰発現後にTNF- α で刺激すると約0.25倍減少した。HGFでmiR-223を過剰発現させると、IKK α のmRNA量は約1/3量に減少し、タンパク質発現も減少した。IL-1 β またはTNF- α 刺激で、IL-6とTNF- α のmRNA量が増加したのは、miR-223がNF- κ Bの活性を抑制するIKK α を阻害し、NF- κ Bの活性が亢進したためと考えられる。

P-11
2203

歯周病の発症と進展におけるEBV関与の可能性
- EBVはNF- κ Bを活性化し歯肉線維芽細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する -

今井 健一

キーワード：EBウイルス，歯周病，ウイルス，NF- κ B，歯肉線維芽細胞，炎症性サイトカイン

【目的】近年、Epstein-Barrウイルス (EBV) と歯周病発症との関連性を示す興味深い臨床研究データが複数の施設から報告されている。われわれは歯周病変部からEBVが検出されること (Kato et al. 2013)，歯周病原菌が酪酸を介して潜伏感染EBVを再活性化することを報告した (Imai et al. 2012)。歯周病の主な原因が宿主側にある中、宿主細胞内に寄生し免疫機能低下を誘導するウイルスがその発症に関与するという説は、これまで細菌感染のみでは説明が困難であった歯周病の病因論確立に繋がる可能性がある。しかし、ウイルスがどのように病態形成に関与しているのか、その具体的な分子機構に関しては世界的に報告がない。

【材料と方法】炎症性サイトカインの測定はELISAにて、NF- κ Bの活性化はLuciferaseとWB法を用い検討した。

【結果と考察】感染能をなくしたEBVは、歯肉線維芽細胞から大量のIL-6とIL-8を誘導した。この作用は、LPSやLTA刺激より強いものであった。詳細な解析の結果、EBVはTLR-NF- κ Bシグナルを活性化することが明らかとなった。この事実、ウイルスが本来の感染細胞でない歯周組織の細胞に対しても、細胞と接触するのみで炎症性サイトカインを誘導できる事を意味している。歯周病の発症と進展において、炎症性サイトカインは骨吸収への関与など中心的な役割を演じる。EBVが“歯周病原ウイルス”となりえるのか、新たな視点に立った歯周疾患の病態の理解が新しい治療と予防法の開発につながると考え、現在動物実験も含め研究を進めている。

【結論】EBVは局所および全身の相乗的な作用により歯周病の発症と進展に深く関与している可能性がある。

P-10
2504

真菌由来代謝産物 (+) -terrein 誘導体がIL-6誘導性 VEGF およびCSF-1 の産生に及ぼす影響の検討

山本 総司

キーワード：Interleukin-6，歯肉線維芽細胞，血管内皮増殖因子，コロニー刺激因子

【目的】 (+) -terrein (TER) は、真菌 *Aspergillus terreus* が産生する代謝産物である。我々はヒト歯肉線維芽細胞 (human gingival fibroblasts; HGFs) において、有機化学的に合成したTERが炎症性サイトカインであるinterleukin-6 (IL-6) が誘導する血管内皮増殖因子 (VEGF) およびコロニー刺激因子 (CSF1) の産生を抑制することを報告し、TERの抗炎症薬としての可能性を示唆した。しかし、TERの作用機序には未だ不明な点が多い。本研究では、TERの誘導体を合成し、HGFsにおけるIL-6誘導性VEGFおよびCSF1のmRNA発現に及ぼす影響を比較検討し、TERの作用機序の解明を目指した。

【材料および方法】TERのメチル基をフェニル基 (TER-Phe) あるいはエチル基 (TER-Et) に置換したもの、そして5員環のエノン部位を水素添加 (TER-H4) したものの3種類の誘導体を合成した (岡山大学大学院自然科学研究科 萬代大樹博士提供)。HGFsを各誘導体 (10 μ M) で30分間前処理した後、IL-6および可溶性IL-6受容体 (sIL-6R) (各50 ng/ml) を添加して細胞を刺激した。刺激12時間後に全RNAを回収してmRNAを逆転写後、VEGFおよびCSF1のmRNA量を定量性リアルタイムPCR法にて測定した。

【結果および考察】TER誘導体は、IL-6誘導性VEGFおよびCSF1のmRNA発現を抑制した。その抑制効果はTER-H4が最も弱く、TERの5員環のエノン構造が細胞に作用している可能性が示唆された。

P-12
2203

Porphyromonas gingivalis ジンジバインによるIL-33誘導はヒト歯肉上皮細胞のLL-37/CAP-18産生を抑制する

多田 浩之

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*，歯肉上皮細胞，IL-33，抗菌ペプチド，ジンジバイン

【緒言】*Porphyromonas gingivalis* (以下、*P. g*) が産生するプロテアーゼであるジンジバインは、自然免疫応答の回避に重要な役割を担う。IL-1ファミリーサイトカインであるIL-33は主に上皮細胞に発現し、アレルギー性炎症の誘導に関わる。これまで我々は、ヒト歯肉上皮細胞を*P. g*で感染すると、IL-33が誘導されることを報告した。本研究は、*P. g*ジンジバインによるIL-33誘導が、ヒト歯肉上皮細胞からのヒトカテリジンファミリー抗菌ペプチドであるLL-37/CAP-18産生に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】ヒト歯肉扁平上皮細胞株のCa9-22細胞に*P. g* W83およびATCC33277野生型株ないしKDP136ジンジバイン欠損株を感染後、LL-37 mRNA発現を定量性RT-PCR法にて測定した。CAP-18発現をウェスタンブロット法にて、培養上清中のCAP-18産生をELISA法にて測定した。

【結果と考察】Ca9-22細胞を*P. g* 野生型株で感染すると、LL-37 mRNA発現およびCAP-18産生が亢進し、同作用はKDP136株の感染で増強された。*P. g* によるLL-37/CAP-18誘導は、RNAi法でIL-33をノックダウンすると増強された。一方、ビタミンD $_3$ 誘導体のOCTによるLL-37/CAP-18誘導増強は、*P. g* 野生型株の感染により抑制されたのに対して、KDP136株では抑制作用が減弱した。

【結論】*P. g* が産生するジンジバインによりヒト歯肉上皮細胞から誘導されたIL-33は、同細胞からのLL-37/CAP-18産生を抑制することが示唆された。今後、歯肉上皮細胞におけるIL-33誘導の制御は、ビタミンD類による抗菌ペプチドの産生を基軸とした歯周炎予防法の基盤となることが期待される。研究協力者：長岡功教授 (順天堂大学)、中山浩次教授 (長崎大学)、松山孝司博士 (鹿児島大学)

P-13

2504

チタンナノ表面上における *Porphyromonas gingivalis* LPS の骨髄間葉系幹細胞の骨形成に対する効果

田口 洋一郎

キーワード：インプラント、*Porphyromonas gingivalis* リポ多糖、骨髄間葉系幹細胞

【目的】 歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) のリポ多糖 (LPS) は慢性刺激をインプラント周囲組織に与え、インプラント周囲炎を惹起させオッセオインテグレーションを喪失させると報告されている。本研究では、濃アルカリ修飾によりナノ構造を析出させた純チタン表面上におけるラット骨髄間葉細胞 (BMMSCs) の増殖と硬組織分化に及ぼす *P. gingivalis* LPS の影響について検討する。

【材料と方法】 試料として # 2000 まで研磨した JIS 規格 2 級の純チタンを使用し、実験群は 30℃ の室温下で 10M 水酸化ナトリウム水溶液に 24 時間攪拌・浸漬し表面にナノシート構造を析出したものとし、対照群は無処理のものとした。各群で、*P. gingivalis* LPS (0, 0.1, 1 μg/mL) 刺激下で BMMSCs を培養し、硬組織分化誘導の効果を対照群で評価した。

【結果と考察】 対照群と比較して実験群のラット BMMSCs は *P. gingivalis* LPS 刺激下において、有意に高い骨形成関連遺伝子発現、細胞増殖、ALP 活性、細胞外基質の石灰化を示した。実験群は、対照群の IL-1 と LmRNA の発現は低く、LPS の濃度依存的であった。

【結論】 10M 水酸化ナトリウム溶液によりナノ表面制御の純チタン表面では、*P. gingivalis* LPS 刺激下にて、無処理の純チタン表面より優れたエンドトキシン耐性を獲得することができた。

P-15

2206

Runx2 ノックアウトマウス胚線維芽細胞を用いた iPS 細胞の樹立および骨芽細胞への分化誘導

青木 栄人

キーワード：Runx2 ノックアウトマウス、iPS 細胞、骨芽細胞

【目的】 iPS 細胞は、その増殖能と多分化能から組織再生における移植細胞のソースとしての応用が期待されている。我々は歯周病により失われた歯周組織の再生に iPS 細胞を応用することを検討しており、歯槽骨再生には iPS 細胞から骨芽細胞へ効率よく分化させる方法の開発が必須である。Runx2 は骨芽細胞分化のマスター遺伝子であるが、iPS 細胞から骨芽細胞への分化の過程における作用については明らかにされていない。そこで今回、Runx2 ホモ欠損マウスおよびヘテロ欠損マウスの胎児胚線維芽細胞 (MEF) より iPS 細胞を作成し、骨芽細胞への分化過程における Runx2 の作用時期について検討することを目的に実験を行った。

【材料と方法】 Runx2 ヘテロ欠損マウス (C57BL/6) の雄と雌の交配 (2 pairs) により得られた胎児を胎生 14 日目に回収し、MEF を作成した。これを既報の genotyping プロトコルに従い、Runx2 null MEF, hetero MEF, wild MEF の 3 群に分け、4 クローンずつを得た。各群の MEF に対して Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の 4 因子を導入し、マイトマイシン処理を行った MEF フィーダー細胞上に播種した。そして iPS 細胞の形態を示すコロニーを選別し、培養することで各群の iPS 細胞の作成を行う。得られた iPS 細胞について未分化マーカーの発現および三胚葉分化を確認する。

【結果と考察】 Runx2 ホモ欠損マウスは胎生致死であることは過去の研究で明らかになっているが、作成した Runx2 null, hetero, wild MEF においては、いずれも形態および増殖能に関して明確な相違は認められなかった。今後は各群の iPS 細胞を骨芽細胞に分化させ、マーカー解析を行う。

P-14

3199

ヒト iPS 細胞から神経堤細胞への分化誘導

河野 英輔

キーワード：iPS 細胞、神経堤

【目的】 細胞移植による歯周組織再生の試みが始まっている。歯周組織細胞は頭部神経堤を起源とし、iPS 細胞は万能性を有することから、iPS 細胞を神経堤細胞へ分化させることができれば、歯周組織再生のための細胞源として有用であると考えた。そこで本実験では、Bajpai ら (2010) が報告したヒト ES 細胞からの神経堤細胞誘導法を用いて、乳歯歯髄細胞から樹立した iPS 細胞を神経堤細胞に分化誘導させることを試みた。

【材料と方法】 ヒト歯髄細胞からの iPS 細胞樹立は Yamanaka らの方法 (2007) に準じて行った。継代培養で増殖させたヒト iPS 細胞を低接着培養ディッシュに移し、神経堤細胞誘導培地を用いた浮遊培養を開始した。浮遊培養 8 日後までに形成されたニューロスフェアをフィブロネクチンコートした培養ディッシュに移して接着培養に移行した。その後 8 日目に、接着したニューロスフェアから遊走した細胞を回収、継代培養した。神経堤細胞マーカーの発現を免疫蛍光染色およびフローサイトメトリーにて検討した。

【結果と考察】 iPS 細胞に由来する供試細胞は、培養ディッシュに接着したニューロスフェアから生じた遊走性細胞である。この遊走性細胞は、免疫蛍光染色では、神経堤細胞マーカーである AP2-α、ネスチンおよび p75^{NTR} のいずれにも陽性であったが、ES 細胞マーカーの SSEA-4 には陰性であった。フローサイトメトリーでは、p75^{NTR} 陽性細胞および間葉系細胞マーカーの CD73 陽性細胞の割合はそれぞれ約 24%、78% であったが、SSEA-4 陽性細胞の割合は 5% 以下であった。

【結論】 ヒト歯髄細胞由来の iPS 細胞においても、神経堤細胞への分化誘導は、Bajpai らの方法を用いることで可能であることが示された。

P-16

2504

ナノ構造制御チタン金属表面における硬組織分化誘導に及ぼすグルコース濃度の影響

山脇 勲

キーワード：グルコース濃度、チタン、骨髄間葉細胞

【目的】 近年、インプラント周囲炎の症例が散見され、中でも糖尿病患者のリスクは高く、確実な初期固定の早期獲得が望まれる。本研究では、濃アルカリ修飾によりチタン表面に析出させたナノシート (TNS) 構造を加熱処理することにより硬組織誘導を有意に早く誘起するという我々の報告を元に、硬組織形成誘導に及ぼすグルコース濃度の影響について検討する。

【材料と方法】 試料は市販 JIS 規格 2 級純チタンを用い、濃アルカリ修飾により TNS 構造を析出したチタンと無処理のチタンを 600℃ で 1 時間加熱したものを用いた。生後 8 週齢 Goto-Kakizaki ラットの大腿骨骨髄から骨髄間葉細胞を単離し継代培養。3 代目を各種試料上に 4 × 10⁴ cell/well 播種し、通常グルコース群 (5.5 mM) と高グルコース群 (24 mM) の 2 群で培養、骨芽細胞分化誘導培地で硬組織分化誘導を行い、各群の Alkaline phosphatase (ALP) 活性、Osteocalcin (OCN) 産生量、細胞外マトリックスへの Calcium (Ca) 析出量の検討を行った。

【結果】 1, 2 週ともに高グルコースと比較して通常グルコースは高い ALP 活性を示した。3, 4 週の OCN 産生量と Ca 析出量においても同様の傾向を示した。また各指標において高グルコース群での TNS 構造では通常グルコース群の無処理より高い傾向を示した。

【考察】 加熱処理により結晶構造が付与されたナノ構造制御チタン金属表面においてグルコース濃度が硬組織形成誘導に影響を及ぼすことが示唆された。またグルコース濃度が高くても表面性状を制御することで、硬組織形成の促進が示唆された。

P-17

2206

間葉系幹細胞と抗炎症性マクロファージとの共培養系を利用した新たな歯周病治療樹立のための分子基盤の構築

滝沢 尚希

キーワード：MSC, 抗炎症マクロファージ

【目的】 間葉系幹細胞 (MSC) は多分化能を有する体性幹細胞で、組織の修復や再生に働くことが報告されている。近年では、組織損傷時に骨髄中のMSCが組織損傷部位にホーミングされた後、抗炎症マクロファージを増殖・誘導することで炎症を治癒に向かわせることが報告されている。そこで我々はMSCと血球系細胞の共培養系を確立することで、抗炎症マクロファージを大量培養することを目的とし、共培養を行ったMSC及び血球系細胞それぞれの相互作用について調査した。

【材料および方法】 3週齢の赤色蛍光強発現マウスの脛骨から通法により骨髄細胞を採取し、市販のMSC増殖培地を用いて低酸素条件下 (5% O₂, 5% CO₂) で2週間培養した。2継代培養した骨髄細胞からMSC及び血球系細胞画分を分離し、各細胞の増殖能、分化能、ならびにフローサイトメトリー法によるマーカー発現を解析した。

【結果および考察】 マウスの骨髄培養細胞をMSCと血球系細胞に分離して培養することにより、血球系細胞の増殖は共培養下に較べ顕著に抑制された。細胞表面抗原解析の結果、Sca-1はMSCのみに高い割合で陽性であった。一方、CD45とCD11bは血球系細胞のみに陽性であった。加えて、MSCのみに骨芽細胞、脂肪細胞への分化能が認められた。さらに、制御性マクロファージマーカーのCD206は血球系細胞で約80%に陽性であった。血球系細胞の増殖能はサイトカインAの作用で促進され、チロシinkinase阻害剤の存在下で抑制された。現在、血球系細胞を抑制性マクロファージに分化誘導させる因子について検討している。炎症抑制性マクロファージを大量培養できれば、歯周病や自己免疫疾患などの治療法につながるものと考えられる。

P-19

2299

in vivoにおける羊膜上培養歯髄由来細胞シートの免疫組織化学的検討

山本 俊郎

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歯髄由来細胞シートの作成方法を確立、第57回春季学術大会において同細胞シートの骨分化能について示した。今回、作成した同細胞シートを骨分化誘導、ヌードマウス腰部皮下に移植し、免疫組織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。次に、7週齢雄 BALB/C ヌードマウスの腰部皮膚を切開剥離、作成した同細胞シートを静置、縫合した。移植約4週間後、ペントバルビタール麻酔下で軟X線装置 (Softex Co., Kanagawa, Japan)を用い、画像評価を行った。また、ペントバルビタール麻酔薬過剰投与により安楽死させたマウスより移植片を採取、免疫組織学的検討を加えた。

【結果および考察】 ヌードマウス腰部皮下に移植した骨分化誘導同細胞シートは、軟X線所見にて不透過像を認め、アリザリンレッドS染色、von Kossa染色において高い染色性を示し、免疫染色にてOsteocalcin 陽性であったことから、移植後も石灰化した組織が維持されていることが考えられ、歯周組織再生への応用の可能性が示唆された。

P-18

2504

PRP含浸ゼラチンスポンジを用いた歯周組織再生

中島 大

キーワード：DDS, PRP, ゼラチン

【目的】 組織再生は細胞、足場、細胞増殖因子が関与していることが知られている。細胞増殖因子の生理活性効果を効果的に引き出すには、細胞増殖因子を適切な期間、適度に徐放させる担体を使用することが必要である。DDS (Drug Delivery System) は、in vivoでの細胞増殖因子の生物学的活性を増強するための技術である。生体分解性を有するゼラチンは、細胞増殖因子であるTGF-β1, PDGF, BMP-2を徐放させることが可能である。PRPは血小板を多く含む分画である。PRPは自己の血液から作製することができ、PDGF, TGF-β1, BMP-2等の多くの細胞増殖因子が含まれており、歯周組織に対しての有効性も報告されている。本研究の目的は、ゼラチンからPRP中に含まれる細胞増殖因子を徐放し、歯周組織の再生過程を評価することである。

【方法】 In vitroで歯根膜細胞、骨芽細胞に対し、濃縮度、含有量別にPRPを添加しDNA assay, MTT assay, ALP assayで評価を行った。徐放試験はPRPを含浸させたゼラチンスポンジをPBS, コラゲナーゼ中に浸漬させ、放出される細胞増殖因子をELISAで測定した。移植実験はラット上顎骨に骨欠損を作製し、濃縮度の異なるPRPを含浸させたゼラチンスポンジを移植した。術後2, 4週間後に組織学的評価をHE染色で行った。

【結果】 DNA assay, MTT assayはPRPの含有量に関係なく濃縮度依存的に細胞数、ミトコンドリアの活性が増加した。ALP assayは3倍濃縮したPRPを添加した群でALP活性が増加した。移植実験は、移植4週で3倍濃縮PRP含浸ゼラチンスポンジを移植した群で最も骨が再生した。

【結論】 歯周組織細胞に対しPRPが有用であることが分かった。PRPに含まれる細胞増殖因子を徐放することが歯周組織再生に有用であることが分かった。

P-20

3104

ラット頭蓋骨欠損におけるrecombinant human bone morphogenetic protein-9を用いた骨形成効果

篠原 敬哉

キーワード：BMP-9, 骨形成, コラーゲン, キトサン, 担体, 頭蓋骨欠損

【目的】 Transforming growth factor-β superfamilyに属するBone morphogenetic protein (BMP)-9は高い骨分化能を有し、BMPアンタゴニストであるnogginの影響を受けない骨形成タンパクであると報告されている。そこで今回、ラット頭蓋骨欠損モデルを用いてrecombinant human BMP-9 (rhBMP-9)の骨形成効果を評価した。

【材料および方法】 Wistar系ラット (20匹)の両側頭蓋骨頂部に骨欠損 (φ5mm)を外科的に作製し、吸収性コラーゲンスポンジ (ACS), rhBMP-9/ACS, キトサンスポンジ (ChiS), rhBMP-9/ChiS各々の埋植およびControl (欠損のみ)の5群 (各N=8)の処置を行った。8週間後、動物を安楽死させ実験部位を採取しμCTによる放射線学的評価を行った。その後、通法に従い脱灰薄切標本を作製しHE染色後、組織学的評価を行った。

【結果および考察】 ChiS群 (ChiS, rhBMP-9/ChiS), rhBMP-9/ACS群における骨量と新生骨面積率はACS群と比較し有意に高かった。rhBMP-9/ACS群の欠損閉鎖率はACS群より有意に高く、全群間で最も高かった。欠損中心部の硬組織高さ (CBH)はChiS群よりもrhBMP-9/ACS群とACS群の方が有意に高かった。これらの結果より、今回用いたACSは骨欠損部において新生骨形成の場を保持しつつrhBMP-9の担体として機能していたと考えられる。ChiS群とrhBMP-9/ChiS群では骨欠損の両端より新生骨形成が認められたが、全ての組織形態計測項目で群間に有意差は認められなかった。ChiS群におけるCBHはControl群と同様であったため、ChiSは吸収速度が極めて早くrhBMP-9の担体として効果的に機能しなかったと考えられる。

【結論】 ラット頭蓋骨欠損モデルにおいてrhBMP-9/ACSは骨形成に有効であることが示唆された。

P-21

ラット GBA モデルにおける血管新生の動態

2504

佐藤 暢亮

キーワード：血管新生

【目的】骨再生に過程における血管新生の制御・誘導は非常に重要である。しかし、骨外側方向への骨増生における血管新生の動態については不明な点が多い。そこで、本研究では、骨外側方向への骨増生に対する血管新生の動態を、ラット GBA モデルを用いて検討した。

【材料と方法】8週齢の雄性近交系ラット（F344/jcl）の頭頂骨を露出させ、左右対称に5.0 mmのトレファインバーを使用し外周溝を作製する。左側は、#2のラウンドバーを使用し7カ所骨髓穿通した7M群とし、右側は直径2.7mmのトレファインバーを用いて中心部に1カ所骨髓穿通した1S群とした。その後、外周溝にプラスチックキャップを装着し2種類のGBAモデルを作製した。手術日を0週とし、2週目と4週目に実験動物用3DマイクロCT撮影および血管造影を行った。造影剤にはイオパミドールおよびシリコーンラバー造影剤を使用した。また、同時期に組織切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色を施し、新生骨様組織と新生血管を光学顕微鏡下にて観察した。

【結果】マイクロCTによる観察から、両群とも経時的に骨外側方向に新生血管および骨様組織の増加を認めた。術後2週で7M群より1S群において血管新生様組織の形成が多く認められた。また、両群の新生血管様組織の高さは術後4週ではプラスチックキャップの約1/3までであった。術後4週での新生血管様組織の体積は両群ともに有意差は認められなかった。シリコーンラバー造影剤によっても、同様の結果が観察された。

【考察】骨外側方向に骨増生するためには骨髓穿通孔から流入した細胞性因子などによって垂直方向に血管が形成され、さらに、穿通孔を大きくすることによってその速度が速くなる可能性が示唆された。

P-23

実験的歯周炎の動脈硬化症への影響

2499

高橋 弘太郎

キーワード：ApoE^{-/-}、動脈硬化症、SAA

【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。そこで、局所の慢性炎症性疾患としての歯周病を想定し、マウスの歯周組織にサイトカインを投与する実験的歯周炎を作製、局所からのインターロイキン6（IL-6）刺激による血清アミロイドA（SAA）の産生上昇が、動脈硬化症の増悪因子となる機序を検討した。

【材料および方法】アポリポrotein E欠損マウスを使用し、IL-6投与群（IL-6群）と、PBS投与群（PBS群）に分けた。IL-6群には、BSA含有PBSに溶解したIL-6を、PBS群には、PBSを下顎臼歯部頰側歯肉に週3回、12週間投与した。投与6、12週後に屠殺し、血清SAA濃度を測定、大動脈は縦断試料を作製後、動脈硬化病変部位を測定した。また、大動脈基部の切片を作製し、Sudan IV染色、走化因子のMCP1、SAA受容体の1つであるTLR2の免疫組織化学染色を行った。さらに、下顎骨をμCTにて撮影し、歯槽骨吸収度を測定した。*in vitro*では、ヒト大動脈血管内皮細胞（HAECs）をSAA刺激し、ICAM1、VCAM1、MCP1のmRNA発現をreal-time PCR法で解析した。

【結果】IL-6群では、12週間継続して血清SAA濃度が上昇した。動脈硬化病変部位は、12週後に有意に増大し、MCP1、TLR2の発現増加も確認した。さらに、HAECsにおいては、SAA刺激によりICAM1、VCAM1、MCP1の発現が増強し、抗TLR2抗体を添加することにより減少した。

【考察および結論】歯周炎により産生されたIL-6が、SAA濃度を上昇させ、血管内皮細胞のSAA受容体のTLR2を通して、ICAM1、VCAM1、MCP1の発現が上昇し、マクロファージが浸潤、動脈硬化症が増大する経路の存在が示唆された。

P-22

糖尿病ラットにおける*Porphyromonas gingivalis* LPSによる歯周組織破壊へのVEGFの関与

2504

津守 紀昌

キーワード：糖尿病ラット、*Porphyromonas gingivalis* LPS、血管内皮細胞増殖因子

【目的】糖尿病に罹患すると歯周病による歯周組織の破壊が惹起されることが知られている。また、血管内皮細胞増殖因子であるVEGFは、糖尿病合併症の発症・増悪に関与している。さらに、*Porphyromonas gingivalis* LPSはVEGF発現を増強することが報告されている。しかし、LPSによる歯周組織破壊にVEGFがどのように関与しているかについての報告はほとんどみられない。そこで今回、糖尿病ラットを用いLPSによる歯周組織破壊においてVEGFがいかに関与しているのかを検討した。

【材料と方法】8週齢GK系雄性ラット、Wistar系雄性ラットを用い、両側上顎第二臼歯口蓋側にLPSを注射し、実験的歯周炎を作成した。ラットを安楽死させ、マイクロエックス線CTにて、両群の骨吸収量を測定後、通常に従いパラフィン包埋後、連続切片を作成した。試料は抗VEGFモノクローナル抗体の免疫組織化学的染色およびTRAP染色を行い光学顕微鏡にて観察し、両群を比較、検討を行った。

【結果と考察】マイクロCT画像では対照群と比べ実験群で顕著な骨吸収がみられた。また、実験群では歯周組織破壊部の血管周囲に対照群と比べVEGFが強く発現していた。これらのことから、2型糖尿病ラットにおいて*Porphyromonas gingivalis* LPSによる歯周組織破壊にVEGF発現が関与していることが示唆された。

P-24

2型糖尿病を有する*Porphyromonas gingivalis* 局所感染モデルマウスに対するビタミンB6、B12および葉酸投与の効果

2402

高野 麻由子

キーワード：糖尿病、ビタミンB6、ビタミンB12、葉酸、*Porphyromonas gingivalis*、創傷治癒

【目的】歯周病と糖尿病は相互に関連し合う疾患であり、糖尿病による持続的な高血糖状態は創傷治癒遅延をきたし、歯周病の病態悪化に繋がると考えられている。またビタミンB6、B12および葉酸は、免疫応答および組織修復に深く関与すると考えられているがそのメカニズムは明らかでない。本研究では、2型糖尿病マウスに*P. gingivalis* 局所感染モデルを作製し、糖尿病の病態におけるビタミンB6、B12および葉酸投与の効果について検討した。

【材料および方法】KKAy/Taマウス（糖尿病マウス）およびC57/BL6マウス（標準マウス）を用い、それぞれ、ビタミンB6、B12および葉酸を飲用水に添加したビタミン投与群およびコントロール群とした。あらかじめ*P. gingivalis*を背部皮下に感作した後、頭部中央部皮下に*P. gingivalis*生菌を接種、局所感染モデルとした。接種後0、3および10日に採血および肝臓摘出を行った。リアルタイムPCR法にて肝臓中TNF-αおよびIL-6遺伝子発現、ELISA法にて血清中タンパク質量を測定した。感染局所は組織学的観察を行った。

【結果および考察】ビタミン投与群10日目において、血清中IL-6濃度および肝臓中TNF-α遺伝子発現量はコントロール群と比較し著明な減少がみとめられた。組織学的評価においてもビタミン投与群における局所感染巣面積は減少傾向を示した。

【結論】本実験より、ビタミンB6、B12および葉酸の投与は、*P. gingivalis* 接種時の肝臓での炎症性サイトカインの発現を抑制し、歯周病と糖尿病の相互関係を改善する一助となる可能性が考えられた。

P-25

天然植物由来成分配合歯磨剤のラット歯周炎に対する影響

2204

友藤 孝明

キーワード：歯周病，天然植物由来成分，歯磨剤

【目的】生薬に代表される天然植物由来成分には抗炎症作用があることが示唆されている。本研究では，天然植物由来成分配合歯磨剤のラット歯周炎に対する影響を検討した。

【材料および方法】8週齢ウィスター雄性ラットを対照群（n=5），天然植物由来成分群（n=6），および天然植物由来成分+有効成分群（n=4）の3群に分けた。すべての群を対象に，上顎第二臼歯に絹糸を4週間巻いて歯周炎を惹起させた。その後，絹糸を除去し，天然植物由来成分群に対してはニンジンエキス，トウキエキス，芍薬エキス等の13種類の天然植物由来成分を配合した歯磨剤を，そして天然植物由来成分+有効成分群には，13種類の天然植物由来成分に加えて，ヒノキチオール等の5種類の有効成分を配合した歯磨剤を，それぞれ1日1回10分間の割合で2週間塗布した。対照群に対しては特に処置を行わなかった。実験期間終了後，歯周組織の組織定量分析，炎症性サイトカインであるtumor necrosis factor（TNF）-αの遺伝子発現を検討した。

【結果および考察】付着上皮直下結合組織において，天然植物由来成分群と天然植物由来成分+有効成分群の単位面積（0.01 mm²）あたりの多核好中球数は，対照群と比べて有意に少なかった（p<0.05）。また，歯周組織のTNF-α発現について，天然植物由来成分群と天然植物由来成分+有効成分群の値はいずれも対照群の1/3以下であり，有意差があった（p<0.05）。これらのことは，歯磨剤への天然植物由来成分の配合は，歯周炎に対する抗炎症作用を高めることを示唆している。

P-27

磁気細胞分離法により得られたヒト臍帯組織中Muse細胞の発現

3103

船津 太一郎

キーワード：間葉系幹細胞，Muse細胞，磁気細胞分離法

【目的】近年，ヒト間葉系組織に多分化能を有し腫瘍性をもたないMuse（Multilineage-differentiating stress enduring）細胞が報告された。本研究の目的は通法に加え，磁気細胞分離法を用い，Muse細胞の分離，培養法を確立することにある。本研究は鶴見大学歯学部倫理審査委員会承認を得て行った。

【材料と方法】連携医療機関より臍帯を受け入れ，日歯保証 51:25-32, 2010に従い初代臍帯由来細胞を得た。これら細胞をMuse細胞に関する各種プロトコルに準じ培養し一次および二次染色，さらに磁気細胞分離法としてanti-FITC Microbeadsで染色後，MACS Separation Columnsによるソーティングを行い96穴プレートに単一細胞で播種した。臍帯組織2検体についてSSEA-3, CD105ダブルポジティブの陽性率，5～10日後のクラスター形成率を求めた。

【結果と考察】臍帯MSCのSSEA-3陽性率 0.78±0.10 クラスター形成率 15.93±1.96 であった。

今回の結果により，Microbeadsを用いたMuse細胞の分離，培養法でもMuse細胞の元となるクラスターを形成する事が確認できた。臍帯より得られる間葉系細胞は，医療廃棄物であり組織採取に際して身体への侵襲なく細胞を得ることが出来ることから現在，主に骨髄細胞を用いた細胞再生医療に比べ低侵襲で得られるメリットがある為，新たな細胞源として有効性が期待される。さらには便宜拔牙や埋伏智歯拔牙による拔牙からも同じように侵襲なく組織を得ることができる。今後これら得られた細胞を分子生物学的，細胞生物学的に解析していく予定である。

【結論】磁気細胞分離法を用いることでもMuse細胞が分離できることが示唆された。

P-26

新規開発チタンメンブレンによる顎骨増生

3102

石幡 浩志

キーワード：チタン，バリアメンブレン，骨移植，人工骨，スペースメイキング，チタンメッシュ

【目的】顎骨増生で移植骨を固定する器具としての従来型チタンメッシュは，組織癒着により撤去困難となるケースが多く，一方，強度に乏しいポリマーメンブレンでは長期間の使用は不可能な上，裂開が起こると感染を招き易い。我々はポリマーメンブレンのフィルター機能を純チタンで達成することで上記の欠点を補う「チタンメンブレン」を開発した。

【方法】厚さ20μmの純チタン箔に直径20μmの貫通孔を40000個/cm²にて高密度形成したのち，補強フレームを付与したチタン膜を製作した。ビーグル犬の下顎第4小臼歯の抜歯後に幅10mm，高さ10mm，奥行き5mmの骨窩洞を形成し，β-TCP顆粒を充填後，製作したチタン膜にて被覆固定し，さらに歯肉弁で被覆した。4ヶ月後に屠殺し，チタン膜被覆部位の断層画像を取得したのち硬組織標本を製作した。対照群にはFriosBoneshield（デンツプライIH）を用いて同様の術式を施した。

【結果】両群ともに材料と組織との癒着はみられず撤去は容易であった。骨増生部の外観および断層像の観察では，実験群ではチタン膜により増生スペースが維持され，内部は殆ど骨に置換していたのに対し，対照群では膜の変形によってスペースが押しつぶされ増生量が減少していた。組織標本観察では両群とも骨補填材は殆ど吸収され骨様組織に置換されていた。

【考察】本研究の結果，純チタンにフィルター構造を構築することで，バリアメンブレンとチタンメッシュの機能を併せ持ち，薄く，スペースメイキングに要する強度を持つ顎骨増生用器具を生成することができた。また4ヶ月間の長期耐久性が認められたことから，従来のチタンメッシュに代わる骨増生用器具として有用と思われる。

P-28

歯周組織炎症部におけるチオレドキシン1（Trx1）の局在

2202

石原 典子

キーワード：チオレドキシン1，歯周ポケット上皮，レドックス

【目的】生体における活性酸素種（ROS）はシグナル伝達・代謝・生体防御の面から重要な役割を持つが，重篤な感染局所では病原体を排除する為に過剰なROSが産生される。その結果，組織の酸化還元（レドックス）応答のバランスが崩壊し，様々な慢性炎症性疾患を誘発する。これまでの研究で，歯周病原菌代謝産物（酪酸）により培養歯肉上皮細胞に細胞死と大量のROSが誘導された為，歯周炎組織が酸化される可能性が考えられた。しかしながら，歯周組織のレドックス状態をヒトの組織で解析した報告はない。そこで，本研究ではヒト歯周組織での酸化状態の解析を行った。酸化ストレスマーカーとしてTrx1を使用した。Trx1はチオール基を持ち，チオール基が酸化されることでSS結合を形成し，ROSを制御する。ROSの発生によりTrx1の発現上昇が知られている。

【材料と方法】本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理委員会の承認を得た後，患者に十分説明し同意を得た。歯周ポケットと歯肉上皮を一塊として採取し（歯周病患者と健康ボランティア）抗Trx1抗体を用いて染色を行った。また炎症性細胞（PGM1，CD3，CD20，好中球エラスターゼ）の染色を行った。血管内皮細胞のマーカーとしてCD31を使用した。

【結果と考察】ヒト歯肉上皮および血管内皮細胞では，健康・歯周病患者のいずれにも核と細胞質でTrx1の発現が見られた。一方，歯周病患者の歯肉上皮と歯周ポケット上皮における比較では，核における陽性染色率に差が見られた。

【結論】炎症性細胞が集積するポケット上皮側で，レドックスバランスの変化が起きている可能性が示唆された。本研究は平成26年度日本歯周病学会シーズ若手奨励研究助成を受けて行われた。

P-29
2499

マクロファージと共存する脂肪細胞はLPS刺激によって補体B因子を強発現し、血中補体B因子はインスリン抵抗性と相関する

鶴田 満大

キーワード：歯周炎、補体B因子、インスリン抵抗性

【目的】肥満インスリン抵抗性の病態には脂肪組織の炎症反応が大きく関与する。とりわけ、成熟脂肪組織へのマクロファージ浸潤と脂肪細胞との相互作用が重要である。演者らは、これまでに、脂肪細胞とマクロファージの共培養系を用い、細胞を低濃度LPS刺激した際に脂肪細胞で発現量が変動する遺伝子群の網羅的解析を行い、炎症反応やインスリン抵抗性に関連する遺伝子の発現が大きく変動することを報告した (Yamashita A. et al, Int J Obese., 2008)。今回新たに、同様の系で補体系タンパクの1つである補体B因子遺伝子が強発現することに注目し、①他の補体系因子の発現がin vitroで解析するとともに、②疫学的に補体蛋白とインスリン抵抗性との間に関連性があるかどうかについて検討した。

【方法】マウスraw264.7細胞と分化3T3-L1細胞を共培養し、LPS刺激を行った。real-time PCR法を用いて補体系関連遺伝子群の発現量を検討した。また、481名の成人被験者の健診時血中B因子とインスリン抵抗性に関わる血液・生化学検査データの相関関係を解析した。

【結果と考察】real-time PCR法を用いて、補体B因子、D因子、H因子、およびC3遺伝子発現の定量解析を行ったところ、B因子遺伝子のみLPS刺激により発現が著明に亢進した。そこで血中B因子と関連する因子を疫学的に解析した。ヒト血中B因子はBMI, CRP, insulin, TNF-, HOMA-1R等インスリン抵抗性関連マーカーと正の相関を示し、アディポネクチンとは負の相関を示した。腎機能との相関はなかった。以上から、補体B因子はインスリン抵抗性を表すマーカーとなり得ること、ならびに補体系が肥満インスリン抵抗性の病態に何らかの形で関与する可能性が示唆された。

P-31
2504

初診受診患者の*Porphyromonas gingivalis*に対する血漿抗体価と歯周病重症度の関連性

河野 寛二

キーワード：血漿抗体価、歯周病重症度、免疫学、微生物学

【目的】歯周病患者の*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) に対する血漿IgG抗体価 (*P.g*-IgG抗体価) が、歯周病重症度に関連性があると言われている。よって、初診時における歯周病重症度に対する*P.g*-IgG抗体価と*P.g*対総菌比率として*P.g*菌量との関連性について検討した。

【材料と方法】初診時現在20歯以上の歯周病患者 (n=39) を、PD $\geq$ 6mmの平均部位率 (PD6mm%) が20%以上の重度歯周炎 (SP群, n=16) と同じく20%未満の中等度歯周炎 (MP群, n=21) の2群にわけ、各群における全顎PD平均値 (PDmm), PD4mm%とPD6mm%と*P.g*菌比率と菌量および*P.g*-IgG抗体価との関連性を比較した。統計分析にはWilcoxon rank-sum test, Spearman順位相関およびロジスティック回帰分析を用いた。

【結果と考察】*P.g*-IgG抗体価は、SP群がMP群に比較して有意に高値を示した ($P<0.01$)。 *P.g*菌比率と菌量に両群間で有意差は認められなかった。*P.g*-IgG抗体価とPDmm, PD4mm%, 6mm%に有意な相関性が認められた ($P<0.01$)。 *P.g*菌比率とPDmm, PD4mm%と6mm%に有意な相関性は認められなかった。*P.g*菌量とPDmm, 6mm%には、有意な相関が認められた ($P<0.05$)。また、アウトカムを歯周病重症度として*P.g*-IgG抗体価のロジスティック回帰分析を行うと、area under the ROC curve (AUC) が0.75であり、歯周病重症度と*P.g*-IgG抗体価の関連性が確認できた ($P<0.05$)。

【結論】歯周病重症度と*P.g*-IgG抗体価には、正の相関関係が認められた。よって、初診時の歯周病患者の*P.g*-IgG抗体価は、歯周病重症度のスクリーニング診断に有効であると思われる。現在、歯周ポケット面積と*P.g*-IgG抗体価、*P.g*菌比率、菌量との関連性について検討中である。

P-30
2402

IL-6受容体阻害薬トシリズマブ投与前後での歯周・血清サイトカインプロファイル

小林 哲夫

キーワード：関節リウマチ、インターロイキン6受容体、標的治療、歯周状態

【目的】インターロイキン-6 (IL-6) 受容体を標的とした生物学的製剤の投与は、関節リウマチ (RA) 患者において高い寛解率が報告されている。そこで、IL-6受容体阻害薬トシリズマブ (TCZ) 投与前後でのRA患者の歯周状態と血清サイトカイン濃度の変動について評価した。

【材料および方法】インフォームドコンセントが得られ、TCZ投与予定のRA患者21名を対象に、投与前と投与3ヶ月後に歯周検査、RA検査、血液採取を行った。血液より血清を分離後にIL-6, sIL-6受容体, gp130, マトリックスメタロプロテアーゼ-3 (MMP-3), CRPレベルをそれぞれELISA法にて測定した。TCZ投与前後での臨床・血清検査値の比較をWilcoxonの符号付順位検定にて統計解析した。

【結果と考察】研究期間中に口腔内での異常所見は特に認めなかった。TCZ投与前後でブランクコントロールスコアは有意な変化を認めなかったものの、GI, BOP, PD, CALでは有意な改善が認められた ($P<0.05$)。血清中のIL-6・sIL-6受容体レベルは有意に増加したが、血清MMP-3・CRPレベルは有意に減少した ($P<0.05$)。以上から、TCZ投与により血清IL-6・sIL-6受容体レベルは上昇するものの、他の炎症性mediatorが減少し、その結果、歯周炎症状態も改善した可能性が示唆された。

会員外共同研究者：村澤 章博士、中國 清博士、伊藤 聡博士、小林大介博士 (新潟県立リウマチセンター)

P-32
2504

イムノクロマト法を用いた歯肉溝滲出液中のカルプロテクチン測定による歯周病診断-第2報-

木戸 淳一

キーワード：カルプロテクチン、イムノクロマト法、歯周病診断

【目的】炎症関連蛋白のカルプロテクチン (Calprotectin: CPT) は、歯周炎部位の歯肉溝滲出液 (GCF) 中で高いレベルを示し、歯周病診断マーカーとして期待されている。我々は、開発したイムノクロマト (IC) 法を用いてGCF中のCPTを測定した (第56回秋季日本歯周病学会発表)。本研究ではパイロット試験として、IC法を用いて歯周病状態の異なるGCFサンプル中のCPTを測定し、歯周病診断法としての有用性を検討した。

【材料および方法】被験者は、徳島大学病院歯科に来院した歯周病および非歯周病患者とした (計24名)。IRBの承認の下に被験者から研究への同意を取得後、歯周組織検査を行い、GCF採取部位を歯周病状態により軽度 (PL)、中度 (PM)、重度 (PS) および非歯周病 (H) に分類した。GCFはペーパーストリップスを用いて採取し、抽出液をCPT検出用ICデバイスに供した (70サンプル)。ICチップ上のCPTラインの濃さを目視判定で4段階に評価し (-, ±, +, ++), その後ICリーダーにて測定した (IC値)。

【結果および考察】CPTラインの目視判定の結果、PMとPS群ではすべて+および++であり、H群では-あるいは±であった。IC値は、歯周病群 (PL, PMおよびPS群) でH群と比較して有意に高く、歯周病群間でも差が認められた。また、IC値はプロービング深さ値や歯肉炎指数と相関関係を示した。IC値のROC分析ではAUC値は0.912を示し、カットオフ値を25.3とした場合、感度は68%で特異度は95%と高い値を示した。これらの結果より、新規ICシステムを用いたGCF中のCPT量の測定は、歯周病の新たな生化学的診断法として有用であることが示された。

P-33

音波ブラシを併用した水流洗浄器の歯周ポケット内細菌に与える影響

2504

鈴木 琢磨

キーワード：水流洗浄器，歯周病原細菌，PCR-インベダー法，歯周ポケット

【目的】水流洗浄器は歯間部の歯肉縁下プラーク除去に有効であることが示されている。しかし水流洗浄器による歯肉縁下プラークへの影響や，音波歯ブラシと併用した報告は少ない。本研究では音波歯ブラシ（ドルツEW-DE43：パナソニック）と水流洗浄器（ジェットウォッシャー EW1211：パナソニック）を併用した場合の歯周ポケット内細菌の影響を評価した。

【材料と方法】鶴見大学歯学部附属病院を受診した慢性歯周炎患者20名を対象とした。実験群では，4mm以上の歯周ポケットを有する歯を選択し，音波歯ブラシにて被験歯を頬/口蓋側に対して各10秒ブラッシング，含嗽後，水流洗浄器で同部位歯周ポケットに水流が当たるよう各10秒間洗浄した。対照群は，同様に音波歯ブラシで被験歯を各10秒ブラッシング後，含嗽のみ行った。各群とも術前後にペーパーポイントにて歯肉縁下の細菌を採取しPCR-Invader法にて定性・定量分析した。

【結果と考察】実験群における歯周病原菌総数は， 4.2×10^3 から 1.4×10^3 cfu/mlに減少し，統計学的有意差が認められた。対照群では， 6.6×10^2 から 5.5×10^2 cfu/mlに減少したが統計学的有意差は認められなかった。歯周病原菌除去率は，実験群で65.6%，対照群は15.7%と約4倍の除去効果が認められ統計学的有意差が認められた。

【結論】音波歯ブラシと水流洗浄器の併用は，歯周ポケット内の細菌数を有意に減少させるが，これは主にポケット内の浮遊性細菌に対して作用していることが考えられ，歯周組織に為害性が強いと考えられる浮遊細菌の除去に有効であると考えられた。

P-35

歯周基本治療によるGCF中サイトカイン量の変化

2504

稗田 祐理子

キーワード：歯肉溝滲出液，サイトカイン，歯周基本治療

【目的】歯肉溝滲出液（GCF）中のサイトカイン量についてはこれまで多くの論文で報告されている。しかし，一度に採取できるGCF量が極少量であるため，報告されるサイトカインの種類は数種に限定されていた。本研究では，抗体アレイメンブレンを使って多種のサイトカイン量を同時に測定することで，歯周基本治療によりGCF中のサイトカイン量に変化が認められるかを検討した。

【材料と方法】九州歯科大学附属病院歯周病科を受診した限局型慢性歯周炎患者のうち，研究への参加に同意が得られた10名を被験者とした。歯周病検査の結果から，プロービング深さが3 mm以内の部位（健常部位）と6 mm以上の部位（病変部位）を被験者毎に1部位ずつ選択しGCFを採取した。続いて，口腔清掃指導，超音波スケーラーによる歯肉縁上歯石の除去を行った。GCFを採取後，病変部位に対してスケーリング・ルートプレーニングを行い，その1週間後にGCFを採取した。採取したGCFは測定時まで冷凍保存し，抗体アレイメンブレンによってサイトカイン量を測定した。

【結果と考察】スケーリング・ルートプレーニング前後でのGCFサイトカイン量の比較を行ったところ，抗体アレイメンブレンにて測定可能な40種のうち病変部位では主に4種類（IL-1 α ，IL-8，RANTES，TNF- β ）のサイトカイン量が増加していることが明らかになった。

【結論】半定量的な測定結果ではあるが，スケーリング・ルートプレーニングによってGCF中で主に4種類（IL-1 α ，IL-8，RANTES，TNF- β ）のサイトカイン量が増加している可能性が示唆された。

P-34

超音波歯ブラシの歯周ポケット内細菌に及ぼす影響

3002

角田 憲祐

キーワード：超音波歯ブラシ，殺菌効果，超音波圧電（ピエゾ）チップ

【目的】超音波歯ブラシ（emmi-dent）は特許取得済みの超音波圧電チップ（ピエゾチップ）をブラシヘッドに組み込んだ100%超音波によるオーラルケアシステムである。さらに超音波の効果に加え，専用のナノバブル歯磨きペースト（以下，専用ペースト）との組み合わせにより，細菌の細胞壁を破壊する事でポケット内部の細菌を殺菌する事がドイツにて証明されている。そこで，本研究において日本歯科大学附属病院に通院する歯周病患者を対象とし，超音波歯ブラシ（emmi-dent）の有効性について検討を行った。

【材料および方法】被験者は日本歯科大学附属病院総合診療科の患者20名（実験群10人，対照群10人）とし，被験部位は単根歯で，かつPD4mm以上の部位とした。ブラシ使用前後の細菌をペーパーポイント（JMペーパーポイント モリタ）3本を用いポケット内に20秒間静置した後，10-6まで連続希釈し，血液寒天培地に塗抹し嫌気条件下にて72時間37℃で培養する。培養後，血液寒天培地上の細菌コロニー数をカウントし比較する。実験群にはピエゾチップ内蔵超音波歯ブラシ（emmi-dent 1.6MHzと専用ペースト），対照群にはピエゾチップ非内蔵超音波歯ブラシ（スマイルエックス 1.6Hzと音波&電動歯ブラシ用歯みがきペースト）をそれぞれ用い，被験歯に対し毛先を斜め45°に傾け歯周ポケットに20秒間作用させる。なお本研究は日本歯科大学倫理審査委員会の承認を得て実施した。

【結果および考察】対照群に比べ実験群の方が殺菌効果があると示唆された。本研究より従来の超音波歯ブラシよりピエゾチップ内蔵超音波歯ブラシの方が効果があると考えられる。

P-36

歯肉溝滲出液におけるhemoglobin 定量の意義

2305

上原 直

キーワード：歯肉溝滲出液，ヘモグロビン（Hb），BOP

【目的】歯周病検査において，正確な状況を把握することは重要である。我々は，PPDとBOPの両検査は繊細であり，GCF成分解析を加えることにより検査精度が向上することを報告・提言してきた。今回は，GCF中の出血の根拠となるHbと組織損傷の指標となるAST活性を解析し，歯周病の各病態に対しHb検査の意義を考察した。

【材料と方法】被験者は，日本歯科大学附属病院に来院しているSPT患者とした。GCF採取部位の分類は歯周病のガイドライン（2008）によるPPDを一つの基準とし，軽度歯周炎：PPD； $\sim$ 3mm，中等度歯周炎：PPD；4-6mm，重度歯周炎：PPD；7mmとした。GCFの生化学検査は，AST活性とHb量の測定にはimmuno-chromatography法を用いた。

【結果と考察】PPDの増加と共にGCF・AST・Hb量は増加するが，これらのパラメータはPPD 7mm以上では飽和する傾向が認められた。従って，Hb検査は，GCF・ASTと共に，歯周炎初期の診断指標となりうると考えられた。

【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08-21）。

【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-37

2504

インプラント周囲溝中のEBVと*P. gingivalis*ゲノムの定量比較

加藤 彩子

キーワード：EBV, *P. gingivalis*, インプラント周囲炎

【目的】インプラント周囲炎は、オッセオインテグレーションが達成された機能下のインプラントに、細菌感染や過重負担などの結果生じた骨の吸収を伴う炎症性疾患である。我々は、慢性歯周炎患者の病変部位でEpstein-Barr-Virus (EBV) が高率に検出され、*P. gingivalis* と共存して歯周組織の破壊に関与する可能性について報告した。そこで今回、インプラント周囲溝におけるEBVと*P. gingivalis*の検出をreal-time PCR法を用いて行った。

【材料および方法】3 mm以下および5 mm以上のインプラント周囲溝と健常PPD部位から、滅菌ペーパーポイントを使用して30秒間、3回滲出液を採取し、DNAを抽出した。EBV, *P. gingivalis*およびGAPDHに対するプライマーを用いてSYBR Green法によるreal-time PCRを行い、EBVおよび*P. gingivalis*のゲノムコピー数を定量した。

【結果および考察】EBVは健常PPD14部位中7ヶ所、3 mm以下のインプラント周囲溝14部位中10ヶ所、5 mm以上の周囲溝14部位中13ヶ所で検出され、*P. gingivalis*は、健常PPD14部位中4ヶ所、3 mm以下のインプラント周囲溝14部位中4ヶ所、5 mm以上の周囲溝14部位中13ヶ所で検出された。健常PPD部位に比較して、特に深いインプラント周囲溝でEBVと*P. gingivalis*が高いゲノムコピー数で検出された。また、*P. gingivalis*とEBVの両方が検出されたのは、健常PPDの0ヶ所(0%)、3 mm以下のインプラント周囲溝14部位中2ヶ所(14.2%)、5 mm以上のインプラント周囲溝14部位中12ヶ所(85.7%)と、深い周囲溝で最も高い値となった。以上の結果より、インプラント周囲炎部位も歯周炎が進行した病変部位と同様に、EBVと*P. gingivalis*が共存して周囲組織の破壊に関与していることが示唆された。

P-39

2501

緑色LEDとローズベンガルを用いたPhotodynamic Therapyによる歯肉縁上の殺菌に関する検討

林 千絵

キーワード：う蝕予防, photodynamic therapy, green LED, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*

【目的】近年緑色LEDとローズベンガル（赤色105号）を用いたPhotodynamic Therapyによる殺菌効果がDiniらによって報告されている。ローズベンガルは波長450から580nmに吸収帯があり、高輝度緑LEDの波長に一致するものである。ローズベンガルは歯科治療において頻用されているう蝕検知液に含有される色素であり、我々はこれらを歯肉縁上の殺菌に用いることを目的として、streptococci, *Lactobacillus*に対するローズベンガルと緑色LEDの殺菌効果に関する検討を行った。

【材料及び方法】う蝕感受性の高い患者より唾液採取を行い、streptococciと*Lactobacillus*培養プレートにローズベンガルを含むう蝕検知液を塗布した。その上から患者より採取した唾液を塗布し、緑LED照射をプレートより1-3cmの距離から1-10分間の範囲で行い、37度にて培養を行った。後に48、72時間後に細菌コロニー形成の評価を行い、光照射距離、光照射時間、細菌コロニー形成の時間的推移の評価を行った。

【結果】う蝕検知液のみ塗布したプレート、緑色LEDの照射時間が短いプレートからはstreptococci, *Lactobacillus*共にコロニー形成が認められた。一方、緑LEDを長時間照射したプレートからはstreptococci, *Lactobacillus*共にコロニー形成は認められなかった。また、コロニー数は緑LED照射時間が長いほど、減少した。

【結論】これより、う蝕検知液と緑色LEDを用いたPhotodynamic Therapyにう蝕予防効果があることが示唆された。

P-38

2504

効果的な歯肉縁下デブライドメントに対する有効な補助剤の開発に向けて－第一報－

川村 弘

キーワード：歯肉縁下デブライドメント, 過酸化水素, 歯周基本治療

【目的】歯肉縁下デブライドメントにおいて重要なことは、的確な器具操作である。しかし、ポケットの深化に伴いその達成は困難になることが報告されている。今回、我々は補助的に併用することによる有効な戦略として、従来用いられている過酸化水素水に注目しその応用に対する考察を加えた。

【材料および方法】3%過酸化水素水、尿素、カルボキシメチルセルロースを一定比率により混合して、過酸化尿素ジェルを作成した。この過酸化尿素ジェルを、任意の濃度のヒトヘモグロビンに作用させて、その発泡時間を計測した。

【結果および考察】ヒトヘモグロビンに対する過酸化尿素ジェルは、10分以上発泡作用が認められた。この作用は、歯肉縁下デブライドメントに有効であると考えられ、歯肉縁下デブライドメントの併用に有効なツールとなる可能性が示唆された。今後、抜去歯を用いた検討を行いその有用性を検討する予定である。

【資金源】本研究は平成26年度日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座研究費の助成を受けて行われた。

P-40

2499

プロバイオティクスを用いたバクテリアセラピーがヒト唾液中の細菌叢に及ぼす効果の検討

吉野 敏明

キーワード：バクテリアセラピー, プロバイオティクス, 歯周病原性細菌, *L. reuteri* Prodentis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitance*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*

【目的】歯周病治療にとって抗菌療法は有用である治療法のひとつであるが、耐性菌の出現や妊婦、重度の全身疾患患者などにとって、抗菌剤を適用できない場合があり、治療法選択にとって大きな懸念となることがある。近年L.ロイテリ菌を用いたバクテリアセラピーが口腔内細菌増殖抑制に効果があることが報告され、また腸内細菌叢に影響を及ぼし、がん抑制に効果があることも報告された。L.ロイテリ菌の中でもL.r.プロデントイスは高い口腔内定着性を持ち、口腔内で*Streptococcus mutans*の抑制に効果があることも報告されている。我々は、L.r.プロデントイスが歯周病原性細菌に及ぼす影響を検討した。

【材料及び方法】ヒト30名より採取した唾液からpolymerase chain reaction (PCR) により口腔内細菌である*Aggregatibacter actinomycetemcomitance*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*の検出をBaseline時に行った。その後1日3回のプロバイオティクス服用を1週間行い、終了してから3日後に再びBaseline時と同様にPCRを行い、継時的変化を統計学的に比較検討した。

【結果】Baseline時と比較して、すべての菌の減少傾向が観察された。【結論】これにより、L.r.プロデントイスを用いたバクテリアセラピーが歯周病原性細菌の減少に、ひいては歯周病の予防に効果を発揮する可能性が示唆された。

P-41

不織布ディスプレイザブル舌清掃器具の舌苔除去効果の検討

2299

煤賀 美緒

キーワード：舌苔、舌清掃器具

【目的】不織布を用い、衛生面に配慮したディスプレイザブルタイプ（以下不織布タイプ）の舌清掃器具の舌苔除去効果を、他の舌清掃器具と比較し検討した。また使用感について質問紙を用いて調査を行った。

【材料と方法】使用した舌清掃器具は、ブラシタイプ、スクレーパータイプおよび不織布タイプの3タイプである。対象は事前調査で舌苔付着の認められた成人ボランティア12名（男性11名、女性1名、平均年齢40.9歳）とし、比較の組合せにより、不織布タイプVSスクレーパータイプ6名（A群）、不織布タイプVSブラシタイプ6名（B群）に分けた。

対象者には実験開始24時間前より舌清掃を中止させ、1日1回同時刻に5ストロークずつ、舌を正中より二分し、左右側異なる舌清掃器具にて舌清掃を実施させた。実施期間は5日間とし、実験前後には舌の写真撮影を行った。清掃前後の画像から、舌苔付着量の評価をTCIを用いて行った。以上の手順を1クールとし、左右の使用器具を入れ替えて合計2クール実施した。また各クール終了時には各種舌清掃器具の使用感に関する質問紙調査を実施した。

なお、本研究は日本歯科大学新潟短期大学の倫理委員会における倫理審査の承認を受けている。

【結果と考察】A・B群共に除去率に有意差は認めなかった。質問紙調査の結果、どの器具においても強い痛みを感じている者は見られなかった。また使いやすさにおいては不織布タイプがやや劣る傾向にあった。これは、柄の長さや使用時の組立て作業の手間が原因と考えられた。

【結論】使用感にやや違いが見られたものの、不織布タイプの舌苔除去効果は、他の舌清掃器具とほぼ同程度であった。

P-43

遺伝子発現情報データベース Gene Expression Omnibus (GEO) を用いた歯周炎関連因子検索とパスウェイ解析 Part 2

2504

鈴木 麻美

キーワード：歯周炎、多因子疾患、遺伝子発現解析、パスウェイ、遺伝子発現情報データベース

【目的】歯周炎は複数の因子が複雑に関与し発症・進行する。現在までに、多数の研究者たちが、歯周炎のメカニズムに関与する重要な研究結果をもたらしてきた。本研究では、遺伝子発現情報データベース Gene Expression Omnibus (GEO) の登録データを用い、歯周炎関連因子の検索とパスウェイの解明を行う。さらに、歯周炎に関連すると考えられている疾患についても解析を行い、共通する因子を検索し、歯周炎と他の関連を推測することを目的とする。

【材料と方法】歯周炎に関連するGEO登録情報から、解析を行う発現データセットを決定した。発現変動遺伝子を検索し、遺伝子分類に基づき、注目すべきGene setを選考し、遺伝子のパスウェイマップを作成した。さらに、歯周炎に関連するとされている疾患のデータセットについても解析を行い、歯周炎の発症・進行に関連する因子を探索する。本研究では、Ingenuity Pathways Analysis (IPA) を用いて解析を行っている。

【結果と考察】歯周炎に関するデータセットを用いて発現解析を行った。さらに、歯周炎と関連があると考えられている糖尿病やリウマチなどの疾患、および、妊娠による変化などに関するデータセットを用い、適切な補正を行った後、遺伝子発現解析を行い、歯周炎に関連する発現変動遺伝子やパスウェイとの比較を行っている。現在、大量に集まった発現解析データについて、機能ごとのGene setを用い比較・検討を行っている。

【結論】既存の遺伝子発現情報データベースには、多量のデータ登録がされており、複数のデータセットを用いて解析を行うことで、疾患の分子レベルでの解析の方向性、さらなる研究計画の立案につながると考えられる。

P-42

アジスロマイシンを用いた歯周薬物療法を行った患者に術後発生した異常心電図波形

2402

長野 孝俊

キーワード：フルマウス スケーリング・ルートプレーニング、アジスロマイシン、心電図波形

【目的】我々はアジスロマイシン（以下：AZM）を事前に服用させ、血液中の薬剤濃度が高い状態で全顎のSRPを行う「AZMを用いたFull-mouth SRP（以下：FM-SRP）」歯周薬物療法を考案し、劇的な臨床症状の改善が得られることを報告したが、安全性に関してさらなる客観的な分析が必要である。そこで今回、後天性薬物性QT延長症候群に対するAZM服用の影響について研究を行った。

【材料と方法】AZM服用下でFM-SRPを行った中等度から重度の歯周病患者（6名）に対し、臨床パラメーターの採取（歯周ポケット深さ、歯肉出血率、総菌数、歯周病関連細菌数など）、および臨床検査（血圧測定、血液検査、尿検査、心電図測定など）を行い、AZM服用FM-SRPによる全身状態へ及ぼす影響について調査した。なお、本研究は鶴見大学歯学部倫理審査委員会の審査と承認（1035号）を得た後、大学病院医療情報ネットワーク（UMIN000012033）に登録して実施された。

【結論】検証の結果、歯周病の臨床症状の改善と歯周病関連細菌の減少が得られたが、術後1か月の時点で異常な心電図波形が生じた症例を経験した。しかしながら、その異常心電図波形は正常範囲内に回復した。本研究の結果から、歯周薬物療法の選択には患者の心疾患の既往に注意を払う必要性が示唆された。

【謝辞】本研究は臨床薬理研究振興財団の研究奨励金の交付を得て行われた。

P-44

歯周病患者の唾液中低分子の網羅的解析

2206

川村 浩樹

キーワード：歯周病、唾液、メタボローム、キャピラリー電気泳動・質量分析装置

【目的】歯周病は、炎症や骨吸収などの口腔内疾患としてだけでなく、糖尿病や心筋梗塞などの全身性疾患を引き起こす原因になる可能性があることが報告されており、早期発見・治療が重要である。そこで被験者個人が勘弁にセルフチェックできる唾液での簡易スクリーニングの開発をめざし、歯周病患者における唾液中の低分子の網羅的な解析を実施した。

【材料と方法】健康者と歯周病（軽度・限局性中等度・広汎性中等度・広汎性重度）の合計84検体の唾液をキャピラリー電気泳動・質量分析装置（CE-MS）により、水溶性の代謝物を網羅的に解析した。特に特に飛行時間型（TOF）MSを用いることで幅広く様々な物質の定量を行った。

【結果と考察】測定したアミノ酸、ペプチド、解糖系など一次代謝物質約200物質を同定・定量することができ、この中で多くの検体で検出できている信頼できる119ピークを用いて、主成分分析などの多変量分析を行い、歯周病に特異的な代謝物プロファイル（代謝濃度パターン）を確認することができた。今後は同一患者から唾液サンプルを収集し経時的な変化を調べ、また少数の分子だけで疾患群を見分ける感度・特異度の評価を実施し、実用化に向けたマーカーの探索・評価を行う。

【結論】歯周病患者における唾液中の低分子の網羅的な解析を実施し、歯周病に特異的な代謝物プロファイル（代謝濃度パターン）を確認した。

P-45

顔貌形態解析による咬合力の予測

2302

中村 太志

キーワード：顔、咬合力

【目的】歯周炎患者において過度の咬合力は歯周組織の破壊を助長するため、患者のリスクを評価する上で咬合力の測定は重要である。しかし、その測定には高価な専用機器が必要なため、臨床では咬合力の測定があまり行われていないのが現状である。我々は以前、顔面形態を尖形、方形、卵円形に分類し卵形の被験者では咬合力が大きいことを報告した。本研究では、顔貌写真上で形態測定の結果から、咬合力を予測できるかについて検討した。

【材料と方法】九州歯科大学に在籍する学生100名（男性60名、女性40名）を被験者とした。被験者顔面の正貌および側貌をデジタルカメラで撮影し、得られたイメージ上でImage J（NIH製）を用いて形態測定を行った。正貌では全頭高、頬骨弓幅、下顎角幅、顔面積、側貌では下顎角を測定した。また、咬合力の測定にはOCCULUSER FDP707（GC社製）を用いた。測定結果については、JMP 9.0.2（SAS Institute Japan社製）を用いて統計解析を行った。

【結果と考察】咬合力と各項目間の相関を調べたところ、全頭高、頬骨弓幅、下顎角幅、顔面積とは有意な正の相関、下顎角とは有意な負の相関が認められた。さらに、（全頭高／頬骨弓幅）、（下顎角幅／頬骨弓幅）の項目を加えて重回帰分析を行った結果、性別と（下顎角幅／頬骨弓幅）が咬合力に大きな影響を及ぼしている可能性が示唆された（ R^2 値=0.21, $p<0.001$ ）。

【結論】（下顎角幅／頬骨弓幅）が大きくなれば方形の顔貌、小さくなれば尖形の顔貌に近づくため、性別と顔貌によって咬合力の大きさを予測することが可能であることが示唆された。

P-47

剥離性歯根破折患者セメント質片の走査型電子顕微鏡による観察

2504

永田 睦

キーワード：セメント質剥離、組織検査、走査型電子顕微鏡の観察

【目的】Cemental tear（剥離性歯根破折、セメント質剥離；以下CeT）は、セメント質の剥離により歯周組織の急速な崩壊を引き起こす病変とされている。今回、剥離したセメント質を走査型電子顕微鏡（SEM）で観察を行ったのでその概要を報告する。

【材料と方法】症例は83歳、男性。上顎前歯部歯肉の圧痛を訴えて来院。デンタルエックス線検査で右上中切歯（有髄）の近心歯頸部と遠心根尖部にCeT像を認め、近心歯頸部から根尖周囲に歯冠大の骨吸収像が観察された。歯周ポケット検査では、頬側および口蓋側中央で10mm以上の深い値を示した。患者への説明と治療の同意の下に歯内療法と歯周外科処置を行い、剥離片を摘出した。剥離片をSEM観察後、光顕脱灰薄切標本を作製し観察した。

【結果と考察】SEM像低倍では、最大の剥離片はシャベル形状で、大きさは約2x4mmで厚さは200-400 μ mであった。剥離面の観察では、中・高倍では歯冠側および根尖側に、辺縁から約500 μ mの範囲に細菌や血液由来の構造物が観察され、なだらかな表面構造を呈していた。また長辺の辺縁部ではそれより狭い幅で同様の付着物が観察された。剥離片の中央部では新鮮で鋭利な剥離面が観察され、花筈状配列を示す微細な有棘状構造が観察された。また同部では随所に、内部にセメント細胞を容れたセメント小腔が観察された。

【結論】光顕およびSEMによる病理組織学的所見と臨床所見を照合すると、歯根表面に発生したセメント質辺縁部の微細な亀裂が拡大し、その辺縁および剥離隙に歯冠側から根尖側に螺旋状に細菌の毒性が浸潤し、周囲組織に炎症が拡大したものと推定された。CeTが疑われる患者では、治療にあたり特別な配慮が必要であることが示唆された。

P-46

局所輝度分布に着目したパノラマX線写真における頸部石灰化領域判別法

2304

内田 啓一

キーワード：頸動脈石灰化、パノラマX線写真

【目的】パノラマX線写真において頸動脈の石灰化領域が認められることがあり、脳梗塞あるいは心血管障害との関連性の研究が幾つかの研究機関で行われている。今回われわれは、頸動脈石灰化領域検出時の新たなクラスタリング手法の導入および石灰化領域周囲の輝度分布に着目した新たな特徴量の導入による誤検出削減手法について検討を行ったので報告する。

【方法】頸動脈石灰化領域の検出率の向上手法として、骨の領域のごく近くに存在する石灰化領域を正確に検出できるようにするため、新たに領域と収束点の距離を制約条件として追加したK-means法を用いた石灰化領域の検出法を適用した手法について検討した。さらに収束領域周囲の領域の変化の状況を識別に反映するために、周辺領域占有率という特徴量と各検出領域の周囲の輝度変化を新たな特徴量として、石灰化領域でないと考えられる領域を判定し、削除を行う方法についても検討した。これらと従来手法を組み合わせ、さらにサポートベクタマシンで用いる学習データの質についても検討を行った画像解析手法について、頸動脈石灰化領域の検出率の有効性について検討した。

【結果・まとめ】本クラスタリングの改良により頸動脈石灰化領域の検出数は、石灰化領域を有する画像323例中257例の石灰化領域を検出することができ、その結果、検出率は79.5%となった。全体の処理結果として、石灰化領域を有する画像219例中129例の石灰化領域が検出され、誤検出数を約25%削減することができ、石灰化領域の検出数の向上、誤検出数の削減の有効性が示された。

P-48

喫煙由来の歯肉着色に対する禁煙の影響－口腔内規格写真を用いた新規評価法による歯肉着色の検討－

2504

加藤 智崇

キーワード：歯肉着色、喫煙、後向きコホート研究

【目的】歯肉着色を定量的に評価することを目的に、新規歯肉着色評価法を開発し、その信頼性・妥当性の検討を行った。また、新規歯肉着色評価法を用いて禁煙と歯肉着色の減少の関連を明らかにすることとした。

【研究方法】本研究は、全国16か所の歯科医院の同意の得られた受診者を対象とした後向きコホート研究である。ベースライン時および数年経過時の口腔内規格写真を利用し、新規歯肉着色法 Gingival Melanosis Record (GMR) を用いて歯肉着色を評価した。GMRは正面観の口腔内規格写真の上顎左右犬歯間付着歯肉内にプロットを一定のルールの下に設定し、プロットごとの着色の有無を評価し、着色の割合を百分率で算出する。GMRの信頼性の検討には、ベースライン時の横断データを使用し、ゴールドスタンダードであるHedinの分類との関連をSpearmanの相関係数を、妥当性の検討には術者内一致度（ICC（1,1））および術者間一致度（ICC（2,1））を用いた。また追跡調査時の縦断データを用いて、GMRの変化量と禁煙の有無および禁煙年数の関連をMann-Whitney U test, Spearmanの順位相関を用いて検討した。

【結果および考察】解析対象は263名（平均年齢：45.9 $\pm$ 13.2歳、禁煙の有無：134/129名、平均追跡期間：4.2 $\pm$ 1.8年）であった。GMRとHedinの分類は有意な正の相関関係（ $p<0.01$, $r=0.94$ ）であり、ICC（1,1）は0.72、ICC（2,1）は0.78とともに高く、GMRは歯肉着色の評価法として有効である可能性が示唆された。また、禁煙者の方が歯肉着色の減少量が多く（ $p=0.01$ ）、禁煙年数と歯肉着色の減少量は有意な正の相関関係（ $p=0.01$, $r=0.16$ ）にあり、禁煙が歯肉着色の減少に対し効果的である可能性が示唆された。

P-49

中津川市妊婦教室における歯周炎関連検査と出産・新生児との関係

2504

木村 洋子

キーワード：歯周病，妊婦，出産，ポケット内細菌，LPS

【目的】中津川市健康医療課では妊婦教室での歯科検診を年9回実施している。妊婦教室では歯科検診，細菌観察，ブラッシング指導，管理栄養士による栄養指導を主として行っている。本研究の目的は妊娠中の口腔内環境および出産時の状況との関連性を検討することである。

【材料と方法】平成24年6月から平成25年6月に中津川市健康医療課妊婦教室に参加した妊婦126名を対象とした。検査項目はCPI，出産期間，新生児体重，喫煙，全身疾患を調査した。さらに唾液中のLPS測定とポケット内細菌A, a, P, g, P, iについてスクリーニングした。

【結果と考察】対象者の検査時平均妊娠週数は 24.6 ± 3.1 歳，平均年齢 31.1 ± 4.9 歳であった。平均妊娠期間は 38.8 ± 1.3 週であった。126名中，喫煙者2名，全身疾患のある妊婦はいなかった。CPIコード0:0名，1:5名，2:44名，3:66名，4:11名であった。低体重児出産が認められたのはコード2と3であった。その割合はコード2で0.8%，3で6.3%であった。PCR-インベーター法の結果：陽性率（検出菌数10コピー/唾液10 μ 以上）はA, aが1.2%，P, gは8.6%，P, iは10.2%であった。唾液LPSは各コードで認められた。CPIコードと唾液中のLPS濃度に正の相関はなかった。低体重児出産とCPIコード，細菌種，LPSとの相関は認められなかった。

【結論】近年，早産・低体重児出産の原因として歯周病の関わりが注目されているが本研究においては明確な関与は認められなかった。既報に一致しなかった一因には，中津川市では歯科医師会の協力による歯科保健指導が乳幼児期から成人期まで長年実施されているため，妊婦の口腔保健意識が高く口腔環境が向上していることが考えられる。

P-51

歯科人間ドックにおける歯周病検査の重要性

2302

小川 智久

キーワード：歯科人間ドック，歯科健診，アンチエイジング

【目的】近年，健康に関するニーズは多様化してきており，歯科においても健康寿命を延ばすための予防医療や歯科人間ドックなどが注目されてきている。また，口腔内の2大疾患であるう蝕と歯周病のうち，歯周病は全身疾患との関係やそのメカニズムなどについても研究が進んでいるため，歯科人間ドック受診者からの関心も高い。そこで今回，日本歯科人間ドック学会の基本メニューにおける歯周病関連検査についての報告を行い今後の発展に役立てる。

【材料および方法】1. 歯科人間ドック基本メニューは，以下の順番で検査を進める。1) 健康調査票の記入：約70項目について聴取。2) 全身所見：体型や姿勢，歩行や肌の色などの確認。3) 口腔外検査：①唾液検査，②顔貌の視診，③唾液腺・リンパ節の触診，④顎関節症関連の検査の4項目。4) 口腔内検査：①口腔粘膜検査，②パノラマエックス線検査，③う蝕検査，④歯周病検査，⑤咬合検査の5項目。2. 歯周病検査の詳細 代表8歯を対象に，PII，PSR，根分岐部病変，動揺度，角化歯肉が1mm以下の部位があるかに関して検査を行う。

【結果および考察】歯科人間ドックは疾患の早期発見のみならず，健康度やリスクに関する目的がある。PSRや動揺度，根分岐部病変は疾患の進行を検査しているが，角化歯肉の有無とPIIに関しては悪化する可能性を予測できるため，歯周病のリスク検査として有効である。

【資金源】文部省科学研究費：基盤研究C，課題番号：25463267

P-50

入院中の妊婦における歯周組織の状態－第2報－

2499

内山 恵理

キーワード：妊婦，歯周組織，入院患者

【目的】妊婦の歯周炎は胎児に影響を及ぼすことが報告されている。しかし，妊婦が切迫早産などで入院を余儀なくされると，数ヶ月にわたって歯科に通院することが困難となる場合がある。私たちは2013年の歯周病学会において入院中の妊婦における歯周組織の状態を報告したが，今回さらに被験者数を増やし，詳細な結果が得られたので報告する。

【材料および方法】対象は2012年9月から2014年10月までに日本医科大学多摩永山病院女性診療科・産科に入院中の，同意の得られた妊婦323名とした。歯周組織の状態は16, 11, 24, 36, 31, 44の6歯について6点法にて測定した。測定項目はブラーク指数（PII），プロービングデプス（PD），プロービング時の出血（BOP）とした。

【結果および考察】入院中の妊婦の平均年齢は33.0歳（15～46歳），平均妊娠週数は27.5週（5～41週）であった。入院理由は，切迫早産が多く，その他，子宮内胎児発育遅延や頸管無力症などであった。歯周組織の状態は，平均PIIが0.61，平均PDが2.3mmであり，BOPは平均で被検部位の13.8%に認められた。PDが4mm以上の部位，および6mm以上の部位は，被検者のそれぞれ49.2%，3.7%に認められた。BOPが20%以上の者は被検者の23.5%であり，50%以上の者も3.4%に認められた。入院中の妊婦の口腔衛生状態は比較的良好に保たれていたが，歯周治療が必要と考えられる妊婦も存在した。今後，これらの妊婦の歯周検査データと，出産や新生児の状態などを分析していく予定である。

P-52

松本歯科大学における歯周病学模型実習に対する学生評価の解析

2398

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，7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。

【材料と方法】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）の7年間にわたる松本歯科大学第4学年生とした。アンケート項目は13項目であり，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。

【結果と考察】学生数の最も少ない2013年度では，多くの項目で満足割合が高かった。全項目間の相関では，「インストラクター」領域内でのデモ，指導，レベル項目間で有意な相関が認められた。学生数との相関では，「自分の座席の位置」に最も有意な相関が認められた。また，「実習帳」，「ビデオデモ」においても有意な相関が認められた。指導者のレベルが高い評価だと，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，少人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。アンケート項目の一つ一つ単独で解釈し，それぞれに対しての評価，改善をするだけでは実習全体の本当の改善にはならないと考えられるため，不満足度得点の算出は有効である。

キーワード：スケーリング・ルートプレーニング，模型実習，技術評価

【目的】スケーリング・ルートプレーニング（SRP）では歯肉縁下の根面に器具を到達させることが重要である。しかし基礎実習開始直後の学生にとっては容易ではないため、学生がどの歯面へ器具をアクセスするのが困難であるかを理解することは、SRP実習の指導に役立つと考えられる。そこで、本学で臨床実習時に行ったSRP技能評価の結果を用いて、学生がアクセスしにくい根面部位を検討した。

【対象および方法】臨床実習を行っている36名の学生を対象に、歯肉辺縁から歯肉縁下約2 mmまで歯根の全周をマジックで塗りつぶした右上1と左下6の人工歯をペリオ模型に装着し、10分間でSRPをさせて、塗布したマジックの除去率を評価した。除去率算出のためSRP後の人工歯の各歯面（右上1：唇側・近心・遠心，左下6：頬側・近心・舌側・遠心）を写真撮影し、画像解析ソフト（Image J）を用いて塗布したマジックの除去面積を算出した。各歯面について、塗布面積に対する除去面積の割合を計算して除去率を求めた。そして、学生を両人工歯合計の除去率が平均以上あるいは平均以下の二つの群に分け、両群で歯種や各歯面における除去率の違いを比較して、特にスキル上達の不十分な学生にとってアクセス困難な歯面を明らかにした。

【結果および考察】除去率が平均以上であった学生群では右上1と左下6それぞれの除去率に違いは見られなかった。一方、平均以下の群では、右上1よりも左下6の方が有意に低かった。各歯面の違いを比較すると、平均以下の群では特に左下6舌側の除去率が低く、平均以上の群の1/2以下であった。学生にとって、特に大臼歯部舌側歯肉縁下へのアクセスが困難であることを理解して指導することが必要と考えられる。