

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

P-01～60

5月20日（金）	ポスター掲示	8：30～10：00
	ポスター展示・閲覧	10：00～17：00
	ポスター討論	17：00～17：50
	ポスター撤去	17：50～18：20

P-01

2504

歯周病検査用生体内情報モニターの開発に関する研究

金田 研郎

キーワード：細菌計測, チタン, HPA, プロテインA

【目的】特定の細菌もしくはその反応物質を簡便かつ迅速に定量する生体内情報モニターを開発することを目的として、チタン表面にCarboxy-EG3-HPA (HPA) を結合させ、その上にProtein Aを介してIgGを結合させる実験を行った。

【材料と方法】JIS第2種の純Tiディスクをコロイダルシリカ溶液を用いて研磨後、0.1 mM HPAを含むTetrahydrofuran (THF) 溶液に浸漬し、室温で溶媒を除去してHPAをTi表面に結合させた。実験1:HPAを結合させたTiディスクを、Protein A濃度1 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/mlに調整した1.47%1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド溶液に4℃で72時間浸漬し、Protein AをTiディスク表面に結合させた。その後、X線光電子分析装置(XPS)を用いてTi表面に結合したProtein Aの量を評価した。実験2:実験1で得られた最適濃度でProtein Aを結合させたTiディスクを、IgG濃度50 µg/ml, 100 µg/ml, 300 µg/ml, 500 µg/ml, 700 µg/mlに調整したリン酸緩衝溶液に37℃で1時間浸漬し、XPSを用いてTi表面に結合したIgGの量を評価した。

【結果と考察】実験1：HPAを介してProtein Aを結合させたTiディスクをXPSを用いて分析した結果、N 1sのピーク強度はProtein Aの濃度依存的に上昇し、25 µg/mlで一定値に達した。実験2:Protein Aを介してIgGを結合させたTiディスクをXPSを用いて分析した結果、N 1sのピーク強度はIgGの濃度依存的に上昇し、300 µg/mlで一定値に達した。

【結論】HPAを介してチタン表面にprotein Aを結合させる際、処理液のProtein A最適濃度は25µg/mlであることが確認された。さらに、Protein Aを介してIgGを結合させる場合は、処理液のIgG最適濃度は300 µg/mlであることが確認された。

P-03

3103

酸化グラフェンでコーティングされた歯根象牙質の抗菌性の評価

長尾 敬志

キーワード：ラット, ナノカーボン, S.mutans

【目的】酸化グラフェン (GO) は炭素の単層ナノシートで、表面の酸素官能基による良好な分散性と抗菌性を有する。そこで、GOを用いて歯根象牙質のコーティングを行い、その抗菌性について検討した。

【材料と方法】GO分散液にはnanoGRAX® (1wt%, 三菱ガス化学)を用いた。ヒト歯牙象牙質ブロックを作製し、EDTAにて清掃後、GO分散液に浸漬することでコーティング処理を行った。これをSEM観察し、象牙細管の封鎖性をスコア化した。またコーティングの安定性をみるために超音波洗浄を行い同様に評価した。次にGOの*S. mutans*に対する増殖抑制効果を評価した。また、ラット臼歯に窩洞形成を行い、GO分散液を塗布して口腔細菌の付着状況をSEMにて観察した (承認番号 (自) 12-46, 13-76)。

【結果と考察】GOコーティングによって象牙質表面に薄いGOのフィルムが形成され、象牙細管の封鎖性を示すスコアはGOの濃度依存的に上昇し、超音波洗浄に対しても濃度依存的にスコアの減少が抑制された。*S. mutans*の培養試験では、GOコーティングによって増殖が抑制され、またラット臼歯窩洞の4週後のSEM観察の結果、GO塗布面には口腔細菌をほとんど認めなかった。以上の結果から、象牙質表面に形成されたGOフィルムは長期的に安定して抗菌性を発揮すると考えられた。

【結論】GOコーティングによって象牙質上に抗菌性GOフィルムが形成された。

P-02

2398

歯周病学基礎実習における教授錯覚
—根分岐部病変の検査について—

大澤 銀子

キーワード：歯周病学基礎実習, 根分岐部病変, 教授錯覚

【目的】根分岐部病変は、歯周治療における治療計画の立案に大きく影響する。そして、根分岐部用プローブの正しい使用は、歯周病学基礎実習の段階にて習得が望まれる検査手技の1つである。我々は、歯周病学基礎実習において、学生が根分岐部病変の検査を理解、習得できているかについて検討した。

【材料と方法】2015年度日本歯科大学生命歯学部第4学年149名を対象とした。根分岐部の検査は、実習ユニット1歯周病の診査・診断にて、歯周病学基礎実習用顎模型 (ニッシン：本学会教育委員会との共同開発) を用いての歯周組織検査の一環として行った。各実習ではブレおおよびポストテスト、歯周基本治療のユニット終了時には学生自身による理解度についてのアンケート、実習最終回には上顎大臼歯の根分岐部病変の検査についてのOSCEを実施し、教授内容が学生に習得されているかについて検討した。

【結果と考察】ポストテストにおいて上顎大臼歯近心の根分岐部の開口部位置を問う設問では51.4%の正解率、アンケート結果では、根分岐部の解剖学的形態を理解できたと回答した学生は73.5%であった。OSCEでは、上顎大臼歯近心根分岐部を正しい方向から根分岐部用プローブを挿入できたものは、約33%であった。一方、教員は、実習を通して、十分に理解できるよう教授したとの実感を持っていた。以上のことから、歯周病学基礎実習の根分岐部病変の検査では、教授錯覚があると考えられる。今後、他の実習項目についても、教授錯覚を真摯に受け止め、実習の評価、改善を繰り返すことは不可欠である。

P-04

3102

金クラスターを用いた抗菌的光線力学療法の開発
—LED光源の違いによる検討—

宮田 さほり

キーワード：PDT, 白色LED, S.mutans

【目的】金原子25個からなる金クラスター ($\text{Au}_{25}(\text{SR})_{18}$) は、青色LED (歯科用LED照射器) による光励起により一重項酸素を発生し、細菌の増殖抑制効果を示した (第58回春季大会)。しかし青色LEDは高出力で短波長であるため正常組織に対しての影響が懸念される。そこで本研究では、白色LEDを光源に金クラスターを光励起した際の効果について青色LEDと比較検討した。

【材料および方法】金クラスターはグルタチオン保護およびリゾチーム保護金クラスターの2種を用いた。光源に青色LED (ベンキュアー、モリタ, 420-480nm) と白色LED (SPF-D2, 松電舎, 420-750nm) を使用した。まず光照射による培地の温度変化を測定した。また、金クラスターの培地への添加と光照射による光励起 (1分間) を行った際の*S. mutans*に与える影響をSEM観察、増殖性試験にて評価した。同様に培養骨芽細胞および線維芽細胞を用いて生体細胞への障害性を評価した。

【結果および考察】青色LEDの出力は2000mW、白色LEDは13mWであり、青色LEDの光照射では時間に伴い培地温度が上昇した。両LEDともに*S. mutans*に対してコロニー形成を抑制、死菌を増加させ増殖を抑制したが、培養細胞の親和性試験では白色LEDが良好であった。白色LEDでは広範囲の波長帯が金クラスターの光励起に作用するため低出力でも一重項酸素が効率よく発生し、一方で細胞障害性を低く抑えたと考えられた。

【結論】白色LEDを用いた金クラスターの光励起は、青色LEDと同等の細菌増殖抑制効果を示し、生体細胞に対しては青色LEDより低い毒性を示した。

P-05
2504

遊離歯肉移植術を施行後の口蓋ドナー部の疼痛緩和を目的としたシーネの有用性

鈴木 幹子

キーワード：遊離歯肉移植術、シーネ、術後の疼痛緩和

【語言】歯周形成外科治療およびインプラント治療において、付着歯肉および角化歯肉（角化粘膜）を増大させるために遊離歯肉移植術（Free Gingival Graft 以下FGG）を適応することが多い。しかし、口蓋歯肉から移植片を採取後に、創面を歯周バックで保護することが困難なケースが多く、術後および食事時の疼痛により患者のQOLを低下させ得る。

本発表では、術前に作製したプラスチック製のシーネ（咬合面を覆わない形状のため、食事の妨げにならない）を用いてFGG後に口蓋の創面を保護し、術後および食事時の疼痛あるいは不快感を著しく軽減出来た5症例の詳細を報告する。

【症例概要】FGG予定の患者5名に対し、術前に概形印象を採得した。作業用模型作製後、プラスチック製のシーネを作製し、FGG直後から抜糸時まで使用させて術後疼痛の程度について聞き取り調査した。【結果と考察】調べた症例から、明らかに術後疼痛の軽減効果を認めた、患部を保護する外科用シーネの報告は散見されるが、調べた限りでは、ドナー部にシーネを装着して疼痛軽減効果を評価した報告は見当たらなかった。

これまでにFGGを適応した症例では、移植部位よりも口蓋部ドナー部位の術後あるいは食事時の疼痛を訴える患者が多かったため、外科用シーネを用いて患者の術後の疼痛緩和を行なっている。

一方、シーネを使用しなかった場合でも強い疼痛を訴えなかった患者が1名いた。術後疼痛の発現機序あるいは発生頻度について、症例数を増やし統計学的検討を行いたい。

P-07
3002

インプラント周囲粘膜炎に対する音波式電動歯ブラシの臨床的効果

関野 倫

キーワード：インプラント周囲粘膜炎、音波式電動歯ブラシ、ブラークコントロール

【目的】本研究は音波式電動歯ブラシによる日々のブラッシングがインプラント周囲粘膜炎に及ぼす影響について調査することを目的とした。

【材料と方法】41歳～75歳の部分欠損患者25名に埋入され、骨吸収はないがインプラント周囲粘膜からの出血がみられたインプラント40本を対象とした。対象となったインプラントに対して、ブラーク指数（以下PII）、ブロービング時の出血（以下BOP）、ブロービングデプス（以下PPD）の測定を行った（ベースライン、以下BL）。その後、対象者を以下の2グループにランダムに割り当てた。実験群：音波式電動歯ブラシにより1日2回ブラッシング対照群：手用歯ブラシにより1日2回ブラッシングBL検査の6週後、3ヶ月後、6ヶ月後に同様の検査を行った。測定した各群における各臨床パラメータのBLからの差を計算し、それらの比較にt検定を用いた。

【結果と考察】6ヶ月間のブラッシングにより、実験群ではPIIは平均0.39から0.18に、平均BOPは44.0%から17.9%に、平均PPDは3.01mmから2.73mmにそれぞれ改善した。対照群では、PIIは平均0.39から0.23、平均BOPは37.5%から25.0%、平均PPDは2.89mmから2.79mmとなった。いずれもパラメータにおいても2群間に統計学的有意差はみられなかった

【結論】インプラント周囲粘膜炎を改善させるため、音波式電動歯ブラシおよび手用歯ブラシによる日々のブラッシングは有用である。

P-06
3102

ジルコニア及びチタン基盤上での培養ヒト歯肉上皮前駆細胞の観察

濱 拓弥

キーワード：チタン、ジルコニア、ヒト歯肉上皮前駆細胞

【目的】歯科インプラント治療において、ジルコニアはチタンに変わる材料として注目されている。インプラント周囲炎やインプラント周囲粘膜炎の予防には、インプラント体と上皮の接合状態が重要である。本研究はジルコニアに対する上皮細胞の付着状態を検討する目的で、ジルコニアディスクと純チタンディスク上で上皮細胞を培養し、上皮細胞の付着形態変化を経時的に走査型電子顕微鏡にて観察した。【材料および方法】チタンディスク、ジルコニアディスク（ZYSE-E、ZPEX）全3種をこの研究に用いた。各ディスクはオートクレーブにて滅菌した。ディスク上に3継代目のヒト歯肉上皮前駆細胞を播種し、37.0℃のCO₂インキュベーター内でCELLNTEC社のCnT-PRを培地に用いて1、12、24、48時間培養後水洗し、グルタルアルデヒド及び四酸化オスニウムを用いて固定、脱水した。その後、t-ブチルアルコールにて凍結乾燥し、オスミウムコーティング後走査型電子顕微鏡にて残った付着細胞を観察した。

【結果】両群ともに時間を追って細胞が付着、進展、分裂増殖していく様子が観察された。チタンと比べジルコニア群では培養1時間で付着細胞数が多く見られたものの、培養12、24時間では各群に差はなかった。培養48時間においてチタンとジルコニア（ZPEX）間では差がなかったものの、ジルコニア（ZYSE-E）群においては付着細胞が少なかった。

【考察と結論】ジルコニア群はチタン群と比較し早期に上皮細胞が付着した。しかし、その後の培養では優位な差は認めなかった。この理由としては、表面性状の違いによるもの、またはジルコニアとチタン表面での電位差によって初期付着に差があるのではないかと考えられる。

P-08
2504

サンゴ焼成カルシウム含有洗口剤の歯周組織に対する効果

高井 英樹

キーワード：サンゴ焼成カルシウム、洗口剤

【目的】ブラークコントロールの方法には、機械的および化学的ブラークコントロールがあり、ブラッシング等の機械的ブラークコントロールは最も効果的であるが、毛先の到達性の限界などから、抗菌剤、酵素剤等による化学的ブラークコントロール法が補助的な方法として行われている。そこで我々は、化学的ブラークコントロール剤としてのサンゴ焼成カルシウムを使用したアルカリ性ノンアルコールタイプの洗口剤（マグナキャプス・デントセーフ®）の有用性を検索する目的で、洗口剤使用前後の歯周病の臨床所見および歯肉溝滲出液中の細菌数の変化について解析を行った。

【材料および方法】様々な菌種を用いてサンゴ焼成カルシウム水溶液の殺菌効果試験を行った。次に、SPTのために来院している男女20名をサンゴおよびプラセボ洗口群に振り分け、1か月間洗口を行った。洗口剤使用前後に、臨床評価として、PPD、CAL、BOP、PIIおよびGIの測定を行った。細菌検査として、歯肉溝滲出液（GCF）を最深PPD部位から採取し、PCRインベーター法で歯周病原菌3菌種（A. a.、P. iおよびP. g）の計測を行った。

【結果および考察】両洗口群で、洗口前と比較して洗口1か月後にPPD、CAL、BOP、GIおよびPIIに改善は認められなかったが、サンゴ洗口剤1か月使用後のCAL、BOP、GIおよびPIIに改善傾向が認められた。両洗口群で、洗口後の平均総菌数、A. a数およびP. i数は、洗口前と比べて減少は認められず、プラセボ洗口剤1か月使用後に平均P. g数の増加が認められた。

P-09
2203

歯周病原細菌によるIL-1 β 発現に対するグリブリドの抑制効果

金子 高士

キーワード：歯周病原細菌, IL-1 β , グリブリド

【目的】IL-1 β は歯周炎の病態と強く関連している。歯周病原細菌による活性化型IL-1 β の産生にはTLRやNODの刺激によるpro-IL-1 β 発現とNLRP3, ASCそしてカスパーゼ1からなるインフラマソームの活性化が関与している。一方糖尿病治療薬のグリブリドはNLRP3インフラマソームの活性化を抑制することで、LPSとATP刺激によるIL-1 β 産生を抑制することが報告されている。そこで本研究では歯周病原細菌によるIL-1 β 産生に対するグリブリドの作用を明らかにすることにより、NLRP3インフラマソームを標的にした歯周治療の可能性を探ることとした。

【材料と方法】*P. gingivalis* (*P.g*), *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*を実験に使用した。ヒトマクロファージ細胞株THP-1細胞をこれらの熱処理超音波破碎菌体で刺激し、細胞培養液中のIL-1 β 濃度をELISAで測定した。またカスパーゼ1インヒビター-z-YVAD-fmkとグリブリドの存在下における実験も行った。細胞内のpro-IL-1 β と活性化型IL-1 β , カスパーゼ1のタンパク発現はImmunoblottingにより解析した。

【結果と考察】THP-1細胞を歯周病原細菌で刺激すると培養上清へのIL-1 β の放出が認められたが、*P.g*刺激によるIL-1 β 放出は少なかった。このIL-1 β の放出はz-YVAD-fmkまたはグリブリド前処理により抑制されたことから、カスパーゼ1とNLRP3の関与が示唆された。一方細胞内のpro-IL-1 β と活性化型IL-1 β の発現量はどの細菌も同程度であったが、カスパーゼ1の発現は*P.g*で減少していた。カスパーゼ1はIL-1 β の放出にも関与することが報告されており、*P.g*におけるIL-1 β 放出量の減少との関連性が考えられた。

P-11
2504

Alkanninはヒト歯根膜由来細胞のIL-6およびCCL20産生を抑制する

細川 義隆

キーワード：アルカニン, IL-6, CCL20, ヒト歯根膜由来細胞

【目的】Foxp3を発現しているregulatory T細胞がFoxp3発現を消失しTh17細胞に分化した細胞(exFoxp3 Th17細胞)が破骨細胞を強力に活性化することが近年明らかとなった。また、Alkanninはルリジサに含まれる天然色素であり抗癌作用、抗菌作用など様々な生理活性作用があることが報告されているが、歯周組織構成細胞に対する影響は報告はなく不明な点が多い。本研究ではexFoxp3 Th17細胞分化に必須のサイトカインであるIL-6ならびにexFoxp3 Th17細胞の集積に関与するケモカインであるCCL20のヒト歯根膜由来細胞(HPDLC)からの産生に与えるAlkanninの影響を明らかにするために検討を行った。

【材料および方法】HPDLCはLonza社より購入した。HPDLCのIL-6およびCCL20産生をELISA法によりNF- κ B経路の活性化(NF- κ B p65のリン酸化およびI κ B- α の分解)をwestern blot法を用い解析した。

【結果と考察】AlkanninはIL-1 β あるいはTNF- α が誘導したIL-6およびCCL20産生を抑制した。AlkanninはIL-1 β が誘導したI κ B- α の分解を抑制した。また、TNF- α が誘導したNF- κ B p65のリン酸化およびI κ B- α の分解を抑制した。NF- κ B阻害剤はIL-1 β あるいはTNF- α が誘導したIL-6およびCCL20産生を抑制した。これらの結果よりAlkanninは歯周炎病変局所においてHPDLCのIL-6およびCCL20産生を減弱する事により、exFoxp3 Th17細胞の分化・集積を抑制し、破骨細胞活性化を阻止する事により歯周炎における炎症性骨吸収を抑制できる可能性が示唆された。

P-10
2504

真菌由来代謝産物(+) -terreinはヒト歯肉線維芽細胞におけるinterleukin-6誘導性SHP2-Aktシグナル活性を抑制する

山本 総司

キーワード：terrein, インターロイキン6, SHP2-Akt, 歯肉線維芽細胞

【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(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。その作用機序として、IL-6の細胞内刺激伝達系(STAT3とMAPKs)を抑制することを報告したが、未だTERの作用機序は不明である。本研究では、TERがHGFsにおけるIL-6の細胞内刺激伝達系に及ぼす作用機序を解明することを目的とした。

【材料および方法】HGFsは、臨床的に健康なヒト歯肉から分離・培養した細胞を用い、ウシ胎児血清を10%の割合に含むDMEMを用いて、37℃、5% CO₂存在下で培養した(岡山大学倫理委員会承認番号: No. 661)。TERは、Mandaiらの報告(Bioorg Med Chem, 2014)に従い、有機化学的に合成したものをを用いた。HGFsをTER(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5分後に全タンパク質を回収し、IL-6の細胞内刺激伝達経路に含まれるAkt, SHP2, JAKのタンパク質リン酸化をWestern blotting法にて検討した。

【結果】HGFsにおいて、TERはIL-6/sIL-6R誘導性のAkt(Ser473)のタンパク質リン酸化を抑制した。さらに、Aktの上流に位置するSHP2(Tyr542)のタンパク質リン酸化を抑制した。

【考察と結論】TERはSTAT3およびSHP2のタンパク質リン酸化を抑制する。したがって、TERがIL-6受容体の共役タンパク質であるJAKに作用して抗IL-6効果を発揮する可能性が示唆された。

P-12
2203

口腔スピロヘータの抗菌薬感受性の比較

関野 仁

キーワード：口腔スピロヘータ, 抗菌薬

【目的】Treponemaは歯周炎局所より高頻度に分離され、発症と進行に重要な役割を果たす。歯周炎患者への抗菌療法に際し、各抗菌薬が歯周病原細菌の発育をどの程度抑制するのかわかることは重要となるが、Treponemaについての情報は少ない。適正な抗菌療法を明確にする足掛かりを得るため、4菌株の抗菌薬感受性を評価した。

【方法】*Treponema denticola* ATCC 35405株とGM-1株, *T. socranskii* ATCC 35368株, *T. vincentii* ATCC 35380株を使用した。供試菌株の培養および希釈にはTYGVS培地を用いた。

11種類の抗菌薬を評価対象とした。最小発育阻止濃度(MIC)は、各種抗菌薬の2倍連続希釈系列を用いた微量液体希釈法にて評価した。

【結果および考察】AZM, CEX, CLDM, CP, DOXY, EM, MINOは全ての株に対していずれも2 μ g/mL以下の濃度で供試菌株の発育を阻止した。KMに対する感受性は全ての株で低かったが菌種間で差が認められ、*T. socranskii*と*T. vincentii*は顕著に低かった。STFXに対する感受性も菌種間で差が認められ、*T. denticola*では低い傾向を示した。また、LVFXとOFLXに対する感受性は各株で著しく異なった。

歯周病原細菌には有効とされるOFLXのような抗菌薬でもTreponemaの感受性が低いことが明らかになり、歯周病治療における抗菌療法は十分な科学的根拠に基づいて行われる必要があることが示唆された。

P-13

2504

Red Complexに属する *Porphyromonas gingivalis* の
バイオフィルムに対する抗菌薬の効果

甘 博文

キーワード：バイオフィルム，抗菌療法，歯周炎

【目的】 *P. gingivalis* は、歯周ポケット内で他菌種とともにバイオフィルムを形成する。特に重度の広汎型歯周炎症例や全身疾患関連性歯周炎症例に対しては、メカニカルな治療効果を高めるための経口抗菌療法の併用が必要となる場合がある。今回の実験の目的は、*P. gingivalis* を含む歯周病原細菌のバイオフィルムモデルを用いて各種抗菌薬の有効性について検討を行った。

【材料と方法】 バイオフィルム形成は、*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277株を使用して直径18mmの円形カバーガラスを入れた24穴マイクロプレート内で、液体培地にて16.5時間嫌気培養後、ウェル内をリン酸緩衝液で浮遊菌を除去し、新鮮培地に交換してさらに24時間培養した。その後、ガラス上に形成された *P. gingivalis* バイオフィルムに対して、各種濃度の Amoxicillin, Azithromycin, Metronidazole, Minocycline, Levofloxacin および Amoxicillin と Metronidazole 混合薬を培地に添加して24時間嫌気培養後の生菌数測定を行った。

【結果と考察】 本実験で使用したテトラサイクリン系の Minocycline とニューキノロン系の Levofloxacin が *P. gingivalis* に対して有効に作用した。ニトロイミダゾール系である Metronidazole とペニシリン系の Amoxicillin は単独では効果が低いものの2種併用により高い抗菌性が認められた。単独では抗菌性が低い薬においても2種類の異なる作用機序の薬を併用することで高い抗菌効果が得られた。歯周炎は多菌種の混合感染であることから、抗菌薬併用は効果的に作用するものと考えられた。今後、スピロヘータなどの運動性菌や他の歯周病細菌とともに混合細菌のバイオフィルムに対する効果の検討も進めていく予定である。

P-15

2504

歯周病安定期治療中の活動性歯周ポケットに対する
経口抗菌療法の細菌学的、臨床的效果（第3報）

伊藤 晴江

キーワード：シタフロキサシン，アジスロマイシン，歯周病安定期治療

【目的】我々は先の研究で歯周病安定期治療（SPT）中に活動性となった歯周ポケットに対して、ニューキノロン系抗菌薬シタフロキサシン（STFX）の経口投与が3か月後までは浸潤麻酔下でのSRPに劣らない細菌学的、臨床的效果があることを示した。一方、マクロライド系抗生物質アジスロマイシン（AZM）は、SRPとの併用効果が報告され投薬する機会が増えてきている。今回、STFXならびにマクロライド系抗生物質アジスロマイシン（AZM）の経口抗菌療法のそれぞれの長期効果と歯肉縁下細菌叢の薬剤感受性変化を検討した。

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

【結果および考察】 両群ともに、服薬1か月後のred complex細菌の総数および割合は有意に減少し、12か月後にもベースラインより低い傾向にあった。両群ともに、ポケット深さ、アタッチメントレベル、BOPは12か月後まで有意な改善が持続した。いずれの抗菌薬も侵襲的な治療が適用ではない患者に対し、代替療法となりうると考えられた。また、歯肉縁下細菌叢の薬剤に対する感受性についても興味深い結果が得られた。

P-14

3104

Preliminary study on transfection of human
periodontal ligament cells and human bone marrow
stromal cells by human β -defensin 3

Haiyan Wang

Key words: human β -defensin 3, antimicrobial activity, periodontitis, human periodontal ligament cells, human bone marrow stromal cells

Objectives: The study was to determine the transfection efficiency of human periodontal ligament cells (HPDLCs) and human bone marrow stromal cells (HBMSCs) transfected by lentivirus containing human β -defensin 3 (HBD-3) and to investigate the antimicrobial activity against oral organisms including periodontal pathogens.

Materials and methods: RT-PCR, western blot analysis and ELISA were used to confirm the expression of HBD-3 at the mRNA and protein level. Antimicrobial test was conducted to demonstrate the effect of gene HBD-3 on antimicrobial activity.

Results: HPDLCs and HBMCs could stably express HBD-3 at the mRNA and protein level. Periodontal pathogens and caries-causing bacteria were susceptible to the cells transfected with HBD-3.

Conclusions: HPDLCs and HBMSCs were promising seeding cells for cell- and gene-based therapy of periodontal disease. Lentiviral vector containing HBD-3 showed a broad-spectrum antimicrobial activity against a collection of oral organisms and could be applied in the treatment of oral infectious diseases including periodontitis.

P-16

2299

歯周炎モデルマウスを用いた歯肉炎症巣における
exosome分泌の経時的変化の検討

小林 良喜

キーワード：ポルフィロモナス ジンジバリス，エクソゾーム，歯周炎

歯周疾患は歯周病原性細菌と宿主細胞との相互作用により歯周組織の破壊が引き起こされる炎症性疾患であり、生体は細菌に対する防御反応として様々な免疫反応を有している。細菌由来の毒素などによる歯周組織の破壊やリンパ球の不活化などにより慢性炎症化し歯槽骨の破壊が進行すると考えられるが、解明するべき点が多い。本研究では歯周病原性細菌の感染により惹起される炎症と炎症巣に遊走される細胞動態を解明することを目的し、我々が確立した歯周病モデルマウスを用いて歯肉炎症巣に発現されるexosomeについて検討した。歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) をマウスに経口感染し感染開始後1、3、7、15日目にマウスから歯肉リンパ球 (Gingival mononuclear cells; GMCs) を採取し、蛍光標識された抗マウスCD9、CD63、CD81抗体を用いてexosomeの発現をフローサイトメーターを用いて経時的に検討した。興味深いことに *Pg* 感染開始から7日後の歯肉炎症巣から単離したGMCsに顕著なexosomeの発現が認められた。exosomeには生体の炎症マーカーや細胞遊走に関与すると考えられるmicroRNAが豊富に含まれていることから炎症に関わるリンパ球や顆粒球の遊走や病態の診断が可能なマーカーとして評価することが可能と考えられる。

P-17

2504

老齢マウスにおける歯周組織の解析
－特に細胞間接着因子の発現動態について－

高田 鮎子

キーワード：老齢マウス、細胞間接着因子、クラウジン1、カドヘリン

【目的】加齢による歯周組織の変化、特に上皮の細胞間接着分子の変化について老齢マウスを用いて調べ、それらと歯周病の病因との関連性を検討する。

【材料と方法】31, 35月齢の老齢マウスの下顎骨を採取・固定し、μCTにて撮像後、画像解析ソフトで骨吸収率を計測した。また20月齢の老齢マウスの下顎骨を固定後パラフィン切片を作成し、HE染色するとともにClaudin-1, E-cadherinの免疫組織染色を行なった。対照には、6週齢の同種マウスを用いた。

【結果と考察】老齢マウスでは、骨吸収の亢進と歯の脱落がみられ、根分岐部の骨吸収率は若齢マウスと比べ有意に高かった。また、歯肉退縮、セメント質の肥厚や第三象牙質の出現が確認された。若齢マウスでは、Claudin-1は付着上皮の上部に発現していたがCEJ付近の上皮にはみられなかった。老齢マウスでは付着上皮が消失し、退縮した上皮がセメント質に付着し、Claudin-1はその上皮細胞周囲に存在していた。E-cadherinは若齢マウスの付着上皮の細胞周囲と口腔粘膜上皮の基底層から4—6層の細胞周囲に存在していたが、老齢マウスではCEJ以下まで退縮しセメント質に付着した上皮8—10層の細胞周囲に発現してした。老齢マウスの歯周組織では歯肉退縮、セメント質の肥厚や第三象牙質の出現等の一般的な加齢変化が確認された。また、付着上皮の退縮とともに滲出液の分泌に関わる細胞や細胞間接着因子の発現部位に変化が認められた。これらの変化は歯周病原菌やその毒素の浸透性や歯周組織からの滲出反応などに影響を及ぼす可能性が考えられる。

【結論】老齢マウスでは若齢マウスに比べ根分岐部歯槽骨の有意な吸収とともに、細胞間接着因子の局在に変化がみられた。

P-19

2504

低酸素環境はヒト口腔上皮細胞におけるS100A8発現を抑制する

廣島 佑香

キーワード：低酸素環境、S100A8、口腔上皮細胞

【目的】生体内の低酸素環境は、低酸素誘導因子（Hypoxia inducible factor: HIF）を介して炎症反応ばかりでなく、血管新生を促進することから創傷治癒や組織再生にも関与していると考えられている。一方、上皮細胞が恒常的に発現するカルプロテクチンの構成成分であるS100A8は、自然炎症やアレルギー反応への関与が報告されているが、歯周病病態での働きは明らかでなく、低酸素環境に暴露される口腔上皮細胞における発現調節機構も不明である。本研究では、低酸素環境がヒト口腔上皮細胞におけるS100A8発現に及ぼす影響とその機構について検討を行った。

【材料および方法】ヒト口腔上皮細胞（TR146）を低酸素分圧下（1% O₂）や正常酸素分圧下で培養し、通法に従いRNAを抽出した。S100A8, TNF-α, TGF-βおよびHIF-1αの遺伝子発現をRT-PCRやreal-time PCRにて分析した。蛋白発現をウェスタンブロット法やELISAにて検討した。また、低酸素刺激の作用機構を検討するためsiRNAを用いてHIF-1α発現をノックダウンし、各遺伝子発現への影響を検討した。

【結果および考察】低酸素環境では正常酸素環境下と比較してS100A8の遺伝子および蛋白の発現減少が認められた。一方、サイトカインのTNF-αとTGF-βの発現は低酸素環境で増加した。HIF-1α発現をノックダウンした場合、低酸素刺激によりTNF-αとTGF-βの発現増加は抑制されたが、S100A8発現の抑制解除は認められなかった。これらの結果から、低酸素環境によるS100A8の発現減少は、サイトカインなどの場合と異なりHIF-1αを介さず、間接的な作用機構により制御される可能性が示唆された。

P-18

2203

歯周病原細菌の歯肉上皮バリア突破機構

高橋 晋平

キーワード：歯周病原細菌、P. gingivalis、上皮バリア通過

【目的】歯周病原細菌は歯肉上皮バリアを突破し組織に侵入する。その機序としては上皮細胞内を通過するルートと上皮細胞間隙を通過するルートが挙げられているが、保有するビルレンス因子の違いにより異なる可能性がある。本研究では、培養歯肉上皮細胞（Ca9-22細胞）を用いた実験系を作製し、*Porphyromonas gingivalis*および*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*の経時的な歯肉上皮バリア突破能およびその特異性について検討した。

【方法】Double-chamberの上部chamber（孔径3 μm）にCa9-22細胞を播種、3日間培養後、抗菌薬を含まない無血清培地に交換した。上部chamberに*P. gingivalis* ATCC 33277株（Pg）、*A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384株（Aa）の菌液（最終：2.5 x 10⁷ CFU/ml）を添加し、経時的に上部chamber中に残存する菌量および下部chamberへ通過した菌量をreal-time PCRにより測定した。実験終了後、FITC-dextranを用いて細胞間結合組織の破壊状態について検討した。さらに上皮細胞を洗浄・回収後、細胞中に存在する菌量を同様に測定した。

【結果】今回用いた実験系では、Pg、Aaとも時間の経過とともに上皮細胞中への侵入菌数および下部chamberへの通過菌数が増加し、いずれも菌液添加後6時間で有意の増加を示した。しかし、FITC-dextranを用いた細胞間結合組織の破壊はPg群でのみ認められた。

【考察】Pg、Aaはいずれも単独で歯肉上皮バリア突破能を有し、その菌量は経時的に増加することが明らかとなった。しかし、Pgでは上皮細胞内を通過するルートと上皮細胞間隙を通過するルートの両者が関与するのに対し、Aaでは上皮細胞間隙を通過するルートの関与が極めて低いことが示唆された。

P-20

2202

オートファジーを用いたヒトケラチノサイトのLPS刺激適応能

萩尾 佳那子

【研究目的】歯周上皮組織を構成するケラチノサイト（KC）は、LPSストレスに対してオートファジーにより適応している可能性がある。そのオートファジー経路について検討した。

【方法】1) オートファジーの誘導：KCにはHaCaT細胞を用いて、E. Coli由来およびP. gingivalis由来LPSを添加させ誘導した。2) オートファジー検出：オートファゴゾムの検出およびオートファジー関連蛋白の検索を行った。3) オートファジー経路の検索：（1）細胞内ROSの検出、（2）MyD88, TRIFによるTLR4経路およびAMPKおよびPI3K経路の検索を阻害実験を含めて行った。4) オートファジーによるE. Coli bioparticlesの細胞内取り込みの検索を行った。

【結果・考察】LPS刺激によりKCにおいては、細胞内ROSの蓄積がみられ、オートファジーのマーカーであるLC3IIの発現増強を認めた。このオートファジー誘導は、ROS蓄積によるpAMPK発現増強によるPI3K/Beclin-1経路に関連することが示唆された。さらに、刺激KCでは、TLR4発現が認められ、MyD88およびTRIFの発現上昇と併せて、TLR4経路が活性化されたことが明らかとなった。また、MyD88阻害剤によりLC3IIおよびpBeclin-1発現およびオートファゴゾム数が減弱したことから、TLR4経路の一部がオートファジー誘導に関与することが示唆された。同様に、bioparticleの取り込みもMyD88阻害剤により減少した。この結果は、TLR4/MyD88経路がオートファジー関連のPI3K/Beclin-1経路に関連することを示唆している。

【結論】LPS刺激KCでは、TLR4/MyD88→AMPK→PI3K/Beclin-1経路の活性化によるオートファジー誘導により適応することが推測された。

P-21

2599

アロマトーゼ阻害薬が歯周組織構成細胞に及ぼす影響

長谷川 詩織

キーワード：アロマトーゼ阻害薬、歯肉増殖、歯肉繊維芽細胞

【目的】我々は閉経後乳がん治療薬であるアロマトーゼ阻害薬（アナストロゾール）服用後に全顎的な歯肉の腫脹を認めた一例を経験した。そこでアロマトーゼ阻害薬が歯周組織にどのような影響を及ぼすかin vitro実験系にて検討した。

【材料および方法】①歯肉繊維芽細胞（HGF）、血管内皮細胞（HUVEC）におけるアロマトーゼの発現をリアルタイムPCR法にて検討した。②アナストロゾール存在下でのHGFの増殖活性をWST-1法にて検討した。③アナストロゾールがHUVECの血管透過性に及ぼす影響についてFITC-dextran透過実験を行った。④アナストロゾールが歯肉線維芽細胞のI型コラーゲン、MMP-1、カテプシンB発現に及ぼす影響をリアルタイムPCR法にて検討した。

【結果および考察】HGF、HUVECにおいてアロマトーゼの発現を認めた。アナストロゾールは歯肉線維芽細胞の増殖を促進し、HUVECにおいて血管透過性を亢進した。またアナストロゾールはHGFにおいて、I型コラーゲンのmRNA発現を亢進する一方、MMP-1、カテプシンBの発現を抑制した。以上の結果からアロマトーゼ阻害薬は歯肉線維芽細胞や血管内皮細胞に作用して歯肉増殖症の病態形成に関与していると考えられる。

P-22

2504

歯周病の重症度と臨床検査指標との関連性についての統計的検討

河野 寛二

キーワード：重度慢性歯周炎、血漿抗体価、Porphyromonas gingivalis、喫煙

【目的】歯周病重症度と歯周病原細菌や血漿抗体価との関連性を示した研究報告はなされているが、感染度や炎症度を示す臨床検査指標との相互の関連性は、明らかにされていない。本研究は、歯周病重症度と感染度および歯周病の確立したリスク因子である喫煙との関連性について後ろ向きデータを用いて統計的検討を行った。

【材料と方法】被験者は、歯科施設（この歯科、文教通り歯科）に歯周治療を主訴として受診した40歳以上、残存歯20歯以上の初診歯周病患者66人（男性22人、女性44人、平均年齢52.0±7.9歳）を対象とした。慢性歯周病患者（n=66）を重度歯周炎（SEP群、n=29）中等度歯周炎（MOP群、n=26）軽度歯周炎（SLP群、n=11）の3群に分類し、全顎PD≥4mmの平均部位率（PD4mm%）、PD6mm%とP.g菌比率そしてP.g抗体価の相関性を検定した。さらに重度歯周炎のスクリーニングにおける、P.g抗体価とP.g菌比率そして喫煙の単独および組み合わせた場合の診断能を比較した。統計分析にはKruskal-Wallis検定、Spearman順位相関、ロジスティック回帰分析およびROC解析を用いた。

【結果と考察】P.g菌比率とP.g抗体価は、SEP群とMOP群とSLP群の群間で共に有意差が認められた。歯周病重症度と、P.g菌比率そしてP.g抗体価に有意な相関が認められた（p<0.05）。アウトカムを重症度としたROC解析では、P.g抗体価、P.g菌比率それぞれ単説明変数の場合（抗体価AUC=0.63菌比率AUC=0.72）に比べて、これらに喫煙も加えた3説明変数による統計モデルの方が診断能は高かった。（AUC=0.74）

【結論】重度慢性歯周炎の臨床指標として、P.g抗体価検査と細菌検査そして喫煙の組み合わせ検査が有効であることが示唆された。

P-23

2499

高脂肪食摂餌ラットにおいて惹起された実験的歯周炎が全身に及ぼす影響：血清中の生化学的パラメーター解析

倉治 竜太郎

キーワード：実験的歯周炎、Porphyromonas gingivalis、高脂肪食、生化学的パラメーター

【目的】高脂肪食（high fat diet; HFD）摂取は高血糖、脂質異常症などの代謝異常を誘導し、メタボリック症候群のリスクを増加させ、従来からHFD摂餌動物を用いた多くの研究が報告されている。一方で歯周病は、炎症性サイトカインなどを介して全身性代謝疾患を悪化させることが知られている。しかし、こうした動物モデルにおいて歯周炎が全身に及ぼす影響を網羅的に観察した研究は少ない。本研究の目的は、HFD摂餌ラットにおける糸糸結紮およびPorphyromonas gingivalis (P.g) 感染による実験的歯周炎が、血清中の生化学的パラメーターに与える影響を検索することである。

【材料と方法】実験期間中、雄性ラットにHFDを摂餌させ、軽度の代謝性変化を誘導した。実験開始から4週後、以下の3つの方法で実験的歯周炎惹起を試みた：上顎第一臼歯（M1）周囲へのP.g塗布（P.g群）、M1への糸糸結紮〔Ligature群〕、結紮＋P.g塗布の複合〔Combi群〕。対象には麻酔操作のみを行った〔Naive群〕。12週後、上顎と血液を採取し、歯周組織の病理学的評価と血清成分の生化学的解析を行った。

【結果】歯周組織において、Ligature群とCombi群ではNaive群に比べ、有意な歯槽骨吸収、組織破壊が観察されたが、P.g群では軽度な炎症細胞浸潤のみを認めた。生化学的パラメーターについては、Ligature群とCombi群で空腹時血糖値、LDH、ASTとALTの上昇傾向を示し、特にCombi群で有意に増加した。しかし脂質および腎機能に変化は認められなかった。

【結論】糸糸結紮により実験的歯周炎を惹起したHFD摂餌ラットにおいて、空腹時血糖値、LDHおよび肝機能パラメーターが上昇し、それらはP.g感染によりさらに有意に増加した。

P-24

2499

Porphyromonas gingivalisはSOCS3やIRS-1を制御して肝臓におけるインスリンシグナルを抑制する

吉田 賀弥

キーワード：Porphyromonas gingivalis、インスリンシグナル、Insulin receptor substrate (IRS) -1、Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 3

【目的】インスリンは、インスリンレセプターと結合した後にInsulin receptor substrate (IRS) -1や下流のAkt、GSK-3βをリン酸化してインスリンシグナルを活性化し、血糖値を正常に維持する。Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 3は炎症により誘導され、IRS-1のリン酸化を阻害すること、IRS-1のエピキチンリガーゼとして働きIRS-1の分解を促進することによりインスリンシグナルを阻害する。歯周病は糖尿病を増悪すると知られるが、歯周病がインスリンシグナルを制御する分子的作用機序の詳細は不明である。そこで今回我々は、歯周病原菌Porphyromonas gingivalis (Pg) が肝臓におけるインスリンシグナル与える影響を、IRS-1やSOCS3に着目し検討した。

【材料と方法】ヒト肝臓癌由来細胞株HepG2の培養上清中に、タグとしてSNAP26b蛋白質を発現させたPg ATCC33277の形質変換株（S-Pg）を添加し、各因子の発現やリン酸化をウェスタンブロット法により検出した。MG-132を用いてプロテアソーム活性を阻害した。RNAiによりSOCS3の発現を抑制した。

【結果と考察】S-PgはSOCS3の発現を亢進した。この時、IRS-1蛋白質の発現量は減少したが、MG-132作用で回復したことから、S-PgがIRS-1蛋白質の分解を促進すると考えられた。また、インスリンにより亢進したIRS-1、Akt、GSK-3βのリン酸化はS-Pgを添加すると減少し、SOCS3 RNAiがその効果を解除したことから、S-Pgにより誘導されたSOCS3がIRS-1のリン酸化を抑制し、下流のインスリンシグナルを阻害することが示された。

【結論】PgはSOCS3を誘導してIRS-1を制御し、肝臓におけるインスリンシグナルを抑制した。

P-25
2402

糖尿病を有する高脂血症患者における尿酸とP. gingivalisの関係

渡邊 裕之

キーワード：糖尿病, 高脂血症, P.gingivalis

【目的】高脂血症や糖尿病は動脈硬化の主要なリスク因子であり, 糖尿病と歯周病は相互に関係していることが報告されている。近年, 歯周病原細菌と動脈硬化の関係が報告されているが, 糖尿病と歯周病原細菌との関係については十分に明らかになっていない。本研究では糖尿病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 (P.g) およびA.actinomycetemcomitans (A.a) 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高脂血症患者110名 (糖尿病48名, 非糖尿病62名) を被験者とした。Real time PCR法を用いて唾液中のP.g細菌量およびA.a細菌量を測定した。血清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.g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】糖尿病を有する高脂血症患者ではP.g細菌量がSODと尿酸に対してそれぞれ有意な正負の相関を示したが, 非糖尿病の高脂血症患者では相関は認められなかった。全被験者においてベンズプロマロン服用者は非服用者よりもP.g細菌量が有意に高かった。A.a細菌量と各測定値と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, 糖尿病患者においてP.g細菌量と尿酸の間に有意な負の相関が認められた。

【考察】糖尿病を有する高脂血症患者における尿酸の減少はP.gの増加をもたらす可能性が示唆された。

P-27
2203

ジンジバインと酸化LDLとのエピトープ交差反応性

落合 智子

キーワード：歯周病原細菌, 酸化LDL, 動脈硬化

【目的】近年の研究から歯周病が動脈硬化のリスクを増強していることが報告されている。我々は*Porphyromonas gingivalis*が炎症を誘発することにより高脂血症Apoe欠損マウスのアテローム性プラーク形成を増強することを報告して来た。リポタンパクの酸化修飾は動脈硬化進展において重要な役割を果たしており, また歯周病の悪化に伴い歯肉溝滲出液中の酸化LDLが増加することが報告されている。そこで本研究では, 低比重タンパク (LDL) に対する*P. gingivalis*の酸化促進活性並びにgingipainと酸化LDLの交差反応性を検討した。

【材料と方法】*P. gingivalis* 381株をi.v. 投与したApoe^{sh}マウスの大動脈洞の動脈硬化形成はOil red-O染色にて計測した。抗マウス酸化LDL, 4HNE, PLA2, MPO及びCD36の発現は免疫組織染色にて解析した。細胞内ROS産生はH2DCF-DAを用いて計測した。LOX-1, NOX-2, NOX-4, p22phox及びp47phoxの発現は定量PCRにて解析した。*P. gingivalis*菌体又はgingipainと酸化LDLとの交差反応性はox-LDL ELISA kitまたはWestern blotを用いて測定した。

【結果と考察】*P. gingivalis*暴露は動脈硬化部位において酸化LDL, 4HNE, PLA2, MPO及びCD36の発現を増強した。更に*P. gingivalis*感染群の心臓組織においては, TLR2, LOX-1及びNAPDH oxidase関連遺伝子の発現増強が認められた。*P. gingivalis*生菌は酸化LDL抗体と濃度依存的に反応し, その反応はArg-及びLys-gingipain阻害剤又はRgp-及びKgp-欠損株により有意に抑制された。これらの結果は*P. gingivalis*がLDLの酸化及びエピトープ交差反応性を介して動脈硬化を促進している可能性を示唆するものである。

P-26
2504

実験的歯周炎モデルマウスにおける抗HMGB1抗体の歯周炎抑制効果

吉原 千暁

キーワード：歯周病, 抗HMGB1抗体, 実験的歯周炎

【目的】核内蛋白であるhigh mobility group box 1 (HMGB1) は, 炎症刺激により分泌され炎症メディエーターとなるユニークな分子であり, 歯周炎局所でもその存在が報告されている。現在では多くの疾患でHMGB1阻害剤の治療応用が検討されている。今回, HMGB1が歯周炎の進行に関与するという仮説の下, 抗HMGB1抗体を用いた歯周炎の進行抑制効果を検討した。

【材料および方法】マウスモデル作製:マウスの歯頸部に絹糸を結紮後,*P. gingivalis*菌液の浸透及び抗体の腹腔投与を3日毎に行い, 4群を設定した (健常群, 対照抗体群, 抗HMGB1抗体 10ug/匹群, 25ug/匹群)。7日目及び21日目に組織学的解析を行った。抗HMGB1抗体は, 本学の西堀正洋教授の供与である。解析:上顎骨を摘出後, ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性を測定した後, マイクロCT画像から歯槽骨量を計測し, HMGB1を蛍光免疫染色にて観察した。

【結果】MPO活性は, 21日目よりも7日目の対照抗体群で強く, ともに抗HMGB1抗体の濃度依存的に抑制された。歯槽骨吸収は, 7日目では全ての群で検出されず, 21日目の対照抗体群では70%, 抗HMGB1抗体群では86%であった。両日ともにHMGB1の局在は, 健常群では核内であり, 対照抗体群ではその局在が減少し, 抗HMGB1抗体群では濃度依存的にその局在が増加した。

【考察と結論】本研究では, 抗HMGB1抗体によって歯周組織の炎症抑制効果と歯槽骨の吸収抑制効果が観察された。これは, 炎症刺激によって細胞外へ分泌されたHMGB1の炎症メディエーターとしての機能を抗体が阻害した結果と考える。また, HMGB1はオートクリンおよびパラクリン的に作用して歯周炎を進行させることが示唆された。

P-28
2504

日本人における喫煙由来歯肉着色の年齢による差異

加藤 智崇

キーワード：歯肉着色, 喫煙

【目的】第58回春季日本歯周病学会学術大会にて, 我々は喫煙由来の歯肉着色を定量的に評価することを目的に歯肉着色評価法を報告した。今回, その歯肉着色評価法を用いて, 日本人における年齢と喫煙由来の歯肉着色との関連を明らかにすることを研究の目的とした。

【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ろ向きコホート研究である。各歯科医院で撮影された口腔内規格写真を利用し, 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ものである。年齢別に20歳代から70歳代の患者ごとにGMRおよび古典的な歯肉着色評価法であるHedinの分類を求めた。

【結果および考察】解析対象は262名であり, 喫煙年数は患者年齢との間に正の相関がみられた。一方で, 年代別の平均GMRでは30歳代が最も高く, 次に20歳代であり, 40歳代, 50歳代, 60歳代, 70歳代の順に続いた。また, Hedinの分類においても同様の傾向がみられた。これは, 若年層の方がメラニン色素産生細胞の活性が高いため, 喫煙の影響が大きく現れやすいことが原因と思われる。今後は, 禁煙指導に有用な根拠の構築をめざし, 喫煙由来の歯肉着色における年齢ごとの禁煙の効果を検討する予定である。

【結論】年齢の違いにより喫煙由来の歯肉着色量は異なり, 特に20歳代, 30歳代の若年層が, 他の年齢層に比べて着色量が多くなることが示唆された。

P-29

頸動脈石灰化（頸動脈狭窄症）と現在歯数、年齢との関係

2199

石岡 康明

【緒言】歯周病が、心筋梗塞や脳卒中の原因である動脈硬化症のリスク因子であることが、多くの疫学研究より報告されている。しかし、頸動脈石灰化（頸動脈狭窄症）と口腔内所見の関連性に関する報告はない。今回我々は、Computed Tomography (CT) 検査で、頸動脈石灰化と診断された症例において、現在歯数と年齢との関連性に関する臨床検討を行った。

【検討方法】顎口腔領域疾患の診断のために、パノラマエックス線写真およびCT撮影を施行した患者を健常群と頸動脈石灰化群に分け、パノラマエックス線写真より現在歯数と年齢との関連性に関する検討を行った。

【結果および考察】対象は、351名（男性：194名、女性：157名）で、年齢は40歳から95歳、平均年齢は 66.1 ± 11.7 歳、平均現在歯数は 19.6 ± 7.9 歯であった。そのうち、頸動脈石灰化群は、181名（男性：97名、女性：84名）、平均年齢は 71.9 ± 10.3 歳、平均現在歯数は 16.3 ± 8.5 歯であり、健常群は、170名（男性：97名、女性：73名）、平均年齢は 60.1 ± 10.0 歳、平均現在歯数は 23.0 ± 5.1 歯であった。年齢では、50歳以上から頸動脈石灰化の症例が増加し、60、70歳代で著明であった。年代ごとの性別は、70歳代男性、70歳代女性、60歳代女性の順に多かった。健常群と頸動脈石灰化群の平均現在歯数の比較では、有意差が認められた（Un-paired T-test, $p < 0.001$ ）。今後は、症例数を増やすとともに、脳梗塞、心筋梗塞、高血圧症などの心血管疾患患者の検討を行い、現在歯数や年齢との相関関係を詳細に検討していく予定である。本研究は、松本歯科大学倫理委員会の承認（No.0152）を受けており、さらに、COIの基準も満たし利益相反はない。

P-30

歯周組織の状態と高脂血症及び糖尿病との関連

2504

清水 伸太郎

キーワード：歯周病、高脂血症、糖尿病

【目的】高脂血症は歯周病のリスクファクターであることが報告されている。高脂血症患者ではしばしば糖尿病も認められるが、高脂血症と糖尿病が歯周組織に与える影響については十分に明らかとなっていない。本研究の目的は、高脂血症及び、糖尿病と歯周組織の状態との関連を解析することである。

【材料および方法】北海道医療大学病院歯科に通院中の患者152人（内科通院中の者132人、通院していない者20人）を対象として、内科的検査及び歯科検査を行った。内科通院中の者には高脂血症患者110人、糖尿病患者76人が含まれていた。高脂血症及び、糖尿病の有無と歯周組織の状態の関連を解析した。歯周組織の状態を従属変数として重回帰分析を行った。

【結果および考察】高脂血症あるいは糖尿病、または両方を有する患者は、両方を有さない患者と比較して、また、高脂血症と糖尿病を両方有する患者は、高脂血症のみを有する患者と比較して歯周パラメーターが有意に高い値を示した。重回帰分析の結果、4mm以上の歯周ポケットの割合は高脂血症の有無、糖尿病の有無及び、P.gingivaris歯数と有意に関連しているのが認められた。

【結論】今回の結果、高脂血症と糖尿病は重度歯周炎と相加的に関連することが示唆された。

P-31

妊婦と非妊娠女性における口腔微生物叢の解析

2504

加藤 幸紀

キーワード：口腔細菌、妊娠、女性ホルモン

【目的】妊娠や月経といった女性ホルモンの変化が歯周組織に影響することが知られている。しかし、妊娠時の口腔内細菌叢の変化については明確には示されていない。本研究では、20-30代の妊婦と妊娠していない女性を被験者として、唾液中の微生物叢について検討することを目的とした。

【材料と方法】妊婦（25名）と規則正しい月経周期を有する女性（10名）を被験者とした。北海道医療大学歯学部・大学院歯学研究科倫理審査委員会の承認のもと、被験者から同意を取得した。各群3名の被験者の唾液から分離したDNAをテンプレートとして、16SrRNAの全細菌に共通する配列に対するプライマーを用いてPCR法にて増幅後、得られたPCR産物でメタゲノム解析を実施した。さらに全被験者の唾液を検体としてReal time-PCR法にて定量分析を行った。また、別に採取した全被験者の唾液中のプロゲステロン量とエストロゲン量をEIA法で定量した。

【結果】妊婦と月経期にある非妊娠女性を比較したところ、1.メタゲノム解析の結果、妊婦にのみ*Bifidobacteriaceae*目が認められた。2.Real time-PCR法の結果、妊婦の*Bifidobacterium*は有意に増加していた。3.妊婦において、唾液中のプロゲステロン量とエストロゲン量は有意に増加した。

【考察】*Bifidobacterium*は母乳育成の幼児児糞便中に多くみられ、腸内環境改善作用、感染防御、免疫調節、脂質代謝改善といった効果が多く報告されている。本研究で妊婦の唾液中の*Bifidobacterium*が有意に増加したことは、母親の口腔常在菌が子の腸内細菌叢形成に影響する可能性を示す所見と思われた。会員外協力研究者：波多江 正紀博士、柿木 博成博士（鹿児島市 柿木病院）

P-32

歯周病患者に対しプロバイオティクスを用いたバクテリアセラピーを行った口腔細菌フローラと腸内細菌フローラの関係

2401

吉野 敏明

キーワード：プロバイオティクス、バクテリアセラピー、口腔細菌フローラ、腸内細菌フローラ、*Lactobacillus reuteri*

【目的】我々は昨年の第58回春季日本歯周病学会において、歯周病患者に対してプロバイオティクスを用いたバクテリアセラピーを行うことにより、歯周病原細菌の中のRed complexが有意に減少すると同時に、抗生物質の様に総菌数を減少させることなく口腔細菌フローラが改善することを示した。本研究で用いたプロバイオティクスに含有されている*Lactobacillus reuteri*（以下*L. reuteri*）は哺乳類や鳥類の消化管に生息しているグラム陽性乳酸桿菌の一種で下痢、便秘を含む機能的胃腸疾患、ビロリ菌、虫歯菌、歯周病菌の発育抑制などを目的に広く利用されている。また*L.reuteri*は口腔、胃の幽門、小腸、回腸などでコロニー形成をして定着することが知られている。そこで今回口腔細菌フローラを改善するプロトコルにて腸内細菌フローラの改善及び全身の免疫の健康も同時に改善できるかを検討した。

【材料及び方法】Baseline時にヒト20名より採取した糞便よりT-RFLPフローラ解析により腸内細菌フローラ解析、ELISA法により糞便中IgA分析、並びに唾液より競合ELISA法により分泌型免疫グロブリンA（Secretory Immunoglobulin A、以下SIgA）定量を行った。その後1日3回のプロバイオティクス服用を3週間行い、終了してから3日後に再びBaseline時と同様の検査を行った。

【結果】Baseline時と比較して腸内細菌フローラは有意に善玉菌の比率が増加し、糞便中IgA、唾液中SIgAも有意に増量した。

【結論及び考察】これにより、プロバイオティクスを用いたバクテリアセラピーが口腔内細菌フローラの改善のみならず、腸内細菌フローラの改善、口腔内並びに全身の免疫力の向上に貢献できる可能性が高いことが示唆された。

P-33

2402

歯周炎を伴う脳膿瘍患者における血中および唾液
サイトカイン定量

村井 治

キーワード：歯周炎，サイトカイン，脳膿瘍

【はじめに】歯周疾患をはじめとする細菌感染症では炎症性サイトカインによる全身への影響が指摘されている。今回重度歯周炎の関与が疑われる脳膿瘍患者において、歯科初診時および治療開始6か月後の末梢血中、唾液中のサイトカイン量および歯周病原関連細菌血中IgG抗体価を測定した。

【材料と方法】原因不明の脳膿瘍で岩手医科大学附属病院に入院し、感染巣の精査を目的として歯科医療センターに紹介された患者を症例とした。セーフティランセット（日本ベクトン・ディッキンソン社®）を用い右手第二指穿刺より採血後遠心分離器にて血漿分離し、歯周病原菌IgG抗体価キット（サンスター社®）を用いて抗体価の測定を行った。Salimetrics Oral Swab（フナコシ®）で舌下唾液を採取し直後に遠心分離した。各サンプルは - 80℃ で保管後に、Bio-Plex サスペンションアレイシステム、サイトカインアッセイキット（Bio-Rad）を使用してサイトカイン量の測定を行った。

【結果】細菌感染症の病態形成に関与するIL-1α、IL-1βは血液、唾液中とも初診時に非常に高値を示したが、治療開始6か月後に減少した。また唾液中のVEGFがメンテナンス時に軽減し、歯周病原関連細菌血中IgG抗体価の減少と併せて口腔内炎症の改善が見られた。

【考察】今回の症例では拔牙を含む歯周治療が血液及び唾液中のTNF-α、IL-1βなどのサイトカイン量に影響を与えた可能性がある。

P-34

2402

医科から歯科へ院内紹介のあった症例の検討

久野 彰子

キーワード：入院患者，全身状態，拔牙

【目的】医科入院患者においては、手術やがんの化学療法等で全身状態が悪化しやすい症例や、ビスフォスフォネート製剤等の投与で顎骨壊死の問題を考慮した歯科治療が必要となる症例が多い。今回、医科から歯科へ院内紹介のあった症例を通して、医科入院患者における歯科的問題点と、処置内容のうち、特に拔牙となった症例について検討したので報告する。

【方法】日本医科大学付属病院ではH27年4月に主に入院患者の歯科治療を目的に歯科（口腔科）を新設している。本調査ではH27年4月から9月までの6ヶ月間に、口腔科へ院内紹介のあった患者136名（延べ140名）を対象に、紹介目的やその処置内容について検討を行った。

【結果と考察】歯科へ院内紹介のあった延べ140名の依頼内容は、がんの化学療法や放射線療法前または療法中の口腔内精査61名、冠脱離や義歯修理などの補綴処置が27名、粘膜面の精査17名、歯の動揺の精査が10名、歯の痛みの精査9名、その他が16名であった。歯科での処置内容のうち最も多かったものはスケーリング等の口腔清掃処置で43名に行っており、次いで拔牙を34名に行っていた。拔牙を行った者のうち、歯周病による歯の動揺が原因の者は22名であり、その他は根尖性歯周炎やう蝕による拔牙であった。歯周病が原因で拔牙となった者のうち、実際に歯の動揺精査で歯科に依頼があった患者は7名であり、その他15名は化学療法前などに口腔科で精査の結果、拔牙する歯があると判断された患者であった。今回、拔牙の必要性は歯科で初めて認識されることが多かった。今後、入院前の歯科受診を患者に啓蒙すると共に、医科歯科連携をより進めていく必要がある。

P-35

2499

佐渡在住の成人における歯槽骨吸収度と血中肝機能
マーカーとの関連性について

黒木 歩

キーワード：肝機能マーカー，歯槽骨吸収度，横断研究

【目的】近年歯周炎が非アルコール性肝障害に影響しているという報告があり、また東京の会社員を対象とした調査で、γ-GTP（GGT）が飲酒習慣とは独立して歯周炎と関連するという報告もなされた。そこで本研究では、新潟県佐渡市に在住する成人を対象に歯槽骨吸収度と血液肝機能マーカーの関連性について明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】佐渡総合病院を受診した佐渡市の住民にProject in Sado for Total Health（PROST）への参加を呼びかけ、承認を得た2529名を対象とした。そのうち歯科でパノラマ撮影を行ない、その後採取され、かつ歯周治療前の血中GGT、AST、ALT値を有する者は152名であった（男性69名、女性83名、平均年齢は72.3歳）。残根を除く全ての残存歯について近・遠心の骨吸収度を測定し、0 - 24%を1、25 - 29%を2、50 - 74%を3、75 - 100%を4と分類した。1歯でも3以上の歯があれば歯周炎ありと定義した。また飲酒習慣、喫煙習慣についてアンケートを行ない、これらのデータより血中肝機能マーカーと歯周炎の有無との関連性について解析した。

【結果と考察】年齢、性別、飲酒習慣、喫煙状況を調節因子としたロジスティック回帰分析の結果、歯周炎の有無と基準値を超える血中肝機能マーカーとの間に有意な関連性は見られなかった。またBMI25以上と高血圧（収縮期血圧 $\geq$ 130mmHgまたは拡張期血圧 $\geq$ 85mmHg）がAST、ALTと有意な関連性を示した。

【結論】佐渡市の成人において歯周炎の有無と血中肝機能マーカーの間に有意な関連性は見られなかった。

P-36

2401

Porphyromonas gingivalis PAD血清抗体価のサイト
カイン標的療法反応性への影響

小林 哲夫

キーワード：Porphyromonas gingivalis，PAD，サイトカイン標的療法

【目的】Peptidylarginine deiminase（PAD）を介した蛋白シトルリ化は関節リウマチ（RA）に関与し、*Porphyromonas gingivalis*由来のPAD（PPAD）のRAへの影響も示唆されている。そこで、PPADに対する血清抗体価のサイトカイン標的療法反応性に及ぼす影響について評価した。

【材料と方法】インフォームドコンセントが得られ、腫瘍壊死因子（TNF）およびインターロイキン-6受容体（IL-6R）に対する阻害薬投与予定のRA患者60名を対象に、投与前（ベースライン）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PPAD抗体価、抗環状シトルリ化ペプチド（anti-CCP）抗体価、リウマトイド因子、CRPレベルを各々ELISA法にて測定した。

【結果と考察】全対象者のベースラインPPAD抗体価の中央値を基準に高値群30名と低値群30名に分類したところ、ベースラインのRA活動度に有意な群間差はなかったものの、PPAD抗体価高値群では低値群と比べてRA活動度の改善量は有意に低かった。また、ベースラインPPAD抗体価はRA活動度の変化量ならびにanti-CCP抗体価の変化量と各々有意な正の相関を認めた。

【結論】以上から、PPADに対する血清抗体価はRA患者におけるサイトカイン標的療法の反応性に影響を及ぼす可能性が示唆された。会員外共同研究者：村澤 章博士、中国 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-37

2402

地域の医科歯科連携による歯周病と動脈硬化性疾患の関連性に関する統計学的検討

工藤 値英子

キーワード：歯周病，動脈硬化性疾患，医科歯科連携

【目的】近年，動脈硬化性疾患と歯周病の関連性を示す報告が多くなされている。我々の研究グループである歯科が共に参画している保険医協会医会において，地域での医科歯科連携医療を実践しながら，同テーマに関する前向き多施設症例集積研究を6年にわたり行った。これまでに，歯周病原細菌の感染度を示す *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に対する血漿IgG抗体価と血中LDL-C値が正の相関を示すことをすでに報告した (Kudo C. *et al.*, Odontology, 2014)。今回，追加症例を含めた最終報告を行う。

【材料と方法】本研究への参加施設に属する医科受診中の生活習慣病患者と歯科を受診し医科未受診の歯周病患者104名を対象として，生活習慣病関連全身検査（血圧測定，血液検査，右baPWV，左右総頸動脈maxIMT）と歯周病関連検査（歯周組織検査，*P. gingivalis* に対する血漿IgG抗体価検査）を行い，歯周治療前後で歯周病と動脈硬化性疾患の臨床マーカーとの関連性を評価した（岡山大学研究倫理委員会承認：#2114，神奈川歯科大学倫理委員会承認：#300）。

【結果と考察】歯科初診時におけるロジスティック回帰分析から，*P. gingivalis*-IgG titerは動揺歯数率とLDL-C値に正の関連があった。歯周治療によって歯周状態は有意に改善し，左右総頸動脈maxIMT値が有意に改善した。

【結論】歯周病の進行が動脈硬化性疾患の進展に関与している可能性と，医科歯科連携による歯周治療が動脈硬化性疾患の改善に寄与する可能性が示唆された。[平成22年度 日本歯周病学会企画調査研究]

P-38

2504

慢性歯周炎患者の歯肉組織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】コルチゾルはヒトにおける主要なグルコルチコイドであり，生体において代謝の制御，免疫応答などに関与する。11β-HSD1は，不活性型であるコルチゾンから活性型であるコルチゾルに変換する酵素であり，過剰な活性化はメタボリックシンドロームに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，他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肉組織における11β-HSD1の発現についてReal-time PCRおよび組織学的観察により検討した。

【材料と方法】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（P）群，矯正治療のために健全歯牙を抜歯した患者を対照（C）群とした。それぞれ歯肉組織を採取し，total RNAを抽出しReal-time PCRを行い，比較検討した。またHE染色，免疫組織染色を行い光学顕微鏡で観察した。

【結果と考察】P群での11β-HSD1の発現はC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C群と比較して有意差はないが低かった。11β-HSD1対11β-HSD2の比はC群と比較してP群で有意に高かった。また免疫組織染色でも，P群において11β-HSD1の発現が多く認められた。これらの結果より慢性歯周炎における11β-HSD1の関与が示唆された。今後，歯周病モデルラットを用いて，慢性歯周炎と11β-HSD1の関連を検討していく。

P-39

2504

低侵襲で行う歯周外科が骨吸収およびコラーゲン形成に及ぼす影響

東 仁

キーワード：低侵襲歯周外科，早期創傷治癒，外科的歯周組織欠損

【目的】Mist (Minimally Invasive Surgical Technique) やModified-Mistなど歯周組織再生療法を低侵襲な術式で行うことで，良好な臨床結果が得られることが数多く報告されている。しかし，その良好な結果を導くことができる組織学的な根拠は，現在のところ明らかにされていない。そこで本研究は低侵襲に行う歯周外科が歯周組織の早期創傷治癒にどのように影響を与えるのかを明らかにするために，ラットに低侵襲な手技で歯周組織欠損を作成し，その早期治癒過程を組織学的に観察する。

【材料と方法】12週齢のSD系ラット15匹を用いた。左側臼歯部を対照（オープンフラップ）側として頰側，口蓋側ともに第一臼歯から第三臼歯までの剥離を行った。右側臼歯部を実験（低侵襲）側として第二臼歯口蓋側のみを骨頂がわずかに確認できる程度に剥離した。第二臼歯口蓋根部に対して，直径1mmのラウンドバーを用いて外科的に歯周組織欠損を作製した。術後1，3，5日にラットを安楽死させ，被験歯根を含む歯周組織を一塊として摘出し，試料を作成した。その後，切片を作成し，HE染色，TRAP（酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ）染色，抗Ⅲ型コラーゲン抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い，光学顕微鏡下で観察した。

【結果と考察】実験側では早期に炎症細胞浸潤が消退していた。術後5日の対象側では欠損部や頰側歯槽骨部に沿ってTRAP陽性細胞の存在がみられた。また対照側と比較して実験側の方が，欠損部に多くの抗Ⅲ型コラーゲンが観察された。

【結論】低侵襲で歯周外科を行うことは，術部における骨吸収を抑制し，コラーゲンの新生を促進することが示唆された。

P-40

2504

サル自然発症歯周炎に対する補体C3インヒビターの治療効果について

前川 知樹

キーワード：補体，コムスタチン，サル

【目的】歯周炎の病態形成に，自然免疫の一つである補体経路の活性化が関連しているという報告がある。特に，C3は補体経路において，中心的な役割を果たしている。C3は活性化すると，C3/C5転換酵素となり，C5b以降の補体の活性化作用を持つ。我々はこれまでに，歯周炎では補体C3の過剰な活性化が引き起こされていることを明らかにし，C3転換酵素阻害剤である化学合成されたCp40ペプチドを，歯周炎を誘導したマウス，サルに投与実験することで，ヒト歯周炎治療への展開を模索してきた。本研究では，フィリピンにあるSICONBREK（大規模サル繁殖施設）にて，よりヒトの歯周炎に近い，自然発症型の歯周炎をもつサルを用いてCp40の歯周炎への効果を検討した。

【材料と方法】歯周炎を持つサルに対し，Cp40を週に1回，週に3回，歯肉局所に投与し，6週間おこなった。さらに，6週間はCp40の効果残存を評価した。歯周炎の評価は，ヒトに準じた歯周組織検査の他に，GCF採取による炎症性サイトカイン産生量の測定，歯肉・歯槽骨組織の免疫組織学的検索によっておこなった。治療前後の歯肉溝ブラークのマイクロバイオーム解析を行い，細菌構成バランスの変化を解析した。

【結果と考察】Cp40の局所投与は，週1回，3回に関わらず有意な歯周炎の改善傾向を認めた。加えて，炎症性サイトカインや骨吸収関連メディエーターの値の改善と，歯肉組織における破骨細胞数の減少も認められた。Cp40投与による，歯周炎の改善とともに，歯肉溝ブラーク中の歯周病原性細菌の絶対数と比率の減少も認められた。

【結論】Cp40の投与は，歯周炎と付随する炎症と破骨細胞分化を抑えることで，新しい歯周病治療戦略になる可能性がある。

P-41

歯肉上皮細胞でのアメラチン発現に対するmicroRNAの影響

2504

能田 佳祐

キーワード：アメラチン、歯肉上皮細胞、microRNA

【目的】Amelotin (AMTN) は、成熟期エナメル芽細胞から分泌され、エナメル芽細胞内基底層および歯肉付着上皮内基底層に発現するエナメルタンパク質である。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し、様々な疾患に関係することが報告されている。今回我々は、歯肉上皮細胞でのAMTNの転写調節に対するmiRNAの影響を解析した。

【材料および方法】マウス歯肉上皮細胞であるGE1にmiR-150、miR-200bおよびmiR-223発現プラスミドを導入し、AMTNのmRNA発現量の変化をリアルタイムPCRで検索した。-2200塩基対上流までのマウスAMTN遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼ (LUC) プラスミドのLUC遺伝子下流に4種類のマウスAMTN遺伝子3'末端非翻訳領域 (exon9, +1~+987, +1171~+1920, +1950~+2880) を挿入したコンストラクトを作成し、miRNA発現プラスミド (miR-150, miR-200b, miR-223) と同時にGE1に導入し、LUCアッセイを行った。さらにTNF- α 刺激後の活性の変化を解析した。

【結果および考察】GE1にmiR-150発現プラスミドを導入すると、AMTN mRNA量は増加したが、miR-200またはmiR-223発現プラスミドを導入しても、AMTN mRNA量は変化しなかった。AMTN exon9およびAMTN +1~+987を挿入したLUCプラスミドとmiR-150発現プラスミドをGE1に導入すると、LUC活性は減少し、TNF- α で刺激してもLUC活性は変化しなかった。現在、AMTNの転写調節におけるmiRNAの作用について解析中である。

P-43

低出力超音波刺激は P2X7 受容体を介して骨芽細胞のコラーゲン代謝を促進する

2206

間中 総一郎

キーワード：低出力超音波、マトリックスメタロプロテアーゼ、P2X7 受容体

【目的】骨芽細胞による骨形成にI型コラーゲンが大きく関与している。演者らは低出力超音波 (Low-intensity pulsed ultrasound: LIPUS) 刺激が、ATPの受容体であるP2X7受容体を活性化し、骨芽細胞による細胞外マトリックスタンパク産生を介して骨形成が促進されることを報告している (Manaka et al., FEBS Lett. 2015)。しかし、LIPUS刺激が骨芽細胞のコラーゲン代謝に及ぼす影響については不明な点が多い。そこで、LIPUS 刺激が P2X7 受容体を介した骨芽細胞のコラーゲン代謝に及ぼす影響を調べるため、本実験を企図した。具体的には、骨芽細胞が産生するI型コラーゲンおよびマトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix metalloproteinase: MMPs) に及ぼすP2X7受容体を介したLIPUS刺激の影響を細胞生物学的に検討した。【材料と方法】MC3T3-E1細胞を6well plateに播種し、14日間LIPUS刺激した。LIPUSはOSTEOTRON D2 (伊藤超短波株式会社、東京) を用いて、超音波出力 30 mW/cm²・発振周波数 3.0 MHz・刺激時間 30 min/day とした。P2X7受容体の関与を調べるために、P2X7受容体選択的アンタゴニストであるA438079を用いた。LIPUS刺激後の細胞を回収し、I型コラーゲン、MMPsおよびマトロプロテアーゼ組織インヒビター (Tissue inhibitor of Metalloproteinase: TIMPs) の遺伝子発現をreal-time PCR法で検討した。

【結果と考察】LIPUS刺激はI型コラーゲンの遺伝子発現を促進させる一方で、MMP-1、3および13を減少させた。さらに、TIMPsの発現には影響を及ぼさなかった。以上の結果から、LIPUS刺激はP2X7受容体を介して骨芽細胞のコラーゲン代謝を合成に傾けることが示唆された。

P-42

EMD-gel中のTGF- β 1の活性維持について

2504

丹羽 堯彦

キーワード：TGF- β 1、歯周組織再生、EMD

エムドゲインゲル (EMD-gel) はブタエナメルタンパクの粗抽出物にプロピレングリコールアルギネート (PGA) を加えた溶液である。この内には生理活性物質であるトランスフォーミング成長因子ベータ1 (TGF- β 1) も存在することが報告されている。

【目的】本実験は、EMD-gel中のTGF- β 1の活性維持に対し最も影響を及ぼすエナメルタンパクの特定およびTGF- β 1活性に及ぼすPGAの細胞に対する濃度の影響を調べることを目的とした。

【方法】EMD-gelを炭酸緩衝液にて混合後、ゲル濾過クロマトグラフィー (SEC) にてタンパク質を分画、ヒト歯根膜由来培養細胞 (PDL細胞) に対しアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を上昇させた画分中の主要タンパク質を逆相-高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) でさらに分離し特定した。異なる濃度のPGAにキャリアフリー (CF) およびキャリアーの結合した (+C) リコンビナントTGF- β 1を混合しPDLに対するALP活性を3, 5, 7日目と比較した。

【結果および考察】EMD-gelはSECにて130画分に分離し、39から55画分目にてTGF- β 1活性が検出された。TGF- β 1を含む画分をRP-HPLCにて32画分に分離し、8から13画分目にてPGAとTGF- β 1が検出され、17から21画分目においてはp148アメロゲンとTGF- β 1が検出された。PDL細胞に対するPGAの濃度は0.5%以下では細胞を死滅させないことが判明した。この条件下で、CF-TGF- β 1は7日目においてもALP活性は減少し、+C-TGF- β 1では活性が維持されていた。EMD-gel中のTGF- β 1は主要ブタエナメルタンパクのp148アメロゲンと結合していることが示唆された。またTGF- β 1の活性維持にはタンパク質が必要であることが示唆されたので、今後このアメロゲンの必要性を検討するつもりである。

P-44

骨吸収はsclerostinの発現低下を介して骨形成を促進する

2504

小出 雅則

キーワード：骨形成、スクレロスチン、骨細胞、骨吸収

【目的】骨の恒常性は骨吸収と骨形成の共役により保たれている。OPG欠損マウス (OPG-KO) では骨吸収のみならず骨形成も亢進している。近年、骨細胞から分泌されるsclerostin (Sost) は、骨形成を促進するWnt/ β -cateninシグナルのアンタゴニストであることが示された。我々は、骨吸収と骨形成の共役でsclerostinの発現調節に関わるか検討した。

【方法と結果】①骨吸収亢進マウスとして12週齢のOPG-KOを用いた。脛骨の免疫染色の結果、OPG-KOの β -catenin発現は対照マウスより増加していた。一方、OPG-KOのsclerostin発現は対照マウスより顕著に低下していた。②Real-time RT-PCR解析の結果、長管骨においてOPG-KOのSost発現は対照マウスより著しく低下していた。一方、OPG-KOのWnt/ β -cateninシグナルの標的遺伝子であるAxin2発現および骨形成の指標であるAlpl発現は対照マウスより増加していた。③8週齢のOPG-KOに抗RANKL抗体 (5 mg/kg) を腹腔に1回投与し、12週齢にて脛骨の免疫染色を行った。抗RANKL抗体投与により、OPG-KOの骨吸収は抑制された。一方、sclerostin発現は増加した。④Real-time RT-PCR解析の結果、抗RANKL抗体投与によりOPG-KOの長管骨のSost発現は顕著に増加した。一方、抗RANKL抗体投与によりOPG-KOのAxin2発現およびAlpl発現は著しく減少した。

【結論】骨吸収の促進は、骨細胞のsclerostin発現を低下させ、Wnt/ β -cateninシグナルおよび骨形成を亢進させた。骨代謝共役にはsclerostinの発現調節が重要な役割を担っていることが示唆された。会員外共同研究者：小林泰浩、山下照仁、上原俊介、飯村忠浩、中村美どり、保田尚孝、高橋直之

P-45

3199

間葉系幹細胞と細胞外基質からなる細胞集塊
Clumps of MSCs/ECM complex (C-MSCs) を用い
た新規他家細胞移植療法の基礎研究

竹下 慶

キーワード：骨再生，間葉系間質細胞集塊，細胞外基質，他家細胞移植療法

【目的】骨髄間葉系幹細胞(MSCs)と自己産生された細胞外基質(ECM)を利用して得られる細胞集塊Clumps of a MSCs/ECM complex (C-MSC) は3次元的にMSCsを培養・賦形・移植が可能で、組織再生を促進する。一方、幹細胞を安価・確実に供給する他家細胞移植療法のためにMHC class マッチした細胞バンクが進められているが、マイナー抗原に起因する拒絶反応のリスクが残る。これを克服するためMSCsの免疫調節能を制御する同種他家移植療法の開発が望まれている。本研究では、他家細胞移植療法の確立を目指してIFN- γ 前処理することで免疫調節性酵素IDOを高発現するC-MSCを樹立することを目的とした。

【方法】ヒトMSCsを、24穴プレートに 2×10^5 cells/wellの細胞密度で播種し、アスコルビン酸含有の増殖培地で4日間培養後、鈍的にウェルから剥離することでECMとMSCsから構成される複合体とし、さらに培養を続けることでC-MSCを得た。C-MSCをIFN- γ (10, 50, 100ng/ml) で24時間刺激したものをC-MSC γ (10, 50, 100) とし、そのIDO発現を測定した。さらにヒトから採取した末梢血単核細胞(PBMC)とC-MSC γ を共培養し、PBMCの細胞増殖に対する抑制効果を確認した。ヒトC-MSC γ をマウス頭蓋冠に異種移植し、4, 12週後の骨再生をmicro CTおよびHE染色、移植1週間後のT細胞浸潤の分布は抗マウスCD3抗体を用いた免疫染色で検討した。

【結果】C-MSC γ はC-MSCと比較して高いIDO発現を示した。PBMCの増殖活性はC-MSC γ (50, 100) との共培養によって有意に抑制された。C-MSC γ (50) 異種移植が骨再生を促進し、またT細胞浸潤を抑制することが示された。

【結論】C-MSC γ は免疫調節能を有し、新たな他家細胞移植療法としての応用可能性が示唆された。

P-47

3104

Recombinant human bone morphogenetic protein-9/
コラーゲン担体がラット頭蓋骨欠損の骨形成に及ぼす影響

篠原 敬哉

キーワード：Bone morphogenetic protein-9 (BMP-9)，コラーゲン、骨形成

【目的】Transforming growth factor- β superfamilyに属するbone morphogenetic protein (BMP) -9はBMPsの中でも高い骨分化能および異所性の骨形成能を有し、BMPアンタゴニストであるnogginの影響を受けないなどBMP-2と異なる特徴を持つことが報告されている。しかし、骨欠損における骨形成能については不明な点が多い。そこで今回、recombinant human BMP-9 (rhBMP-9) /吸収性コラーゲン(ACS)担体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 ϕ 5mmの骨欠損を外科的に作製し、ACS、1 μ g-rhBMP-9/ACS、5 μ g-rhBMP-9/ACS、Control(欠損のみ)の4群(各N=8)の処置を行った。8週後、動物を安楽死させ実験部位を採取し μ CT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作製しHE染色後、組織学的評価を行った。

【結果および考察】rhBMP-9移植群(1 μ g及び5 μ g-rhBMP-9/ACS)における骨形成量はACS群と比較して有意に高かった。欠損閉鎖率はControl群、ACS群よりもrhBMP-9移植群の方が有意に高かった。5 μ g-rhBMP-9/ACS群の新生骨面積及び新生骨面積率はControl群、ACS群より有意に高く、全群間で最も高かった。1 μ g及び5 μ g-rhBMP-9/ACS群間では、全ての組織形態計測項目で有意差は認められなかった。

【結論】ACSを担体として用いたrhBMP-9移植群はACS群と比較して有意な骨形成能を示し、5 μ gのrhBMP-9投与量において、Control群と比較して有意に高い骨形成量、欠損閉鎖、新生骨面積を示したことからrhBMP-9/ACSは骨形成に有効であることが示唆された。今後、rhBMP-2との骨形成効果の比較検討を行う予定である。

P-46

2504

ラット下顎角骨欠損に対する osteogenic protein-1
添加コラーゲン膜の影響

尾崎 愛美

キーワード：osteogenic protein-1，コラーゲン膜，ラット下顎角骨欠損モデル，歯槽骨再生

【目的】歯周組織再生誘導(GTR)法や骨組織再生誘導(GBR)法などの再生療法が臨床において広く応用されている。その一つとしてコラーゲン膜を用いる方法がある。成長因子であるOsteogenic protein-1(OP-1)は医科領域で応用されており、未分化間葉系細胞や骨芽細胞前駆細胞を成熟骨芽細胞へ分化誘導させることが報告されている。そこで、コラーゲン膜にOP-1を添加することで骨再生を促進する可能性を着想した。本研究では、ラット下顎角骨欠損に対しOP-1添加コラーゲン膜が骨再生に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】9週齢の雄性近交系ラット(F344/jcl)の下顎角に、内径4.0mmのトレファインバーを用いて、下顎角臨界骨欠損を作製した。欠損をコラーゲン膜で被覆(CM群)とコラーゲン膜にOP-1を0.5 μ g(OP-1[L]群)、あるいは2.0 μ g(OP-1[H]群)添加し被覆した群に分けた。実験動物用3DマイクロCT(マイクロCT)を用いて同一個体における経時的(2, 4, および6週)な骨再生をエックス線学的に観察した。

【結果】術後2, 4および6週において、マイクロCT像からCM群と比較してOP-1[L]群、OP-1[H]群で欠損部に骨様組織の再生が認められた。また、OP-1[H]群はOP-1[L]群に比較して骨欠損部の改善がみられた。新生骨量および骨欠損閉鎖率についても同様の結果が得られた。

【結論】ラット下顎角骨欠損においてOP-1添加コラーゲン膜は骨再生を促進することが示された。

P-48

2504

ラット人工的歯周組織欠損部の早期創傷治癒過程におけるエナメルマトリックスデリバティブと新規合成ペプチドの相違

三木 晴加

キーワード：エナメルマトリックスデリバティブ、新規合成ペプチド、創傷治癒

【目的】現在、歯周組織再生療法として色々な方法があり、その中で、エナメルマトリックスデリバティブ(以下EMDと略す)が、一般的な方法の一つとされている。EMDは、生後約6か月のブタ下顎骨内から発生期段階にある臼歯を削りだし、抽出された物質である。しかしEMDは生物由来のため、患者からの拒否感があるのも事実である。このため生物に由来しない合成ペプチドの開発が望まれていることからEMDを用いた動物実験から得た成果を基に人工的に新規合成ペプチドを作製した。しかし、今まで新規合成ペプチドについてin vitro, in vivo両面で有効性を検索してきたが、元来のEMDと新規合成ペプチドの比較検討は行われていない。今回、早期創傷治癒過程を観察し、元来のEMDと新規合成ペプチドを比較検討した。

【材料及び方法】生後8週齢のSD系雄性ラットの臼歯部に人工的歯周組織欠損部を作製した。それぞれに従来のEMD(EMDを塗布したものを実験群とし、塗布しないものを対照群)と新規合成ペプチドを塗布し縫合した。標本作製し、術後3, 5, 7日の標本作製し、病理組織学ならび免疫組織化学的に観察した。

【結果と考察】EMDでは術後3日にEMD由来における好酸性物質が形成され、術後5日目まで歯肉増殖抑制は確認されている。一方、新規合成ペプチドでは術後3日までは上皮細胞の増殖は促進したがそれ以降増殖は抑制された。線維芽細胞の増殖は促進し、早期にⅢ型コラーゲンは減少していた。

【結論】EMDと新規合成ペプチドは歯周組織再生の過程で元来の同様の創傷治癒を促進することが示唆される。

P-49
2504

ラット下顎角骨欠損モデルに対する basic fibroblast growth factor (FGF-2) 添加コラーゲン膜の影響
山本 崇申

キーワード：FGF-2, コラーゲン膜, 下顎角骨欠損モデル, 歯槽骨再生

【目的】歯周組織再生誘導法や骨組織再生誘導法などの再生療法が広く臨床応用されている。細胞増殖因子である basic fibroblast growth factor (FGF-2) は血管新生を促進し、歯周組織再生においてもその有効性が報告されている。そこで、FGF-2 を添加したコラーゲン膜をラット下顎角に作製した骨欠損に用い骨再生に対する影響について評価した。

【材料と方法】9 週齢雄性近交系ラット (F344/jcl) の下顎角相当部を切開し下顎骨を露出させ、内径 4.0 mm のトレフィンバーを用いて、下顎角に骨欠損を作製した。欠損をコラーゲン膜で被覆した群を対照群とし、実験群は骨欠損部をコラーゲン膜に FGF-2 を 50 ng 添加した FGF-2 [L] 群および 100 ng 添加した FGF-2 [H] 群に分けた。手術日を 0 週とし、実験動物用 3D マイクロ CT (マイクロ CT) を用いて、2 週間毎に術後 6 週まで撮影し、骨再生の観察を行った。

【結果】マイクロ CT による観察結果から、FGF-2 [L] 群、FGF-2 [H] 群では対照群と比較して、有意に欠損部位に骨再生を認めた。また、FGF-2 [H] 群では FGF-2 [L] 群と比較して有意に骨再生が認められた。新生骨量および骨欠損部の閉鎖率においても同様の結果が認められた。

【結論】本実験により、ラット下顎角骨欠損モデルにおいて、FGF-2 を添加したコラーゲン膜は、コラーゲン膜を単独で使用した場合と比較すると骨再生を促進させることがわかった。FGF-2 は今後新たな骨再生誘導法の一助となる可能性が示唆された。

P-51
3102

抜歯創治癒過程における骨膜の有無が骨再生に及ぼす影響に関する動物実験評価 —A Pilot Study—
北條 彩和子

キーワード：骨膜

【目的】ソケットブリザベーションの概念より歯槽堤の吸収防止が報告されているが、抜歯創の治癒過程における骨膜と骨再生の関連性は示されていない。そこで今回、補填材の種類による抜歯後の歯槽堤吸収防止効果と、骨膜の有無による治癒様式を比較検討した。

【材料と方法】ビーグル犬 (雄) 2 頭の下顎両側第三前臼歯と第四前臼歯を抜歯し、抜歯窩近心部に幅 5mm × 高さ 7mm × 奥行 4mm の頬側骨壁欠損をフィッシャーバーにて作成し、a: 全層弁群 (骨膜有り) と b: 部分層弁群 (骨膜除去) の 2 群を作成した。さらに、それぞれ 2 群に I: β -トリリン酸カルシウム (β -TCP)・コラーゲン複合材 (オリンバステルモバイオマテリアル社製 以下: OTB), II: コラーゲン製補填材 (テルブラグ®OTB), III: β -TCP (OSferion G1 500-1000 μ m®OTB), IV: 補填材なし (コントロール) を設定し、計 8 群を作成した。評価は抜歯前、直後、1, 2, 4, 8, 12 週後に印象・模型製作、口腔内写真撮影、X線写真撮影、屠殺後にマイクロ CT 撮影、組織標本作成を行った。模型は光学式三次元スキャナーにて歯槽堤の形態変化を評価した。X線写真撮影、マイクロ CT、組織標本を用いて歯槽骨の再生状態を評価した。

【結果と考察】抜歯前と抜歯後 3 か月後の石膏モデルを重ね合わせ、計測及び評価を行った (歯槽頂 4mm)。その結果、術前と比較して a-I: 53%, a-II: 42%, a-III: 57%, a-IV: 44%, b-I: 62%, b-II: 64%, b-III: 42%, b-IV: 34% の歯槽堤の残存が認められた。

【結論】全層弁群と部分層弁群を比較すると、部分層弁群での歯槽頂の吸収が大きくなる傾向を示した。今後、実験群を増やし検討を行う予定である。

P-50
2504

ラット頭頂骨の骨増生に対する骨粗鬆症の影響

久保田 達也

キーワード：骨粗鬆症, 骨増生, 卵巣摘出, 擬似手術

【目的】本研究ではラット頭頂骨の骨増生に対する骨粗鬆症の影響を検討することを目的に、Ovariectomized (OVX) ラット頭頂骨に Guided Bone Augmentation (GBA) モデルを作製し、骨増生を観察した。

【材料と方法】雌性 Wistar ラット 12 匹を 2 群に分け、6 週齢時に OVX 手術 (実験群) と sham operation (対照群) を行った、さらに 8 週間飼育をした。14 週齢時に頭頂骨を露出させ、トレフィンバーを用いて左右対称に 5 mm の外周溝を形成、ラウンドバーにてその内側に 5 ヶ所の骨髓穿通孔を形成した。そして、規格化されたプラスチックキャップ (内径 4.4 mm, 高さ 1.5 mm) を設置した。実験動物用 3D マイクロエックス線 CT を用いて、手術日を 0 週とし 12 週まで隔週で撮影し、新生骨様組織の定量分析を行った。

【結果と考察】マイクロ CT の観察結果から術後 2 から 12 週まで実験群、対照群ともに新生骨の形成が観察された。しかし、術後 8 から 12 週では、実験群のほうが対照群と比較して有意に新生骨の形成量が少なかった。

【結論】OVX ラット GBA モデルにおいて、骨外側方向への骨増生が抑制されることが示され、骨粗鬆症が骨増生を抑制する可能性が示唆された。

P-52
2206

Advanced Platelet-rich fibrin (A-PRF) を用いた抜歯窩治癒過程の形態学的研究

日高 恒輝

キーワード：多血小板フィブリン, 再生療法, 抜歯窩治癒

【目的】近年、歯周組織再生療法やソケットブリザベーションを目的とした、種々の材料が開発、応用されている。改良型多血小板フィブリン (Advanced Platelet-rich fibrin: A-PRF) は自己血より精製され、各種成長因子を豊富に含み、血管新生や骨組織再生の促進効果をもつと同時に、その高い安全性についても注目されている材料の一つである。今回我々は、In vivo 実験で A-PRF のもつ骨形成プロセスについて形態学的に検討を行なった。

【材料と方法】ビーグル犬 (6 頭) の上顎右側第一臼歯を抜歯し実験群とし、抜歯窩中に静脈血より精製した A-PRF を密に充填した。反対側は抜歯のみ行い対象群とした。両群とも歯肉弁の縫合を緊密に行った。手術後 14, 30 日後に HE 組織標本の光学顕微鏡観察および、マイクロ CT 撮影により抜歯窩中の骨新生率を測定した。また、免疫組織化学的観察も行った。

【結果と考察】術後 14 日、対照群では抜歯窩中に周囲既存骨から幼弱な骨再生が始まっていたが、抜歯窩中央は血餅で満たされていた。実験群では抜歯窩内は中央部に至るまで幼若骨で満たされていた。30 日後、対照群では骨再生は骨梁形成が見られたが、いまだ再生途上にあった。実験群ではさらに骨梁形成の進んだ像が観察され、骨新生率は 14 日、30 日ともに対照群よりも高値を示した。免疫組織化学的観察では、実験群においてオステオカルシン、オステオポンチンの発現を多く認めた。

【結論】結果より、A-PRF を骨欠損部に適応すると、骨新生が促進されることが明確に示された。

P-53

3103

酸化グラフェン配合スキャフォールドによる骨形成効果

降旗 友和

キーワード：ナノカーボン、ラット、イス、歯周組織治癒

【目的】酸化グラフェン（GO）は単層のカーボンナノシートで、優れた理工学的特性や生物学的効果が報告されており、再生医療分野での応用が期待されている。本研究の目的はGOを配合した組織再生用スキャフォールドを作製、ラット頭蓋骨およびイス根分岐部骨欠損における骨形成効果を組織学的に評価することである。

【材料および方法】GO分散液にはnanoGRAX® (1wt%, 三菱ガス化学)を用いた。コラーゲンスポンジ（テルダーミス®, オリンパステルモバイオマテリアル）をGO分散液に浸漬することでGO配合スキャフォールドを得た。これをラット頭蓋骨上に埋植、生体親和性と骨形成効果を評価した。次にイスclass II 根分岐部骨欠損へGOスキャフォールドを埋植、4週における歯周組織治癒の状態を観察した。なお動物実験は北海道大学動物実験委員会の審査承認を受けて行った（承認番号13-76, 8-255）。

【結果と考察】GOスキャフォールドはコントロール（コラーゲンスポンジ）に比較して良好な細胞、血管のイングロースを認め、ラットにおいて有意に新生骨を形成し、コントロールの約2.5倍の値であった。イスへの埋植試験でも多くの歯槽骨の再生を観察し、根面の一部には歯根膜様構造の形成を認めた。コントロールでは分岐部への上皮侵入を認め、骨再生はわずかであった。

【結論】コラーゲンスポンジにGOを配合すると、ラットやイスでの骨形成を促進することが示唆された。

P-54

2504

ADMPIC移植による歯周組織再生誘導効果とその作用機序の検討

沢田 啓吾

【目的】我々は、これまでにビーグル犬を用いた前臨床試験において、脂肪組織由来未分化多系統前駆細胞（ADMPIC）移植による歯周組織再生誘導効果を報告してきた。本研究では、臨床研究において、同再生療法の安全性および有効性の評価を行うとともに、ADMPIC由来液性因子が歯周組織再生メカニズムに与える影響を*in vitro*にて明らかにすることを目的とした。

【方法】大阪大学歯学部附属病院近未来歯科医療センターにて同意が得られた被験者の歯周組織欠損部位に対し、フィブリンゲルを足場材としてADMPICの自己移植を行い、安全性および有効性の評価を行った。また、ADMPICの培養上清を回収し、同上清中に含まれる成長因子について解析を行った。さらに同培養上清が歯周組織構成細胞の増殖・分化に及ぼす影響について解析を行った。

【結果】臨床研究の結果から、ADMPICを歯周組織欠損部に移植することで、歯槽骨の新生誘導効果が認められた。なお、ADMPIC移植に関連すると考えられる有害事象は観察されなかった。また、ADMPICが産生する種々の液性因子が、歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化を促進的に制御すること、さらに同制御にIGFBP6が関与していることが明らかとなった。

【考察】臨床研究の結果から、ADMPIC移植による歯周組織再生療法の安全性および有効性が示唆された。その分子機序の一つとして、ADMPIC由来液性因子によるTrophic効果の関与が示唆された。今後、臨床研究をさらに遂行していくことで症例を集積し、得られたデータを解析することで、同療法の実用化につながる情報が得られるものと考えている。

P-55

2504

エナメル基質タンパク、脱タンパクウシ骨基質を用いた歯周組織再生療法におけるコラーゲン膜の有効性の検討

根本 康子

キーワード：再生療法、エナメル基質タンパク、脱タンパクウシ骨基質、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scaffoldとなる脱タンパクウシ骨基質（DBBM）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DBBM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42名を無作為に2群（実験群、対照群）に割り当て、プロービングデプス6 mm以上の部位を選定した。実験群ではEMDとDBBMとコラーゲン膜を併用し、対照群ではEMDとDBBMによる歯周組織再生療法を行った。治療前と12ヶ月後の時点で、歯周ポケット深さ（PPD）、付着の喪失（CAL）、エックス線の骨欠損深さを測定した。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、および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】群内比較においては両群とも6週後にPD、CALは有意に改善した（ $p < 0.05$ ）。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。

P-56

3103

自己血由来多血小板フィブリン膜とβ-TCPによる歯周組織再生効果：症例シリーズ

奥田 一博

キーワード：多血小板フィブリン、β-第三リン酸カルシウム、血管新生因子、新生血管、歯周組織再生、再生医学

【目的】多血小板フィブリン（PRF）膜をβ-第三リン酸カルシウム（β-TCP）とともに歯周骨内欠損に応用し、その12か月予後について報告する。尚、本研究は本学歯学部倫理委員会の承認済み（24-R24-01-18）で患者に文書を用いて十分説明し同意を得た。またいかなる企業団体とも利益相反状態に無いことを開示する。

【材料と方法】一患者につき6 mm以上のポケット（PD）と6 mm以上の付着レベル（CAL）、規格エックス写真より3 mm以上の骨欠損深さ（IBD）を示す1部位に対して、全層弁を形成・剥離し炎症性組織を搔爬して骨欠損を明示後、β-TCP（セラソルブM）を填塞し、被覆するようにPRF膜を設置して歯肉弁を縫合した。

【結果】13名13部位が解析対象となった。観察期間中、炎症のコントロールは厳密に管理された。ベースラインではPDは7.9 ± 1.6mm、CALは9.5 ± 1.9mm、IBDは5.1 ± 1.9 mmであった。12か月予後は、PDは3.1 ± 0.3mm、CALは6.6 ± 1.3mm、IBDは1.9 ± 1.0mmであった。すなわち4.8mmのポケットの減少と2.9mmの付着の獲得と3.2mmの骨欠損の改善が認められた。

【考察】歯周骨内欠損部にPRF膜をβ-TCPともに用いたところ、ベースラインと比較して術後12か月時点で統計学的に有効に作用した。要因としてPRF膜の主要成分であるフィブリンが血小板を凝集し、PDGF、IGF、FGF、VEGF、EGFを高レベルで含有し、かつ有為細胞増殖と血管新生を誘導（Kobayashi et al., Biologicals, 2012）したことに加えβ-TCPがスペース確保のためのスキャフォールドとして作用し骨伝導能を発揮したことが考えられる。

【結論】歯周骨内欠損部にPRF膜をβ-TCPともに用いたところ、ベースラインと比べて術後12か月時点で統計学的に有効に作用した。

P-57
2504

歯周炎患者におけるコースステレスコープ義歯が支台歯の予後に及ぼす影響に関する後ろ向き研究（第2報）

石井 麻紀子

キーワード：歯周治療、歯周補綴、口腔機能回復治療、コースステレスコープ義歯

【目的】 進行した歯周炎患者に対する口腔機能回復治療は、歯周治療により炎症が改善した場合でも、長期的な予後において歯の保存に不利な条件が多数存在する。一般にコースステレスコープ義歯は、長期的に良好な経過が得られることが報告されているが、歯周炎罹患歯を支台歯として応用した場合の歯の生存率について検討した報告は少ない。そこで本研究は、コースステレスコープ義歯を用いた口腔機能回復治療が、支台歯の予後に及ぼす影響について検討を行った。

【材料と方法】 明海大学歯学部附属明海大学病院歯周病科に来院した中等度から重度慢性歯周炎患者の口腔機能回復治療としてコースステレスコープ義歯を用い、定期的なメンテナンスが継続され、2年以上経過した患者 26名（32装置、217歯）を対象とした。予後評価中の支台歯喪失の有無、喪失部位および歯数、喪失原因を調査し、支台歯の生存率を算出した。また義歯および支台歯に関する項目と生存率との関係について検討を行った。

【結果と考察】 義歯装着後の平均観察期間は 76.0 ± 27.5 か月であった。対象義歯 32 装置は、観察期間を通してすべて口腔内でその機能を維持しており、観察期間中の支台歯の生存率は 96.3% であった。さらに歯種の中では、上下顎小臼歯部の生存率が他部位と比較し低い値を示し、支台歯の状態（生活歯/失活歯）別にみた生存率の検討では、失活歯と比較し生活歯で有意に高い生存率であった。これらの結果から、コースステレスコープ義歯は、慢性歯周炎により支持組織が減少し、支台歯が補綴学的に困難な状況にある場合でも、定期的なメンテナンスが継続できた場合には、支台歯を長期的に保存できることが示唆された。

P-59
2504

Ridge augmentation using combining biomaterials with cross-linked collagen: sequential observation in different healing period in dogs

Jae Kook Cha

Keywords: bone substitutes, guided bone regeneration, wound healing, material science, animal experiments

Objectives: The aim of this study was to observe the sequential healing of onlay grafts using different bone substances and absorbable membranes according to the presence of collagen cross-linking.

Materials and methods: Four groups involving onlay grafting with different materials were randomly assigned to both sides of the maxillae of 15 beagle dogs: (1) empty control group; (2) group NN, bovine hydroxyapatite incorporated into a non-cross-linked collagen matrix (BHC) + non-cross-linked collagen membrane (NCCM); (3) group NC, BHC + cross-linked collagen membrane (CCM); and (4) group CC, porcine hydroxyapatite incorporated into a cross-linked collagen matrix + CCM. Radiographic and histological analyses were performed after three different healing periods: 4, 8 and 12 weeks.

Results: At week 4, the bone substances were well localized under the barrier membrane in groups NC and CC, while the bone substances became spread out and flattened in group NN. Similarly, the augmented height was significantly greater in groups NC and CC (2.59 ± 0.42 and 2.43 ± 0.33 mm, respectively; mean $\pm$ standard deviation) than in group NN (1.88 ± 0.29 mm, $p < 0.05$). The percentages of newly formed bone were significantly higher at week 12 than at weeks 4 and 8 in all of the groups ($p < 0.05$). The NCCM showed an earlier angiogenesis pattern than the CCM; however, earlier degradation was observed at week 12.

Conclusion: Combining biomaterials with cross-linked collagen contributed to maintaining its initial morphology with excellent biocompatibility in lateral onlay grafts.

P-58
2609

Long-term outcomes of dental implants placed in elderly patients: a retrospective clinical and radiographic analysis

Jung-Chul Park

Keywords: Dental implant, Aging, Survival analysis, Risk factors

Objectives: The aim of this retrospective study was to determine the clinical and the radiographic outcomes of dental implants placed in elderly people older than 65 years.

Materials and methods: In total, 902 implants in 346 patients (age: 65–90 years) were followed up for 2 to 17 years following the implant surgery. The survival rate of these implants were recorded and analyzed. Changes in marginal bone levels were also analyzed in serial radiographs, and Cox regression analysis for implant loss was performed.

Results: The survival rates were 95.39% and 99.98% in the implant- and patient-based analyses, respectively (involving a total of 29 implant failures), and the marginal bone loss at the implants was 0.17 ± 0.71 mm (mean $\pm$ SD). The number of failures was greatest in patients aged 65–69 years. The Cox regression with shared frailty analysis showed that implant loss was significantly greater in those aged 65–69 years than in those aged 70–74 years ($P < 0.05$), and it varied between specific implant systems.

Conclusions: Within the limitations of this retrospective study, it was concluded that implant therapy can be successfully provided to elderly patients and that age alone does not seem to affect the implant survival rate.

P-60
3104

The Relative Analysis of C-reactive Protein, MMP and TIMP Expressions in Human Chronic Periodontitis with Diabetes Mellitus

Jae-Mok Lee

Keywords: chronic periodontitis, diabetes, Inflammatory Mediators, TIMP-2

Objectives: The purpose of this study was to compare and quantify the expressions of C-reactive protein (CRP), MMP and TIMP-2 in the gingival tissues of patients with type 2 diabetes mellitus and healthy adults with chronic periodontitis.

Materials and methods: Gingival tissue samples were obtained during periodontal surgery or tooth extraction. Group 1 (n=12) is clinically healthy gingiva without bleeding and no evidence of bone resorption or periodontal pockets, obtained from systemically healthy patients. Group 2 (n=12) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis. Group 3 (n=12) is inflamed gingiva from patients with chronic periodontitis associated with type 2 DM. Tissue samples were prepared and analyzed by Western blotting. The relative quantification of CRP, MMP-14 and TIMP-2 were performed with a densitometer and the results were statistically analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey test.

Results: The expression levels of CRP and MMP-14 increased in groups 2 and 3, and they were highest in group 3. The differences among three groups were statistically significant between group 1 and 3, between group 2 and 3 ($P < 0.05$). The expression of TIMP-2 was also increased in groups 2 and 3. The levels of TIMP-2 were significantly different between group 1 and 3, between group 2 and 3 ($P < 0.05$).

Conclusions: This study demonstrated that the expression levels of CRP, MMP-14 and TIMP-2 might be inflammatory markers in periodontal inflamed tissue. It can be assumed that CRP, MMP-14 and TIMP-2 may be involved in the progression of periodontal inflammation associated to type 2 DM.