# 一般演題ポスター

## （ポスター会場）

| | | |
|---|---|---|
| 12月16日（土） | ポスター受付・掲示 | 7：30～ 9：00 |
| | ポスター展示・閲覧 | 9：00～17：00 |
| | ポスター討論 | 11：40～12：30 |
| | ポスター撤去 | 17：00～17：30 |

P-001
2302

## 多項目唾液バイオマーカー検査による歯周組織炎症の評価

福井　誠

キーワード：唾液，バイオマーカー，歯周病，炎症，歯周組織の炎症面積（PISA）

【目的】歯科臨床においてもバイオマーカー測定による客観的な臨床検査が求められており，唾液を試料とする総合的な口腔検査法のチェアサイドへの応用を目指した多項目唾液検査システム（multi-salivary testing system; mST）が開発された。本研究では，企業内の歯科健診にmSTを導入して，歯周病関連項目の測定値と，歯科医師のプロービングによる歯周検査によって得られた歯周組織の炎症面積（PISA）の値との関連を分析した。

【対象・方法】研究参加に同意したアークレイ京都研究所の職員60名を対象として歯科健康診断を実施した。全残存歯に対して1歯6点法のプロービング検査を行い，ポケット深さと誘発出血の有無の記録から個人のPISA値を算出した。また受診者は，蒸留水3mLを口に含み10秒間含嗽後，回収容器に吐出した。これを唾液試料とし，直ちにアークレイ社製mST装置（スポットケムST）により検査試験紙キット（STチェック）を用いて測定した。7種の検査項目のうち，ヘモグロビン，タンパク質，白血球，アンモニアを本研究の分析対象とした。

【結果・考察】常習喫煙者4名を除外した56名の受診者のデータを分析対象とした。ヘモグロビンとタンパク質のレベルはPISAと統計学的に有意な正の相関が認められた（$p<0.05$, Spearmanの順位相関分析）。また，多項目の結果を合わせることで，PISAとの相関性が強まる傾向がみられた。唾液バイオマーカーレベルは歯周組織の炎症状態と関連しており，mSTにより複数のバイオマーカーを同時に測定することで，歯周組織の状態をより的確に評価できる可能性が示唆された。

P-002
2504

## 歯肉溝滲出液（GCF）におけるhemoglobin検査と歯周組織検査との比較

伊藤　弘

キーワード：歯肉溝滲出液，ヘモグロビン，歯周組織検査

【目的】歯周組織検査は，歯周病の診断・治療計画の立案，そして予後判定に関わる情報を含んでいる。特に，付着の喪失や歯周治療の成否に関与する項目としてBOP検査は位置付けられている。しかしながら，歯周病の重篤度にも拘らずBOP検査結果に齟齬が生じることも報告され，併用により，より詳細な検査結果が得られる候補マーカーが望まれている。今回我々は，無痛的に採取できるGCFに対し，特に出血の証拠となるhemoglobin（Hb）に注目し，GCFにおけるHb検査に対する考察を加えた。

【材料および方法】被験者は，日本歯科大学附属病院に来院しているSPT患者とし，臨床パラメータは，PII，GI，PPD，CAL，BOPとした。GCFの採取にはペリオペーパーを用いた。PII測定後ペリオペーパーにてGCFを採取し，直ちにimmuno-chromatography法を用いてHb検査を行った。その後，各臨床パラメータを測定した。

【結果および考察】特にBOP検査とHb検査は高い相関関係を認めた。また，BOP検査結果に対しHb検査が（+）の場合，臨床症状の重篤度が高かった。以上から，歯周組織検査，特にBOP検査にHb検査を併用することの有用性が示唆された。

【倫理的配慮】本研究は日本歯科大学倫理委員会承認の下遂行された（承認番号 NDU-T2014-56）。

【資金源】文部省科学研究費助成金：基盤C，課題番号：17K11996・17K11995の援助を受けた。

P-003
2402

## 歯周病原細菌検査とPPDおよびBOPとの関連についての調査研究

阪本　貴司

キーワード：歯周病，歯周病原細菌，検出，歯周ポケット，歯肉出血，カイ二乗検定

【目的】歯周病原細菌検査（以下：細菌検査）結果とPPDおよびBOPとの関連を明らかにすることを目的として270名の細菌検査結果とPPDおよびBOPの検査結果を検討した。

【対象および方法】当院歯周病科患者270名の初診時の細菌検査結果と患者の年齢，PPD，BOPとの関連を調査した。細菌検査はリアルタイムPCR法（Real Time Polymerase Chain Reaction）を使用し定量的に目的菌遺伝子を検出した。

検討した細菌はPG菌，TF菌，TD菌の3種類でそれぞれの検出の有無で判定した。年齢は40歳未満を若年群とし，40歳以上を高齢群とした。PPDは6mm以上のポケットが1カ所以上あれば重度群とし，全くない患者は非重度群とした。BOPは全顎の50％以上の歯肉出血があれば重度群とし，50％未満を非重度群とした。それぞれの菌の有無と年齢（若年群か高齢群か），PPD（6mm以上のポケットの有無），BOP（50％以上か否か）との関連を検定し有意水準は1％とした。本研究は当会倫理審査委員会の承認（322番）の下に行われた。また開示すべきCOIはない。

【結果】年齢との関連では，PG菌は高齢群に多かった（$p<0.01$）。PPDおよびBOPとの関連ではPG菌，TF菌，TD菌すべての検出群でPPD重度群およびBOP重度群に多く検出された（$p<0.01$）。

【考察および結論】細菌検査とPPDおよびBOPとの関連についての調査検討した結果，PG菌，TF菌，TD菌のいずれもPPDとBOPとの関連が認められた。細菌検査は従来の臨床検査であるPPDとBOP検査と共に歯周病の進行程度の検査に有効であることが示唆された。

P-004
2504

## 洗口吐出液中の肝細胞増殖因子（HGF）の検出による歯周病診断の可能性

鈴木　伸太

キーワード：肝細胞増殖因子，HGF，スクリーニングテスト，イムノクロマトリーダー，ペリオスクリーン

【目的】本研究の目的は，洗口吐出液を用いた歯周炎スクリーニングのための試作HGFイムノクロマト試験紙の有効性を検討することである。

【材料と方法】2016-2017年に東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来の患者および同大学歯学部歯周病学分野医局員を含む125名を対象とした。被検者に水3mlを含漱させ，吐出液を回収した。歯周病検査として，PPD，BOPの測定およびエックス線検査を行った。洗口吐出液中のHGF濃度をELISA法で測定し，試作HGFイムノクロマト試験紙を用いて反応させ，イムノクロマトリーダーにて定量した。また，既存のペリオスクリーン®（PS）を用い結果を比較した。被験者の病態はBiofilm-gingival interface classification（Offenbacherら，2007年）を用いて分類し，99名のエックス線写真から全顎のBone crest levelを計測し，データ解析を行った。なお，本研究は歯学部倫理審査委員会の承認を得て行われた。

【結果】洗口吐出液中のHGF量は歯周炎の臨床パラメーターと有意な相関があることが示された。PSは陽性率は高いが偽陽性も認められた。試作HGF試験紙は陽性率は低いものの，重度歯周炎の検出に有効であった。しかし，現状では感度が低く，さらなる改良が必要であった。

【結論】洗口吐出液中のHGFの検出は歯周炎のスクリーニングに有用であることが示され，HGF試験紙の歯周病診断への応用の可能性が示唆された。

P-005
3101

## DNAチップによる歯肉溝滲出液中の口腔内細菌叢解析と臨床情報の関連

笹部　奈津季

キーワード：歯周病，口腔内細菌叢

【目的】歯周病の発症・進行には，口腔内細菌の存在バランス（細菌叢）が関わっていると考えられる。DNAチップによる細菌検査では数十種類の細菌を一度に評価でき，細菌叢の情報を得ることが可能となる。本研究では，DNAチップを用いた口腔内細菌叢の解析結果と歯周組織検査による臨床所見との関連性を評価した。

【方法】本試験は株式会社ジーシーの倫理委員会の承認を得て実施した。被験者9名から歯肉溝滲出液を2〜3箇所採取後，臨床情報（PD，BOP）を評価した。得られた歯肉溝滲出液（n=22）中の細菌叢を，28種類の歯周病関連細菌および総菌検出用のプローブを搭載したDNAチップ（三菱ケミカル）で分析した。得られた細菌叢についてクラスター解析を行い，3群に分類した。それぞれの群について，ポケット深さの平均値およびBOP陽性率を算出した。クラスター解析にはJUSE-StatWorks（日本科学技術研修所）を用いた。

【結果と考察】クラスター解析の結果，クラスター1（n=5），クラスター2（n=4），クラスター3（n=13）の3群に分類された。各群のポケット深さの平均は各群それぞれ4.4mm，3.5mm，2.7mmとなった。また，BOP陽性率はクラスター1において60%，クラスター2および3では0%であった。これより，細菌叢のバランスと臨床情報には関連があることが示唆された。

【結論】口腔内細菌叢を解析することで，口腔内の評価が可能であることが示唆された。本研究は比較的ポケットの浅い，健常者〜歯肉炎罹患者を中心に実施したが，今後はポケットの深い被験者も対象とし，データを収集していく予定である。

P-006
2504

## 侵襲性歯周炎の責任遺伝子*NOD2*の同定

須藤　毅顕

キーワード：侵襲性歯周炎，エクソーム解析，NOD2

【背景】侵襲性歯周炎（AgP）は，急速な歯周組織破壊を招く劇症型の歯周炎である。家族集積性という特徴から遺伝的背景の存在が示唆されているが，原因遺伝子には不明な点が多い。本研究ではAgP患者を含んだ家系例を対象にエクソーム解析を行い，AgPの遺伝要因を解明することを目的とした。

【方法および結果】東京医科歯科大学附属病院歯周病外来にて本研究への協力を表明したAgP患者99人のゲノムDNAを収集した。AgP患者を複数含む2家系（罹患者5名，非罹患者1名）について，まずidentity-by-descent（IBD）mappingを実施し，責任遺伝子を含むことが予想される32のDNA領域を絞り込んだ。続いて同じ2家系に対しエクソーム解析を実施した。得られた各サンプル約50,000個の遺伝子変異に対して，低depth変異の除去，Insertion/deletionの除去，罹患者に共通した変異以外の除去，同義置換の除去，公共データベースに登録され頻度1%以上のコモンバリアントの除去，の順に絞り込みを実施し，サンガー法にて確認を行った。その結果，*NOD2*において2箇所のミスセンス変異（p.Ala110Thr，p.Arg311Trp）を同定した。残りのAgP患者94人に対し，*NOD2*のターゲットリシークエンス解析を行った結果，2名の患者においてp.Arg311Trp変異を認め，新たに3箇所のミスセンス変異（p.His370Tyr，p.Arg459，p.Ala868Thr）を同定した。

【結論】エクソーム解析により，AgPの責任遺伝子*NOD2*を同定した。

P-007
2305

## 唾液検査を用いたメインテナンス・SPT治療効果の客観的評価

浪花　真子

キーワード：メインテナンス，SPT，唾液，多項目検査

【目的】高齢者において残存歯数が増えている一方，4mm以上の歯周ポケットを有する者やう蝕を有する者の割合が増えていることが報告されている。また，歯周病は最も罹患率の高い感染症とされており，歯周治療終了後も歯周組織を維持するためにメインテナンス・SPT治療が重要であるが，その効果を客観的に示した研究は少ない。そこで我々はメインテナンス・SPT受診者に対して唾液検査を行い，口腔内の客観的評価を行った。

【材料と方法】九州歯科大学附属病院口腔保健科にメインテナンス・SPT治療のため来院している患者134名（男性：46名，女性：88名，平均年齢：69.1 ± 10.4歳）を対象とした。唾液の性状を測るため，う蝕，歯周病，口腔清潔度に関する7項目（［う蝕］う蝕原性菌，pH，酸緩衝能，［歯周病］潜血，白血球，歯肉溝滲出液に含まれ炎症の指標となるタンパク質，［口腔清潔度］アンモニア）の唾液因子を5分間で測定できる唾液検査システム（AL-55）を用いた。AL-55は7項目の試験片を貼付したストリップス上の試験紙の色調変化を反射率として検出し，各項目のリスクを判定する機器である。

【結果】平均反射率は，う蝕原性菌が低リスク，pHが高リスク，酸緩衝能が中程度のリスクであった。潜血が中程度のリスク，白血球が中程度のリスク，タンパク質が中程度のリスクであった。アンモニアが中程度のリスクであった。

【結論】メインテナンス・SPT受診患者であっても各項目においてリスクがあった。客観的評価法にて自身の口腔内の状況を把握してもらうことで患者の再動機づけにつながり，術者にとってもより効果的な介入ができると考える。

P-008
2203

## 口腔汚染状況の新しい評価法の検討

葛城　啓彰

キーワード：ATP，インピーダンス，口腔，汚染状況

【目的】チェアサイドで簡便に行える口腔汚染状況の評価法としてATP拭き取り検査法を応用し口腔の汚染状況の数値化による可視化を目的とした。

【材料および方法】実験に同意の得られた本学学生ボランテイア75名（20〜22歳）を対象とし，ガムテストにより唾液を採取し，得られた唾液については，血液寒天培地，MS寒天培地，Chromagar Candida寒天培地（Becton Dickinson co. Japan）を用いて連続段階希釈とコロニー形成法による培養試験，細菌カウンタDU-AA01NP-H（Panasonic.co Japan）によるインピーダンス測定，ATP測定を行った。ATP測定は，Lcipac A3 surface, A3 waterおよびPD-30（Kikkoman co. Japan）にて計測した。

【結果】ガムテストによる唾液分泌量は7〜37.5ml／10分（中央値20ml／10分）であった。ATP測定値は唾液で14216〜117792RLU/ml（中央値41168）舌表面で18415〜840745RLU/ml（中央値214760）を示した。培養試験では$10^5$〜$10^9$ CFU/ml（中央値$10 \times 10^7$ CFU/ml）およびインピーダンス測定値では0.03〜$1.26 \times 10^7$/ml（中央値$0.27 \times 10^7$/ml）を示した。唾液のATP量とインピーダンス測定値の間には有意な相関が認められた。

【結論】ATP拭き取り検査法は，口腔汚染状況を反映する指標として数値化できることにより具体的に汚染状況を評価できる。また，その簡便性と低コストゆえにこれからの口腔汚染状況検査の主力になりえるものと考えられる。

P-009
2504

## 歯周炎を誘発した糖尿病モデルマウスに対するGlycyrrhizinの作用について

芥川　桂一

キーワード：歯周病，糖尿病

【目的】糖尿病（DM）は宿主の易感染性を引き起こし歯周炎の進行・重症化に関与する。一方，歯周炎は血中の炎症性サイトカインを上昇させインスリン抵抗性を惹起し糖尿病を増悪させる。従って，DM患者における歯周組織の炎症制御は両疾患のコントロールに重要である。High mobility group box 1（HMGB1）は最終糖化産物の受容体であるRAGEに結合し炎症性サイトカイン産生を誘導する。一方，Glycyrrhizin（GL）はHMGB1を阻害することで抗炎症効果を発揮する。本研究では歯周炎を誘発したDMモデルマウスにおけるGLの抗炎症効果及び血糖降下作用を明らかにすることを目的とした。

【方法】雄，5週齢のKK/TaJclマウスにHFD32を7週間給餌しDMモデルマウスを作製，絹糸結紮と*Porphyromonas gulae*（P.g）の口腔内塗布を行って歯周炎を誘発した。その後，GLの口腔内塗布を行った。14日目での血清中のP.gに対する抗体価，IL-6，SAA，RAGE及びHMGB1をELISA法，歯肉におけるIL-6，IL-1β，TNF-αのmRNA発現をリアルタイムPCRで分析し，28日目における空腹時血糖の測定を行った。

【結果・考察】DMモデルマウスにおいて歯周炎は歯肉における炎症性サイトカインのmRNA発現，血清中のP.g抗体価並びに炎症性サイトカイン，RAGEを増加させた。GLの口腔内塗布はこれらの上昇を抑制し空腹時血糖を低下させた。これらのことから，GLはDMマウスにおいてRAGEの制御を介して歯周および全身の炎症を抑制し糖尿病の病態を改善することが示唆された。

P-010
2504

## *Porphyromonas gingivalis* の感染がストレプトゾトシン誘導糖尿病モデルマウスの腸内細菌叢へ及ぼす影響

大津　杏理

キーワード：Porphyromonas gingivalis，糖尿病，腸内細菌

【目的】歯周炎は以前より糖尿病の合併症とされてきたが，歯周炎が糖尿病の症状悪化に関与するという報告も存在する。近年，腸内細菌叢の変化（dysbiosis）が糖尿病などの全身疾患へ関与する可能性が指摘されている。そこで本研究では，糖尿病と歯周炎の関連について腸内細菌叢に着目し，ストレプトゾトシン誘導糖尿病モデルマウスに*P. gingivalis*（*Pg*）を経口投与した際の腸内細菌叢に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】4週齢雄のC57BL/6Jマウスに5日間連続でクエン酸緩衝液またはストレプトゾトシンを腹腔内注射し糖尿病モデルマウスを作製した（WT，STZ）。WTとSTZをそれぞれ2群に分け，テスト群には$10^8$ CFU/mlの*Pg*を（WTPg, STZPg），対照群には生理食塩水（WTco, STZco）を週2回5週間経口投与した。屠殺前に空腹時血糖値の測定と糞便を採取し，16S rRNA遺伝子解析により腸内細菌叢を調べた。

【結果と考察】腸内細菌の門レベルにおいてSTZPgではWTcoに比べProteobacteraが有意に減少していた。また属レベルにおいてSTZco, STZPgではWTco, WTPgに比べ*Brevibacterium*，*Corynebacterium*，*Facklamia*割合が増加していた。STZPgでは*Turicibacter*の割合が有意に減少していた。STZPgでは腸内細菌叢の変化に加え，空腹時血糖がSTZcoより有意に上昇していた。

【結論】本研究より，STZ群ではdysbiosisが認められ，*Pg*の感染は糖尿病の状態を悪化させることが示唆された。

P-011
2504

## FimA typeの異なる*Porphyromonas gingivalis*口腔投与が関節リウマチモデルマウスへ与える影響

濵本　結太

キーワード：関節リウマチ，Porphyromonas gingivalis，腸内細菌叢

【目的】近年関節リウマチ（RA）の背景因子の1つとして歯周炎が報告され，これまでに*Porphyromonasu gingivalis*（Pg）口腔投与が，RAモデルマウスの関節炎を悪化させることを報告した。本研究ではPgのFimA typeの違いがRA増悪にどう影響を与えるか検討した。またRA増悪に腸内細菌叢の関与が示唆されているが，RAモデルマウスに糞便を移植し影響を検討した。

【材料と方法】SKGマウス（6-8週令，雌）に，RA誘導のためLaminarin（LA）10mgを腹腔投与した。更にPg投与群ではPg ATCC33277（type Ⅰ），Pg HW24D1（type Ⅱ），Pg W83（type Ⅳ）生菌またはホルマリン処理した死菌（$10^8$ CFU 2% carboxymethylcellulose含有PBSに懸濁）を3日毎に口腔内へ投与した。6週後にArthritis score（AS）でRAを評価した。糞便移植実験では，糞便受容マウスを抗生物質含有飲料水下で1週間飼育した後，上記のLA群・W83群のマウス糞便を移植用に調整したものを1日目と4日目に，各300μl経口移植した。抗生物質中止1週後にLAを腹腔投与し，6週後にASの評価を行った。

【結果と考察】全てのPg投与群においてLA群よりASが上昇していた。特にPg W83生菌群でASの最高値を示し，Pg W83死菌群でも同程度の結果が得られた。また糞便移植群では非移植群に比べて，ASの早期上昇と亢進が認められた。

【結論】SKGマウスのRA発症においてW83が最もRA増悪に関与していた。更に腸内細菌叢の変化がRA増悪に影響していることが示唆された。

P-012
2203

## 歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis*感染により増加した補体因子C5aが関節炎に及ぼす影響

宗永　修一

キーワード：Porphyromonas gingivalis，関節リウマチ，C5a

【目的】関節リウマチ患者の歯周炎罹患率は高いことが知られている。私どもは*Porphyromonas gingivalis*（Pg）口腔感染が両疾患を関連付ける要素であること，その機序として補体因子C5aが関与していることを報告した。本研究ではC5aが破骨細胞分化ならびに滑膜細胞に与える影響を検討した。

【材料および方法】1. SKGマウスにlaminarin 10mg（LA）腹腔投与し関節炎を誘導した。Pg W83 $10^8$CFU を3日おきに口腔内に留置した。マウスは，対照群，LA投与群，Pg投与群，PgおよびLA投与群（Pg/LA群）の4群に分け，実験開始6週後に血清を採取した。SKGマウスの大腿骨から骨髄由来単球細胞（BMCs）を採取し，被験マウスの血清中C5aがBMCsの破骨細胞分化に与える影響をTRAP染色法ならびにPit formation assayで評価した。2. ヒト滑膜細胞をリコンビナントC5aで刺激し，細胞培養上清中のsRANKL量をELISAで，炎症関連因子の産生量をBio Plex assayにて網羅的に評価した。

【結果と考察】1. Pg/LA群の血清は骨吸収能を有した破骨細胞を誘導した。その誘導は抗C5a抗体の添加で抑制された。2. C5a刺激による細胞培養上清中のsRANKL量は有意な変化を認めなかったが，血管内皮増殖因子（VEGF）量は有意に増加した。VEGFはRAにおいて骨破壊をきたすパンヌスの増殖に関与している。よって，C5aは直接破骨細胞分化に関与するだけでなく，VEGFを介しパンヌス形成を促進することで関節炎増悪に関与することが示唆された。

P-013
2402

## ナタマメエキスが関節リウマチと歯周炎の相互作用に対して与える効果について

松本　光生

キーワード：ナタマメエキス，歯周炎，関節リウマチ

【緒言】現在，関節リウマチ（RA）と歯周炎（PD）の相互関係が注目されている。一方で，植物由来成分が抗炎症作用を有することが報告されている。我々は，予備実験で，ナタマメエキス（Sward Bean Extract: SBE）が，LPS刺激THP-1細胞から産生されるTNF-αとIL-1βを有意に抑制することを明らかにした。今回の研究では，RAとPD，さらには，その相互作用に対してSBEが及ぼす効果を検討した。

【材料と方法】5週齢雌性のSKGマウスを使用した。RA群は，6週齢時に，マンナン20mgを腹腔内投与し，関節炎を誘導した。PD群は，10週齢時に，左右上顎第二臼歯に5-0絹糸を結紮し，歯槽骨吸収を誘導した。SBE投与群は，SBE（2000μg/ml）を飲用させた。屠殺後に歯槽骨吸収量の定量，歯周組織及び，関節の組織学的評価を行った。

【結果および考察】SBE投与群の歯槽骨吸収量は対照群と比較して，有意に小さい値を示した。組織学的評価において，SBE投与群では，炎症性細胞の浸潤が対照群と比較して少なくなっていた。RA+PD+SBE群では，RA+PD群と比較して関節における炎症スコアが有意に小さくなった。SBEは，歯周組織における炎症反応とRAと歯周炎が合併した際の関節での炎症を有意に抑制した。この結果は，SBEが炎症組織中で産生される骨吸収関連サイトカインであるTNF-αやIL-1βを抑制したためと考えられる。SBEは，実験的関節炎を有意に抑制することはできなかったが，実験的歯周炎モデルの歯槽骨吸収を抑制し，さらに，RAと歯周炎の相互作用を抑制することが明らかとなった。

P-014
2202

## *Porphyromonas gingivalis*（*P.g.*）感染が肝癌の発生及び進展に与える影響

坂本　真一

キーワード：NASH関連肝癌，インテグリン，P.g.，FAK

【目的】近年，腸内細菌が非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）関連肝癌の発生/進展に関わる可能性が示唆されているが，歯周病原細菌の関与を検討した研究はない。我々はNASH マウスモデルを用い，*Porphyromonas gingivalis*（*P.g.*）歯性感染がNASHの病態を増悪させ，その際肝細胞に*P.g.*感染がみられる事を報告した。そこで，今回は*P.g.*感染のNASH関連肝癌発生/進展への関与を検討するため，以下の*in vitro*の実験を行った。

【方法】1）ヒト肝細胞に*P.g.*を感染させ，プロテオーム解析後，非感染細胞と比較検討し，変動のあった蛋白質についてWestern Blot法にて詳細に検討した。

2）ヒト肝細胞と肝癌細胞に*P.g.*を感染させ，i）増殖，ii）ドキソルビシン（DOX）誘導アポトーシスおよび iii）遊走能への影響を調べた。

【結果】1）*P.g.*感染肝細胞のみに発現した蛋白にintegrinのシグナル伝達に関わるFAKが含まれていた。肝細胞への*P.g.*感染はFAKを増加させるとともにFAKとその下流のERKやAKTのリン酸化を誘導した。

2）正常肝細胞/肝癌細胞ともに*P.g.*感染によりi）増殖能の有意な亢進，ii）DOXの誘導するcCASP-3/cPARP発現上昇と浮遊細胞数増加の著明な抑制やiii）遊走能の促進が誘導され，正常肝細胞では有意差がみられた。

【結論】*P.g.*感染はintegrinシグナル伝達経路であるFAK/ERK/AKTの活性化を介し，肝細胞や肝癌細胞の増殖，アポトーシス，浸潤に影響した。よって，*P.g.*感染が肝癌の発生や進展に関わる可能性が示唆される。

P-015
2402

## 高齢者の血管内皮細胞に対する血清アミロイドA（SAA）の応答

田井　康寛

キーワード：動脈硬化症，細胞培養，血管内皮細胞，血清アミロイドA，老化関連遺伝子

【目的】近年，炎症によるCRP，SAA血中濃度の増加とアテローム性動脈硬化症との関連が報告されている。しかし，歯周病から動脈硬化症を通して老化へ至る経路は不明である。我々は，ヒト大動脈血管内皮細胞（HAECs）にSAA刺激を行い，SAAレセプター，接着因子の発現への影響を報告した。今回，高齢者のHAECsにSAA刺激を行い，血管内皮細胞が発現する老化関連遺伝子を検討した。

【材料および方法】HAECsはLONZA社より購入した。若年者（21，27歳）及び高齢者（81歳）のHAECsにSAA（25μg/ml）を添加し，10，20日間経過後に細胞を回収しTotal-RNAを抽出した。その後，real-time PCR法にてSAAレセプター，接着因子（ICAM1, VCAM1），単球走化因子MCP1，老化関連遺伝子（p53，p21，RIPK2）のmRNA発現を解析した。

【結果】SAA添加により若年者，高齢者ともにSAAレセプター，接着因子のmRNA発現が上昇した。しかし老化関連遺伝子の発現は様々な様相を呈した。

【考察および結論】歯周炎病変部で産生されたIL-6を介して産生されるSAAにより，血管内皮細胞が刺激され，SAA受容体のTLR2の発現が上昇することにより各接着因子のmRNA発現が上昇し，動脈壁へのマクロファージの浸潤から動脈硬化症が進行，さらには老化関連遺伝子にも影響を与える可能性が示唆された。

なお，本研究は「松本歯科大学動物実験室運営委員会」の承認（承認番号310）を得て実施した。

P-016
2504

## 実験的歯周炎マウスモデルにおける海馬領域の炎症反応

古玉　大祐

キーワード：慢性炎症，海馬領域の炎症，実験的歯周炎マウスモデル

【目的】高齢化の進行に伴いアルツハイマー病（AD）患者数は増加している。ADは患者本人だけでなく，家族や，社会にとっても大きな問題であり，そのメカニズムの解明，治療法開発が急がれている。全身の慢性炎症は脳内で炎症を誘引し，βアミロイドの沈着や一酸化窒素（NO）の産生を促す。その結果，神経変性や細胞死が誘導されAD発症の素因になると考えられている。このことは歯周炎のAD発症への影響を示唆する。歯周治療によってAD発症を遅らせることが出来れば，歯周治療が社会に与える影響は極めて大きい。本研究では歯周炎と脳の炎症との関連について詳細に解明することを目的として以下の実験を行った。

【材料と方法】実験は6-8週齢のc57BL/6の雌マウスを用いた。歯周炎は5-0絹糸を3日，1，2，3，4週間上顎両側第二大臼歯に結紮し発症させた。歯周炎モデル群と非結紮群の歯肉と海馬中のIL-1β，IL-6，アミロイドβ前駆タンパク質（APP），NO関連分子（NOS2）のmRNA発現をリアルタイムPCRにて確認した。

【結果と考察】歯肉の炎症性サイトカインのmRNAの発現は結紮3日後に非結紮群と比較し有意に上昇していた。海馬中のIL-1βは結紮1週間後に，IL-6は結紮4週間後に非結紮群と比較し上昇した。APPは結紮2週間以降4週まで時間依存的に上昇した。NOS2は結紮4週間後に大きく上昇していた。

【結論】本研究の結果から歯周炎モデルマウスにおいて歯肉組織中の慢性的な炎症性サイトカインの上昇が見られ，同時に海馬領域においても持続的な炎症反応が惹起され，βアミロイドの沈着やNOが産生されることが示唆された。

P-017
2203

## 口腔細菌による誤嚥性肺炎発症メカニズムの解明 －歯周病原菌は種々の呼吸器系上皮細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する－

渡辺　典久

キーワード：歯周病原菌，呼吸器系上皮細胞，誤嚥性肺炎，炎症性サイトカイン

【目的】口腔細菌が誤嚥性肺炎の原因となること，口腔ケアがその予防に有効であることは広く知られるようになった。しかし，口腔細菌がどのように誤嚥性肺炎を引き起こすのか，なぜ予防に口腔ケアが有効なのか，EBMを実践する上で最も重要な点は未解明のままである。肺炎の発症と進展において，IL-8等の炎症性サイトカインは中心的な役割を担うことが知られている。そこで，誤嚥した口腔細菌が呼吸器上皮細胞に作用し炎症性サイトカインを誘導，肺炎を惹起するのではないかと考え本研究を企画した。

【方法と結果】咽頭，気道及び肺の上皮細胞に*P. gingivalis*の死菌を添加した結果，量と処理時間依存的に炎症性サイトカインの遺伝子発現が強く誘導された。ELISA解析から，好中球浸潤や組織破壊等に関わるIL-8とIL-6の産生が顕著であり，その誘導にはNF-kBとMAPKの関与が示唆された。また，*F. nucleatum*や*T.denticola*等によっても強いサイトカイン産生が誘導されたが，*S.mitis*や*S.salivarius*処理では変化が認められなかった。

【考察】口腔衛生状態が悪い人の唾液1ml中には$10^9$個以上の細菌が存在し，$10^{12}$個以上の細菌を日々嚥下している。今回の実験では，$10^6$～$10^8$ 個の細菌を用いていることから，歯周病原菌が炎症性サイトカイン産生の誘導を介して肺炎の発症に深く関与していることが示唆された。われわれは，歯周病原菌が肺炎球菌や緑膿菌等のレセプターの発現を誘導することも見出しており，誤嚥性肺炎予防に口腔ケアが有効であることを分子レベルで提示できたと考える。

P-018
3104

## マウスにおける歯周病原菌*P. gingivalis*由来LPSの投与が膵臓の遺伝子発現に与える影響

平木　大地

キーワード：膵臓，LPS，自己免疫疾患

【目的】近年，歯周炎は動脈硬化，糖尿病，関節リウマチなど，種々の疾患リスクを高めることが報告されている。しかしながら，歯周炎が全身疾患の発症・進行に関与するメカニズムについては，依然として不明な点が多い。本研究では，歯周病原細菌である*P. gingivalis*のLPS（P.g-LPS）を全身投与するモデルを用いて，膵臓の遺伝子発現を網羅的に探索した。

【材料と方法】6～8週齢のマウスに，生理食塩水で調整した5mg/kgのP.g-LPSを3日毎に腹腔内投与し，1ヶ月間投与した。LPSを投与しない群をコントロール群とした。最終投与より3日後にマウスを屠殺，膵臓を摘出した。Total RNAからcDNAを作成し，mRNA発現の変化の網羅的解析およびパスウェイ解析を行った。

【結果と考察】マイクロアレイによる解析では，コントロール群と比較し，P.g-LPS投与群において発現上昇した遺伝子は1,029プローブ，発現低下した遺伝子は326プローブであった。パスウェイ解析よる機能カテゴリ分類を行ったところ，発現増加では「Immunological Disease」（362種）に関連した遺伝子が最も多かった。近年，歯周炎は，関節リウマチのような自己免疫疾患にも関与することが報告されている。P.g-LPSの投与により，Ⅰ型糖尿病を引き起こす原因になり得ると考えられる。

【結論】*P. gingivalis*由来LPSは，膵臓における自己免疫疾患に影響を及ぼす可能性がある。

P-019
3104

## 遺伝子発現データベース（GEO）からの歯周炎と低体重児出産に共通するバイオマーカの検索

鈴木　麻美

キーワード：慢性歯周炎，低体重児出産，バイオマーカ

【目的】生命科学におけるハイスループット解析技術の進歩によりもたらされたオミックス情報を基盤とし，多因子疾患のメカニズムの解明，予防，診断，治療，および，予後の推測を目指す医療の時代に入ってきた。また，歯周炎と他の疾患との分子レベルでの関連についても注目されるようになった。本研究では，公共データベースに保存されているマイクロアレイデータから，慢性歯周炎と低体重児出産とに共通するバイオマーカ候補を抽出し，分子レベルでの双方の関連について検索することを目的とした。

【材料と方法】GEOデータベースに保存されている慢性歯周炎と低体重児出産に関する遺伝子発現データセットを抽出した。それらのデータセットを用い，遺伝子の発現変動，共通する発現変動遺伝子のネットワークと上流調節因子，および，臨床応用可能な共通バイオマーカ候補の検索を行った。さらに，慢性歯周炎と低体重児出産に共通する因子から，分子レベルでの機能解析を行った。

【結果と考察】慢性歯周炎と低体重児出産に共通する因子は，炎症に関する因子や血管内皮細胞に関連する因子以外に複数の機能に関連していることが推測された。

慢性歯周炎と低体重児出産に共通する因子のネットワークから，ハブとなる分子を抽出し，その機能解析を行うことにより，双方の関連の解明につながる因子が明らかになる。さらに，それらのうち，共通するバイオマーカ候補の抽出が可能となる。

今後，検証実験を進め，慢性歯周炎と低体重児出産とに関連する因子を明らかにし，臨床応用可能なバイオマーカの抽出を行い，疾患の予防，診断へつながる研究へと発展させていく予定である。

P-020
2402

## 頚動脈アテロームにおけるDNAメチル化と歯周病との関連

青山　典生

キーワード：DNAメチル化，アテローム性動脈硬化，ペリオドンタルメディシン

【目的】歯周病と循環器疾患の関連が知られており，近年，両疾患でのエピジェネティックな変化が報告されている。歯周病と循環器疾患を結びつける因果関係は示されていないことから両疾患の関連を解析することが急務となっているが，我々は両疾患をつなぐ因子としてエピジェネティックな変化に着目した。本研究の目的は，歯周病患者の頚動脈アテロームにおけるDNAメチル化の状態を解析することである。

【材料と方法】Red Cross Hospital（Greece）の血管外科を受診し，頚動脈アテロームを外科的に切除する者を対象とし，アテローム病変を採取した。病変からDNAを抽出し，DNAメチル化プライマーアッセイを用いて10遺伝子のCpGアイランド領域におけるDNAメチル化状態を計測した。

【結果と考察】36名の被験者から，アテローム病変を採取して解析を行った。歯周病と糖尿病を有する被験者では，Matrix metalloproteinase（MMP）-2とMMP-9遺伝子において，DNAメチル化の増加が統計学的有意に認められた。歯周病と糖尿病を有する被験者におけるMMP-9のDNAメチル化の増加は，交絡因子を調整した上でも認められた。これまでに歯周病あるいは循環器疾患単独でのエピジェネティックな変化は報告されているが，本研究結果から歯周病とアテローム性動脈硬化症の関連においてのDNAメチル化の変化を初めて明らかにした。

【結論】歯周病患者では，アテローム病変のある血管壁におけるDNAメチル化が変化していた。歯周病原細菌感染が血管壁でのDNAメチル化の異常を介してアテローム形成に影響を与えている可能性が示唆された。

P-021
2504

## 初診患者の喫煙に関する認知と歯周病態との関係
## －9歯科診療所における調査から禁煙支援を考える－

竹市　幸代

キーワード：歯科診療所，歯科患者，歯周病，喫煙，加濃式社会的ニコチン依存度

【目的】歯科における禁煙支援推進の一助として，初診患者の歯周病態，喫煙および喫煙に対する認識に関する調査を行った。

【対象および方法】2011年4月～7月に9歯科診療所に来院した成人初診患者の内，本研究の趣旨に同意した1,637名（38.1 ± 12.8歳）を対象に，歯周組織検査と質問票調査を行った。（倫理委員会承認番号：239）

【結果および考察】喫煙率37%（男性48%，女性22%），現在歯数26歯，歯周ポケット深さ最深部4mm以上歯の比率（4PD歯率）29%，プロービング時の出血歯の比率（BOP歯率）27%および動揺度1以上歯の比率（動揺歯率）4%であった。女性に比べ，男性では，4PD歯率とBOP歯率が高く（$p < 0.01$），非喫煙者においてもBOP歯率が高かった（$p < 0.05$）。非喫煙者に比べ，喫煙者は，現在歯数が少なく，4PD歯率，BOP歯率（$p < 0.01$），動揺歯率が高かった（$p < 0.05$）。一方，加濃式社会的ニコチン依存度（KTSND）得点は，喫煙歴に関わらず男性が高く，非喫煙者に比べ，喫煙者と前喫煙者が高く，準備期と熟考期の者に比べ，無関心期の者が高かった（$p < 0.01$）。また，喫煙者の禁煙への行動変容ステージは，準備期がわずか5%であった。したがって，KTSND得点の高い男性，喫煙者，特に無関心期喫煙者は，喫煙への認知が低く，依存度が高いと分析され，歯科診療所来院患者は，動機づけを必要とする禁煙困難な者が多いことが示唆された。

【結論】歯科診療所の成人患者の4割程度は，喫煙している可能性があり，それに対応するための禁煙支援は，簡単ではないが，重要であると考えられた。

P-022
2107

## 1歯6点計測による大規模歯周疾患実態調査（第二報）

室田　和成

キーワード：有資格者，1歯6点計測，歯周疾患実態調査

【目的】第一報では26歳から61歳までの被験者（984名）のうち歯肉炎または歯周炎の兆候があるものを84%認めた。これは歯科疾患実態調査（平成23年）による報告と近似した結果であった。今回我々は，前回より引き続き日本歯周病学会歯周病専門医・認定医による大規模歯周疾患実態調査を行い，全身疾患，生活習慣との関連性について比較検討した。

【材料と方法】某企業の社員2390名を対象に日本歯周病学会専門医・認定医10名が歯周疾患検診を行った。歯周ポケット6点法，歯肉出血，動揺度の測定を行い，日本歯周病学会2015歯周治療の指針を参考に歯周病の罹患度を健康，歯肉炎，軽度歯周炎，中等度歯周炎，重度歯周炎と分類した。また，全身疾患についても内科医師により同時に行った健診結果から突合して調査を行った。

【結果と考察】2390名のうち歯肉炎が608名（24%），軽度歯周炎が519名（21%），中等度歯周炎が579名（23%），重度歯周炎が411名（16%）であり273名（11%）は健康であった。そのうち，重度歯周炎患者は体形（BMI），内臓脂肪レベル，血圧，血糖値，喫煙率において高い割合を示した。

【結論】今回の結果より89%が歯周病に罹患しており，これまでの歯科医院来院者を対象にしたデータと同様，一般企業検診における歯周病罹患者は多いことが示された。自覚症状に乏しく，受診が遅れる場合が多いため，定期受診を勧告することが重要である。また，歯周病の重症度と全身疾患・喫煙との関連性も認めたため，とくに有病者および喫煙者に対して早期の歯周病治療を促すことも我々の責務であると考える。

P-023
2305

## メンテナンス中の歯の喪失に精製糖質摂取過剰による歯ぎしりが関与

篠原　啓之

キーワード：メンテナンス，歯の喪失，歯ぎしり，糖質摂取過剰

【目的】これまで演者らは，メンテナンス中に歯を失くす最大の原因が歯の破折で，これは過去の糖質過剰によるう蝕と，現在の糖質過剰による歯ぎしりが関与し，歯の喪失を予防するためには，炎症と力のコントロール以上に「糖質のコントロール」が重要であると示唆した。今回，メンテナンス中の患者さんの食事内容の調査と食事指導を行い，指導前後の歯軋りによる口腔内所見，即ち，咬合線・舌痕・骨隆起等を調査すると共に歯周ポケット率，歯肉出血率，歯の動揺度の変化について調査し，糖質摂取コントロールが，歯軋りの改善と歯の喪失阻止に関与しうるか否かを検討した。

【方法】当院でメンテナンスをされ調査の趣旨に同意した患者さんに対し，毎日の食事内容，間食，食事時刻および体調を記載して頂いた。歯周ポケットと歯肉出血，歯の動揺，咬合線や舌痕，骨隆起などの歯軋りの所見を記録し，食事内容と歯軋りや炎症の関係について調べた。

【結果】①糖質摂取過剰の食生活が改善されなかったグループ：食事内容が食事指導前と同様に，白米・パン・麺類などの精製糖質摂取量が多く，肉魚などのタンパク質摂取量が少ない患者の多くは，指導前と同様に咬合線や舌痕が著しく，歯軋りの改善傾向が見られなかった。②糖質摂取過剰の食生活が改善されたグループ：精製糖質である白米の摂取量を少なくしたりパンを止めた方の多くで，歯周組織の改善と歯軋り所見の減少が見られた。以上の所見から，精製糖質，特にパンなどのGI値の高い糖質を食べることで起こるグルコーススパイクの代償として夜間に起こす異常な食いしばりや歯ぎしりが，歯のメンテナンス中の歯の喪失に影響していることが示唆された。

P-024
2402

## 歯槽骨骨密度診断は顎骨壊死（BRONJ）のモニタリングに有用である

高石　佳知

キーワード：顎骨壊死，BP剤，顎骨骨密度，Bone Right

【背景】ビスフォスフォネート製剤（BP）は骨粗鬆症の第一選択の薬剤であり，骨粗鬆症の増加に伴いBRONJの発症数も急増している。我々は顎骨壊死病変周囲の歯槽骨骨密度（alBMD）が162.5以上の異常高値になることを報告した（Osteoporosis Int 2010）。

今回，BRONJ発症が少ないとされるBPの3年未満の継続投与患者のalBMD診断から薬剤反応性とBRONJの関わりを検討した。

【方法】葛城病院の骨粗鬆症外来通院中の閉経女性から被験者32名をBPの投与薬ごとに3グループに分け，リセドロネートグループ（以下RG，14名，平均年齢66.8 ± 5.3歳）に週1回17.5mgを経口投与した（平均継続投与月数17.5 ± 8.3ヶ月）。ミノドロネートグループ（以下MG，11名，平均年齢65.5 ± 9.9歳）では，4週間に50mgを1回経口投与した（平均継続投与月数18.9 ± 7.2ヶ月）。アレンドロネートグループ（以下AG，7名，平均年齢65.6 ± 13.2歳）では，35mgを週1回経口投与した（平均継続投与月数20.4 ± 4.9ヶ月）。

alBMD診断は第二種医療機器（28BZ200142）Bone Right（Dentalgraphic. Com社，日本）を使用し，右側下顎第一小臼歯歯槽骨下部二分の一の領域を測定した。

【結果】治療前後のalBMD増加率はRGで11.3% ± 30.6%，MGで8.7% ± 21.5%，AGで3.0 ± 14.5%であり，alBMDはBRONJ発症の境界値の162.5以下である。

【結論】alBMD診断はBRONJ発症回避のためのモニタリングに有用である。

P-025
2203

## 歯周病関連細菌*Porphyromonas gingivalis*におけるMfa5のMfa1線毛形成における役割

飯島　由羅

キーワード：歯周病，ポルフィロモナス・ジンジバリス，線毛

【目的】*P. gingivalis* ATCC 33277はFimAおよびMfa1線毛を発現する。Mfa1線毛には，Mfa3，Mfa4及びMfa5が付随成分として組み込まれているが，線毛の形態形成におけるそれらの因子の役割は不明である。本研究では，Mfa5の機能解析を目的として，*mfa5*の種々の変異株を用いMfa1線毛形成に及ぼす影響を検討した。

【方法】*fimA*欠損株を親株として*mfa5*欠損株（Δmfa5），*mfa5*相補株（+mfa5），*mfa5*にコードされType IX分泌装置により認識されうるC-terminal domainの削除株（ΔCTD）及びvon Willebrand factor A domain削除株（ΔVWA）を作製した。菌体表面でのMfa1線毛の発現量をFiltration ELISAにて解析した。各株から全菌体抽出液（WCL）を調製した。Mfa1の検出はウェスタンブロット法にて行った。線毛はイオン交換クロマトグラフィーにより精製した。

【結果】親株と比較して，Δmfa5及びΔCTDでは，菌体表面でのMfa1の発現量が有意に減少し，WCLにて検出される重合型Mfa1バンドも減少した。また，Δmfa5及びΔCTDより精製したMfa1線毛ではMfa3-5は検出されなかった。一方でΔVWAの精製Mfa1線毛ではMfa3及びMfa4は検出されたが，Mfa5は検出されなかった。なお，+mfa5では表現型の回復が認められた。

【考察】Mfa5はMfa1線毛の形態形成に必要であり，CTD及びVWAは少なくともMfa5の線毛への組み込みに際して必要な領域であることが考えられた。

P-026
2504

## アジスロマイシンによる*Porphyromonas gingivalis*線毛発現に対する影響

甘　博文

キーワード：歯周病，アジスロマイシン，線毛

【目的】*Porphyromonas gingivalis*（*P. g*）の宿主細胞への付着と定着には，菌体表面に発現する線毛が重要な役割を果たしている。そこで，タンパク質合成阻害薬であるアジスロマイシンを最小発育阻止濃度以下の濃度で投与後，*P. g*線毛の発現，細胞付着能，血球凝集能と遺伝子発現への影響を検討した。

【材料と方法】*P. g* ATCC 33277株を使用してヘミン，ビタミン$K_1$とイーストエキストラクトを添加したブルセラ液体培地で一昼夜培養した菌体のアジスロマイシンに対するMIC濃度を測定した。MIC濃度を決定後，1/2，1/4，1/8 MIC濃度のアジスロマイシン添加ブルセラ液体培地で18時間培養後，菌体を集菌しPBSで2回洗浄した。この菌体を12% SDS-PAGEで常法により泳動した。また，Western blotは，電気泳動後PVDF膜に転写し，抗41-kDa 線毛抗体を用いて行った。

【結果と考察】タンパク質合成阻害薬であるアジスロマイシンの最小発育阻止濃度以下濃度における*P. g*への影響は，本菌線毛の発現抑制，血球凝集能および細胞付着能を阻害することが判明した。また，0.4 μg/μL，0.2 μg/μL，0.1 μg/μL濃度のアジスロマイシン添加により，41-kDa線毛が完全に消失していることが電子顕微鏡観察で確認された。以上の結果から，アジスロマイシンの殺菌作用だけではなく，低濃度では*P. g* の口腔内定着を抑制し，バイオフィルム形成抑制に作用して歯周病治療に寄与することが示唆された。

P-027
2299

## Flt3 ligand発現DNAプラスミドとCpGオリゴヌクレオチドの経鼻同時投与による歯周病原細菌由来抗原に対する免疫応答

小渕　健二朗

キーワード：Porphyromonas gingivalis線毛タンパク，経鼻投与，粘膜アジュバント，IgA抗体

【目的】我々はこれまで，免疫応答が減弱した高齢者にも有効な経鼻アジュバントの検討を行ってきた。本研究では歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis*線毛タンパクのリコンビナントタンパク（*r*FimA）を抗原として用い，CpG ODNとFlt3 ligand（FL）発現DNAプラスミド（pFL）からなる経鼻アジュバントをマウスに同時投与，粘膜部及び全身系の抗原特異的免疫応答の検討を行った。

【方法】6－8週齢BALB/cマウス（♀）を用い，実験群は抗原100μgとpFL50μg，CpG ODN10μgを，対照群は抗原100μgのみを毎週1回計3回経鼻投与した。初回投与から21日目の唾液と血漿，鼻腔洗浄液，肺洗浄液を採取し，抗原特異的IgA，IgG抗体価をELISA法で測定した。さらに21日目の脾臓，頸部リンパ節及び顎下唾液腺，鼻腔粘膜固有層，肺縦隔リンパ節での抗原特異的抗体産生細胞数をELISPOT法で測定した。

【結果】実験群の唾液，鼻腔洗浄液，肺洗浄液，血漿中の抗原特異的IgA抗体価は，21日目で対照群と比較し有意な差を認めた。さらに21日目における顎下唾液腺，鼻粘膜固有層，肺縦隔リンパ節，脾臓，頸部リンパ節の抗原特異的IgA抗体産生細胞数も有意な増加を認めた。また血漿中の抗原特異的IgG抗体価，脾臓と頸部リンパ節の抗原特異的IgG抗体産生細胞数も対照群と比較して有意な増加を認めた。

【結論と考察】CpG ODNとpFLからなるダブルアジュバントが，若齢マウスの粘膜部と全身系において*r*FimAに対する免疫応答を誘導することが明らかとなり，老齢マウスへの応用の可能性が示唆された。

P-028
2203

## *Porphyromonas salivosa* ATCC 49407株線毛の精製と生物活性の検討

稲葉　啓太郎

キーワード：歯周病，Porphyromonas salivosa，線毛

【目的】*Porphyromonas salivosa*（*P. salivosa*）は，ヒト歯周病原細菌*P. gingivalis*と同属の黒色色素産生グラム陰性嫌気性桿菌であり，イヌやネコを含む様々な動物の歯肉溝から分離される。近年，コンパニオンアニマルとの接触機会が増加していることから，口腔内伝播の可能性を考慮し，*P. salivosa*線毛の歯周組織破壊への関わりについて検討した。

【方法】*P. salivosa* ATCC 49407株の繊毛の存在と線毛タンパク質の精製は，DEAE sepharose CL-6B陰イオン交換クロマトグラフィーにより精製し，Western blot法と電子顕微鏡観察で確認した。破骨細胞分化誘導能は，マウス骨髄細胞とMC3T3-G2/PA6の共培養系を用いて行った。サイトカイン産生誘導能は，マウス腹腔マクロファージを用いてELISA法にて検討した。歯槽骨吸収量は，ラット口腔へ*P. salivosa*生菌を直接接種する実験的歯周炎により評価した。

【結果と考察】*P. salivosa* ATCC49407株の菌体表層に線毛構造物が存在し，線毛タンパク質は分子量60-kDaであることが確認された。60-kDa線毛タンパク質は，破骨細胞分化誘導能と炎症性サイトカインであるIL-1βとTNF-αを濃度依存的に増加することが確認された。また，*P. salivosa*に感染させたラット実験的歯周炎モデルにおいて，*P. gingivalis*と同様に顕著な歯槽骨吸収が認められた。以上の結果から*P. salivosa*は60-kDa線毛が菌体周囲に存在し，歯周組織破壊に関わる重要な病原因子であることが示唆された。

P-029
2807

## コウボクは*Porphyromonas gingivalis mgl*を介したメチルメルカプタン産生を抑制する

佐藤　陽子

キーワード：口臭，メチルメルカプタン，Porphyromonas gingivalis

【目的】*P. gingivalis*（*Pg*）は揮発性硫黄化合物（VSC）を産生し，VSCは口臭の原因になる。METaseは*Pg*が保有するアミノ酸分解酵素であり，VSCであるメチルメルカプタン（MM）を合成する。生薬であるコウボクがMetaseをコードする*mgl*遺伝子を制御して，MM産生を抑制する。本研究ではコウボクによる*Pg*メチルメルカプタン産生制御のメカニズムの解明を目的に複数の*Pg*菌株を用いて検討した。

【材料および方法】*Pg*の分離：広島大学病院口臭外来受診患者の唾液を，血液寒天培地に播種後，生育した黒色コロニーから16s rRNAをPCR法で同定した。

MM産生量の測定：試験管内に，PBS1ml中に*Pg* $10^8$CFUになるよう調整し，L-メチオニン，コウボクを添加し，60分培養した。MM産生量はオーラルクロマで測定した。

*mgl*発現解析：ガス測定と同様にサンプル調整し，totalRNAを精製した。*mgl* 発現はreal-time PCRで評価した。

バイオフィルム形成実験：*Pg* W83 $10^7$CFUと，*F. nucleatum* ATCC 24597（*Fn*）$10^6$CFUを96wellプレートで共培養し，バイオフィルムをクリスタルバイオレットで染色後，吸光度で評価した。

【結果】*Pg*標準株，臨床分離株ともに，L-メチオニンの濃度依存的にMM産生が増加した。コウボクは*Pg* MM産生を抑制し，*Pg*の線毛をコードする遺伝子*fim type*で抑制率に違いが認められた。コウボクはバイオフィルム形成を抑制した。

【結論】コウボクがmRNAレベルで*Pg*のMM産生を抑制し，バイオフィルム形成抑制にも関与することが示唆された。

P-030
2203

## S-PRGフィラーとジェルが歯周病原菌に及ぼす影響

田村　宗明

キーワード：歯周病原菌，発育阻止，S-PRGフィラー

【目的】歯周病の原因のひとつに歯周病原菌バイオフィルムの形成が関与していることから，歯周病原菌のコントロールは歯周病の予防のみならず全身疾患の予防，宿主の健康維持や健康寿命の延長などに深く関わってくる。S-PRGフィラーは6種のイオンを放出するリチャージ可能な新規バイオマテリアルであるが，本材料が歯周病原菌に及ぼす影響についての報告はほとんどない。今回演者らは，S-PRGフィラーから放出されるイオン水が歯周病原菌の発育および病原因子に及ぼす影響と，臨床応用を想定してS-PRGフィラー含有ジェルを作製し，歯周病原菌に対する抗菌効果について検討した。

【方法】S-PRGフィラーを蒸留水に24時間浸漬した上清をイオン水として供試した。実験には歯周病原菌の*P. gingivalis*など4菌株を供試した。発育抑制効果はイオン水を添加した培地で培養後の濁度から判定した。さらに*P. gingivalis*のgingipain活性と赤血球凝集能に及ぼす影響についても検討した。一方，S-PRGフィラー含有のジェルを作製し，歯周病原菌に対する抗菌効果を改良型寒天拡散法にて観察した。

【結果及び考察】イオン水は濃度依存的に供試菌株の発育と，*P. gingivalis*のgingipain活性および赤血球凝集能を抑制した。また，S-PRGフィラージェルは発育阻止帯を形成した。これらの結果から，イオン水およびS-PRGフィラージェルは歯周病原菌に対して抗菌効果を発揮し，歯周病の予防とQOLの向上に有用となる可能性が示唆された。

（学会会員外協力者　株式会社 松風　中塚　稔之）

P-031
2504

## 歯周病菌に対する紫外線LEDの効果

Nay Aung

キーワード：紫外線，LED，歯周病菌，ヒト歯肉線維芽細胞

**Background and objectives:** Ultraviolet（UV）light has been used for the treatment of skin diseases in medical field. The aim of this study is to examine the effects of different ultraviolet light-emitting diode（UV LED）wavelengths on periodontopathic bacteria.

**Materials and methods:** Bacterial suspensions（*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, and *A. actinomycetemcomitans, and S. oralis*）were irradiated by UV LEDs（265, 285, 310, 365, and 448 nm）at 10 mW/$cm^2$ for approximately 60 s. The colony forming units（CFUs）on a blood agar plate were counted after 1 week. Optical density of *P.g* suspension following irradiation was measured up to 24 h. The effect of UV LEDs on human gingival fibroblasts（HGF-1）was evaluated using WST-8 assay.

**Results:** Irradiation of 265 and 285 nm completely inhibited colony formation while 310 nm caused significant 1 log reduction of CFUs. 365 and 448 nm resulted in no significant changes. When *P.g* suspensions were irradiated at 265 and 285 nm, the optical density did not change up to 24 h while 310 nm suppressed the growth for 24 h. Both 265 and 285 nm completely killed the fibroblasts, while 310 nm reduced the viability to some extent.

**Conclusions:** These findings suggested that irradiation at both 265 and 285 nm may induce complete bactericidal effect without cell destruction and complete death of fibroblasts. In addition, 310 nm results in the inhibition of bacterial growth with less damage to the fibroblasts.

P-032
2504

## 歯石により誘導されるHSC-2口腔上皮細胞の細胞死において結晶構造および菌体成分が果たす役割

SM Ziauddin

キーワード：歯石，細胞死，結晶構造

**Objective:** Previously, we found that dental calculus could induce cell death via NLRP3 inflammasome in HSC-2 oral epithelial cells. Dental calculus contains both crystalline structures and microbial components, however, the relative importance of these components in HSC-2 cell death has not been investigated. This study aimed to determine which component of dental calculus plays an important role in HSC-2 cell death.

**Materials and methods:** To inactivate microbial components, dental calculus samples from five periodontitis patients were treated at 250°C for 1 hour（baked）or left untreated（unbaked）. HSC-2 cells were exposed to 500 μg/ml of unbaked or baked calculus. The cells were also exposed to synthetic hydroxyapatite（HA）crystals, which contain no microbial components, in the presence or absence of LPS or $Pam_3CSK_4$. After 24 hours, cytotoxicity was quantified by measuring lactate dehydrogenase release in the culture supernatants.

**Results:** Unbaked and baked calculus induced a similar level of cell death in HSC-2 cells. HA crystals also induced cell death in HSC-2 cells and addition of LPS or $Pam_3CSK_4$ did not change its cytotoxicity.

**Conclusion:** Crystalline structures play a major role in the HSC-2 cell death induced by dental calculus. The non-significant contribution of microbial products to cell death might be due to the low sensitivity of HSC-2 cells to microbial ligands.

P-033
2203

## 口腔咽喉用スプレー剤の殺菌力に対する希釈及び唾液添加の影響

浦川　李花

キーワード：塩化セチルピリジニウム，口腔咽喉用スプレー

【背景および目的】口腔ケアによる口腔細菌の質的量的制御により，誤嚥性肺炎の予防が期待できる。その中で，種々の殺菌剤を配合した口腔咽喉薬が上市されているが，唾液による希釈がこれらの殺菌力に及ぼす影響は十分明らかになっていない。そこで本研究では，各種口腔細菌及び真菌を用いて，3種の異なる殺菌剤を配合した市販口腔咽喉薬の殺菌力に対する，希釈及び唾液添加の影響を検討した。

【方法】供試薬剤は0.3%（w/v）塩化セチルピリジニウム（CPC剤），0.5%（w/v）ヨウ素（I剤）または0.45%（w/v）ポビドンヨード（PVP-I剤）を配合した3種の市販口腔咽喉用スプレー剤とし，それらを原液として2倍の段階希釈系列を水で作製し供試菌液を接種した。供試菌は歯周病，う蝕，肺炎に関連する口腔細菌及び真菌を含む計10菌種とした。供試菌液を接種後，経時的（15，30秒，1，3，5，10および30分後）に殺菌剤を不活化し72時間培養して各希釈系列における最短殺菌時間を評価した。また，3名の滅菌混合唾液を希釈系列に添加し，唾液成分が殺菌力に与える影響を検討した。

【結果】CPC剤は64倍に希釈した場合でも，ほぼ全ての供試菌を5分以内に殺菌したが，I剤およびPVP-I剤の場合，同条件下では殺菌効果は見られなかった。またいずれの供試薬剤でも，唾液を添加すると，無添加群よりも殺菌時間が長くなったが，この条件においてもCPC剤は他2剤と比べ低濃度でも短時間で殺菌効果を示した。

【結論】本結果から，唾液による希釈が生じる口腔や咽喉において0.3%（w/v）CPC含有口腔咽喉用スプレー剤はより有効であることが示唆された。

P-034
2109

## 口腔バイオフィルム感染症を制御するパウダー状の天然食品の探索

伊東　昌洋

キーワード：機能性食品，口腔感染症，感染制御

【目的】う蝕や歯周病に代表される口腔バイオフィルム感染症の予防は，全身の健康へも寄与する。しかし，現在の主な予防法は感染源の機械的除去であり，時間と労力の問題から要介護高齢者などには十分な対策が行き届かないのが現状である。そこで本研究では口腔内という特殊な環境における細菌感染を制御するために，介護食等に添加しやすいパウダー形態で，かつ抗菌性を有する食品を探索し，その特性を追求した。

【材料と方法】マッシュルーム，ニンニク，パセリ，タイム，ショウガ，大豆発酵物をリン酸緩衝溶液（PBS）に溶解させ上清を採取し，抽出液とした。各サンプル抽出液の終濃度が10mg/ml，1mg/ml，100μg/mlになるように*Streptcoccus mutans*（$1.0 \times 10^6$ cfu/ml）を播種した液体培地に加え，2時間ごとに濁度を計測した。

さらに最も抗菌性を有した抽出液に対して100kDa，10kDa，3kDaの限外濾過を行い，各分画液を同様に評価した。陽性対照は塩化セチルピリジニウム溶液（終濃度0.05%），陰性対照はPBSとした。

【結果と考察】各サンプル抽出液において，大豆発酵物は100μg/ml以上の濃度で，タイムは1mg/ml以上の濃度で，ショウガは10mg/mlで増殖抑制を示す傾向があった。よって，本研究で探索した食品のうち，大豆発酵物が最も抗菌性を有すると判断した。そして大豆発酵物は100kDa以上の分画液に抗菌性物質が局在していることが示唆された。

【結論】探索の結果，大豆発酵物パウダーは口腔感染症を制御する新規の機能性食品となる可能性が示唆された。

P-035
2504

## 塩酸ミノサイクリン局所投与がサポーティブペリオドンタルセラピー（SPT）期歯周炎患者の歯肉縁下細菌叢に及ぼす影響（第Ⅱ報）

宮沢　春菜

キーワード：局所薬物療法，ミノサイクリン，歯肉縁下細菌叢

【目的】抗菌薬の局所投与は，歯周炎治療における機械的プラークコントロールの補助療法として有用であるが，歯肉縁下細菌叢に与える効果について解析した報告は今までにない。本研究の目的は，スケーリングと塩酸ミノサイクリン（ペリオクリン®）局所投与の併用療法による歯肉縁下細菌叢の変化を網羅的に解析することである。

【材料と方法】活動性歯周ポケットを有するSPT期歯周炎患者10名を対象とし，無作為に実験群と対照群に割り付け，スケーリング後，実験群にペリオクリン®，対照群にプラセボ製剤を1週間毎に計4回歯周ポケット内へ投与した。治療開始時（BL），4週後（4W），8週後（8W）に歯周ポケット内細菌を採取し，次世代シークエンサーによる細菌叢解析，Red complex細菌のリアルタイムPCRによる定量解析を行った。

【結果と考察】実験群において，種レベルでの歯肉縁下細菌叢における多様性は，BLまた対照群と比較し4Wで有意に減少した。UniFrac-PCoA解析にて4Wで2群間の菌叢の有意な相違が認められた。また実験群において，Red complex細菌数は，4Wで有意に減少し8Wまでその傾向が持続し，臨床的にはBOPの改善を認めた。

【結論】SPT期におけるスケーリングとペリオクリン®局所投与の併用療法による炎症の低下は，歯周病関連細菌の減少を含む歯肉縁下細菌叢の多様性の変化によることが示唆された。

本研究はサンスター株式会社の支援を受けて行われた。
会員外共同研究者　Lu Li, Robert Genco（ニューヨーク州立大学バッファロー校）

P-036
2504

## SPT期患者における3種殺菌成分配合歯磨剤によるセルフケアの有用性

衣松　高志

キーワード：歯磨剤，殺菌成分，サポーティブペリオドンタルセラピー

【目的】本研究は，SPT期患者において，3種類の殺菌成分配合の歯磨剤を使用したセルフケアを行った際の臨床的な有用性を検討する目的で行った。

【材料と方法】被験者は，過去に軽度から中等度の慢性歯周炎に罹患し現在SPTを行っている20歳から70歳の男女30名とした。被験者はセルフケアとして試験歯磨剤（OC1510，第一三共ヘルスケア株式会社）を使用したブラッシングを1日3回行い，歯周組織検査および歯肉溝滲出液（GCF）の炎症性マーカー，唾液中の歯周病原細菌および総菌数の測定を行った。検査時期は，ベースライン時，開始後14日目，28日目とし，試験終了時には全体有用度を評価した。

【結果と考察】PlI，GI，BOP部位数，発赤スコアにおいて，使用14日目よりベースラインと比較して有意な改善が認められた。また，Probing depth（PD），Clinical Attachment Level（CAL）では，ベースラインと比較した際に使用14日目では有意差は認められなかったものの28日目に有意な改善が認められた。細菌検査においては唾液1mL当たりの総菌数は使用 14日目にベースラインと比較して有意に減少し，*T. d.*，*T. f.*のコピー数は28日目に減少を認めた。試験歯磨剤の使用でプラークの減少および歯肉の炎症消退が起こり，その後，PD，CALが変化したと推測された。

【結論】歯周治療におけるSPT期の患者が試験歯磨剤を28日間使用した結果，歯周パラメーターと口腔内細菌数が有意に改善した。本歯磨剤を使用したセルフケアによりSPT期における歯周疾患の進行を予防できることが示唆された。

## P-037 2504

### 慢性歯周炎患者に対するオボプロン含有フィルム摂取による口腔内細菌および臨床所見に及ぼす影響

山脇　勲

キーワード：歯周炎，サポーティブペリオドンタルセラピー，口腔内細菌検査

【目的】本研究は歯周病罹患患者にオボプロン含有フィルムを摂取することにより，口腔内の歯周病原細菌に対する抗菌性および臨床所見に及ぼす影響を明らかにすることであり，歯周病の新たな治療法の開発が可能になると期待される。

【材料と方法】本学附属病院歯周治療科に通院中の満20代～70代までの男女で口腔組織に影響を及ぼす全身疾患を有せず，1か月以内に抗菌薬等の薬物投与を受けず，事前検査により*F.nucleatum*，*P.intermedia*，*A.actinomycetemcomitans*，*P.gingivalis*のうち，いずれかの歯周病原細菌が唾液中から検出された患者を被験者とした。

オボプロン含有フィルムを2週間服用し，2週間の回復期間後，続けて2週間プラセボフィルムを服用する。この研究期間中は機械的なブラッシング以外のプラークコントロールを禁止し，歯磨きの方法と回数は被験者の日常行っている方法で継続してもらう。

唾液は各フィルム摂取の前後の計4回採取し，唾液中歯周病原性細菌数を測定する。唾液中の歯周病原性細菌は，デンタリード社による特異的プライマーを用いたリアルタイムPCRによる菌数測定にて行った。

【結果と考察】オボプロン含有フィルムを服用することにより，歯周病原細菌の減少を認めた。しかしながら，表層プラークに関与する*P.intermedia*は増殖する傾向を示した。抗体の標的となる細菌であっても型の違いで増減するものが存在すると考えられる。

【結論】今後，抗菌薬ではなく対象を限局した抗体を用いた治療を行うには，多種の細菌に対する影響も考慮しなければならない。

## P-038 3002

### 歯周炎患者における従来の非外科的治療方法を補う抗 P. gingivalis gingipains 鶏卵黄抗体の評価

Van Sa Nguyen

キーワード：歯周病，ジンジパイン，卵黄抗体（IgY），補助歯周治療

**Background and Objective:** Egg yolk antibody（IgY）against gingipains from *P. gingivalis* is known to have good effects when applied directly in periodontal pockets after SRP treatment in periodontitis patients. The aim of this study was to examine the clinical and bacteriological effects of lozenges fortified with the IgY as an adjunct to nonsurgical therapy.

**Materials and Methods:** Sixty patients with chronic periodontitis were recruited and divided randomly into a test and a placebo group. The two groups were treated by SRP followed by a daily use of lozenges containing either specific IgY against *P. gingivalis* gingipains（test）or a sham-immune IgY（placebo）. Clinical parameters including bleeding on probing（BOP）, probing pocket depth（PD）and quantitative analysis of *P. gingivalis* in the gingival pockets were assessed at baseline and 8 weeks after the initiation of treatment.

**Results:** Both groups showed significant improvement of all parameters at 8 weeks post treatment. There was a significant difference in improvement of BOP and *P. gingivalis* level in the test group compared to the placebo group. The reduction of PD was bigger in the test group compared to the placebo group although there was no significant difference between the 2 groups on this parameter at 8 weeks post treatment.

**Conclusion:** Lozenges containing IgY antibody against gingipains from *P. gingivalis* could be a useful adjunct to nonsurgical therapy in chronic periodontitis.

## P-039 3003

### 高校女子アスリートを対象にした口腔プロバイオティクスの効果の検討

松岡　隆史

キーワード：プロバイオティクス，Lactobacillus salivarius，スポーツ歯科

【目的】アスリートは糖質の摂取量が多いなど齲蝕や歯周病のリスクが高い。既に歯周病の原因菌を抑制するプロバイオティクスとして*Lactobacillus salivarius* TI2711株（LS1と略す）を単離し，成人を対象とした試験は実施しているが，高校女子アスリートを対象とした研究はない。そこで本研究では高校女子アスリートにLS1含有錠菓を服用させ，口腔内の影響について検討した。

【材料と方法】対象者は同意が得られた高校女子ハンドボール部員19名とし，内歯列矯正中2名を除外した。対象者にはLS1含有錠菓を1日3回1回1錠12週間連日服用させた。服用開始前と服用12週後に口腔内診査と唾液を採取した。口腔内診査はPCR，PD，BOP，唾液は，唾液量，pH，総菌数，細菌数を測定した。

【結果と考察】12週間の服用前後の臨床所見は，平均値でPCRが64.0 ± 12.8%から25.2 ± 14.4%，平均PDが2.4 ± 0.2mmから2.2 ± 0.1mm，BOPが17.8 ± 11.1%から2.5 ± 3.4%へといずれも有意に減少した。唾液量に有意な増減は見られなかったがpHは7.3から7.6へ有意に増加した。さらに細菌数では*Fn*が中央値で$9.3 \times 10^6$から$3.3 \times 10^6$へ有意に減少した。以上のように女子アスリートにおいても，LS1服用により臨床所見が改善し，歯周病関連細菌の有意な減少が認められた。女子アスリートが口腔ケアにLS1を加えることで，口腔内をより良好に保つことができる可能性が示唆された。

【結論】口腔プロバイオティクスであるLS1は，高校女子アスリートの口腔ケアに有効となる可能性が示唆された。

## P-040 2203

### ロジンを含有した歯のコーティング剤による歯周病原細菌に対する抗菌効果の調査

續橋　治

キーワード：歯のコーティング剤，歯周病原細菌，レッドコンプレックス細菌

【目的】ロジンが配合された審美向上を目的とする歯のコーティング剤（HANIC $DC_{pro}$ EX：株式会社ハニック・ホワイトラボ）の*in vitro*および*in vivo*における歯周病原細菌に対する抗菌効果を調査した。

【材料と方法】*in vitro*実験では本コーティング剤に含有されている樹脂成分のロジンとその主成分アビエチン酸等を24穴プレートに塗布・乾燥後，前培養した*P. gingivalis*（*P.g*），*T. forsythia*（*T.f*）および*A. actinomycetemcomitans*（*A.a*）を接種した。24時間培養後，濁度（OD：540nm）を測定し，増殖抑制効果を検討した。*in vivo*実験（倫理審査委員会で承認済み）では予めPCR法にて*P.g*保菌を確認した被験者5名に，本コーティング剤を指定歯面に10日間連続で塗布させ，塗布直前と塗布後に試料採取を行った。また一ヶ月後，同被験者にアビエチン酸非含有プラセボコーティング剤を前述と同様に塗布させ，試料採取を行った。インベーダーPCR法により，総菌数と*P.g*を含むRed complex細菌を定量した。

【結果と考察】*in vitro*において，ロジンとその主成分であるアビエチン酸は*P.g*や*T.f*に対して顕著に増殖抑制効果を示したが，*A.a*に対しては効果を示さなかった。*in vivo*においては，10日間塗布後に*T. f*が有意に減少したことから，HANIC DCpro EXは本菌に対して臨床的に抗菌効果を示すことが示唆された。*P.g*と*T. denticola*は，塗布後に減少傾向を示したことから，更に長期の比較検討が必要であると考えられる。

P-041
2504

## 太陽電池付与酸化チタン内蔵電動歯ブラシの口腔バイオフィルム除去効果

佐藤　武則

キーワード：酸化チタン，電動歯ブラシ，口腔バイオフィルム

【目的】本研究では，太陽電池付与酸化チタン内蔵電動歯ブラシと太陽電池量の違いによるバイオフィルム除去効果の検討を行なった。

【材料および方法】実験には太陽電池付与酸化チタン内蔵電動歯ブラシと太陽電池を接続した酸化チタン棒を用いた。供試菌は*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 株を通法に従い培養して用いた。電動歯ブラシのバイオフィルム除去効果は，円形カバーグラスに形成させたバイオフィルムに歯ブラシの毛先を接触させて機械的振動を昼光色 6Wの蛍光灯を7cmの距離から照射しながら1分間行なった後，カバーグラスを1% クリスタルバイオレット液で染色し，アルコール脱色後に得られた色素液の濃度を測定し評価した。酸化チタン棒単独によるバイオフィルム除去効果は，供試菌のバイオフィルムを24ウェルプレート内に直接形成後，酸化チタン棒を1mlリン酸緩衝液を加えたウェル内に挿入して蛍光灯を照射して，経時的に除去された*P. gingivalis*菌体を含むリン酸緩衝液の濁度を測定して評価した。

【結果および考察】太陽電池付与酸化チタン内蔵電動歯ブラシの*P. gingivalis* バイオフィルム除去率は90.1%であった。また電流量の違いについては，2倍量の太陽電池酸化チタン棒を用いた場合では1倍量の場合と同様に照射時間に依存してバイオフィルムを除去し，1倍量よりも顕著な除去効果が認められた。以上の結果から，酸化チタンの光触媒効果と太陽電池の電流は口腔バイオフィルムを高率に除去し歯周病予防に貢献することが示唆された。

P-042
2203

## フランス海岸松樹皮抽出物による口腔バイオフィルム形成抑制効果の検討

渡辺　清子

キーワード：口腔バイオフィルム，フランス海岸松抽出物，抗菌活性，Streptococcus mutans，Porphyromonas gingivalis

【目的】ピクノジェノール®（PYC）は，フランス海岸松の樹皮から抽出される抗酸化作用および抗炎症作用を有する植物由来生理活性物質である。本研究では，種々の口腔細菌に対するPYCの抗菌活性について検討するとともに口腔バイオフィルム形成抑制効果について検討した。

【材料および方法】供試菌株としてグラム陽性細菌6菌種およびグラム陰性細菌5菌種を用いた。抗菌効果の測定は，種々の濃度のPYC液に細菌を添加し10分間作用させた後，BHI血液寒天培地に塗抹し生菌数を算定して求めた。バイオフィルム形成に対するPYCの抑制効果は，比色法および生菌数測定により検討し，カバーグラス上で作製したバイオフィルムについては，LIVE/DEAD染色を行うことにより評価した。また，*P. gingivalis*と他菌種との共凝集に対する抑制効果は肉眼的に判定した。

【結果および考察】各被験菌に対して，PYC 1mg/ml 処理により明らかな生菌数の減少が認められた。特にグラム陰性桿菌に対しての活性は高く，濃度依存的に*P. gingivalis*および*A. actinomycetemcomitans*のバイオフィルム形成を抑制した。*S. mutans*はカバーグラス上で強固なバイオフィルムを形成したが，PYC添加により顕著な菌体の付着阻害が認められた。また，*P. gingivalis*と他菌種との共凝集もPYCの濃度依存的に抑制が認められた。以上の結果から，フランス海岸松樹皮抽出物は種々の細菌に対して抗菌活性を有しバイオフィルム形成を抑制することにより，歯垢の形成や成熟を抑制する可能性が示唆された。

P-043
3099

## *Lactobacillus salivarius* WB21株・茶カテキン（EGCg）配合オーラルタブレットの口臭及び口腔自覚症状に及ぼす影響

石井　春生

キーワード：乳酸菌，プロバイオティクス，茶カテキン，口臭，口腔自覚症状

【目的】*Lactobacillus salivarius* WB21株と茶カテキン（EGCg）は，口臭抑制，歯周病原細菌・う蝕原因菌の増殖抑制，不溶性グルカンの産生抑制及び相加効果を示唆する報告がされている。本研究では，この2成分を配合したオーラルタブレットの口臭及び口腔自覚症状に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】1．2週間摂取による口臭及び口腔自覚症状に及ぼす影響

健常者7名（男3名，女4名，48.4 ± 3.8歳）を対象にオーラルタブレットを1日3回，2週間なめて摂取させ，摂取前，摂取1及び2週間後にオーラルクロマを用いて呼気中の揮発性硫黄化合物（VSC）を測定した。口腔自覚症状はアンケート調査を実施し，VASスコアで評価を行った。

2．1回摂取による口臭の経時的変化に及ぼす影響

健常者6名（男1名，女5名，45.8 ± 5.7歳）を対象にオーラルタブレットを1回，なめて摂取させ，摂取前，摂取5，20，40，60分後にオーラルクロマを用いて呼気中のVSCを測定した。

【結果】1．VSCは，メチルメルカプタンが摂取前に比べて摂取2週間後に有意に減少した。口腔自覚症状のスコアは，7項目中6項目が摂取1週間後から有意に減少し，摂取2週間後には全ての項目でスコアが有意に減少した。

2．硫化水素は摂取40分後から，メチルメルカプタンは摂取20分後から有意に減少したが，ジメチルサルファイドは変化が認められなかった。

【結論】*Lactobacillus salivarius* WB21株・茶カテキン配合オーラルタブレットは，口臭及び口腔自覚症状の改善に有用である可能性が示唆された。

P-044
3001

## *Helicobacter pylori*の除菌治療に伴う口腔内環境の変化

樋口　拓哉

キーワード：口臭，揮発性硫黄化合物，ヘリコバクターピロリ，プロービング時出血

【目的】*Helicobacter pylori*（HP）は胃粘膜に持続感染し，上部消化管における慢性炎症性疾患の原因となる。本研究ではHP感染が口腔領域に与える影響を明らかにするために，胃内HP陽性患者に対し除菌治療前後の口腔内環境の変化を調べた。

【方法】上部消化管内視鏡検査での生検による迅速ウレアーゼテストにてHPが確認された患者に対し一次除菌法としてプロトンポンプ阻害薬（PPI）＋アモキシシリン＋クラリスロマイシンを1週間投与した。また一次除菌法失敗の患者に対し二次除菌法としてPPI＋アモキシシリン＋メタロニダゾールを1週間投与した。除菌開始前，服薬終了時，除菌確認時に口臭検査と口腔内診査を実施し，採取した唾液と舌苔の細菌叢解析を行った。

【結果と考察】分析対象者12名における変化を調べたところ，服薬終了時に殆どの検査項目が除菌前に比べて有意に減少した。除菌成功時には口臭検査値，歯周ポケット，プロービング時出血（BOP）が除菌前に比べて低かった。口腔細菌叢は服薬終了時に大きく変化し除菌成功時には除菌前の状態に回復した。続いて一次除菌法の成功群9名と失敗群3名を比較したところ，口臭検査値はともに減少しており，除菌成功と口臭改善との関連は示されなかった。口腔内診査では，除菌失敗群で一次除菌法の確認時にBOPが改善せず除菌成功時に改善したことから，除菌成功とBOP改善との関連が示唆された。

【結論】HP除菌治療において抗菌薬が口腔内環境を大きく変化させた。HP除菌の成功失敗に関係なく口臭が減少した。HP除菌失敗例でBOP改善がみられなかった。

P-045
2402

## 口腔細菌の特定と口腔治療が急性椎前部膿瘍の治癒に奏功した症例

松永　一幸

キーワード：外傷性歯根破折，菌血症，椎前部膿瘍，歯周病，インプラント周囲炎

【概要】外傷後の椎前部膿瘍を来した症例に対して，起炎菌である口腔細菌を特定し，口腔治療によって治癒に導いた症例である。

【症例】77歳，男性。頭部外傷にて大田記念病院に搬送され，急性硬膜下血腫の診断で入院した。入院翌日から発熱と頚部痛が出現し，徐々に増悪した。MRI検査にて頸椎前方に液体様病変を，血液培養検査で口腔内細菌である*Streptococcus parasanguinis*を検出したため，感染源の精査目的に歯科へ紹介された。

【治療経過】血液中に*S. parasanguinis*が検出され，その後のMRI検査で病変が増大傾向であったため，頚部の病変は椎前部膿瘍と診断された。

口腔内には，21と22の歯根破折，16-18と26部の歯周病変，24-25部のインプラント周囲炎が存在した。これら全ての部位から同菌が検出された。感染制御のため，歯根破折の2歯と歯周病変部の4歯を抜歯した結果，全身症状は徐々に回復し，膿瘍像は縮小した。さらに，退院後に24-25部のインプラントも抜去した結果，最終的には歯面から同菌は未検出となり，膿瘍も完全に消失した。

【考察】本症例では，外傷性歯根破折によって口腔内病変部の*S. parasanguinis*による菌血症が生じ，椎前部膿瘍が発症したと，細菌検査で推定されたので，抗菌薬の投与と感染源である口腔内病変部の除去を比較的早期に行えた。深頸部病変の適切な診断と治療には，画像検査のみならず血液検査と口腔内精査も重要であることが示唆された。

（本症例報告に際して，患者の了解を得ている）

（会員外協力者：脳神経センター大田記念病院 脳神経内科　竹丸　誠，下江　豊，栗山　勝）

P-046
2504

## ヒト歯肉上皮細胞における非神経性コリン作動系の発現

三木　康史

キーワード：非神経性コリン作動系，アセチルコリン，ヒト歯肉上皮細胞

【目的】上皮細胞は生体の最前線に位置しており外来刺激からの物理的防御壁として機能しているだけでなく，immuno-modulatorとして免疫反応に積極的に関与している事が明らかにされている。同様に，歯周病の発症進行過程においても歯肉上皮細胞が重要な役割を担っていると考えられる。アセチルコリンはコリン作動系神経伝達物質であることが知られているが，上皮細胞，内皮細胞，免疫細胞および心臓のような哺乳動物の非神経性の細胞においてもアセチルコリン構成要素が発現しているとの報告が近年されている。非神経性アセチルコリンは，限局された微小環境に存在するアセチルコリン受容体に作用して，細胞増殖・細胞間接着・遊走・分化あるいは炎症の制御などの微細な調節に関与していることが明らかになってきた。そこでヒト歯肉上皮細胞において非神経性コリン作動系要素が発現しているかどうかの検索を行った。

【材料及び方法】ヒト歯肉上皮不死化細胞株epi4よりRNAを抽出し，アセチルコリン合成酵素であるcholine acetyltransferase，貯蔵に関与するvesicular acetylcholine transporter，分解酵素であるacetylcholinesterase，受容体等のコリン作動系構成要素の遺伝子発現をRT-PCR法で検索した。また培養細胞の免疫化学染色を行った。

【結果および考察】epi4には，さまざまな非神経性コリン作動系の構成要素を発現していることが明らかとなった。これらの結果は，歯肉上皮細胞における非神経性コリン作動系が歯周組織の恒常性維持に関与し得ることを示唆しているものと考えられる。

P-047
2504

## IL-29はTNF-αが誘導するヒト口腔上皮細胞のCXCL10産生を増強する

細川　義隆

キーワード：IL-29，CXCL10，TNF-α，ヒト口腔上皮細胞

【目的】IL-29はinterferonλ familyに属するサイトカインであり，近年歯周炎患者の歯肉溝浸出液中でその存在が確認された。しかしながら，IL-29が歯周組織構成細胞に及ぼす影響に関する報告はなく不明な点が多い。本研究ではTNF-αが誘導するCXCL10産生に及ぼすIL-29の影響を明らかとするためヒト口腔上皮由来細胞（TR146）を用い検討を行った。

【材料および方法】TR146はMark Herzberg博士（University of Minnesota, MN, USA）より供与して頂いたものを用いた。TR146のCXCL10産生をELISA法により，シグナル伝達経路の活性化をwestern blot法を用い解析した。

【結果および考察】IL-29はTNF-αが誘導したCXCL10産生を相乗的に増強した。IL-29はTNF-αが誘導したJNK, STAT1, NF-κB p65のリン酸化をさらに増強した。JNKおよびSTAT1阻害剤はCXCL10産生を抑制しなかったが，NF-κB阻害剤は有意にCXCL10産生を抑制した。

【結論】これらの結果よりIL-29は口腔上皮細胞のTNF-αが誘導するCXCL10産生を増強する事により歯周炎病変局所へのTh1細胞浸潤・集積を促し，歯周組織破壊に積極的に関与している事が示唆された。

P-048
3104

## 炎症性サイトカイン長期刺激による歯肉上皮細胞のMMP-9の発現変化

虎谷　斉子

キーワード：歯肉上皮細胞，炎症性サイトカイン，MMP-9

【目的】歯周ポケットには*P. gingivalis*をはじめとする多くのグラム陰性菌とそのLPSが存在する。歯肉上皮細胞などの歯周組織を構成する細胞は，LPSなどの菌体成分や菌体外産物から刺激を受け炎症性サイトカインを分泌する。一方，MMP-9は，種々のメカニズムによる歯周組織の破壊に寄与する重要な因子である。本研究では，歯肉上皮細胞を炎症性サイトカインで長期間刺激し，MMP-9の変化を検討した。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮前駆細胞（HGEP, CELLnTEC）を用いた。炎症性サイトカインTNF-α，IL-1βおよびIL-6（ヒト，組換え体）を3日毎に添加し，21日間培養した。炎症性サイトカインを添加しないものをコントロール群とした。3日および21日後の培養細胞よりDNA，RNAおよび培養上清を抽出し，MMP-9のDNAメチル化（MSP法），mRNA発現解析（ΔΔCq法）および培養上清中のMMP-9量（ELISA）を測定した。

【結果と考察】炎症性サイトカイン添加添加21日間培養で，コントロール群および他の炎症性サイトカインと比較してTNF-α添加群においてmRNAの発現，上清中のMMP-9が上昇（$p<0.05$）およびCpG Islandの低メチル化が認められた。

【結論】炎症性サイトカインの長期刺激による歯肉上皮細胞のMMP-9発現上昇には，TNF-αによる低メチル化が関与している可能性がある。

P-049
2299

## アンジオポエチン様タンパク2は歯肉上皮細胞において炎症反応を遷延化させる

大野　祐

キーワード：アンジオポエチン様タンパク2，歯周病，歯周病原細菌，炎症性サイトカイン，歯肉上皮細胞

【目的】アンジオポエチン様タンパク質2（ANGPTL2）は糖尿病，がん，肥満などの慢性炎症を基盤病態とする疾患において重要な一因子であることが知られている。我々は本学会にて，*Porphyromonas gingivalis* 由来Lipopolysaccharide（LPS）刺激により歯肉上皮細胞からANGPTL2が産生されることを報告した。ANGPTL2は血管内皮細胞においてオートクライン的に作用するとの報告があるため，本研究では歯肉上皮細胞においても同様な作用があるか検討を行った。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞（Ca9-22）を用いANGPTL2遺伝子ノックダウンを行い，*P. gingivalis* LPS刺激による各種炎症性サイトカインの遺伝子発現およびタンパク質産生への影響を確認した。またANGPTL2の受容体であるα5β1インテグリンおよびLILRB2について表面発現を確認した。その後，各受容体を中和抗体にてブロックした後，LPS刺激による各種炎症性サイトカイン産生への影響を確認した。

【結果と考察】Ca9-22へのANGPTL2遺伝子ノックダウンは，LPS刺激後24時間における各種炎症性サイトカインの遺伝子発現およびタンパク質産生を有意に減少させた。また，α5β1インテグリンは恒常的に発現を認めたが，LILRB2発現は認められなかった。さらに，α5β1インテグリンのブロックは，各種炎症性サイトカイン産生を抑制させた。以上の結果より，ANGPTL2が歯肉上皮細胞においてもオートクライン的に作用し，歯周病原細菌による炎症反応の調節に関与していることが示唆された。

P-050
2504

## 歯肉上皮細胞におけるヒトFDC-SP遺伝子発現に対するmiR-223の影響

岩井　泰伸

キーワード：濾胞性樹状細胞分泌タンパク質，マイクロRNA，腫瘍壊死因子

【目的】FDC-SPは濾胞樹状細胞で発現する低分子分泌タンパク質であり，歯根膜および歯肉接合上皮で発現する。マイクロRNA（miRNA）は約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（3'-UTR）に結合し翻訳を抑制する。我々は，炎症歯肉におけるmiR-223の発現増加を以前に報告した。今回は，歯肉上皮細胞でのFDC-SP遺伝子発現に対するmiR-223の影響を解析した。

【材料および方法】ヒト歯肉上皮（Ca9-22）細胞にmiR-223発現プラスミドを導入し，TNF-αで刺激後，miR-223標的因子であるIKKαとFDC-SPの発現量をリアルタイムPCRとウェスタンブロットで解析した。FDC-SP遺伝子プロモーター（-948～+60）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FDC-SP3'-UTR 1～984配列を挿入したコンストラクト（FDC-SP 3'LUC）を作成し，miR-223過剰発現時のLUC活性を解析した。

【結果】TNF-α刺激はIKKαとFDC-SPのmRNAおよびタンパク質量を増加させ，miR-223過剰発現はそれぞれを部分的に抑制した。FDC-SP 3'LUCをCa9-22細胞に導入し，TNF-α刺激するとLUC活性は増加し，miR-223過剰発現でLUC活性は部分的に抑制された。ヒト歯肉上皮細胞においてFDC-SP 遺伝子発現はTNF-α刺激で増加したが，miR-223はTNF-αシグナル伝達経路のIKKαを抑制し，FDC-SP遺伝子発現を直接および間接的に調節すると考えられた。

P-051
2504

## miR-150は歯肉上皮細胞でのマウスアメロチン遺伝子発現を抑制する

能田　佳祐

キーワード：アメロチン，miR-150，MKP-5

【緒言】アメロチン（AMTN）は，成熟期エナメル芽細胞および接合上皮に発現するエナメルタンパク質である。MicroRNA（miRNA）は，約22塩基の一本鎖ノンコーディングRNAで，標的mRNAの3'-UTRに結合し翻訳を抑制する。我々は，炎症歯肉でmiR-150の発現増加を以前に報告した。今回，歯肉上皮細胞でのマウスAMTN遺伝子発現に対するmiR-150の影響を解析した。

【材料および方法】GE1歯肉上皮細胞にmiR-150発現プラスミドを導入し，TNF-α（10ng/ml）刺激後のAMTNとMKP-5 mRNAおよびタンパク質量をリアルタイムPCRおよびウエスタンブロットで検索した。マウスAMTN遺伝子プロモーター（-2200～+60）を挿入したルシフェラーゼ（LUC）プラスミドに，miR-150の結合部位を有するAMTN遺伝子3'-UTR 1～987を挿入し（AMTN 3'-UTR LUC），miR-150発現プラスミドと共にGE1細胞に導入し，TNF-αで12時間刺激後にLUC活性を測定した。

【結果および考察】GE1細胞をTNF-αで刺激すると，AMTNとMKP-5のmRNAとタンパク質量は増加し，miR-150の過剰発現でその増加量は部分的に抑制された。AMTN3'-UTR LUCの転写活性は，TNF-α刺激で上昇し，miR-150の過剰発現でLUC活性の上昇は部分的に抑制された。以上の結果から，miR-150はマウスAMTN遺伝子の3'-UTRに結合するとともに，MKP-5を抑制して，AMTNの遺伝子発現を直接的または間接的に調節すると考えられた。

P-052
2504

## miR-200bはヒトアメロチン遺伝子発現を抑制する

山崎　瑞穂

キーワード：miR-200b，アメロチン，TNF-α，IKKβ

【緒言】MicroRNA（miRNA）は，標的mRNAの3'-UTRに結合し翻訳抑制を引き起こす短鎖・一本鎖ノンコーディングRNAである。我々は，炎症歯肉でmiR-200bの発現が増加することを以前に報告した。アメロチン（AMTN）は，成熟期エナメル芽細胞および接合上皮で発現するエナメルタンパク質である。今回，歯肉上皮細胞でのAMTN遺伝子発現に対するmiR-200bの影響について解析した。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞（Ca9-22）にmiR-200b発現プラスミドを導入し，TNF-α（10ng/ml）で12時間刺激後のAMTNとIKKβ mRNA量をリアルタイムPCRで解析した。ヒトAMTN遺伝子プロモーター配列（-353～+60）を含むルシフェラーゼ（LUC）プラスミドにmiR-200b結合配列を含むAMTN 3'-UTR 708～1692配列を挿入し，miR-200b発現プラスミドとともにCa9-22細胞に導入後，TNF-αで12時間刺激し，LUCアッセイを行った。

【結果と考察】Ca9-22細胞をTNF-αで刺激するとAMTNおよびIKKβ mRNA量は増加し，miR-200b発現プラスミドの導入で増加量はそれぞれ部分的または完全に抑制された。AMTN 3'-UTR LUCの転写活性はTNF-α刺激で上昇し，miR-200b発現プラスミドの導入で転写活性の上昇は部分的に抑制された。以上の結果から，miR-200bはAMTN 3'-UTRに結合するとともに，IKKβ mRNAを標的として，ヒトAMTN遺伝子発現を直接または間接的に調節すると考えられた。

P-053
2205

## 口腔粘膜での抗ウイルス自然免疫応答におけるinterleukin（IL）-29の役割

四釜　洋介

キーワード：自然免疫，インターフェロン，口腔粘膜

【目的】IL-29はIII型interferon（IFN）の一つであり，抗ウイルス活性を有し，I型IFNとは異なりその受容体は上皮細胞や肝細胞などに限局している。また，歯周病患者の歯肉溝浸出液中IL-29値が高値を示す事も報告されている。一方，口腔粘膜におけるIL-29受容体発現およびIL-29による影響は不明である。本研究では，口腔由来細胞におけるIL-29受容体発現を解析し，口腔粘膜におけるIL-29の役割について検討した。

【材料と方法】不死化歯肉上皮細胞（OBA-9），不死化表皮角化細胞（HaCaT），口腔扁平上皮癌細胞（HSC-2），歯肉線維芽細胞（HGF），および不死化肺線維芽細胞（HFL-III）を用い，遺伝子発現を半定量PCRおよびReal-time PCRを用いて，タンパク発現をWestern blotおよびELISAを用いて解析した。

【結果と考察】i）HGFおよびHFL-IIIにおいて，IL-29受容体であるIL-28RaのmRNA は検出されなかった。ii）OBA-9におけるIL-28Ra mRNA 発現レベルは HaCaTと比較し，約7倍高い値を示した。iii）IL-28Ra シグナル下流の転写因子であるSTAT1のリン酸化は，OBA-9とHSC-2で比較すると，OBA-9においてIL-29濃度1/10でリン酸化を誘導した。iv）OBA-9において，ウイルス核酸を認識するタンパクであるRIG-I発現がIL-29濃度依存的に上昇したが，炎症性サイトカインの一つであるIL-8産生は誘導されなかった。

【結論】IL-29が口腔粘膜における抗ウイルス活性を有する可能性が示唆された。

P-054
2504

## ヒト歯周組織由来線維芽細胞，血管内皮細胞および上皮細胞におけるニコチンの取り込みについての検討

五十嵐（武内）　寛子

キーワード：ニコチン，喫煙，空胞変性，血管内皮細胞，歯肉上皮細胞

【目的】ヒト歯周組織由来線維芽細胞，血管内皮細胞および上皮細胞に対し$^{3}$H-nicotineを作用しニコチンの動態について検討を行った。

【材料・方法】健常歯周組織を有する患者より歯肉線維芽細胞，歯根膜由来血管内皮細胞および上皮細胞の分離を行い各種細胞の培養培地に最終濃度が1μg/mlとなるようにニコチンを添加し12～48時間作用させ位相差および走査型電子顕微鏡（SEM）により形態観察を行った。各種培養培地に$^{3}$H-nicotineを添加し12～48時間培養後，液体シンチレーションカウンターにてニコチンの取り込みの測定，さらに上記濃度でニコチンを作用し1～7日間培養を行い細胞数の測定を行った。

【結果】SEMによる観察では各種細胞において細胞膜の連続性が失われた穴状構造物，円形陥没および隆起が認められた。血管内皮細胞では特にニコチン添加48時間後に細胞の委縮が顕著であった。

$^{3}$H-nicotineを作用しニコチン動態を検索したところ，歯肉線維芽細胞において刺激に伴い細胞内$^{3}$H-nicotineの有意な増加が認められたが血管内皮細胞では48時間後には減少が認められニコチンの細胞毒性の結果と一致していた。

【考察】各種細胞においてニコチン刺激による空胞変性が認められ，今回の結果から空胞内にニコチンが取り込まれたことが示唆された。細胞種によりニコチン毒性の反応は異なり血管内皮細胞ではより顕著であったことから，創傷治癒の遅延について影響することが考えられた。

本研究は，学術研究助成基金助成金：若手研究（B）課題番号：16K20681の助成を受けて行われた。

P-055
2203

## 歯周病原細菌感染によるNETs産生は血管内皮細胞における炎症反応を増悪させる

多田　浩之

キーワード：歯周病原細菌，好中球細胞外トラップ，血管内皮細胞

【目的】細菌感染に際して，好中球はneutrophil extracellular traps（NETs）を産生することで感染防御を担う一方，過剰なNETs産生は慢性炎症を誘導する。これまで我々は，歯周病原細菌*Fusobacterium nucleatum*の感染により好中球からNETsが産生されることを見出し，NETsにはmacrophage migration factor（MIF）が高発現することを明らかにした。MIFは動脈硬化症や慢性関節リウマチ等の炎症性疾患に高発現し，炎症反応の誘導に関わる。本研究は，*F. nucleatum*感染で産生されたNETsによる血管内皮細胞における炎症反応の誘導について検討した。

【材料と方法】ヒト前骨髄球細胞株HL-60をレチノイン酸含有RPMI 1640培地で分化誘導した好中球様細胞を供試した。*F. nucleatum* ATCC 25586株はtryptic soy brothにて嫌気培養した。好中球を*F. nucleatum*で感染後，DNase Iで処理しNETsを分離した。Transwell filter上に培養したヒト血管内皮細胞（HUVEC）を同NETsで刺激後，transmigration assayを行った。

【結果】HUVECを*F. nucleatum*感染により好中球から産生されたNETsで刺激すると，HUVECを介する好中球の細胞外遊走が亢進した。同作用は，NETsをMIFアンタゴニストであるISO-1で処理することにより抑制された。

【結論】NETsによる血管内皮細胞の炎症誘導が，歯周病の病態形成を増悪させる可能性が示唆された。

P-056
2202

## ヒト歯根膜線維芽細胞における歯周病原細菌由来LPS刺激によるMAEAの発現変動とその機能の解析

車　玉蘭

キーワード：Macrophage erythroblast attacher，歯根膜線維芽細胞，Porphyromonas gingivalis LPS，サイトカイン

【目的】歯周炎と全身疾患の関連性について多くの報告がされている。Macrophage erythroblast attacher（MAEA）はマクロファージへの赤芽球の付着を媒介し，成熟マクロファージへの分化に重要な役割を果たしている。日本人においてMAEA遺伝子多型とII型糖尿病の間に関連性が認められた。しかし歯周炎など炎症性応答へのMAEA関与は解明されていない。本研究では歯周組織を構成する歯根膜線維芽細胞においてMAEAが炎症応答に与える影響について*in vitro*にて解析を行った。

【材料・方法】ヒト歯根膜線維芽細胞（HPLF）におけるMAEAタンパク質を免疫蛍光染色で観察した。HPLFを*Porphyromonas gingivalis*（*P.gingivalis*）由来のLPSを用いて24時間刺激し，MAEAの発現変動を定量的PCR法とWestern blot法で比較検討した。また特異的siRNAによりMAEAのノックダウンを行い炎症性サイトカイン産生への影響を定量的PCR法とELISA法にて測定した。

【結果・考察】MAEA発現が遺伝子およびタンパクレベルで確認された。*P.gingivalis* LPSを用いて刺激した結果，HPLFにおけるMAEAレベルは1μg/mlでの刺激後に有意に減少した。MAEAノックダウンは*P.gingivalis* LPS刺激時炎症性サイトカインIL-6，IL-8，TNF-αの産生を減少させた。IL-1β，MCP-1については有意差は示さなかった。

【結論】MAEAは炎症応答を制御することで歯周病の病態形成に関与することが示唆された。

P-057
2206

## 周期的伸展刺激を受容した歯根膜細胞はNLRP3インフラマソーム抑制因子を産生する

王　祝愉

キーワード：歯根膜細胞，マクロファージ，メカニカルストレス，インフラマソーム

【目的】歯根膜は，生理的咬合により生じるメカニカルストレスを様々な生化学的反応に変換する。一方，細菌感染によりIL-1β産生を調節するNLRP3インフラマソーム活性化することも報告されているが，メカニカルストレスとの関連に関しては不明な点が多い。本研究では周期的伸展刺激を受けた歯根膜細胞がマクロファージNLRP3インフラマソーム情報伝達系に及ぼす影響について検討した。

【方法】ヒト歯根膜線維芽細胞をSTB-140 STREX（STREX Co.）を用いて伸展率20%，10/60Hzにて刺激を行ない，24時間後に培養上清を回収した。同上清存在下でマウスマクロファージ様細胞株J774.1を *E. coli* LPS（100ng/ml）で4時間刺激後，1mM ATPで2時間刺激した。NLRP3インフラマソーム関連分子の発現をqRT-PCR法，ELISA法およびWestern Blot法にて，Caspase-1活性はFAM-FLICA Kits®にて解析した。

【結果】J774.1をLPS/ATPで刺激するとIL-1βの分泌が誘導されたが，伸展刺激歯根膜細胞の培養上清の添加により，その分泌量が有意に減少した。同培養上清の添加はマクロファージNLRP3インフラマソーム関連分子の発現には影響を及ぼさなかったが，活性型caspase-1陽性細胞数およびPropidium Iodide陽性を示す死細胞数が減少した。

【考察】本研究の結果は，生理的な咬合によるメカニカルストレスは，歯根膜の過剰な炎症反応に対してインフラマソーム抑制を介して制御することでその恒常性を維持していることが示唆された。

P-058
2299

## 薬剤性歯肉増殖症におけるSPOCK-1の役割

Rehab Alshargabi

キーワード：薬剤性歯肉増殖症，SPOCK-1

**Introduction:** Gingival overgrowth is a side effect associated with phenytoin（PHE），cyclosporin A（CsA）and nifedipine（NFD）. Various studies have suggested an interaction between those drugs and gingival fibroblasts which will ultimately lead to either increase in matrix synthesis or in impaired intracellular matrix digestion by lysosomal cysteine proteases as cathepsins. However, the mechanism by which those drugs cause DIGO is not fully understood. We previously suggested complete loss of cathepsin-L（CtsL）function promoted gingival overgrowth. SPOCK-1, belonging to proteoglycan family, is a specific inhibitor of CtsL. The aim of this research is to investigate the role of SPOCK-1 in DIGO.

**Materials & methods:** Human gingival fibroblasts were collected from patients who underwent flap operations at Kyushu University Hospital. The cells were stimulated with PHE, CsA or NFD. The mRNA levels of Spock-1, MMP-2 and TIMP1 were examined by quantitative real time PCR.

**Results:** Results indicated that PHE, CsA and NFD promoted the expression of SPOCK-1. MMP2 expression was significantly decreased in every samples. TIMP-1 expression was not influenced by CsA or NFD, but decreased slightly by PHE.

**Conclusions:** SPOCK-1 upregulation was common among the three drugs used, which may indicate the important role of SPOCK-1 in the pathophysiology of DIGO. Since SPOCK-1 is a family of proteoglycan, the result supports the hypothesis that causative drugs upregulate ECM production and suppress degradation of excess matrix proteins.

P-059
2206

## アクチン結合タンパク質は細胞内外におけるコラーゲン代謝に影響を及ぼす

目澤　優

キーワード：細胞接着，コラーゲン代謝，アクチン結合タンパク質

【目的】細胞と細胞外基質の接着には，インテグリンやアクチンフィラメントに結合するフィラミンAなどのアクチン結合タンパク質の存在が重要である。本研究では，アクチン結合タンパク質が細胞内外におけるコラーゲン代謝に影響を及ぼすかを調べた。

【材料および方法】マウス線維芽細胞（FLNa WT）とピューロマイシン誘導性フィラミンAノックダウンマウス線維芽細胞（FLNa KD）を使用して，qPCR法とイミノブロット法によりマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）およびコラーゲン分解産物の発現を検索した。免疫蛍光染色で，アクチン結合タンパク質および細胞外コラーゲンの発現を分析した。

【結果および考察】接着斑の分析では，培養6時間後にFLNa KDのα-SMA数は，FLNa WTと比較して減少した。接着斑マーカーと細胞外コラーゲン分解産物である3/4コラーゲンとの共免疫染色では，培養6時間後のタリン，α-SMAと3/4コラーゲンとの共存に違いが認められた。活性化β1インテグリンの発現はFLNa WTが，FLNa KDと比較して上昇した。細胞周囲のコラーゲン合成および分解については，FLNa KDが，FLNa WTと比較してMMP-9の発現が上昇し，3/4コラーゲンの発現も上昇した。細胞内コラーゲン分解酵素であるカテプシンBやリソソーム蓄積の指標となるLAMP2の発現はFLNa WTで上昇した。以上のことより，アクチン結合タンパク質であるフィラミンAが，細胞周囲でのコラーゲン代謝および接着斑の形成に影響を与えることが分かった。

（会員外協力者：Christopher McCulloch）

P-060
2504

## SOD2 is upregulated in chronic periodontitis to reduce further inflammation progression

Yong Yoon

キーワード：Chronic periodontitis，Inflammatory mediator，Gene expression

Chronic periodontitis is a highly prevalent chronic inflammatory disease which results in destruction of tooth-supporting structures followed by tooth-loss. Although the progression of chronic periodontitis is relatively slow, periodontal tissue disruption is irreversible. Therefore, identification of genes which can affect the advancement of periodontitis would be helpful for fundamental pathological understanding of the disease and development of new drugs. Chronic periodontitis is initiated by gram-negative tooth-associated microbial biofilms that elicit a host response, which results in bone and soft tissue destruction. In response to endotoxin derived from periodontal pathogens, several osteoclast-related mediators target the destruction of alveolar bone and supporting connective tissue such as the periodontal ligament. Major drivers of this aggressive tissue destruction are matrix metalloproteinases（MMPs），cathepsins, and other osteoclast-derived enzymes. Superoxide dismutase-2（SOD2）which is one of the inflammatory mediators related to bacteria increasing as the chronic periodontitis progresses. Here, we computationally and biochemically analyzed that SOD2 expression is significantly increased in advanced periodontitis. We also confirmed that SOD2 expression is upregulated when inflammatory signal is stronger and extended. Gene manipulation against SOD2 through the CRISPR system showed that absence of SOD2 caused higher inflammasome production. This study demonstrates that SOD2 contributes to protection during periodontitis progression by inhibiting excessive inflammation.

P-061
2204

## 再生ヒト歯肉上皮モデルを用いた歯周病様炎症応答モデルの構築

清水　健司

キーワード：歯肉上皮モデル，炎症誘導，歯周病様モデル，LPS

【目的】再生ヒト歯肉上皮モデル（Human Gingival Epithelium：HGE）を用いて，歯周病様の炎症特性を示すモデルを構築することを目的とする。本研究に用いるHGEは，正常ヒト歯肉上皮細胞をポリカーボネートフィルター上で気液界面培養することにより構築された三次元組織モデルでありヒト歯肉上皮にきわめて類似した組織学的形態を有している。HGEモデルを使用し，歯周病様の炎症が誘導されたモデルを構築することができれば，これまでの単層培養系での評価が困難であった薬剤や製剤の組織上における動態を含めた様々な評価に応用できると期待される。

【材料と方法】再生ヒト歯肉上皮モデルはSkinEthic™ HGEを使用した。炎症誘導はLPS, from E. coli O111にて行った。馴化したHGEに対しLPSを0～200μg/mL含有する維持培地にて，48～72時間培養した。培地中の炎症性サイトカンの放出量，バリア機能および組織切片像を確認することで炎症誘導モデルの特性評価を行った。

【結果と考察】HGEをLPS含有培地にて刺激誘導することで，炎症性サイトカインTNFαやIL-8が増加した。48時間以上LPS含有培地で培養したHGEは，バリア機能の指標となるイオンインデックスがLPS未含有条件に比較して有意に低下し，細胞接着の脆弱化と考えられる組織切片像を示した。

【結論】HGEをLPS含有培地で培養することにより，炎症が誘導されたことに伴う各種所見を確認することができた。HGE炎症モデルは，抗炎症および抗歯周病作用をターゲットとする様々な薬剤評価や基礎的研究に活用されることが期待される。

P-062
2204

## 再生ヒト歯肉上皮モデルを用いた甘草由来成分配合歯磨剤の薬剤浸透性及び抗炎症作用の評価

戸田　雅人

キーワード：薬剤浸透性，抗炎症作用，歯磨剤，歯肉上皮モデル

【目的】歯周炎予防を目的とした歯磨剤には，甘草由来抗炎症成分であるグリチルリチン酸ジカリウム：GK2やβ-グリチルレチン酸：β-GAが一般的に用いられている。本研究では，GK2又はβ-GAを配合した歯磨剤の薬剤浸透性及び抗炎症作用を再生ヒト歯肉上皮モデルを用いて検討した。

【材料と方法】再生ヒト歯肉上皮モデルはSkinEthic™ HGEを，歯磨剤はGK2配合歯磨剤として生葉b及び生葉c，β-GA配合歯磨剤として生葉ha及び生葉hbを用いた。薬剤浸透性評価では，歯磨剤希釈液300μLをHGE上部より適用し，3時間後及び6時間後にHGE及び培地を回収し，それぞれに含まれるGK2又はβ-GA量を測定した。抗炎症作用評価では，LPSを所定濃度（100，200μg/mL）含有する培地にて48時間培養を行った。培地を回収しLPS未含有培地に交換した後，歯磨剤希釈液150μLをHGE上部より適用してさらに24時間培養した。適用24時間後の培地中の炎症性サイトカン量及びHGEの細胞生存率を測定した。

【結果と考察】薬剤浸透性評価において，抗炎症成分の配合濃度依存的に浸透量の増加が認められた。GK2配合歯磨剤とβ-GA配合歯磨剤では，GK2配合歯磨剤の方が抗炎症成分の浸透量が高い結果となった。一方，抗炎症作用評価では，全ての歯磨剤において無処置と比較して有意に炎症性サイトカイン産生が抑制されており，GK2配合歯磨剤よりもβ-GA配合歯磨剤が有意に炎症性サイトカイン産生を抑制した。

【結論】甘草由来抗炎症成分配合歯磨剤は，抗炎症成分が歯周組織に浸透することで炎症を効果的に抑制することが示唆された。

P-063
2202

## *P. gingivalis* LPS刺激THP-1細胞におけるUCP2の炎症制御機能

杉田　典子

キーワード：UCP2，THP-1，P. gingivalis，炎症性サイトカイン，活性酸素，LPS

【目的】脱共役タンパク質（Uncoupling protein; UCP）はミトコンドリア内膜に存在し，エネルギーを熱として消費させる機能を有する。哺乳類では5種類のサブタイプが同定されており，UCP2は白血球に多く分布し活性酸素産生を抑制することが知られているが，炎症性疾患におけるUCP2の役割は未だ明らかになっていない。我々は以前ケース・コントロール研究の成果としてUCP2遺伝子多型と重度歯周炎の関連性を報告した。本研究ではUCP2の歯周炎における機能を解明する目的で，THP-1由来マクロファージ様細胞を用いた*in vitro*における解析を行った。

【材料と方法】THP-1由来マクロファージ様細胞を*Porphyromonas gingivalis*（*P. gingivalis*）由来LPSを用いて刺激するとともに，特異的siRNAによるUCP2のノックダウンを行い，細胞内の活性酸素（ROS）産生および炎症性サイトカインmRNA発現レベルに及ぼす影響を解析した。

【結果と考察】*P. gingivalis* LPS刺激はTHP-1由来マクロファージ様細胞においてROS産生とIL-1b，IL-8およびMCP-1のmRNA発現を促進した。UCP2ノックダウンは*P. gingivalis* LPS刺激時のROS産生を亢進させ，IL-8 mRNA発現を有意に増加させた。IL-1bおよびMCP-1のmRNAについては有意な増減が認められなかった。

【結論】UCP2は歯周炎において活性酸素産生および炎症性サイトカイン発現を抑制することにより炎症制御に寄与する可能性が示唆された。

P-064
2499

## エピカテキンは歯肉線維芽細胞―マクロファージ相互作用による過剰な炎症反応を抑制する

眞田　大樹

キーワード：歯周炎モデルマウス，エピカテキン，マクロファージ

【目的】我々はこれまでに，脂肪細胞・マクロファージ相互作用に伴う過剰な炎症反応をココアフラボノールの主成分であるエピカテキン（EC）が抑制し，結果としてインスリン抵抗性を改善することを報告したが，本研究ではECが歯周組織における炎症も抑制するとの仮説を設け検討を行った。

【材料と方法】ECを作用させた歯肉線維芽細胞とマクロファージ様細胞の共培養系にLPSを添加した際の歯肉線維芽細胞からの炎症関連遺伝子発現をリアルタイムPCR法にて定量，培養上清からのTNF-αタンパク発現をELISA法にて測定した。さらに，マウスにECを配合した高脂肪食（HFD/EC）を摂取させ，歯周組織炎症について通常食（ND）摂取群および高脂肪食（HFD）摂取群と比較した。

【結果と考察】LPS刺激下で共培養した歯肉線維芽細胞とマクロファージをEC処理すると，歯肉線維芽細胞からのIL-1β，IL-6遺伝子発現およびTNF-αタンパク発現が有意に抑制された。また，HFDを摂取したマウスの歯肉組織においてND摂取群と比較し，CCL19，TNF-α遺伝子発現が有意に上昇したのに対し，HFD/ECを摂取したマウスの歯肉組織ではこれらの遺伝子発現が有意に抑制された。

【結論】ECを作用させることで，歯周組織炎症が抑制されることが示された。また，ECが歯周組織の炎症にCCL19の発現抑制を介して効果を示す可能性が示唆された。

P-065
2504

## 絹糸結紮マウス歯周病モデルにおけるIKK阻害剤の効果

呉　圭哲

キーワード：IKK阻害剤，歯周病，炎症

【目的】IMD-0354は新たなIκBキナーゼ（IKK）阻害剤で炎症を抑制することが知られている。本研究では絹糸結紮歯周病モデルに対する本薬剤の効果を検討することを目的とした。

【方法】8週齢オスのマウスを2群に分け，上顎右側第2臼歯周囲を絹糸で結紮した。結紮直前に，IMD群ではIMD-0354を，CMC群ではカルボキシメチルセルロース（CMC）をそれぞれ腹腔内投与し（各群n=9），以降1日1回両群に各薬剤を投与し8日目にサンプル採取した。μ-CT解析，TRAP染色，リアルタイムPCR法を行い評価した。

【結果】IMD群ではCMC群に対し，骨吸収評価では線形量と体積量が，周囲歯肉中のmRNA発現強度に関してはRanklがそれぞれ有意に抑制されていた。IL-1βとOpgの発現では抑制傾向はあったものの有意差は得られなかった。組織学的解析では，IMD群におけるTRAP陽性多核細胞数がCMC群に比べ有意に減少していた。

【結論】IMD-0354は炎症と骨吸収を抑制することで歯周病に対する新たな治療法となる可能性が示唆された。

P-066
2203

## マウス実験的歯周炎モデルにおける生薬「鶏血藤」の循環改善効果

遠山　歳三

キーワード：歯周病，歯肉微小循環，鶏血藤，ポロフィロモナスジンジバリス

【目的】鶏血藤*Jixueteng*は，マメ科の蜜花豆の茎から抽出される生理活性物質であり，循環改善，鎮痛ならびに造血作用を有することが知られている。本研究では，鶏血藤抽出液の活性酸素消去作用を検討するとともに，*Porphyromonas gingivalis*（Pg）接種によるマウス実験的歯周炎モデルを用いて，歯周局所の微小循環構造変化について解析した。

【方法】C57BL/6Nマウス（6週齢 ♂）にPg生菌を口腔内接種し歯周炎を惹起させ，鶏血藤抽出液（8% w/v）は飲料水に混合して投与した。Pg感染終了後から1週ごとに6週間，レーザードップラー血流計を用いて歯肉微小循環動態の解析および口蓋歯肉の血流量を測定した。また，歯周局所の血管鋳型標本および骨格標本を作製し，鶏血藤による歯肉微小循環の改善効果を検討した。

【結果および考察】レーザードップラーでの計測において，Pg感染群では，1週目からPeak，T1/2，Massの値が非感染マウスと比較して顕著に増大していたが，Pg感染 + 鶏血藤投与群では，これらの値はコントロール群と同程度であった。また，Pg感染群では，Pg非感染群と比較して顕著な歯槽骨の吸収が認められ，歯周組織毛細血管網の密度は経時的に減少していた。しかしながら，Pg感染 + 鶏血藤投与群では，Pg非感染群と同程度の歯槽骨吸収量および毛細血管網密度であった。以上の結果から，鶏血藤は歯槽骨吸収を抑制と共に歯肉微小循環を歯周炎の予防と治療に有効な生薬であることが示唆された。

P-067
2504

## ラット実験的歯周炎におけるテアフラビンの組織炎症および骨吸収抑制効果に関する研究

呉　亜欣

キーワード：テアフラビン，実験的歯周炎，歯槽骨吸収，炎症

**Background:** Theaflavins, as a kind of polyphenol derived from black tea, has potent inhibitory effects on inflammation and bone resorption. The aim of this study was to evaluate the effect of theaflavins on periodontal destruction induced by the experimental periodontitis in rats.

**Material and methods:** Eighteen rats were divided into 3 groups: Control（vehicle; without ligation), Ligature（vehicle; with ligation), and TF（theaflavins: 100 mg/ml; with ligation). To induce experimental periodontitis, the sterile 3-0 silk ligatures were placed around maxillary first molars（M1）bilaterally. After ligature placement, rats were topically applied with 100 μl of vehicle or theaflavins around M1 on everyday. Rats were euthanized at 1 week after ligature placement.

The left side of maxilla was measured for bone resorption by micro-CT, and the gingival tissue was removed for investigating mRNA expression by RT-PCR. The right side was histologically analyzed by H-E and tartrate-resistant acid phosphatase staining.

**Results:** Alveolar bone loss in TF group was significantly less than in Ligature group. Ligature group also showed greater numbers of inflammatory cells in the gingival tissues and osteoclasts on alveolar bone when compared with Control group, but these numbers decreased in TF group. Furthermore, the gene expression levels of IL-6, RANKL, and MMP-9, enhanced in ligature group, were markedly suppressed in TF group.

**Conclusion:** The present study suggested that topical application of theaflavins had potential effect against bone loss and inflammatory response on the experimental periodontitis in rats.

P-068
3101

## 新しい歯周炎予防・治療法としての310nmUVB-LEDの可能性―特に口腔細菌に対する殺菌作用の検討―

髙田　鮎子

キーワード：310nm UVB，殺菌作用，細胞間接着因子

【目的】試作310nm UVB-LED装置を用いて，口腔内細菌に対する310nm UVBの殺菌効果と口腔上皮細胞に対する細胞間接着因子の発現誘導能を評価し，同紫外線が歯周炎治療へ応用可能か否かを検討する。

【材料と方法】1）殺菌作用：口腔内細菌（*Streptococuus mutans, Streptococcus sauguinis, Porphylomonas gingivalis, Fsobacterium nucleatum*）への310nm UVB-LEDの殺菌作用を浮遊細菌培養系とバイオフィルム形成系でそれぞれ検討した。

2）細菌のDNA損傷の誘導：310nm UVB-LED照射によるシクロブタンピリミジンダイマー（CPD）の生成量をELISAで測定した。

3）細胞間接着因子の発現誘導：不死化口腔上皮由来細胞株（OBA-9）におけるClaudin-1のタンパク発現をウエスタンブロット法で検討した。

【結果と考察】UVB-LEDの60秒間（1050mJ/㎠）照射により，遊細菌培養系およびバイオフィルム形成系のすべての供試菌に殺菌効果が認められた。特に，*P. gingivalis*は他の菌より強く殺菌され，多くのCPDが生成された。また，6秒間（10.5mJ/㎠）照射でOBA-9におけるClaudin-1の発現が誘導された。以上のことから，UVBは歯周病原菌のバイオフィルムに有効であることや口腔上皮バリアの増強も期待できることが判明した。

【結論】310nm UVB-LEDは口腔バイオフィルムに対する殺菌作用と口腔上皮バリアの増強作用を有することから，歯周炎の治療や予防への応用が期待された。

P-069
2299

## アンジオポエチン様タンパク質 2は骨芽細胞分化のpositive regulatorとして機能する

高野　愛子

キーワード：アンジオポエチン様タンパク質2，骨芽細胞，脂肪細胞，分化

【目的】Angiopoietin-like protein 2（Angptl2）は，脂肪組織で発現が高く，各種ストレスや炎症性サイトカイン刺激で発現が増加し，単球の遊走や血管炎症を誘導する慢性炎症の鍵因子である。本研究でマウス骨芽細胞における内在性Angptl2発現レベルが脂肪細胞分化3T3-L1に匹敵する高レベルである事を見出した。Angptl2は，正常脂肪分化を促進する因子としての報告も存在するため，発生由来が脂肪細胞と同じ骨芽細胞においても重要な働きを担っているとの作業仮説を立て，骨芽細胞における同因子の機能解析を行う事とした。

【材料と方法】MC3T3-E1及びprimary骨芽細胞を使用した。リアルタイム PCR法でAngptl2，ALP，Runx2，SP7の遺伝子発現解析を行った。各細胞のALP タンパク発現の確認は，ALP 染色，石灰化の確認は，von Kossa 染色によった。

【結果と考察】MC3T3-E1及びprimary骨芽細胞のAngptl2をノックダウンし，骨芽細胞分化誘導するとALPの発現が抑制された。更にvon Kossa 染色で石灰化の抑制が観察された。また，ALPの重要な転写制御因子として知られるRunx2のmRNA 発現量は不変であったが，SP7のmRNA発現は抑制された。またMC3T3-E1にAngptl2 中和抗体を添加したところ，ALPのmRNA発現が抑制された。

【結論】骨芽細胞においてAngptl2は，細胞分化を促進していることが示唆された。Angptl2はオートクラインに作用する分化のpositive regulatorとして機能している事が明らかとなった。

P-070
2299

## ST2細胞の骨芽細胞分化におけるAngiopoietin-like protein 2の役割

設楽　沙月

キーワード：アンジオポエチン様タンパク質2，未分化間葉系幹細胞，骨芽細胞分化

【背景】Angiopoietin-like protein 2（Angptl2）は，肥満や2型糖尿病において血中濃度が増加する分泌型糖タンパクとして同定され，メタボリックシンドロームの鍵因子として考えられてきた。我々は脂肪組織で発現が高いとされてきたAngptl2が，骨組織及び骨芽細胞においても高発現しており，骨芽細胞分化のpositive regulatorとして機能していることを報告した。マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1のAngptl2をノックダウンするとALPの抑制が著明に起こったのに対し，マウス骨髄由来未分化間葉系幹細胞株ST2のAngptl2をノックダウンし骨芽細胞分化誘導するとALPの抑制はわずかにしか見られず有意差はつかなかった。そこで，本研究ではこれらの結果の違いが出た理由を検索すべく，ST2の骨芽細胞分化におけるAngptl2の役割を解析する事とした。

【材料及び方法】ST2間葉系幹細胞を骨芽細胞分化誘導して使用した。Angptl2，ALP，AP2，Sox9，MyoDの遺伝子発現解析を行った。

【結果】ST2のAngptl2をノックダウンし，骨芽細胞分化誘導しリアルタイムPCRを行ったところ，骨分化マーカーALPのごくわずかな抑制，軟骨分化マーカーSox9の抑制，脂肪分化マーカーAP2は不変，筋分化マーカーMyoDは発現無し，といった結果が得られた。

【考察】骨髄由来のST2と頭蓋冠由来のMC3T3-E1においては，軟骨内骨化と膜性骨化で発生のメカニズムが異なり，Angptl2の関わりも異なっている可能性が示された。

P-071
2299

## 間葉系幹細胞の恒常性維持におけるAngptl2の役割

黒木　慎太郎

キーワード：アンジオポエチン様タンパク質2，未分化間葉系幹細胞，恒常性

【背景】肥満や2型糖尿病患者の骨粗鬆症による骨折リスクは健常者と比較して高いという報告がある。Angiopoietin-like protein 2（Angptl2）は，肥満や糖尿病において血中濃度が増加する分泌型糖タンパクとして同定され，メタボリックシンドロームの鍵因子として考えられてきた。我々は脂肪組織で発現が高いとされてきたAngptl2が，骨組織及び骨芽細胞においても高発現しており，同因子が骨芽細胞分化のpositive regulatorとして機能していることを報告した。また，未分化間葉系幹細胞株ST2では，未分化期で最もAngptl2の発現が高く，骨芽細胞分化と共に発現が減少していくこと，更にAngptl2をノックダウンすると細胞増殖も抑制されていることを報告した。そこで，本研究ではAngptl2が未分化間葉系幹細胞の恒常性維持に働いているとの仮説を立て，その詳細を検討することとした。

【材料と方法】ST2間葉系幹細胞を使用した。セルカウンター及びXTT解析で細胞増殖を評価した。細胞の生死判定はトリパンブルー染色によった。

【結果】ST2のAngptl2をノックダウンすると，細胞増殖の抑制は観察されたが，生存率は不変であった。また，過剰量のAngptl2を添加し，同様の実験を行ったところ，明らかな細胞増殖の抑制，および生存率の減少が観察された。

【考察】Angptl2は定常状態で間葉系幹細胞の恒常性を維持しており，肥満などが原因で同因子の組織の局所濃度が過剰となると組織破壊の方向へ傾くことが考えられる。

P-072
2299

## Angiopoietin-like protein 2とSP7および下流ALP遺伝子発現の関連性の解析

桃谷　勇太朗

キーワード：アンジオポエチン様タンパク質2，骨芽細胞分化，ALP，SP7

【背景】Angiopoietin-like protein 2（Angptl2）は，肥満や2型糖尿病において血中濃度が増加する分泌型糖タンパクとして同定され，メタボリックシンドロームの鍵因子として考えられてきた。我々は脂肪組織で発現が高いとされてきたAngptl2が，骨組織及び骨芽細胞においても高発現しており，骨芽細胞分化のpositive regulatorとして機能していることを報告した。マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1のAngptl2をノックダウンし骨芽細胞分化すると，Runx2の発現は不変であったが，SP7の発現が抑制され，ALPの発現も抑制された。また，MC3T3-E1にAngptl2を過剰に加えるとRunx2は不変であったが，SP7の発現は上昇し，ALPの発現は抑制された。これまでの報告で，ALPはSP7の下流に存在することが知られていたため，SP7が上昇することで骨形成が促進されALPが上昇すると予想された。しかし，結果は予想に反するものであったためSP7とALP更にAngptl2との関連について検討することとした。

【材料および方法】MC3T3-Eを使用した。リアルタイム PCR法でALP，Runx2，SP7の遺伝子発現解析を行った。

【結果】MC3T3-E1に過剰濃度のBMP4を添加すると，リアルタイムPCR解析でRunx2，SP7の発現は増加したが，ALPの発現も増加した。

【考察】BMP4刺激でSP7の発現が増加したがALPは抑制されなかった理由として，Runx2の発現も増加していたことが考えられる。今後はSP7を特異的に過剰発現させて結果を比較する。

P-073
2299

## 日本人における侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索

枡本　梨沙

キーワード：侵襲性歯周炎，疾患関連遺伝子，PON1，歯根膜細胞

【目的】侵襲性歯周炎（AgP）の特徴の一つに家族内集積が挙げられることから，本疾患の発症には遺伝的要因の関与が示唆されている。疾患発症要因の一つに炎症性サイトカイン等の一塩基多型（SNP）が示唆されているが，未だその詳細は解明されていない。そこで本研究ではエクソーム解析により，日本人におけるAgPの疾患関連遺伝子の探索ならびに機能解析を行った。

【方法と結果】大阪大学歯学部附属病院にてAgPと診断された患者のうち，本研究への参加に同意された44名を対象にエクソーム解析を実施した（大阪大学ヒトゲノム研究承認番号629-2）。その結果，対照群と比較してSNPの出現頻度に統計学的有意差（$p<0.05$）を有する遺伝子8個を抽出した。その一つパラオキソナーゼ1（PON1）のSNP rs854560（$p=0.019$）は，冠動脈疾患，骨粗鬆症のみならず歯周病との関連も報告がある。そこでヒト歯根膜細胞（HPDL）の硬組織形成細胞への分化過程におけるPON1の機能解析を目的とし，HPDLに野生型PON1を遺伝子導入し，石灰化関連因子の発現をリアルタイムPCR法にて検討した。その結果，PON1は石灰化関連因子の発現を上昇させた。さらにHPDLにPON1選択的阻害薬2-ヒドリキシキノリン（2HQ）を添加し長期培養を行った結果，2HQは濃度依存的に同上石灰化関連因子の発現および石灰化物の沈着を減少させた。

【結論】エクソーム解析により，PON1のSNP rs854560を日本人AgPの疾患関連遺伝子として同定した。また当該遺伝子の機能解析の結果，PON1はHPDLの骨芽細胞への分化を促進させることを見出した。

P-074
2504

## ヒト老化歯根膜細胞におけるmicroRNA-34a-SATB2を介した硬組織形成制御

池上　久仁子

キーワード：歯周病，老化，miRNA，歯根膜細胞

【目的】歯根膜細胞は，豊富な細胞外基質を産生することで歯根膜の生理的特性を担う一方で，幹細胞能を有し，歯周組織再生の鍵となる細胞集団である。MicroRNA（miRNA）は，ストレス応答時に作動するタンパク質をコードしない小分子RNAであり，様々な疾患の発症に関与することが報告されている。我々はこれまでに老化歯根膜細胞におけるmiR-34aの発現増強並びに長寿遺伝子SIRT1の抑制制御を報告している。本研究では，miR-34aの標的分子の一つである，頭蓋顔面形成や骨芽細胞分化に関するSATB2に焦点をあて，高齢者の歯周組織に特徴的な幹細胞老化と治癒の遷延機構を検討することとした。

【材料と方法】*in vitro*においてヒト歯根膜細胞（HPDL）に複製老化を誘導した。継代数の異なるHPDLの組織幹細胞マーカーの発現をFACSにて解析した。合成二本鎖miR-34a模倣オリゴあるいは，相補鎖を持つ合成一本鎖miR-34a阻害オリゴを導入し，老化HPDLにおけるSATB2の発現制御機構について検討した。また石灰化誘導培地を用いて継代数の異なるHPDLの硬組織分化能を比較，検討した。

【結果と考察】老化HPDLにおいては，miR-34aの発現上昇と相関して，SATB2の発現は低下し，幹細胞マーカーの一つであるSSEA-3の低下が認められた。また老化HPDLにおいては硬組織形成能が低下していた。以上の結果より，歯根膜においては，加齢に伴う幹細胞数の減少ならびにmiR-34a—SATB2を介した硬組織形成細胞への分化の抑制が，高齢者における歯周組織の自己修復能の低下に関与していることが示唆された。

P-075
2504

## *Porphyromonas gingivalis* 由来LPS存在下での骨リモデリングにおけるメカニカルストレス応答性イオンチャネルTRPV4の役割

竹谷　佳将

キーワード：TRPV4，骨芽細胞，咬合性外傷

【目的】骨芽細胞に発現するイオンチャネルTransient Receptor Potential Vanilloid 4（TRPV4）はメカニカルストレスにより活性化し，定常状態での骨量維持に働いていると考えられている。本研究では，歯周炎を伴う咬合性外傷によって生じる歯槽骨吸収の分子メカニズムを解明することを目的として，*Porphyromonas gingivalis* 由来LPS（以下LPS）存在下での骨芽細胞に対し，メカニカルストレスが負荷された際のTRPV4の役割を検討した。

【材料と方法】骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1細胞をLPS添加，非添加の条件で7日間，骨芽細胞分化培地で培養した。7日目の細胞を回収し，リアルタイムPCR法にてTRPV4の発現およびRANKL/OPG比を定量した。次にメカニカルストレスの負荷を想定して，培養7日目の細胞にTRPV4アゴニストである4α-Phorbol 12-13-dicaprinate（4α-PDD）を添加し，24時間後の細胞を回収，RANKL/OPG比を評価した。

【結果と考察】培養7日目ではLPS添加の有無によりTRPV4の発現に有意差はなかった。また，RANKL/OPG比はLPS添加群で上昇傾向を示したものの有意差は見られなかった。一方，培養7日目のLPS添加群に4α-PDDを添加したところ，RANKL/OPG比が有意に上昇したことから，LPSはTRPV4の応答性を増強することでRANKL/OPG比を上昇させることが示唆された。

【結論】歯周炎存在下でのメカニカルストレスによる骨リモデリングにTRPV4が関与している可能性が考えられる。

P-076
2206

## Osterix-Msx2転写複合体はWntアンタゴニスト FRZBの発現を制御する

八木　寛子

キーワード：転写因子，Osterix，Msx2，変形性関節症

【目的】骨あるいはセメント質などの歯周組織の形成に関与する古典的Wntシグナルは，関節軟骨においては変形性関節症（OA）を誘発すると報告されている。更に，Wntアンタゴニスト frizzled-related protein B（FRZB）はOA疾患感受性遺伝子として同定された。そこで本研究ではFRZBはOA創薬標的と考え，FRZBの発現制御機構を解明し，OA治療薬開発に寄与することを目指した。

【方法】生後0日齢C57BLマウスおよび生後4日齢ICRマウスを用いて，生体におけるFrzbの発現をRT-qPCR法にて検討した。FRZBの発現制御機構は，ヒト軟骨細胞様株SW1353を用い，RT-qPCR法，レポーターアッセイ，クロマチン免疫沈降法および免疫共沈降法により解析した。

【結果および考察】マウスではFrzbは関節軟骨細胞において著明な発現を示し，OA様病態を誘発するIL-1αにより顕著に抑制された。SW1353細胞において，FRZBの発現はBMP2/Smadシグナルを介して誘導された。更にFRZBの発現は転写因子OsterixおよびMsx2の過剰発現により増加した。BMP2誘導性FRZB発現上昇は，OSTERIXならびにMSX2のノックダウンにより阻害された。また，FRZB遺伝子プロモーター領域へのOsterixおよびMsx2の結合がFRZB遺伝子転写活性を促進すること，更にOsterixとMsx2が結合することを認めた。以上から，FRZBは関節軟骨の恒常性維持に関与し，その遺伝子発現はOsterixおよびMsx2からなる転写複合体により制御される可能性が示唆された。

P-077
2206

## マクロファージ／破骨細胞系で見出された新規オートファジー経路

野田　和也

キーワード：オートファジー，メンブレントラフィック，マクロファージ，破骨細胞

【目的】オートファジーは細胞内の不要な物質やオルガネラを分解するシステムのことである。マクロファージ及び破骨細胞の機能において，オートファジーをはじめ細胞内膜輸送機構が重要な役割を果たしていると想定されるが，その知見は乏しい。そこで本研究では，メンブレントラフィックにおける重要な制御因子であるRabタンパク質に注目しマクロファージ及び破骨細胞の機能を理解することを目的とした。

【材料及び方法】8週齢野生型雄性マウスの骨髄細胞を採取し，マクロファージさらには破骨細胞へと分化誘導を行った。Rabタンパク質の網羅的スクリーニングとして，DNAマイクロアレイ法による発現解析及びGFP-Rabの遺伝子導入による局在性の観察を行った。スクリーニングの結果から注目したRabタンパク質について，各種抗体を用いた免疫抗体染色法による局在性の観察さらにCLEM法による構造解析を行った。

【結果及び考察】今回着目したRabタンパク質は，分化の過程で特徴的な発現パターンを示した。さらに，破骨細胞においてアクチンリング内への集積を認め，またマクロファージ及び破骨細胞において細胞質中に特徴的な膜構造への局在を示した。興味深いことに，そのオルガネラ内部には，初期エンドソームや後期エンドソーム，さらにはミトコンドリアさえもが含まれることが分かった。以上の結果から，細胞質中の様々な膜構造が，新しく見出されたオルガネラに取り込まれ分解を受けていることが分かった。この現象は，哺乳類細胞でのミクロオートファジー現象である可能性が示唆された。

P-078
2299

## 低出力超音波パルス（LIPUS）刺激によりビスフォスフォネート関連顎骨壊死（BRONJ）を予防できるか―ステージ0を想定したモデルラットによる検討

日髙　恒輝

キーワード：低出力超音波パルス，顎骨壊死，力学的刺激

【目的】我々は過去にマウス顎骨の骨芽細胞が，頭蓋・下肢由来細胞と異なりLIPUS刺激存在下でのみRANKL, Bcl-2を発現することを示し，顎骨特異的に力学的刺激の存在が正常なリモデリングに必須であると提唱した。

力学的刺激が骨を維持し，骨芽細胞系でアポトーシスを防いでいるとすれば，骨吸収抑制剤のビスフォスフォネート等の投与後，抜歯による咬合力の負荷の喪失が病態を惹起する可能性があると考え，アレンドロネート（ALN）投与後に口腔内に*Porphyrpomonas gingivalis*（P.g）を感染させたラットの抜歯窩骨欠損部に対するLIPUSの局所的・全身的治癒促進効果を解析した。

【材料と方法】卵巣摘出した老齢ラットにALNを8週間投与，最後の3週間は上顎第1臼歯へP.gを局所的に感染させた。第1臼歯の除去翌日から，LIPUS照射群では口腔外から抜歯窩へ向けLIPUSを4週間照射した。

【結果と考察】ALN投与にP.g感染を行った群では1）抜歯窩の治癒が遅延し，2）歯槽骨の外縁に骨膜反応がみられ，3）歯槽骨骨密度が低下していたが，これらはLIPUS照射を行った群では予防されていた。また，大腿骨骨髄細胞より採取したmRNAではVEGF/CD31などの血管新生関連，Bcl-2, PCNAなどのアナボリックな効果，RANKL, CD68などリモデリング促進効果の低下が示されたがLIPUSにより回復した。

また，抜歯窩付近および遠隔部位でLIPUSによるCOX2依存性の血流改善が確認された。

【結論】抜歯により誘発されたBRONJ様の病態は，LIPUSが全身性に予防し，治癒過程を正常化する。

P-079
2504

## 自己組織化ペプチドハイドロゲル応用における歯周組織治癒メカニズムの解明

武内　崇博

キーワード：自己組織化ペプチドハイドロゲル，足場，PCRアレイ

【目的】自己組織化ペプチドハイドロゲル（RADA16）は，生体の細胞外マトリックスに類似のナノ構造を有する三次元的足場材料として注目されている。我々はRADA16がラット歯周組織欠損モデルの治癒に及ぼす影響を検討し，歯周組織治癒を促進することを明らかにした（Takeuchi T et al. 2016）。しかし詳細な治癒メカニズムは不明である。本研究の目的は，RADA16による歯周組織治癒のメカニズムの一端を解明することである。

【材料と方法】6週齢雄性 Wistarラットの上顎第一臼歯を抜去し4週経過後，第二臼歯近心に歯周組織欠損を作成した。2.5% RADA16を応用した実験群，コントロールゲル（Matrigel）を応用した群，Unfilled群を設定した。術後2週にて欠損部の新生歯周組織を採取し，PCRアレイにて骨形成関連84遺伝子の発現プロファイルを解析した。RADA16へのラット歯根膜由来細胞の遊走状態の評価は，共焦点レーザー顕微鏡（CLSM）を用いた。

【結果と考察】骨関連遺伝子の発現解析において，Unfilled群と比較してRADA16応用群では*Tnfsf11*，*Itgam*，*Mmp2*，*Vegfα*などの骨形成や細胞接着，血管新生に関与する9遺伝子の発現上昇（≧3.5 fold）を認めた。RADA16上に播種後5時間のラット歯根膜由来細胞は細胞突起が伸展し，ゲルを用いず培養した対照群との細胞形態の相違を認めた。

【結論】RADA16による歯周組織治癒には宿主細胞との良好な親和性や網目状構造への早期の細胞接着，血管新生，その後の骨リモデリングの促進が関与していることが示唆された。

P-080
2504

## 脳由来神経栄養因子（BDNF）を用いた非外科的歯周治療に関する組織学的研究

佐々木　慎也

キーワード：脳由来神経栄養因子（BDNF），歯周治療，in vivo

【目的】脳由来神経栄養因子（BDNF）の歯周組織再生における有用性が明らかになってきた。さらに，BDNFは歯周組織再生を阻害する上皮細胞のアポトーシスを誘導することが示された。これらの特性から，BDNFが軽度歯周炎に対する非外科的組織再生治療に有効であると仮説を立てた。本研究では，小規模歯周組織欠損を想定したビーグル犬絹糸結紮歯周炎モデルを用いて，BDNFの非外科的歯周治療による歯周組織再生効果を組織学的に検討することとした。

【材料と方法】ビーグル犬（12～20カ月齢）の下顎第2～4前臼歯に絹糸結紮歯周炎モデルを作製した。SRP後にBDNF（500μg/ml）/高分子ヒアルロン酸（HA）複合体を歯周ポケットに投与した。対照群は，無処置群，SRPのみ行う群，SRP後にHAを投与する群とした。BDNF投与2週間後に灌流固定を行い，組織標本を作製した。切片作製後，HE染色，アザン染色，免疫組織化学染色を行い，組織を観察した。対象とした分子は，骨－セメント質関連タンパクのオステオポンチン（OPN）と，BDNFの高親和性受容体TrkBである。

【結果と考察】BDNF群では対照群と比較し，上皮の根尖側への増殖が抑制され，炎症性細胞浸潤は最も軽度であった。また，コラーゲン線維の埋入を伴う新生セメント質および新生骨が観察された。歯根面や新生セメント質，新生骨に接する細胞はTrkBとOPNに陽性反応を示した。

【結論】小規模歯周組織欠損部の歯周ポケット内へ局所投与されたBDNFは，炎症制御能，組織再生促進能を発揮し，軽度の歯周組織破壊を非外科的に再生できる可能性が示唆された。

P-081
2504

## 間葉系幹細胞集塊Clumps of MSCs/ECM complexesは歯周組織再生を促進する

竹脇　学

キーワード：再生医療，歯周病，間葉系幹細胞

【目的】骨髄間葉系幹細胞（MSC）と細胞自身が産生する細胞外基質（ECM）からなる間葉系幹細胞集塊Clumps of MSCs/ECM complexes（C-MSCs）は，人工の足場材料を必要とせずに三次元的にMSCsを培養，移植可能で，効果的な骨組織再生能を示す（Cytotherapy，2015）。本研究では，C-MSCs移植による歯周組織再生効果についてビーグル犬根分岐部Ⅲ級欠損モデルを用いて検討した。

【方法】MSCを移植予定のビーグル犬腸骨から採取し，24穴培養皿に$7.0 \times 10^4$cells/wellで播種し，50μg/mlアスコルビン酸含有の増殖培地で培養し十分なECMを産生させた。細胞シートの状態で剥離，浮遊させ，さらに培養を継続しC-MSCsを得た。また，石灰化誘導を施したC-MSCs（OIM-C-MSCs）を調製した。これらのC-MSCsをビーグル犬根分岐部Ⅲ級欠損に移植した。対象として非移植群をもうけ，処置8週および12週間後に屠殺。組織計測およびCT解析を行った。

【結果と考察】8週間後において非移植群では歯肉上皮の侵入を認め，セメント質の再生は限定的であった。一方，C-MSCs，OIM-C-MSCs移植群ともに歯肉上皮の侵入は観察されず，セメント質および機能的な歯周靱帯の再生を認めた。さらに，アンキローシス，根吸収等の有害事象も認めなかった。また，欠損部では根面に沿った歯槽骨の輪郭再形成を認め，その骨再生量はC-MSCs移植群と比較し，OIM-C-MSCsが有意に高い値を示した。

しかし，12週間後では，C-MSCs，OIM-C-MSCsともに十分な歯周組織の再生促進が観察された。同様の所見がCTを用いた解析でも得られた。以上のことから，C-MSCsはビーグル犬根分岐部Ⅲ級欠損において歯周組織再生を促進することが示された。

P-082
2203

## オゾン化グリセリンの骨芽培養細胞に対する骨再生能の基礎医学的探求

長谷川　直美

キーワード：歯周病，オゾン，骨芽細胞

【目的】歯周病治療において患部にオゾンを用いた時に殺菌効果，止血作用，創傷治癒促進，抗炎症作用を臨床的に経験する時がある。本研究では，臨床的知見から得たその骨再生能を基礎医学的に解明するためにヒト骨芽細胞様骨肉腫細胞に培養系にオゾン化グリセリンを添加した実験系を用いた。

【材料および方法】オゾンはオゾン化グリセンリンを用いた。細胞はヒト骨芽細胞様骨肉腫細胞株（Saos-2）への増殖能，コラーゲン産生能およびALP分泌への効果を解析した。細胞増殖能はMTT assayとBrdU Cell Proliferation Assay Kit，Collagen 産生能はELISAで解析した。ALP産生能はLabAssay ALP kitを用いた。

【結果および考察】本実験で用いたヒト由来プラセンタは，Saos-2への増殖能，コラーゲン産生能，ALP分泌能を確認できた。ALP活性は骨代謝の指標であることから，オゾン化グリセリンには骨再生能をもつ可能性が考えられた。オゾンの生理活性はこれまで「mildな酸化ストレス」が様々な核内転写因子を活性化することによると推定されている。適度な酸化ストレスによりNFκBとNrf2のバランスが生体の恒常性の維持と適応に重要である。本研究では，オゾンによるmildな酸化ストレスにより，骨系反応の細胞内情報伝達系NFκBとNrf2に影響を与えていると推測している。今後はオゾン化グリセリンによる細胞内情報伝達系を追求する。

P-083
3103

## 炭酸アパタイト製人工骨の骨置換性の評価

山中　克之

キーワード：骨補填材，炭酸アパタイト，インプラント，骨置換，骨

【目的】我々は，生体骨の無機成分である炭酸アパタイトと類似した組成の顆粒状炭酸アパタイト（GCAP-01）の開発に成功しており，歯周，インプラント周囲での適応の取得を目指している。本発表では，ハイドロキシアパタイト（HAp）を比較対照とし，GCAP-01の骨置換性についてin vitro及びin vivoで評価した結果について報告する。

【方法】被験物質はGCAP-01，対照物質は製品A（ウシ骨由来HAp），製品B（合成HAp）とした。in vitro評価は溶解性試験（JIS T 0330-3）を実施した。in vivo評価は，12ヵ月齢以上のビーグル犬2頭の左右下顎前臼歯を抜歯，治癒させた部位にインプラント体（φ3.8 × 8mm）を埋入し，その辺縁に5 × 5 × 4mmの頬側裂開型骨欠損を作製し，各種材料を埋植し，BIC（Bone-Implant Contact）及び新生骨面積率（%）を評価した。

【結果と考察】in vitro評価では，pH 5.50においてGCAP-01と製品Aは溶解性が高く，製品Bは有意に低い値を示した。in vivo評価では，GCAP-01は製品Aと同等もしくはそれ以上のBICおよび新生骨面積率を示した。一方で製品Bは明らかに低い結果となった。製品Aでは骨形成箇所が欠損低部にとどまったのに対し，GCAP-01は欠損部内に均一に骨が形成されていた。

【結論】イヌを用いたインプラント周囲骨欠損モデルにおいてGCAP-01を埋植した部位で良好な骨形成が認められ，破骨細胞が産生するpHで溶解性が示されたことから，GCAP-01は顎骨内で骨置換する人工骨であることが示唆された。

P-084
3103

## 等電点の異なるβ-TCP含有ゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子（FGF-2）を併用した顎堤増大術における効果の比較検討

福場　駿介

キーワード：ヒトリコンビナント線維芽細胞増殖因子，ゼラチンスポンジ，等電点

【目的】rhFGF-2は歯周組織再生において有効な臨床報告がなされている。またβ-TCP含有酸性ゼラチンスポンジはその静電気的性質を利用して細胞増殖因子を徐放化できることが知られている。我々はイヌ顎堤増大術モデルにおいて酸性β-TCP含有ゼラチンスポンジとrhFGF-2を併用した群ではrhFGF-2を併用しない群と比べ，有意に新生骨形成量が多いことを報告したが，rhFGF-2の付加的効果がスポンジの静電気的性質によるものかは定かではない。本研究では異なる等電点のβ-TCP含有ゼラチンスポンジを用いて顎堤増大術の効果の比較検討することを目的とした。

【材料および方法】ビーグル成犬6頭（オス）を使用した。上顎犬歯近心に鞍状欠損を作製し，等電点の異なるゼラチンスポンジをそれぞれスキャフォールドとしrhFGF-2を含浸し，無作為に補填した。術後12週で標本ブロックを採取した。microCT及び模型による形態分析，光学顕微鏡による組織学的分析を行った。

【結果および考察】両群とも術後著明な炎症はなく良好な治癒が認められた。microCT及び組織切片での計測では酸性β-TCP含有ゼラチンスポンジとrhFGF-2を併用した群が塩基性β-TCP含有ゼラチンスポンジと併用した群に比べ，新生骨形成量が有意に大きかった。

【結論】本研究の結果から顎堤増大術において酸性β-TCP含有ゼラチンスポンジをrhFGF-2と併用すると骨形成を促進する可能性が示唆された。

P-085
2299

## 羊膜上培養歯髄由来細胞シートの神経分化誘導

本城　賢一

キーワード：歯髄由来細胞，羊膜，神経分化誘導

【目的】これまでに，我々は歯周疾患にて喪失した歯周組織の再生療法を目指し，羊膜を基質とした培養歯髄由来細胞シートの開発・検討を行ってきた。また，骨分化誘導培地を用いた骨分化誘導培養歯髄由来細胞シートを作成したことを報告している。今回，新たに同培養シートを神経分化誘導させ，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培養液にて培養した。3～4代継代培養後，羊膜上にこれら歯髄由来細胞を播種し，10%FBS/DMEM（control群）あるいは神経分化誘導培地（神経分化群）にて約2週間培養。その後，組織学的・免疫組織化学的検討を行った。

【結果および考察】歯髄由来細胞は，歯の内部に位置するために有害刺激が少なく，抜歯後に医療廃棄物として処理されていた乳歯，智歯などの永久歯から比較的簡便に入手が可能で，細菌感染の機会が少ないためにシート作成の再現性が高い。幹細胞ソースとしても着目されている同細胞を用いて，新たな治療法の開発を目的としている。本結果から，神経分化誘導した歯髄由来細胞は羊膜上で増殖し，羊膜上にて細胞シートを形成しているものと考えられた。これら歯髄由来細胞の神経分化誘導による新たな再生医療的治療法の開発へと繋がる可能性が示唆された。

P-086
2504

## Combination of hPDLSC sheet and rhBMP-2 for periodontal tissue regeneration

Jeong-Ho Yun

キーワード：Periodontal tissue，Tissue regeneration，Stem cells，Tissue engineering

**Objectives:** This study evaluates the efficacy of rhBMP-2 combined with human periodontal ligament stem cells（hPDLSCs）sheet for regeneration of cementum and periodontal ligament.

**Materials and methods:** To test if rhBMP-2 affects mineralization of hPDLSCs in vitro, monoclonal hPDLSCs were cultured under mineralization condition with or without rhBMP-2 for 21 days. The amount of mineralization was measured by Alizarin Red staining and osteo/cemento-genic gene expressions were analyzed by RT-PCR. To test efficacy of rhBMP-2 on cementum formation in vivo, hPDLSC sheets were fabricated and differentiated with or without rhBMP-2 ex vivo, wrapped around a scaffold disc and transplanted into nude mice. Hard tissue formation was analyzed at 4 weeks after transplantation by H&E staining and immunohistochemistry. Viability of transplanted hPDLSC was evaluated by luciferase in vivo imaging.

**Results:** rhBMP-2 treatment enhanced mineralization differentiation of hPDLSCs in vitro and the amount increased with longer rhBMP-2 treatment. Expressions of ALP, osteocalcin and cemp-1 were higher in rhBMP-2 group especially at 2 weeks of differentiation. The amount of hard tissue formation in vivo was significantly higher in rhBMP-2 group compared to cell sheet only group. Importantly, the regenerated hard tissue in rhBMP-2 group expressed CEMP-1. Viability of the cell sheet lasted for 3 weeks of transplantation.

**Conclusions:** Combined usage of rhBMP-2 with hPDLSC sheet results in superior formation of cementum-like tissue in vivo. Our findings have implications for clinical usage of rhBMP-2 with hPDLSC sheet for periodontal regeneration.

This research was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Instiute（KHIDI), funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea（grant number : HI17C0450).

P-087
2504

## Comparison for tissue volume of ridge preservation using physically cross-linked collagen vs. chemically cross-linked collagen membranes: a pilot study

Jungtae Lee

キーワード：3-D imaging，Alveolar bone grafting，Bone regeneration，Cone-Beam Computed Tomography，Tooth socket

**Objectives:** The aim of this study was to radiographically and clinically compare dimensional alterations during ridge preservation between using two types of membrane（physically and chemically cross-linked).

**Materials and methods:** A newly developed physically cross linked membrane（Ovis BCP/Collagen membrane®）and A chemically cross linked membrane（Cross-linked collagen membrane®）were applied during the ridge preservation procedure in test and control groups（total 6 subjects), respectively. Cone-beam computed tomography scans were obtained at the day and 3 months after the ridge preservation procedure. For measuring volumetric change of alveolar ridge with optical scanner, alginate impressions were taken three times（before, 7 days and 3 months after the ridge preservation procedure. Results were analyzed using the independent t-test and the *nonparametric Whitney U test.*

**Results:** Change of extraction socket dimension, width, height and quantity of bone tissue showed no significant difference between two membranes.

**Conclusions:** Newly developed physically cross linked membrane in ridge preservation procedure showed comparable clinical/ radiographical result to chemically cross linked membrane.

P-088
2504

## エナメルマトリックスデリバティブを用いた歯周組織再生療法後2年の臨床評価

勢島　典

キーワード：歯周組織再生療法，先進医療，エナメルマトリクスデリバティブ

【目的】エナメルマトリックスデリバティブ（EMD）を用いた先進医療「歯周外科治療におけるバイオリジェネレーション法」は，東京歯科大学千葉病院では2008年から，水道橋病院では2012年から行われている。本研究の目的は，本先進医療による歯周組織再生療法後2年における臨床成績を評価することである。

【材料と方法】本学水道橋病院および千葉病院を受診し，中等度～重度歯周炎と診断された20歳以上の患者のうち，歯周基本治療後の再評価で，プロービングデプス（PD）6mm以上かつ深さ3mm以上の垂直性骨欠損を有する者を対象とした。EMD（エムドゲインゲル）を使用した歯周組織再生療法を行い，2年後まで歯周パラメーターとエックス線写真による評価を行った。本研究は，東京歯科大学倫理審査委員会の承認（No.550）を受け，インフォームドコンセントを得て行った。

【結果と考察】22名（平均年齢55.2 ± 10.6歳，男性9名，女性13名）の42部位に手術を行った。術前の平均PDは6.8 ± 1.2mm，臨床的アタッチメントレベル（CAL）は7.6 ± 1.8mmであった。術後1年での平均PDは3.3 ± 1.0mm，CALは4.8 ± 1.3mm，術後2年での平均PDは3.2 ± 1.0mm，CALは4.5 ± 1.5mmであった。術前の歯根長に対する骨欠損率は47.5 ± 13.3%であった。術後1年での骨欠損改善率は25.6 ± 12.9%，術後2年で36.2 ± 14.6%であった。

【結論】対象となった歯周炎患者にEMDを用いた先進医療を行った結果，2年後まで臨床的に良好な結果を示した。

P-089
2609

## 骨伝導能を有する窒化ケイ素セラミックスの歯科インプラントへの応用

堀口　智史

キーワード：歯科インプラント，骨再生，窒化ケイ素

【目的】近年の歯科インプラントの成功率は95%を超えるが，我が国が迎える超高齢化社会において，骨が脆く創傷治癒が遅延する有病者や高齢者に対しては，既存の方法では十分な骨結合が得られないことが予想される。そこで，我々は優れた機械的特性と歯周病菌に対する抗菌活性を有する窒化ケイ素セラミックスに注目した。本研究は窒化ケイ素セラミックスがチタンと同様に骨伝導性を有するか検証し，新たな歯科インプラント材料になり得るか検討した。

【材料と方法】窒化ケイ素基板上に骨芽細胞様細胞株を播種し，骨誘導下で培養を行った。コントロールとしてチタン基板を使用した。7日後，基板上の細胞の石灰化の状態をレーザーラマン顕微鏡で観察し，培養上清中の成長因子IGF-1とsRANKLをELISAで測定した。また，骨基質タンパク質であるosteocalcinの免疫染色を行い，蛍光顕微鏡で観察した。

【結果と考察】窒化ケイ素基板上で培養した場合，チタン基板に比べ多くのハイドロキシアパタイトと骨基質タンパクが沈着した。また，窒化ケイ素の基板上の細胞はチタンと比較し有意にIGF-1の増加とsRANKLの減少を認めた。

【結論】窒化ケイ素基板上の骨芽細胞様細胞は，チタンと同等あるいはそれ以上に骨基質を形成し，IGF-1を産生することが明らかとなった。さらに，窒化ケイ素の抗菌活性とsRANKLの発現抑制により，インプラント周囲炎が予防できると考えられる。骨伝導を促進する窒化ケイ素インプラントは，高齢者など骨が脆弱な患者に対しても早期に安定した骨結合を獲得させ，これらの患者に対する成功率の改善とQOLの向上につながると期待できる。

P-090
2201

## プラットフォームスイッチング型インプラントが周囲組織に与える影響について －光学顕微鏡と共焦点定量イメージサイトメーターによる観察－

安田　久理人

キーワード：プラットフォームスイッチング，共焦点定量イメージサイトメーター，骨吸収，炎症性細胞浸潤

【目的】これまでに演者らは，プラットフォームスイッチング型インプラント（PS）と非プラットフォームスイッチング型インプラント（NPS）が周囲組織に与える影響の違いを観察してきた。今回，PSとNPS周囲組織の非脱灰研磨組織標本を作成して観察を行い，比較検討を行った。

【材料と方法】実験動物として成カニクイザル雄3頭を用い，実験材料としてチタンインプラントとテンポラリーヒーリングアバットメント（THA）を使用した。全身麻酔を施し両側下顎臼歯を抜歯した。10週後，両側にインプラントを埋入し，一側にPS，対側にNPSとなるようそれぞれTHAを装着した。術後8週で安楽死させ，非脱灰研磨組織標本を作製してHE染色後，光学顕微鏡（LM）と共焦点定量イメージサイトメーター（CQ1）による観察を行った。

【結果】NPS，PSともにLM観察では，インプラント・アバットメント境（IAJ）部に炎症性細胞浸潤が認められた。またCQ1観察では低信号領域が認められ，その範囲はLM観察における炎症性細胞浸潤領域と一致しており，両者の場所や範囲に違いが見られた。

【考察および結論】CQ1所見で低信号領域として観察された部分は，炎症反応が自家蛍光を抑えたと考えられた。LMとCQ1所見とを対比した結果，NPSではインプラント・アバットメント境界部周囲の広範囲に炎症性細胞浸潤が認められたが，PSでは炎症性細胞浸潤がプラットフォーム上のごく一部に限局し，骨吸収が認められなかった。したがってプラットフォームスイッチングによって炎症性細胞浸潤の範囲が限定されたことが骨吸収の防止に作用している可能性が示唆された。

P-091
2609

## インプラント周囲炎罹患撤去予定インプラント周囲の細菌叢解析

坂本　渉

キーワード：インプラント周囲炎，細菌叢，定量リアルタイムPCR

【目的】口腔内脱落インプラントを用いて，インプラント周囲炎の細菌学的病態を調べることを目的とした。

【材料と方法】同一被験者で最大6部位｛健全歯部（HT），健全インプラント部（II），歯周炎罹患歯部（DT），脱落インプラント部（FI）をポケットの深さで，3mm以下（FIS），4-6mm（FIM），最深部（FID）の3段階｝で45号の滅菌ペーパーポイント2本を各部位に10秒間挿入し標本の採取を行い，以下の細菌種：A.actinomycetemcomitans（A.a），Candidaalbicans（C.albicans），F.nucleatum（F.n），P.gingivalis（P.g），P.intermedia（P.i），S.aureus（S.a），T.denticola（T.d），T.forsythia（T.f）について，定量リアルタイムPCRにて細菌叢の分析を行った。細菌の合計数はユニバーサルプライマーと A.aのスタンダードを用いて検量線を引き，相対定量で決定した。

【結果】細菌の合計数を常用対数変換しTukey検定を行なった結果，FIS, FIM, FID, DTのそれぞれの部位における合計細菌数は，II, HT部位と比較して有意に高い結果となった。また各菌種においてCheckerboard DNA-DNA hybridizationで用いられる$10^5$，$10^6$を適合させた検出頻度でCochran's Q testを行なった結果，FIにおけるRed complexの検出頻度が，HTに比べて有意に高い結果となった。

【結論】Red complexとインプラント周囲炎の関連性が示唆された。

P-092
2609

## 歯周病患者におけるインプラント周囲疾患に関する臨床研究　第2報：インプラント周囲のプロービングデプスについて

小玉　治樹

キーワード：インプラント周囲疾患，歯周病患者，プロービング時の出血，プロービングデプス

【目的】インプラント周囲のプロービングデプス（PD）は，インプラント周囲疾患の診断において，重要な臨床的指標とされている。本研究の目的は，インプラント治療を行った歯周病患者において，インプラント周囲のPDの分布およびPDとプロービング時の出血（BOP）との関係を明らかにすることである。

【材料と方法】被験者は，明海大学歯学部付属明海大学病院歯周病科にて歯周治療を行った後に，インプラントによる口腔機能回復治療を行い，メインテンスに移行した124人（男性41人，女性83人，平均年齢63.3歳）とした。埋入されたインプラントはすべてZimmer Dental社製であった。PDおよびBOPは，プラスティック製プローブを用いインプラント周囲を6点法にて検査した。

【結果】全インプラントの平均PDは2.4 ± 0.9mmであった。BOP陽性部位の平均PDは，BOP陰性部位の平均PDよりも有意に大きかった。また，上顎の平均PDは下顎の平均PDより有意に大きかった。6点法による検査部位を近心，中央，および遠心に分けて比較したところ，中央は，近心および遠心に比較し有意にインプラント周囲の平均PDが小さかった。さらに，PDとBOP陽性率の関係について検討を行った結果，PDが大きくなるにしたがって，BOP陽性の部位の割合が有意に高くなることが示された。

【考察】インプラント周囲のPDには，インプラント埋入部位や検査部位等の様々な要因が関与している可能性が示唆された。また，天然歯と同様，インプラントにおいても，PDが大きいほど周囲溝底部において炎症が生じている可能性が高いことが示唆された。

P-093
2609

## 歯周病患者の口腔インプラント治療予後に関する後ろ向き研究

鈴木　幹子

キーワード：口腔インプラント治療，合併症，骨造成

【諸言】口腔インプラント治療の予後評価に関する報告は多いが，インプラントシステム，術者および施設環境が異なるためか治療予後に関するコンセンサスは得られていない。治療結果に関わる諸因子の評価や考察も十分ではない。演者らは歯周病患者の口腔機能回復治療にインプラント治療を実践しており，疫学的検討を行うため，これまでの治療結果に関する後ろ向き研究を行った。

【方法】奥羽大学歯学部附属病院第一総合歯科において，平成18年12月から平成28年12月にインプラント治療による咬合機能回復治療を受けた患者70人に埋入された計296本のインプラント体の予後について後ろ向き研究を行った。使用したインプラントシステムはPOIとブローネマルクの二種類であった。統計処理には，カイ二乗検定を用いた。

【結果】咬合機能期間は平均3.2年，インプラントの生存率は99.0％，合併症は，インプラント周囲炎（14本，4.7％）およびディスインテグレーション（3本，1.0％）であった。インプラント周囲炎を発症した64.3％，ディスインテグレーションを起こした100％に人工骨を使用した骨造成を併用していた。骨造成を併用した92本中，偶発症を認めたのは13.0％，骨造成を行わなかった204本では2.5％であり，統計学的な有意差が認められた。

【考察】演者らの今回の報告は，経過期間がまだ短期間であるが良好な治療経過が得られており，今後長期に亘り適切なSPTおよび経過観察を行いたい。また，インプラント周囲炎の発症および進行に関わるリスク評価を行う際，人工骨を使用した骨造成はインプラント周囲炎のリスク因子になり得ることが示唆された。

P-094
2199

## 研究体験による歯学部学生に対する研究マインドの涵養 ―乳酸菌による歯周病原細菌の増殖抑制効果―

石黒　一美

キーワード：研究マインド，歯学部学生，プロバイオティクス

【目的】平成22年度の歯学教育モデル・コア・カリキュラムから，歯科医師に求められる基本的資質として研究マインドの涵養が求められ，本学では第2学年を対象に，興味ある分野で研究体験ができる少人数制の実習を設けている。本発表では，平成27・28年度の歯周病分野を選択した学生の研究と支援教員の活動を報告する。

【方法】23領域の支援教員が第2学年学生に対し，研究できる内容をプレゼンテーションし，学生が選択したい領域を決定する。歯周病学分野では，支援教員も研究結果を知り得ない歯周病に対するプロバイオティクス療法をテーマとした。学生達はプロバイオティクスに関する素朴な疑問から関連情報を収集，学習し，支援教員と共に自ら遂行できる研究方法を立案して研究を行った。

【結果と考察】平成27年度は前・後学期の1年間で「乳酸菌による歯周病原細菌の増殖抑制効果」に関する研究を行った。学生達は自ら検討したい乳酸菌含有製品を決定し，乳酸菌の分離培養，*P. gingivalis*の増殖抑制効果を検討するための研究方法を検討した。平成28年度は後学期のみとなったが，平成27年度の先行結果を検証して研究方法の改善を試み，さらにその手法を用いて前年度とは異なる検討したい製品に含まれる乳酸菌の*P. gingivalis*の増殖抑制効果の比較検討を行った。支援教員自身も答えのない研究を行うことで，あえて必要以上の指導を行わず，学生自身が非常に簡単に行える実験から限られた実習時間の中で小さな疑問を解決する論理的思考や探究心を養うことができた。

P-095
2504

## 音波歯ブラシを用いた歯周病実習に関するアンケート調査

白川　哲

キーワード：音波歯ブラシ，歯周病実習，アンケート

【目的】音波歯ブラシは一般に普及しつつあるが歯学教育において歯ブラシ法実習のほとんどは手用歯ブラシについてあり，音波歯ブラシを用いての実習はあまり行われていないのが現状である。本学をはじめとする5校では数年前より音波歯ブラシを用いた実習を行っている。そこで，アンケートを用い学生の音波歯ブラシ実習に対する評価を行ったので報告する。

【材料および方法】日本歯科大学新潟歯学部，明海大学，鶴見大学，松本歯科大学，愛知学院大学の各第4学年の学生を対象として音波歯ブラシ実習を行った後，音波歯ブラシ実習の有用性，音波歯ブラシの使用感や有効性，音波歯ブラシの継続使用の意思や推奨についてアンケートを行った。また，追跡調査を行い音波歯ブラシの使用状況について調査した。

【結果および考察】音波歯ブラシ実習の有用性・使用法を学ぶことが重要であると約90％の学生が回答した。また継続して使用したいと同様に回答した。また学生の84％が誰かに勧めたいと回答した。追跡調査した結果，約半数の学生が継続使用していると回答した。また，約半数の学生が実際に音波歯ブラシを人に勧めたと回答した。

【結論】現在普及している音波歯ブラシの使用法を患者に正しく伝えるためには音波歯ブラシを用いた実習を行い，その特性を理解しておくことは重要であり，そのことを学生も理解したと考える。今後さらに音波歯ブラシをはじめとする電動歯ブラシが普及することが考えられ，通常の歯ブラシ法の実習に加え，同実習を行っていくことは有用であると考えられた。

P-096
2398

## 歯学部5年次の臨床実習におけるOSCEが臨床実習終了時客観的臨床能力評価（iOSCA）に及ぼす効果について

須田　玲子

キーワード：OSCE，プロービング，臨床実習，歯学部学生

【目的】昭和大学歯学部では，5年次の臨床実習終了時に総合的な臨床能力の評価を行うことを目的とした客観的臨床能力評価（iOSCA）を行っている。一方，歯周病学の臨床実習中では，プロービングの基本的操作の訓練を兼ねたOSCEを行っている。今回，臨床実習でのOSCEがiOSCAにおける到達度に効果を与えているかどうかを検討した。

【対象と方法】平成28年度昭和大学歯学部5年生89名を対象とした。臨床実習中のOSCEには日本歯周病学会推奨基礎実習模型を使用して上顎右側歯列を1歯6点計測でプロービングし，頬側のみを記録させた。iOSCAにおいては，モデル患者の口腔内を基にして作成した模型を使用，上顎右側6番のポケットを1歯6点で測定，記録させた。実測値の±1mmを正解とし，一致率を計算した。臨床実習中，一致率が60％に満たなかった学生を再試の対象とし，全員が60％以上の一致率となるよう指導した。臨床実習時とiOSCAでのプロービングの結果について統計学的解析を行い，臨床実習でのOSCEがiOSCAの到達度に効果を与えたかどうか検討を行った。

【結果と考察】OSCEあるいはiOSCA時，測定部位や記入ミスなどをした学生21名を除外し，68名を対象に解析した。OSCEでのプロービング一致率は平均65.9％であったのに対し，iOSCAにおける一致率は平均74.3％と統計学的に有意に上昇した（$p<0.05$）。また，iOSCAでは一致率100％の学生が27.9％に達した。しかしながら，測定部位や記載部位のミスがある学生が相当数存在するなど，臨床実習における指導内容に課題も残っている。

P-097
2504

## 根面滑沢化用バーが歯面に及ぼす影響に関する研究

露田　康平

キーワード：根面滑沢化用バー，表面粗さ，セメント質

【目的】根面の滑沢化を目的としていくつかの回転器具が発売されている。しかし，これらの器具について詳細な評価は行われていない。そこで我々は市販されている根面滑沢化用バーについて超音波スケーラー（US，オサダ）処理後の根面をコントロールとし，グレーシーキュレット（GC,Hu-Friey）および根面滑沢化用バーとしてオコクリーナー（OC，マイクロテック），トゥースプレーニングバー（TP，東京歯材社），TCバー（TC，マイクロテック）の3種類を用い根面に与える影響を検討した。
【材料と方法】抜去歯20本をUSにて歯石を除去しコントロールとした。次にGUは根面が滑沢になるまで，OC，TP，TCは弱圧注水下にて1分間処理した。処理した根面を3×4㎜の範囲で6分割し共焦点レーザー顕微鏡（LEXTOLS4000）にて表面平均粗さを測定した。表面の性状は位相差型電子顕微鏡（SEM，JEOL-5600LV）を用い観察した。また，組織切片を作成し残存したセメント質について観察した。
【結果と考察】表面平均粗さはTC，OC，TP，GC，USの順で滑沢であった。SEM観察ではTCは象牙質表面が露出した象が認められたのに対し，その他ではセメント質の残存が確認できた。SEMでの観察ではOCが最も滑沢な象であり次いでTPであった。組織切片ではTC以外ではセメント質の残存を確認出来た。
以上の結果より，健全なセメント質を残し根面の滑沢化を行うにはOCが適していると考えられる。また，TPはタービンにつけて用いるのに対し，OCは電気エンジンで用いることから安全性においても優れていると思われた。

P-098
2504

## マウス口腔内実験に用いる開口器の開発と使用例
## －実験的歯周炎モデルへの応用－

倉治　竜太郎

キーワード：開口器，マウス，薬液投与，実験的歯周炎，動物実験

【目的】歯周病学をはじめ歯学研究では，齧歯類を対象として実験を行うことが多い。こうした動物の口腔内に種々の処置を行う場合には，開口状態の保持や視野確保が実験手技を安定させる上で極めて重要な要素となる。我々は既にラットに利用できる小型開口器を開発し，その有効性を示したが，マウスの開口を保持する専用器具は提案されていない。そこで我々は，幅広い週齢のマウスに適合する規格化された開口器の作製を目的として，開発を行ったのでここに報告する。
【材料と方法】本考案は，1.5mmステンレス線を用いた長方形の切歯係止フレームと，フレーム内側に対向して取り付けた左右口角鈎，フレーム基端部に取り付けた開口調節体から構成される開口器である。マウスへの本器の適合性を検討するため，4，6，10週齢BALB/cマウスを対象に，本器各部による開口保持状態を評価した。また本器装着時の口腔内実験への応用例として，口蓋歯肉への薬液注射および実験的歯周炎作製のため上顎臼歯への絹糸結紮を行い，本器を用いた場合の処置時の視野確保と実験器具の到達，操作性について検討した。
【結果と考察】開口調節体により，異なるマウスの開口を安定して保持することができ，口腔内実験を良好に実施できた。また本器を使用することで，様々な角度からの器具挿入や舌の口腔外への排除が容易に遂行できた。
【結論】本規格化マウス開口器は，各週齢マウスの口腔内実験において優れた開口保持効果を有した。また，本器は総ステンレス製であることからオートクレーブ，乾熱滅菌後の感染実験への反復使用も可能である。本器は実用新案登録済みである（公開番号2014-004789）。

P-099
2504

## Web調査による歯科治療中断の理由と背景の分析

加藤　智崇

キーワード：治療中断，受診行動，Web調査

【目的】歯科を受診する患者の中に，治療途中で受診を中断する者が存在する。これは，患者本人の不利益に加え，疾患の増悪による医療経済的な懸念もされる。本研究では，中断患者の減少を目指すために，中断理由と患者背景を明らかにすることを目的とした。
【研究方法】平成29年1月20～24日の期間にWebアンケートによる横断調査を実施した。対象者は，インターネットリサーチ会社に登録されているモニターとした。調査に応募したモニターのうち10年以内に歯科治療を受けた経験のあるものを選び，その後治療を中断したままの者を中断群，歯科医院でのメインテナンスを継続して受診している者を継続群とした。この2群に対して，患者背景および健康観や，歯科のイメージ等の中断理由（中断群のみ）について調査を実施した。
【結果】中断群225名，継続群236名の回答が得られた時点で調査対象者の募集を停止した。中断群と継続群の両群の比較において，職種，配偶者の有無，子供の有無，居住地には有意な差がみられなかった。中断群における過去10年間の中断の回数は，1～2回が161名，3～5回が41名，6回以上が23名であった。中断理由は，「症状が良くなった」が最も多く，「仕事・学業で忙しかった」，「金銭的に余裕がなかった」と続いた。また，中断群は継続群と比べ「『怖い』『痛い』等のイメージがある」など歯科に対してネガティブな質問で回答数が有意に多かった。
【考察・結論】歯科にネガティブなイメージがあり，症状の寛解がみられた場合には，歯科治療の中断に十分に注意すべきであると示唆された。

P-100
2301

## 動機づけ面接法を歯科診療にもちいてみて

宮澤　進

キーワード：医療面接，動機づけ

欧米諸国で主にアルコール中毒患者に対して用いられている面接法である。全身疾患と歯周病については，日本歯周病学会においても，盛んに医科歯科連携の話題が多く期待が持てる分野になっていると感じている。一方，我々開業医は専門医といえど，糖尿病患者にインシュリン注射の処方もできない，運動療法の指導もできない。同じ事が禁煙の問題にもいえる。
よって，「動機づけ面接法」を用いて，2～3分ほどの会話を用いてすくなくとも患者が運動しようと考え始める，タバコをやめてもいいかなと考え始める面接法を紹介したい。

P-101

2203

## 塩化セチルピリジニウムのウイルス不活化作用に関する検討

山口　依里香

キーワード：塩化セチルピリジニウム，口腔咽喉用スプレー剤，ウイルス不活化

【背景及び目的】インフルエンザウイルスは，鼻腔・口腔の細菌との混合感染により，感染が重症化することが知られている。ウイルスは自身のもつヘマグルチニン（HA）で細胞に感染し，ノイラミニダーゼ（NA）により感染を新しい細胞に伝播するが，細菌の一種がHAの活性化や，NAと同様な酵素を分泌するとの報告があり，ウイルスと細菌は互いに感染を促進する関係にある。口腔ケアの実施が，インフルエンザの発症や重症化の抑制に寄与することも，高齢者施設等での介入試験で報告されている。したがって，インフルエンザウイルスの感染予防において，口腔細菌のコントロールが可能な含嗽剤や口腔咽頭用スプレー剤の使用は有用と考えられる。これら製剤の有効成分の一つであるポビドンヨードでは，口腔細菌の殺菌作用以外にウイルスに対する直接的な不活化作用も報告されているが，同様に使用される塩化セチルピリジニウム（CPC）については報告されていない。そこで，本研究ではCPCのインフルエンザウイルスに対する不活化作用を検証した。

【方法】供試薬剤は0.05～0.3％CPC水溶液，および0.3%（w/v）CPC配合スプレー剤とし，供試ウイルスとして*Influenza A virus*（H1N1）A/PR/8/34 ATCC VR-1469（インフルエンザウイルスA型）を用いた。供試薬剤1mLに供試ウイルスの浮遊液0.1mLを接種し，20秒後にReed-Muench法にてウイルス感染価を測定した。

【結果】低濃度のCPC水溶液ではインフルエンザウイルスA型に対する不活化作用は確認できなかったが，一定以上の濃度域ならびに製剤化された0.3%（w/v）CPC配合スプレー剤において不活化作用が認められた。

【結論】本結果から，CPCが一定濃度以上配合された含嗽剤や口腔咽頭用スプレー剤がインフルエンザ予防に有用である可能性が示唆された。