

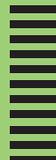
一般演題ポスター

(ポスター会場)

5月12日(金)	ポスター受付・貼付	8:30~10:00
	ポスター展示・閲覧	10:00~17:20
	ポスター討論	17:20~18:00
	ポスター撤去	18:00~18:30

ポスター会場

P-01~56



P-01

マウス AMTN 遺伝子発現は TGFβ1 誘導 Smad3 を介して調節される

2206

中山 洋平

キーワード：歯肉上皮, アメロチン, アポトーシス

【目的】アメロチン (AMTN) は、歯肉接合上皮に局在するエナメルタンパク質であり、接合上皮での機能は明らかではない。我々は以前、*P. gingivalis* 感染マウスにおける AMTN 遺伝子の一過性の増加を示した。今回、歯肉上皮細胞の TGFβ1 誘導アポトーシス下での AMTN 遺伝子発現の変化を検索し、Smad3 ノックアウトマウスにおける AMTN タンパク質の局在を観察した。

【材料と方法】マウス歯肉上皮細胞 (GE1 細胞) を TGFβ1 で刺激または Smad3 過剰発現下で、AMTN mRNA 量の変化を Real-time PCR で分析し、マウス AMTN 遺伝子プロモーター配列を含むルシフェラーゼコンストラクトを使用して、転写活性を解析した。Smad3 応答配列 (SBE) と Smad3 の結合はクロマチン免疫沈降法 (ChIP アッセイ) で検索した。Smad3 ノックアウトマウスにおける AMTN の局在は免疫染色法で観察した。

【結果と考察】TGFβ1 刺激24時間後および Smad3 過剰発現下でアポトーシスが誘導された。AMTN mRNA 量は TGFβ1 刺激24時間で最大になり、その後減少した。TGFβ1 刺激および Smad3 過剰発現による AMTN 遺伝子の転写活性には、-1651~ -878塩基対に存在する応答配列が関係し、その領域に含まれる SBE への Smad3 の結合が増加した。Smad3 ノックアウトマウスの接合上皮における AMTN タンパク質発現は減少傾向であった。

【結論】歯肉上皮細胞の TGFβ1 誘導アポトーシス時に AMTN 遺伝子発現レベルは一過性に増加し、その変化に Smad3 が関与していた。

P-02

米由来抗菌ペプチドの歯周炎モデルマウスにおける抗炎症作用の検討

2504

野中 由香莉

【目的】米の α-アミラーゼの部分配列である 18 残基のアミノ酸からなる AmyI-1-18 ペプチドは、*P. gingivalis*, *C. albicans*, *S. mutans* などの病原微生物に対して抗菌活性を有することが報告されている。また、このペプチドは LPS 刺激に対する抗炎症作用や血管新生作用などの多機能性を有することが示されている。本研究では、歯周炎モデルマウスにおいて誘導される炎症応答に AmyI-1-18 ペプチドが及ぼす影響を明らかとすることを目的とする。

【材料と方法】マウス C57BL/6N に AmyI-1-18 ペプチド (新潟大学谷口正之教授より供与) 200μM を oral gavage 法により 1 回/日、計 14 回投与した。ペプチド投与開始から 7 日目に上顎第二臼歯に絹糸を結紮し、計 7 日間、実験的歯周炎を誘導した。顎骨吸収は実体顕微鏡下でセメントエナメル境 (CEJ) から歯槽骨頂 (ABC) で囲まれる歯根面積を測定した。血清中の IL-6 レベルは ELISA 法にて測定した。さらに、歯肉組織における炎症性サイトカインの遺伝子発現は、qPCR 法を用いて解析した。

【結果と考察】AmyI-1-18 ペプチド投与により顎骨吸収の抑制傾向が認められた。血清中 IL-6 レベルはペプチド投与により有意に抑制が認められた。歯肉組織においても IL-6 遺伝子発現が有意に抑制されていたことから、歯周局所における AmyI-1-18 ペプチドの抗炎症作用が血清中のサイトカインレベルにも影響を及ぼしている可能性が示唆された。

【結論】歯周炎モデルにおいて AmyI-1-18 ペプチドが抗炎症作用を示すことが明らかとなった。

会員外共同研究者：谷口正之 (新潟大学工学部機能材料工学科)

P-03

歯周炎患者の血中サイトカインと歯周組織破壊の関係

2504

堀田 敬史

キーワード：歯周炎, サイトカイン

【目的】最新のマイクロアレイで、数 10 種類の血中サイトカインを同時に網羅的に測定することが可能になった。そこで歯周組織破壊により全身に及ぼす影響を検討する一助として、今回の研究では、重度歯周炎患者の臨床指標と血中サイトカインとの関連を調べた。

【材料と方法】被験者は男性 16 名、女性 10 名。口腔内診査を受けたのうち、10 枚法デンタル X 線写真、歯周組織検査 (歯周ポケット測定、BOP、歯牙動揺度) を行った。検査の結果、重度の慢性歯周炎あるいは侵襲性歯周炎と診断された 18 名、Perio グループ (平均年齢 38.5 歳 男性 10 名、女性 8 名) と健康な歯周組織と診断された 8 名、Healthy グループ (平均年齢 29.5 歳 男性 6 名、女性 2 名) の 2 グループに分けた。それぞれのグループの被験者は、受診日に採血を行った。

【結果と考察】Healthy グループと比べ Perio グループでのみ検出または、高値であったサイトカインは、RANTES, sTNF R I, sTNF R II, PDGF-BB, TIMP-2, IP-10, MIP-1β, MIP-1δ, IL-6sR, ICAM-1, MCP-1, MCP-2, M-CSF の 13 種類あった。これらサイトカインのうち臨床指標と相関を認めたのは MIP-1β, IL-6sR, TIMP-2, ICAM-1 であった。臨床指標と相関を認めたサイトカインは、骨破壊の促進因子や炎症性細胞の浸潤を促すものであった。これらは、付着の破壊と歯槽骨吸収を主体とする歯周炎の病態と合致している。ただ、これらのサイトカインは Perio グループの全被験者から検出されず、サイトカインで歯周炎の重症度を判別するまでには至らなかった。

【結論】今回、相関関係を認めたサイトカインは歯周病の重症診断の一助となる可能性が示唆された。

P-04

低侵襲で行う歯周外科がコラーゲン形成および血管新生に及ぼす影響

2202

東 仁

キーワード：低侵襲歯周外科, 早期創傷治療, 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療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、その早期治療過程を組織学的に観察した。

【材料および方法】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、頬側・口蓋側ともに第一臼歯から第三臼歯までの歯肉を剥離した。右側臼歯部を実験 (低侵襲) 側として第二臼歯部口蓋側のみを剥離した。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、抗 III 型コラーゲン抗体、抗 VEGF 抗体、抗 von Willebrand 因子抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。

【結果および考察】III 型コラーゲン免疫染色陽性領域は、術後 1, 3, 5 日目において、対照側と比較して実験側の方が、有意に大きかった。また術後 5 日目における血管数の割合が、対照側と比較して実験側では有意に大きかった。

【結論】低侵襲で歯周外科を行うことは、早期創傷治療過程におけるコラーゲン形成と血管新生を促進することが示唆された。

P-05

福岡市の歯周疾患検診受診者における口腔の健康状態の検討

2107

鎮守 信弘

キーワード：福岡市、歯周疾患検診、口腔の健康状態

【目的】福岡市の歯周疾患検診は、市からの委託事業として福岡市歯科医師会協力医療機関で実施されている。対象年齢は、事業開始の平成14年度は40歳のみで、平成18年度から50、60、70歳が、さらに平成24年度から35歳が追加されている。今回は平成14～27年度の検診結果より、歯周疾患検診受診者の口腔の健康状態の実態について報告する。

【対象および方法】平成14～27年度の歯周疾患検診の受診者は、10,484名（男性3,517名、女性6,967名）で、35歳1,733名、40歳4,227名、50歳1,243名、60歳1,607名、70歳1,674名であった。口腔の健康状態として、現在歯数、未処置歯の保有、歯周組織の状態について評価した。歯周組織の状態では、4mm以上の歯周ポケットの保有を歯周病とした。口腔の健康状態を男女別と、全国調査（歯科疾患実態調査）との比較で検討した。

【結果および考察】各年度で口腔の健康状態に違いが認められなかったため、14年間の受診者の結果をまとめると、歯周病の者は受診者全体で36.8%、未処置歯保有者は42.1%であった。男女別では、歯周病の者および未処置歯保有者の割合は女性の方が低かった。全国調査との比較では、35、40、50歳の受診者で歯周病の者および未処置歯保有者の割合が全国より高かった。中年層では実際に歯周病やう蝕のあった者が自覚して歯周疾患検診を受診していたと考えられる。また、平均現在歯数に男女差は認められなかったが、70歳の現在歯数は全国に比べて多く、歯の多い者が歯周疾患検診を受診していた傾向にあった。

P-07

歯周組織再生剤「リグロス® 歯科用液キット600μg, 1200μg」のウサギ及びラットの歯周組織欠損部における局所動態

2299

石井 邦和

キーワード：bFGF、歯周組織再生、歯肉剥離掻き手術

【目的】科研製薬(株)は、遺伝子組換えヒト型塩基性線維芽細胞成長因子（bFGF）を有効成分とした日本初の歯周組織再生剤「リグロス® 歯科用液キット600μg, 1200μg」の承認を2016年9月に取得した。歯周組織欠損部に本剤を投与したときの投与局所での動態を明らかにするため、ウサギ及びラットに歯周組織欠損を作製し、局所動態を検討した。

【方法】ウサギに歯周組織欠損を作製し、^[125I] 標識bFGF製剤を投与し、投与部位及び主要組織の放射能分布を調べた。また、投与部位から放射能を抽出し、代謝物組成をSDS-PAGEで分析した。ラットに歯周組織欠損を作製し、bFGF製剤を投与し、抗ヒトbFGF抗体を用いて投与部位の免疫染色を実施した。

【結果及び考察】ウサギでは、投与部位における放射能残存率は投与後30分で97.7%、投与後24時間で73.4%、投与後7日で21.2%であった。更に投与後21日では放射能残存率が0.2%に減少し、放射能の大部分が投与部位から消失することが確認された。投与部位の放射能を分析した結果、未変化体の分子量に相当するものが多くを占めた。ラットでは、投与後6時間及び24時間において歯根膜、歯槽骨、象牙質及び歯肉結合織等の歯周組織欠損部の各組織で抗ヒトbFGF抗体陽性反応が認められた。これらの結果から、bFGFが強いヘパリン結合能を有していることを考慮すると、歯周組織欠損部に投与されたbFGFは生物活性を保持した形で投与部位に分布していると考えられた。

P-06

Porphyromonas gingivalis LPSを用いた歯周炎モデルラットにおける11β-HSD1発現の増加

2504

藤田 敦子

キーワード：メタボリックシンドローム、11β-HSD1、グルココルチコイド

【目的】近年の研究で、グルココルチコイド活性化酵素である11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type1（以下11β-HSD1）の過剰な発現は、メタボリックシンドロームに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と考えられていることから、歯周組織の慢性炎症である歯周病における11β-HSD1の役割を解明するため、歯周病患者における11β-HSD1発現を検討し、増加していることを報告してきた。本研究では*Porphyromonas gingivalis*のLPSを用いた歯周炎モデルラットにおける11β-HSD1発現を検討した。

【材料および方法】生後7週齢のWistar系雄性ラットに実験的歯周炎を惹起させるため、上顎左側第二臼歯口蓋側歯肉に*P.gingivalis*のLPSを注射したものを実験群。上顎右側第二臼歯口蓋側歯肉にEndotoxin Free Waterを注射したものを対照群とした。実験群および対象群の口蓋側歯肉を採取し、歯肉組織よりtotal RNAを抽出し、11β-HSD1、11β-HSD2（活性型のコルチゾールを不活性型のコルチゾンに変換する酵素）、TNF-α、GAPDHのプライマーを用いてReal-time PCRを行い、それぞれのmRNA発現量を比較、測定した。

【結果と考察】TNF-αおよび11β-HSD1のmRNA発現量は、対照群と比較して実験群で増加していることが認められた。11β-HSD2のmRNA発現量は、実験群と対照群の間に差は認められなかった。このことより、歯周炎モデルラットにおける11β-HSD1の関与及び、歯周病におけるグルココルチコイド活性化制御の意義が示唆された。今後、11β-HSD1阻害剤を用い、歯周炎モデルラットの炎症状態を改善できるかどうかを検討していく。

P-08

LPS刺激ヒト不死化歯根膜細胞におけるオートファジーの役割

2202

萩尾 佳那子

キーワード：オートファジー、コラーゲン、LPS

【目的】LPS刺激ヒトケラチノサイト（HaCaT細胞）においてオートファジーを誘導することを報告してきた。本研究では、ヒト不死化歯根膜細胞（PDLSC）を用いて、同細胞へのLPS刺激によってオートファジーが誘導されるかを検索し、PDLSCで誘導されたオートファジーの同細胞コラーゲン産生への影響を検討した。

【方法】1) PDLへのLPS刺激：PDLを10%FBS含有DMEMで培養した。*E. coli*由来および*P.gingivalis*由来LPSを各濃度で培地に添加して、16時間反応させた。コントロールは、LPS非添加群およびLPS阻害剤のPolymyxin B（PMB）をLPSに混合して検討した。2) オートファジー誘導の判定：オートファジー関連遺伝子（Atg5、Atg12、Beclin-1、p62およびLC3の免疫細胞染色（ICC）法およびWestern blotting（WB）法による検索した。3) 細胞内ROS発現の検索：LPS刺激およびコントロール細胞での細胞内ROS発現を、ROS/RNS Detection Kitにより検索した。さらに、ROS関連遺伝子の発現をWB法により検討した。4) オートファジー誘導PDLSCにおけるコラーゲン発現：LPS刺激群および非刺激群で誘導されるオートファジーとコラーゲン発現の関連性をICC法およびWB法で検討した。

【結論】LPS刺激により誘導されるPDLSCオートファジーは、同細胞のコラーゲン産生維持に関与することが明らかとなった。したがって、オートファジーが同細胞の再生能に関与する可能性が示唆された。

P-09

唾液検査, アンケート調査, およびCPIによる歯周疾患のスクリーニング検査の有用性の分析

3001

高橋 亮一

キーワード: 疫学, スクリーニング, 唾液検査

【背景および目的】近年, ますます歯周疾患への予防の必要性が重要になってきている。我々は茨城県高萩市における住民を対象として疫学調査を行ってきた。今回, 歯周疾患のスクリーニング検査として有用性の分析を目的に研究を行った。

【被験者と方法】被験者は役所からの公募によりランダムに選ばれた地元住民208人(男64人, 女144人), 20歳~70歳を対照とした。適応基準は, 現在歯数が20歯ある者とした。そのうち糖尿病, 妊婦, 過去6ヵ月間以内に抗菌薬の服用, 歯周組織に影響を及ぼす可能性のある重篤な全身疾患のある者, 口腔粘膜に義歯などによる褥瘡や糜爛がある場合は除外した。研究の説明を十分に行った上で同意を得た後に, 自覚症状のアンケート調査や唾液検査(乳酸脱水素酵素:以下LDH, 潜血反応)を行い, 歯科検査(CPI)を実地した。検査は一人の専門医が全て行った。歯周疾患群はPPD5mm5%以上あり, かつBOPI10%以上あり, 加えてCAL5mmが1ヶ所でも有するものとした。健全群はそれ以外の者に群分けした。

【結果およびまとめ】自覚症状数, 潜血反応は歯周疾患のスクリーニング検査として有用性が認められたが, CPIによる診断判断値がもっとも高かった($P < 0.01$)。さらにこれらの検査の組み合わせ, とくにCPIスコア4, 唾液潜血反応強陽性という基準を組み合わせ適用した場合に, もっとも精度が高くなることが確認された。

謝辞: 茨城県高萩市健康保険センター, 高萩市歯科医師会

P-10

ヒト口腔粘膜上皮細胞に対するメカニカルストレスの影響

2299

中村 航也

キーワード: 口腔粘膜上皮細胞, メカニカルストレス, 炎症性サイトカイン

【目的】不適な義歯の使用は床下粘膜に異常な負荷を与え, 褥瘡性潰瘍などの炎症所見を認めることがある。本研究では, ヒト口腔粘膜上皮細胞(HO-1-N-1: ヒト扁平上皮がん由来類粘膜細胞)に, メカニカルストレス(以下, MS)を付与し, 細胞の形態や活性, 炎症性サイトカインの測定することで, ヒト口腔粘膜上皮細胞に対するMSの影響について検討を行った。

【材料と方法】HO-1-N-1をsubconfluentの状態では35mm dishに1×105/dishで播種し, 翌日にMS(1MPa: 60min)を付与した。MSを付与した2h後, ギムザ染色にて細胞の形態的变化, WST assayにて細胞活性変化を検討した。また, ISOGENにて細胞からRNAを回収, IL-1 β , IL-6, TNF- α の遺伝子をreal-time PCR法にて測定した。

【結果と考察】MS付与した2時間後のHO-1-N-1において, ギムザ染色で細胞形態のわずかな変形を認め, WST assayにて細胞活性の減少を認めた。また, real-time PCR法では炎症性サイトカインであるIL-1 β , IL-6, TNF- α の発現増加を示した。不適な義歯の使用は, 床下粘膜における炎症性サイトカインの発現を惹起する可能性が示唆された。

【結論】HO-1-N-1において, 1MpaのMSを60min付与した場合, MSによる形態変化や細胞活性の減少を認めた。また, 炎症性サイトカインであるIL-1 β , IL-6, TNF- α の発現増加を認めた。

P-11

音波舌ブラシの安全性ならびに臨床評価

3002

横山 拓哉

キーワード: 音波舌ブラシ, 舌ブラシ

【目的】音波歯ブラシのブラシヘッドを交換して用いる舌磨き用のブラシヘッドが新たに開発された。そこで今回, 本研究では音波舌ブラシの安全性, および使用前後の舌苔付着量を舌ブラシと比較し検討した。

【方法】音波舌ブラシ群(Philips sonicare FlexCare® Platinum)と舌ブラシ群に分け, 舌苔付着量は, 術前後で舌の写真撮影を行い小島のカテゴリで評価した。疼痛の評価はブラッシング後にVASにて評価を行った。また, 舌外傷の評価は即重にて舌印象専用トレーを作製し, シリコーン印象材を用いて舌背の印象採得を行った。その後, 超硬質石膏にて舌模型を作製し実体顕微鏡にて50倍で観察し評価を行った。

【結果】音波舌ブラシ群ならび舌ブラシ群は共に舌苔付着量が減少したが, 両群間に有意差は認められなかった。VASによる疼痛の評価では音波舌ブラシ群ならび舌ブラシ使用群に有意差は認められなかった。しかしながら舌ブラシ群では舌背に縦に走る溝が認められたが, 音波舌ブラシ群ではその様な所見は認められなかった。

【考察】音波歯ブラシは毎分約3万回の音波振動により舌苔を除去していると考えられた。また舌磨き用のブラシヘッドはシリコーン製であるため, 舌に外傷を与えにくいことが考えられた。

【結論】音波舌ブラシは既存の清掃器具と同等の舌苔除去効果を示すと共に使用感においても変わりがないことが分かった。さらに舌への傷害も少なく, 安全性があると考えられた。

P-12

エナメルマトリックスタンパク質とアテロコラーゲンスポンジの併用がマウスiPS細胞の分化に及ぼす影響

2206

久永 幸乃

キーワード: iPS細胞, エムドゲイン, 3次元培養

【目的】iPS細胞はその多分化能と増殖能から, 歯周組織再生への応用が検討されている。今回我々はエナメルマトリックスタンパク質(EMD)とアテロコラーゲンスポンジ(ACS)の併用がマウスiPS細胞の骨芽細胞分化と細胞増殖へ与える影響について検討を行った。

【材料と方法】マウスiPS細胞は胚様体形成後シングルセルとしACS(5mm×3mm)に対し播種した。24時間後, 骨芽細胞分化誘導培地(OBM)に交換し, 3次元培養を行った。iPS細胞をOBM単独で培養したものを対照群, EMDを混和して培養したものを実験群とした。細胞増殖はMTTアッセイにて, 主な骨関連遺伝子の発現はリアルタイムPCRを用いて評価した。

【結果と考察】各タイムポイント間, 群間内での細胞増殖率に有意差は認めなかった。また, *alkaline phosphatase*, *osterix*, *runx2*のmRNA発現は両群共に経時的に増加した。*Bone sialoprotein*の発現も経時的な増加を認め, 14日で実験群が有意に高い値を示した($p < 0.05$)。以上のことから, ACS内でiPS細胞が分化することが示唆された。また実験群において石灰化関連遺伝子である*Bsp*の有意な上昇がみられたことから, EMDはiPS細胞の骨芽細胞分化を更に促進させると考えられた。

【結論】ACSとEMDの併用はiPS細胞の骨芽細胞分化を促進させることが示唆された。

P-13

2203

HuRはヒト歯肉上皮細胞における炎症性サイトカイン mRNA の安定性を制御する

應原 一久

キーワード：歯周炎, mRNA, *Porphyromonas gingivalis*, HuR

【目的】歯周炎は歯周病原細菌と宿主防御の相互作用の結果引き起こされる慢性炎症で、サイトカインネットワークが過剰な免疫応答を惹起している。central dogmaにおいて、DNAからmRNAの転写に始まり、立体的なタンパク質構造が完成するまでは様々なステップが必要である。しかし、mRNAとタンパク質には相関が認められないことが多く、その原因としてmRNA安定性に関するメカニズムが報告されている。本研究ではmRNA AU rich配列結合タンパクHuRの炎症性サイトカインmRNA安定化に対する影響を検討した。

【材料と方法】細胞は、大阪大学村上伸也教授から供与された不死化ヒト歯肉上皮細胞株OBA-9を使用した。OBA-9をホルマリン処理した*Porphyromonas gingivalis* ATCC W83株 (Pg) で刺激した後、IL-6, IL-8, TNF- α , およびHuR mRNA発現をリアルタイムPCR法で解析した。また、HuRタンパク発現をWestern blottingで検出した。IL-6, IL-8, TNF- α mRNA 3'UTRをpmirGLOにcloningし、luciferase assay用ベクターを、そして、HuR mRNAから、強制発現ベクターpcDNA/HuRを作製した。pcDNA/HuRとluciferaseベクターをOBA-9に導入後、Pg刺激時のIL-6, IL-8, TNF- α の発現をluciferase assayで評価した。

【結果】OBA-9において、Pg刺激による炎症性サイトカインmRNA, HuR mRNAの誘導、およびHuRのタンパクレベルでの上昇が認められた。また、pcDNA/HuR導入によるHuRのタンパクレベルでの上昇が認められた。さらに、HuR強制発現後、Pg刺激による炎症性サイトカインのluciferase活性上昇が認められた。

【結論】HuRが炎症性サイトカインmRNAの3'UTRへ結合し、歯周組織の炎症増悪に関与していることが示唆された。

P-14

2206

歯髄および象牙質中のTGF- β 1とMMPの相互作用について

丹羽 堯彦

キーワード：象牙質, トランスフォーミング成長因子ベータ1, マトリックスメタロプロテアーゼ

【目的】歯髄や象牙質内では、トランスフォーミング成長因子ベータ1 (TGF- β 1) やマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の存在が報告されているが、相互作用については不明な点が多い。本研究は、軟組織から硬組織に至るTGF- β 1の動態の解明を試みた。

【方法】生後約5か月のブタ永久切歯歯胚から歯髄組織と象牙質細胞 (OB) のtotal RNAを調製しTGF- β 1及び各種MMPの遺伝子発現をリアルタイムPCRにて調べた。硬組織粉砕機にてエナメル質を削り取った象牙質の粉末をグアニジン (G), 塩酸一ギ酸 (HF) および酢酸一食塩 (AN) を用いてタンパク質を連続的に抽出、各画分のMMPをザイモグラフィーおよびウェスタンブロット (WB) にて検出・同定。また、各画分のTGF- β 1活性をヒト歯根膜由来培養細胞 (HPDL) に対するアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性値として評価 (ALP-HPDL)。さらにALP-HPDLとWBを併用してTGF- β 1と結合しているタンパク質を特定した。加えて、TGF- β 1の活性化を調べるため、リコンビナント潜在型TGF- β 1 (Latent TGF- β 1) に対して各種MMPを作用させTGF- β 1活性をALP-HPDLにて測定した。

【結果および考察】歯髄ではストロムライシン3 (MMP11) の遺伝子発現を認め、歯髄およびOBではTGF- β 1, ゼラチナーゼA (MMP2), エナメルリン (MMP20) の遺伝子発現が認められた。G画分中にMMP-2, 11, 20, AN画分中にはTGF- β 1活性が検出され、象牙質シアロタンパク質 (DSP) および象牙質リントタンパク質 (DPP) と結合していることが判明した。さらにLatent TGF- β 1はMMP2, 11, 20によって活性化されることが判明した。

【結論】歯髄および象牙質中のTGF- β 1の活性化にはMMP2, 11, 20が関与し、その活性維持にはDSP及びDPPが関与していることが判明した。

P-15

2504

真菌代謝産物 terrein は *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 歯肉上皮感染時のIL-8産生を抑制する

中村 亜里紗

キーワード：terrein, IL-8, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, 歯肉上皮細胞

【目的】(+) -terrein (TER) は、真菌 *Aspergillus terreus* が産生する代謝産物で、作用の一つに抗炎症作用がある。我々は歯肉線維芽細胞におけるTERの抗interleukin (IL) -6効果を報告し、TERによる歯周炎症制御の可能性を示唆した。しかし、TERの作用機序には不明な点が多く、細菌感染に対する宿主細胞の反応性に及ぼす影響は未解明である。本研究では、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の感染時における歯肉上皮細胞へのTERの影響を、IL-8の産生性に着目して検討した。

【材料および方法】ヒト歯肉上皮細胞 (HGEs) は、プールされたものを購入し、専用培地にて、37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂存在下で培養した (共にCELLnTEC)。TERは、Mandaiらの報告 (Bio Med Chem, 2014) に従い、L-酒石酸からの合成品を用いた。AaY4株 (ATCC) は、100 $^{\circ}$ Cで20分の処理にて失活させた。TERのHGEsに対する細胞傷害性は、MTS Assayを用いて検討した。HGEsをTER (10 μ M) で30分間前処理した後、失活させたAaを添加して細胞を刺激した。刺激6時間後のIL-8のmRNA発現は、total RNAから逆転写したcDNAを用いたreal time-PCR法にて定量した。また、12時間後のIL-8量は、培養上清を用いてELISA法にて定量した。さらに、刺激5分後の細胞タンパクから、IL-8の細胞内刺激伝達経路内のERK1/2とp38のリン酸化を、Western blotting法にて検討した。

【結果】TERは、Aaで刺激したHGEsにおいて、IL-8のmRNA発現と産生を抑制し、Aa誘導性のERK1/2及びp38のリン酸化を抑制した。

【考察と結論】TERには、Aa感染時に歯肉上皮からのIL-8の産生を抑制して、歯周炎症を制御できる可能性がある。

P-16

2598

歯周病学基礎実習における教授錯覚 一 根分岐部病変の検査について 第2報一

大澤 銀子

キーワード：歯周病学基礎実習, 根分岐部病変検査, 教授錯覚

【目的】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一つである。我々は昨年度、本実習において、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、実習内容の改善を行った。今回、実習の理解度について昨年度の結果と比較を行った。

【材料と方法】2015年度および2016年度の日本歯科大学生命歯学部第4学年を対象とした。根分岐部の検査は、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。各実習ではプレおよびポストテスト、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シミュレーションテスト (ST) 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。昨年度からの実習の改善点は解剖学的な形態を視覚的にとらえるために、歯肉を除去した模型を併用した。

【結果および考察】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正解率は51.4%から68.4%へ、ST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%から約60%へと上昇した。しかしながら、根分岐部病変の検査結果と分類とが整合していない学生は約3割、見受けられた。実習における知識と技能の整合性に関しては教員が考えているほど容易ではないと思われ、未だ教授錯覚が存在すると考えられる。今回の結果を踏まえ更なる改善が必要と考える。

P-17

日本とパキスタンにおける妊娠期の歯周状態と低体重児出産に関する調査

2402

池上 昭彦

キーワード：歯周状態、妊娠、低体重児出産

【目的】歯周病は低体重児出産を引き起こすことから、妊娠期における重要な課題となっている。本研究では、日本に加え、歯科事情が悪く、低体重児出産も多いパキスタンを調査対象地域に含め、妊娠期の歯周状態と出産に関する調査を実施した。

【方法】日本の下野地域88名、旭川地域14名、パキスタンのカラチ地域54名、ガンバット地域22名の妊婦を対象に、妊娠期の歯周状態および出産に関するアンケート調査を実施した。アンケート項目は、妊娠期の歯周状態を確認するための①歯科通院歴、②歯茎からの出血、出産に関する③出生体重、④出産日および予定日などである。

【結果】一般的に出生体重2,500グラム未満を低体重児出産とするが、パキスタンの出生体重測定が50グラム単位のため、本研究のパキスタンの場合では出生体重2,500グラム以下を低体重児出産とみなした。日本における低体重児出産は102件中7件（6.9%）、パキスタンにおける低体重児出産は70件中14件（20.0%）であった。妊娠期の歯茎からの出血と低体重児出産との関係は、日本では関連性が見られなかった。一方、パキスタンの低体重児出産は、妊娠期に歯茎から出血が見られた場合で25件中8件（32.0%）と出血が見られなかった場合の45件中6件（13.3%）と比べて高いことが確認された。

【結論】パキスタンでは妊娠期の歯茎からの出血が、低体重児出産に関連している可能性が示唆された。

P-18

GGT 阻害剤の歯肉線維芽細胞炎症応答への影響

2206

市川 勝一

キーワード：GGT 阻害剤、歯肉線維芽細胞、グルタチオン

【目的】歯肉線維芽細胞（GF）はLPS刺激によってサイトカインやケモカインの産生、活性酸素種の発生を促し、細胞の恒常性を保てる範囲を超えた場合は組織損傷へむかう。多量の活性酸素は様々な病態を誘発し、歯周病にも深く関与する。抗酸化物質であるグルタチオンは炎症過程の調整を担うが、歯周病患者では唾液、血清、歯肉溝滲出液中における濃度が低い。グルタチオンはγ-グルタミルトランスペプチターゼ（GGT）など限られた酵素によってのみ分解される。またGGTは口腔内細菌間の相互作用においても重要な働きをする。そこで炎症抑制にはグルタチオンの維持が鍵となると考え、GGT阻害剤における歯周病治療薬としての有用性について検討した。

【材料と方法】歯肉線維芽細胞（GF）にLPSおよびGGT阻害剤を作用させ、経時的にIL-6とIL-8の遺伝子発現ならびに産生量を観察した。遺伝子発現はreal time PCR法にて解析し、産生量はELISA法を用いて計測した。

【結果と考察】IL-6およびIL-8へのGGT阻害剤による影響は添加濃度の違いを認めた。LPS作用群と比べ、LPS/GGT阻害剤作用群におけるIL-6の遺伝子発現ならびに産生量はいずれの添加濃度においても減少した。IL-8の遺伝子発現ならびに産生量は低濃度では有意に増大し、高濃度では有意に減少した。GGT阻害剤は、低濃度では治療を早めるために一時的に白血球の走化性に関与するIL-8を増大させ、高濃度では早い段階から炎症抑制に働く可能性があると考えられた。

【結論】サイトカインネットワークの解明や活性酸素との関係性など課題はあるものの、GGT阻害剤は歯周病治療薬としての有用性は高いと考えられ、より詳細に検討する価値があると思われた。

P-19

遺伝子改変マウスを使用した骨形成過程における新規転写因子の解明

2206

鈴木 瑛一

キーワード：骨細胞、組織再生、転写因子、骨形成

【目的】歯槽骨など硬組織形成において、未分化細胞からの効果的な分化誘導法の確立のためには、詳細な分化機序を解明することが必須である。今回遺伝子改変マウスを使用し、未分化間葉系幹細胞から骨細胞への分化過程における転写因子を解明することを目的に研究を行った。

【方法】骨細胞特異的マーカーであるDentin matrix protein 1 (Dmp1)存在下でEnhanced green fluorescent protein (EGFP)を発現するtransgenic mouseを作成、Bone marrow stem cell (BMSC)の採取を行った。2週間の骨分化誘導後、FACSにてEGFP陰性および陽性細胞の単離を行った。細胞よりRNAを抽出しReal-time PCR法によりmRNA発現量の解析を行った。DNAマイクロアレイを行い、骨細胞への分化前後における発現変動遺伝子の同定を行った。

【結果および考察】骨分化誘導後2週間で培養細胞の一部にEGFPの発現を認めた。EGFP陰性細胞と比較して、EGFP陽性細胞では骨分化マーカーであるAlkaline Phosphatase, OsteocalcinのmRNA発現量の有意な亢進が認められた（ $p < 0.001$ ）。EGFPを誘発するDmp1のmRNA発現は、EGFP陽性細胞でのみ認められ、陰性細胞では認められなかった。DNAマイクロアレイよりBmp8b, Pdgfr α といった遺伝子群、smad5などの転写因子において有意な発現変動が認められた（ $p < 0.001$ ）。骨細胞への分化にはこれら変動遺伝子群の関与が示唆された。

【結論】遺伝子改変マウスの使用により、骨細胞への分化に関与する遺伝子群の候補が示された。本研究の結果は、歯槽骨をはじめとする硬組織への分化制御機構の解明につながるものと考えられる。本研究は日本歯周病学会シーズ育成若手奨励研究助成制度に基づく助成金を受け実施された。

P-20

ラットを用いた脱分化脂肪細胞と歯肉由来血管内皮細胞の共培養による分化誘導の検討

2504

清水 豊

キーワード：脱分化脂肪細胞、血管内皮細胞、共培養

【目的】歯周組織再生において、微小血管の再生は、歯周組織の恒常性維持や血液供給、創傷治癒において重要な役割を果たすと考えられている。これまでに、われわれは幹細胞と同等の分化能を持つヒト脱分化脂肪細胞（HDFATs）がヒト歯肉由来血管内皮細胞（HGECs）との共培養により、血管周皮細胞マーカーの発現を亢進することを報告している。そこで本研究では、歯周組織の微小血管再生についてin vivoで検討を行うにあたり、ラットを用いて脱分化脂肪細胞と歯肉由来血管内皮細胞の共培養による分化誘導について検討することとした。

【材料と方法】ラット脱分化脂肪細胞（RDFATs）は、雄性SD系ラットの皮下脂肪組織より成熟脂肪細胞を分離し、天井培養にて獲得した。ラット歯肉由来血管内皮細胞（RGECs）は、雄性SD系ラットの歯肉細胞より抗CD31抗体を結合したマグネットビーズを用いて獲得した。RDFATsとRGECsの共培養は、5%FBS含有血管内皮細胞用培地で0.4μm孔径のポリカーボネート膜を介して7日間行った。各細胞は、免疫細胞化学染色にてCD31, von Willebrand factor (vWF), neuron-glia antigen 2 (NG2)の発現を確認した。

【結果と考察】RGECsと共培養を行ったRDFATsは、血管内皮細胞マーカーであるCD31, vWF, 血管周皮細胞マーカーであるNG2の発現を認めた。したがって、RDFATsとRGECsとの共培養は、HDFATsとHGECsとの共培養による分化誘導と同様の機序を示すと考えられる。

P-21

2202

グリブリドは歯周病原細菌によるラット実験的歯周炎を抑制する

吉永 泰周

キーワード：グリブリド、歯周病原細菌、実験的歯周炎

【目的】歯周炎は細菌に対する宿主の免疫反応による炎症性疾患であり、IL-1βは歯周炎の病態と強く関連している。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、IL-1βの産生を減少させる。本研究では*In vitro*において歯周病原細菌によるIL-1βの産生に対するグリブリドの作用を調べ、さらに*In vivo*では歯周病原細菌によるラット実験的歯周炎におけるグリブリドの効果を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a.*), *Escherichia coli* (*E.c.*)を実験に使用した。*In vitro*では、ヒトマクロファージ細胞株THP-1細胞を各熱処理超音波破碎細菌で刺激し、グリブリド添加時と非添加時における細胞培養液中のIL-1β濃度をELISAで測定した。*In vivo*では、各破碎細菌をラット口蓋側歯肉に数回注入し、炎症性骨吸収を誘導するラット実験的歯周炎モデルを用いて、グリブリドを経口投与した場合の効果を炎症性細胞浸潤や歯槽骨吸収について評価した。

【結果と考察】THP-1細胞を各細菌で刺激すると培養上清へのIL-1βの放出が認められ、この放出はグリブリドによって抑制された。*A.a.*や*E.c.*によるラット実験的歯周炎において、グリブリドは炎症性細胞浸潤、破骨細胞形成および歯槽骨の吸収を有意に抑制したが、*P.g.*では減少傾向が認められたのみだった。本研究の結果より、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によりIL-1β放出を減少させ、歯周炎による歯周組織破壊を抑制する可能性が示唆された。

P-22

2203

酪酸がNGF処理PC12細胞のストレス関連シグナルに及ぼす影響

関 啓介

キーワード：酪酸、PC12細胞、ストレス関連シグナル

【目的】歯周病は無痛性に進行するが、そのメカニズムはよく解っていない。われわれは、歯周病原細菌の代謝産物・酪酸がPC12細胞のβ-nerve growth factor (NGF) 誘導性神経突起伸長を抑制することを見出し、酪酸による神経突起の収縮が歯周病の無痛性進行に関与している可能性を報告した。神経突起の収縮には酸化ストレスによる細胞内カルシウム濃度の増加およびERストレス応答が関与している。そこで、本研究では株神経細胞において、酪酸刺激が活性酸素種(H₂O₂)、抗酸化物質(グルタチオンレダクターゼ:GR)、細胞内カルシウム、およびERストレスマーカー(GADD153)に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】NGF処理により神経突起が伸長したPC12細胞に、酪酸ナトリウム(0.5, 1.0, 5.0 mM)を添加、24時間後に培養上清と細胞抽出液を回収しELISA法とWestern blotting法にて調べた。

【結果および考察】酪酸刺激によりH₂O₂量は増加した一方、GR量は1.0および5.0 mMの酪酸で減少したことから、細胞内の酸化ストレスが亢進していることが解った。1.0および5.0 mMの酪酸刺激における細胞内カルシウム量の増加は、酸化ストレスによるものと考えられた。また、0.5および1.0 mMの酪酸刺激によりGADD153量が増加したことから、酸化ストレスによりERストレス応答が生じたと考えられた。以上の結果から、酪酸誘導性の酸化ストレスは、細胞内カルシウム集積とERストレスの亢進を介して、神経細胞変性を誘導することが示唆された。

【結論】歯周病の進行に伴って増加する酪酸により、神経細胞に種々の酸化ストレス応答が生じることで神経突起が収縮し、歯周病が無痛性に進行することが考えられる。

P-23

2203

*Porphyromonas gingivalis*および*Tannerella forsythia*のジペプチジルペプチダーゼ4活性とインクレチン分解能

中里 茉那美

キーワード：*P. gingivalis*, *T. forsythia*, ジペプチジルペプチダーゼ(DPP) 4, インクレチン

【目的】*Porphyromonas gingivalis*は種々のジペプチジルペプチダーゼ(DPP)を産生するが、そのうちのDPP4 (PgDPP4)はヒトのDPP4と相同性が高い。ヒトDPP4はインスリン分泌を促進するインクレチンを切断・不活化することで2型糖尿病の発症に関与することから、*P. gingivalis*の持続的感染は2型糖尿病の発症・増悪に関与する可能性がある。本研究では、PgDPP4のインクレチン(GLP-1)切断能、および*P. gingivalis*同様、トリプシン様プロテアーゼ活性を有する*Tannerella forsythia*のDPP4について検討した。

【材料と方法】*P. gingivalis* ATCC33277株 (*Pg*), *T. forsythia* ATCC 43037株 (*Tf*)の全菌体を調製し、GP-MCAを用いてDPP4活性を蛍光測定した。GLP-1の加水分解能は質量分析から検討した。rPgDPP4, rTfDPP4を精製し、その酵素学的性状を比較検討した。

【結果と考察】rPgDPP4はGLP-1のAla₂-Glu₃間を切断し、インクレチン切断能を有することが明らかとなった。TfはPg同様、その菌体画分にDPP4活性が認められることが示唆された。組換え体を用いた検討から、rTfDPP4はrPgDPP4に匹敵する強いDPP4活性を示すこと、その酵素学的性状は類似していることが明らかとなった。また、これらのDPP4活性はヒトDPP4阻害剤により阻害された。以上の成績より、PgとTfはともに菌体結合型DPP4を有しており、ヒトDPP4同様にインクレチンの切断を介して2型糖尿病のリスクファクターとなる可能性が強く示唆された。

P-24

3101

DNAチップによる口腔内細菌叢解析と臨床所見の関連性評価

小田 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。

【材料と方法】大阪大学歯学部附属病院に来院した歯周病患者57名および健康者73名を被験者とし、臨床情報(PD, BOP, GI, PI)を評価後、歯肉溝浸出液を採取した(n=220)。歯肉溝浸出液中の細菌叢を、歯周病原細菌検出用プローブを搭載したDNAチップ(三菱レイオン)で分析した。分析結果をクラスター解析(Ward法)し、統計学的に群分けした。各群の細菌叢のパターンと臨床所見の関連について評価した。

【結果】クラスター解析の結果、Red complexが多く検出された群(A群, n=69)、Red complexの検出量は少ないが、Orange complexが多く検出された群(B群, n=75)、Yellow/Purple complexが多く検出された群(C群, n=76)の3群に分けられた。各群の多くは臨床所見からそれぞれ軽度、中等度、軽度歯周炎に分類され(歯周治療の指針2015による分類)、細菌叢と臨床所見の一致が多くみられた。しかし中には、PDが3mm(軽度歯周炎)だが、細菌叢のパターンはB群に属するといったように細菌叢と臨床所見の一致しない症例が見られた。これは、歯周病の増悪が懸念されるケースの可能性が考えられる。【結論】口腔内細菌叢を解析することによって、多くは細菌叢と臨床所見の間に関連が見られた。一方で、臨床所見のみでは十分評価できない、詳細な歯周病の評価に結びつくことも示唆された。

P-25

臨床歯科研修における豚下顎骨フラップ実習の有効性

2111

執行 彩華

キーワード：顎骨フラップ実習，臨床研修歯科医

【目的】本研究の目的は，臨床研修歯科医（以降，研修歯科医とする）がフラップ手術を行う際の術式の教育法として，豚の顎を用いたフラップ実習の有効性を検討することであった。

【材料及び方法】事前に平成27年度北海道医療大学歯科クリニック及び北海道医療大学病院の研修歯科医を対象に，フラップ手術の臨床研修時における見学の有無，学生臨床実習時における見学の有無に関するアンケート調査を行った。またフラップ手術に関するプレテストを実施した後，指導医が豚の顎を用いて実際にフラップ手術の術式の説明およびデモンストレーションを行った。次に各研修歯科医に豚の顎を用いてフラップ手術を行わせ，それに対する実習評価を行い，ポストテストを実施した。統計学的な分析は，Mann-WhitneyのU検定を用い，統計学的有意水準は0.05未満とした。

【結果】プレ・ポストテストの結果，フラップ手術の実習を行うことで有意に知識の定着が認められた。実習評価点は，研修時見学群が未見学群と比較して有意に高かったが，学生実習時見学群と未見学群との間には有意差は認められなかった。

【考察・まとめ】以上のことから，研修歯科医に対して豚の顎を用いた実習を行うことは，知識の定着に有効であることが示唆された。また，学生時にフラップ手術の見学を行うのに比べ，研修時に見学を行う方が術式を習得するのにより効果的となる可能性が示された。

P-26

三次元培養におけるマウス骨芽細胞の骨細胞への自発的分化

2205

谷口 愛樹

キーワード：骨芽細胞，骨細胞，三次元培養

【目的】マウス頭蓋骨由来の骨芽細胞と，細胞株であるMC3T3-E1骨芽細胞の，三次元培養による細胞分化能を，細胞形態と石灰化物形成能，遺伝子発現から評価する。

【材料と方法】2～3週齢マウスの頭蓋骨から採取した骨芽細胞を10日間二次元培養し，その後，コラーゲンゲルでの三次元包埋培養を21日間行った。培養開始から経時的に石灰化物形成能を確認した。同時にRNAを抽出し，定量PCRによって遺伝子の発現をRNAレベルで測定した。

MC3T3-E1細胞についても同条件で培養を行い，分化能を解析した。

【結果と考察】骨芽細胞を二次元培養した後三次元培養に移行すると，細胞形態は大きく変化した。三次元培養では様々な方向に突起を形成し，骨細胞様の形態を示した。形態の変化に伴い，石灰化物形成能も変化した。これにより培養条件を三次元にする骨芽細胞の分化が起こることがわかった。

さらに，骨芽細胞に強く発現する*Alpl*の発現量の低下と，骨細胞特異的に発現する*Sost*や*Fgf23*の発現量の上昇が見られた。このことから，三次元培養によって骨芽細胞が自発的に骨細胞へ分化することが示唆された。これらの遺伝子発現の変化は培養期間が長くなるに連れて増大していた。

MC3T3-E1細胞を使った場合でも同様の結果が得られた。

これらのことから，骨細胞への分化の進行は三次元培養の期間に相関しており，培養環境の変化が骨芽細胞の分化に影響を与えていることがわかった。

【結論】骨芽細胞は三次元培養すると，骨細胞へと分化し，またその分化の程度は三次元培養の期間と相関していた。

P-27

障がい者支援施設入居者における長期的な歯周治療とその効果

2904

房川 祐樹

キーワード：知的障がい者，歯周治療

【目的】知的障がい者は，健常者と比較して歯周病の罹患率が高いことが知られている。本研究は，本学クリニックにて知的障がい者に対して長期的な歯周病治療を行いその効果を調べることを目的とした。

【被験者と方法】障がい者支援施設で10年以上本院に通院している入居者27人（初診時年齢27.9±12.5歳）を被験者とした。被験者は，PCR，GI，歯周組織検査と，治療結果に応じて歯周病治療を受けた。その後の3-12ヶ月のSPT期間中に同様の検査を行った。

【結果】治療期間は平均21.1±9.2年であった。初診時と比較して直近の歯周パラメータは改善傾向にあった。初診時の4mm以上のポケットは5.3±9.9%であり，30年後は2.8±3.9%であった。また，4mm以上の歯周ポケットを有する者の割合は，初診時に63.0%であり，治療後20年は50.0%まで減少し30年後も維持することができた。

【考察・まとめ】本研究は，長期にわたる知的障がい者の歯周病治療の効果を調べた。その結果，初診時と比較した直近の4mm以上のポケット率は減少した。また，20年以上経過してもその状態を維持できることが明らかとなった。4mm以上の歯周ポケットを有する者の割合は，減少傾向にあり同年代の歯科疾患実態調査と類似した結果となった。知的障がい者に対して長期的な歯周病治療は健常者に対してと同様に，歯周組織の健康維持にも有効であることが示唆された。

P-28

複眼撮像システムを用いた口腔内計測

2504

緒方 智壽子

キーワード：歯肉，口腔計測，複眼カメラ，3次元形状，成分推定

【目的】歯周治療前後で歯肉の状態や形態は様々な変化する。本研究では，光計測技術の適用により，口腔内計測システムを構築し，診断と治療方針への還元をめざす。複眼撮像システムTOMBOをベースに，偏光画像，狭帯域波長画像，パターン投影機構などを組み込んだ口腔計測システムを開発し，歯肉の3次元形状計測や歯肉の成分推定を行う。臨床利用を通し，診断や治療効果の有効性を検証する。

【材料及び方法】複眼撮像システムTOMBOは個眼ごとに独立した撮像チャンネルを持つ。各個眼チャンネルに偏光フィルタやバンドパスフィルタを配置し，複数情報を一括取得する。小型でより臨床に適した撮像システムとして，照明系を集積したスティック型TOMBOを構築し，各種計測における特性評価を行った。被験者の上下顎前歯部を対象に，約30mm離れた位置より，歯と歯肉の歯槽粘膜部までの撮影を行った。撮影した複眼画像を個眼画像に分割し，うち2枚の個眼画像をステレオマッチング法による3次元形状計測に，1枚の個眼画像を重回帰分析による歯肉の成分推定に適用した。Wiener推定により，RGB画像信号からスペクトル反射率信号に変換し，メラニン，酸化ヘモグロビン，還元ヘモグロビンの固有スペクトルから，メラニン量，総ヘモグロビン量，ヘモグロビンの酸素飽和度を推定した。

【結果及び考察】3次元形状計測において，適切なウィンドウサイズの設定により，0.5mmの計測精度を得た。歯肉の成分推定では，目視による診断とメラニン濃度の一致を確認し，総ヘモグロビン量および酸素飽和度と歯肉の腫れの関連を確認した。これらの結果は，臨床における画像診断の有効性を示唆している。

P-29

骨移植材はインプラント周囲炎のリスク因子になり得る

2504

高橋 慶壮

キーワード：インプラント周囲炎，骨補填材，骨造成

【緒言】 演者らは、骨造成 (guided bone regeneration, 以下GBR) 後にインプラント治療を行った患者の内、インプラント周囲炎を発症した2症例を経験したので、病態の推論および治療経過の詳細を報告する。

【症例概要】 患者1: 52歳女性。46残根を抜歯後にソケットブリザベーションを行い、46, 47にインプラント埋入後、46, 47の連結冠を装着。治療終了後3年して、46部周囲軟組織に発赤および腫脹を覚え来院した。

患者2: 59歳男性。アンテリアガイダンス不良。矯正治療を希望せず。クレンチングの既往あり。24, 25 hopeless teeth抜歯後にGBRを行い、25部にインプラント埋入し、24近心カンチレバー上部構造装着。治療終了後4年して、25部周囲に排膿を認めた。なお、2症例ともインプラント治療後、ブラークコントロール良好でSPTを継続していた。

【診断と治療】 インプラント周囲炎と診断した。患者1では填入した人工骨の一部が母床骨から脱離していた。一方、患者2では、インプラント体表面から剥離したと思われる人工骨片が観察された。患者1, 2ともにインプラント体のCO₂レーザーおよび酸処理後に再GBRを実施した。

【結果と考察】 治療後2年以上経過し、臨床症状は無くエックス線写真像から欠損部の半分程度骨造成がなされている。人工骨を用いたGBRを適応した部位にインプラント埋入した場合、骨補填剤が母床骨あるいはインプラント体から剥離すれば、天然歯におけるセメント質剥離に類似した状態を呈し、インプラント周囲炎が急速に進行する可能性が考えられる。本報告はインプラント治療の予後およびインプラント周囲炎の病態を評価する際にGBRの有無を考慮する必要性を示唆する。

P-31

福岡歯科大学口腔医療センターにおける歯周再生治療

3199

金子 高士

キーワード：エムドゲイン，歯周組織再生誘導，骨移植

【目的】 2011年に福岡歯科大学口腔医療センターが開設されて、5年が経過しようとしている。近年、歯周再生治療により垂直性骨欠損の歯周組織再生が可能になってきている。歯周再生治療は、骨移植、歯周組織再生誘導 (GTR) 法、エムドゲイン (EMD) などの生物製剤を使用した方法もしくはそれらのコンビネーションに分類される。今回われわれは口腔医療センターにおける歯周再生治療の現状と成績について、数例の症例を提示しながら報告する。

【材料と方法】 2011年12月から2016年11月までに福岡歯科大学口腔医療センターを受診した患者を対象とし、歯周外科処置と歯周再生治療を行った患者数、歯数について調べた。また2014年5月以降に歯周再生治療を受けた患者に関して、初診時、歯周基本治療後、そして外科処置後6~28ヶ月後における歯周組織検査、エックス線検査から、歯周ポケット深さの変化、歯槽骨添加量について解析した。

【結果と考察】 5年間の歯周外科件数は278件で、総歯数は549本であった。そのうち歯周再生療法はそれぞれ58件、69本であった。歯周再生療法の内訳は、EMD単独が59本、EMD+他家骨移植のコンビネーションが5本、GTR法と自家骨移植がそれぞれ2本、EMD+自家骨移植のコンビネーションが1本であった。初診時、歯周基本治療後、そして外科処置後の歯周ポケットはそれぞれ7.9±2.2mm, 7.0±2.0mm, 4.1±1.5mm, 骨添加率は61.1±37.8%であった。過去の論文では歯周再生治療の骨添加量は50~60%であり、口腔医療センターにおける成績と類似している。しかしながら、歯槽骨添加率は症例により大きなばらつきがあったことは、適応となる症例や術式の選択と関連しているかもしれない。

P-30

Nd:YAGレーザーによるヒト歯周組織由来血管内皮細胞の生理学的変化の検討

2504

丸山 昂介

キーワード：血管内皮細胞，Nd:YAGレーザー

【目的】 血管内皮細胞は血管壁の内側に存在し、血管新生や物質の透過性を調節するなどの重要な役割を果たしている。つまり、血管内皮細胞を活性化させることにより、創傷治癒の促進が起こればと考えられる。またNd:YAGレーザーは、組織に照射する際にレーザーの波長や出力を調節することにより、組織表面や内部に与える効果が異なることが知られている。歯科診療では、切開、血流の改善・促進や創傷治癒促進などに使用されている。臨床報告は多くあるが、細胞に対する影響についての報告は少ない。我々はこれまでに大血管系内皮細胞である臍帯静脈血管内皮細胞を用いて検討を行い、細胞の活性化について報告した。そこで本研究では、微小血管であるヒト歯周組織由来血管内皮細胞を使用し、Nd:YAGレーザー照射における細胞の生理学的変化について検討を行った。

【材料と方法】 ヒト歯周組織由来血管内皮細胞は、治療上の理由で除去された歯から抗CD31コーティングマグネットビーズを用いて分離・培養を行った。細胞を96well-plateに播種し、24時間後にNd:YAGレーザーを照射した。照射条件は、Pulse energy 0~200mJ Pulse rate 5PPS ワンショット照射 (1秒間) とし、照射回数は1回、3回、5回とした。培養は7日間行い、その後、細胞増殖活性、形態変化について検討を行った。

【結果と考察】 レーザー照射1回、3回、5回の群ともにコントロールと比較し、細胞増殖の活性を認めた。また、形態学変化では、コントロールと比較し、レーザーを照射した群では細胞の幅径の増加を認めた。本研究の結果より、Nd:YAGレーザーを照射することにより、血管内皮細胞の活性が増加し、創傷治癒改善に効果があると考えられる。

P-32

1歯6点計測による大規模歯周疾患実態調査 (第一報)

2110

井原 雄一郎

【目的】 厚生労働省が平成23年に行った歯科疾患実態調査によると35歳以上で歯肉炎または歯周炎の兆候があるものは80%以上という報告がある。しかし、歯周病と全身疾患、生活習慣の関連性を調べた実態調査は少ない。今回我々は、歯周病認定医・専門医による大規模歯周疾患実態調査で歯周病の罹患率・割合を把握し、全身疾患、生活習慣との関連性についても比較検討を行った。

【材料と方法】 某企業の社員26歳から61歳までの984名を対象に歯周疾患検診を行った。調査は日本歯周病学会認定医・専門医の有資格者が、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率を健康、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、生活習慣についても同時に行った内科健診の結果から突合して調査を行った。

【結果と考察】 984名のうち歯肉炎が237名 (24%)、軽度歯周炎が251名 (25%)、中等度歯周炎が191名 (19%)、重度歯周炎が148名 (15%) であり157名 (16%) 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、喫煙率において軽度歯周炎および中等度歯周炎と比較して高い割合を示した。

【結論】 これまでの歯科医院来院者を対象にしたデータと同様に、一般企業検診における歯周病罹患率は多いことが示され、84%の被験者に何らかの症状を認めた。このことは、早期の受診、治療を勧めることの重要性を示している。また、歯周病と全身疾患・喫煙との関連性も強く認めため、とくに基礎疾患のある被験者および喫煙者に対して歯周病治療を促すことも我々の責務であると考えられる。

P-33

多職種が連携する診療参加型臨床実習の新規導入による臨床の効果および教育的効果

2198

水谷 幸嗣

キーワード：診療参加型臨床実習、多職種連携、ブラークコントロール

【目的】現在、医療の充実には専門職種間の協働が必要であり、多職種連携教育が導入され始めている。東京医科歯科大学歯学部では、歯学科6年生（以下D6）と口腔保健衛生学専攻4年生（以下OH4）の診療参加型臨床実習において、D6臨床実習協力患者を対象に連携・協働する実習（D6-OH4連携実習）を2016年度より開始した。そこで本実習が歯周病患者の口腔状態に与える臨床的效果と、学生への教育的効果について検討した。

【材料と方法】2016年度のD6（44名）の臨床実習協力患者のうち口腔清掃状態の改善が必要な歯周病患者を対象とし、OH4（24名）に口腔清掃指導の依頼を行った。事前カンファレンスのうえ、2回もしくは3回の連携診療を指導教員のもと行い、O'Learyのブラークコントロールレコード（PCR）の推移を記録した。また実習後に27問のアンケート調査を行った。

【結果と考察】連携実習への協力の得られた患者は44名（男性18名、女性26名、平均年齢66.1歳）で、残存平均歯数は23.2本であった。平均PCRは開始時39%であったが連携診療3回目には24%へ改善した。またアンケートでは、事前カンファレンスは学生の80%以上が協働に効果的であったとし、約90%の学生が診療で果たすべき業務を果たせたと回答した。実習全体について、ほとんどの学生が成功と判断し、その要因として、連携診療を複数回継続したことで信頼関係を相互に確立できたため等の回答が得られ、多職種連携における相互理解と継続の重要性が考察された。

【結論】D6-OH4連携実習は、歯周病患者のブラークコントロールの改善効果があるだけでなく、歯科医師・歯科衛生士の協働の重要性について理解する教育的効果を持っていることが示された。

P-35

上皮細胞における炎症性サイトカインによるヒトアメリロチン遺伝子発現の調節

2504

山崎 瑞穂

キーワード：アメリロチン、炎症性サイトカイン、歯肉上皮細胞

【緒言】アメリロチン（AMTN）はエナメル質形成成熟期に分泌されるエナメルタンパク質で、接合上皮内側基板に局在し、接合上皮の歯面への接着に関与する可能性が示唆される。我々は、炎症性サイトカインによるヒトAMTN遺伝子の転写調節機構について解析を行った。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞（Ca9-22）をTNF- α （10 ng/ml）またはIL-1 β （1 ng/ml）で刺激しAMTN mRNAおよびタンパク質発現量をreal-time PCRおよびWestern blotで解析した。ヒトAMTN遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼ（LUC）コンストラクトを用いてLUCアッセイを行った。遺伝子プロモーター配列と核内タンパク質との結合をクロマチン免疫沈降法（ChIPアッセイ）で解析した。

【結果と考察】Ca9-22細胞をTNF- α またはIL-1 β で刺激すると、AMTN mRNAおよびタンパク質量は刺激6 h以降に増加した。-353AMTN LUCコンストラクトをCa9-22細胞に導入しTNF- α またはIL-1 β で12 h刺激すると活性が上昇し、-353AMTNのC/EBP1、C/EBP2、YY1配列に変異を挿入すると活性上昇が部分的に抑制され、C/EBP1とC/EBP2の両方に変異を導入するとさらに抑制された。TNF- α およびIL-1 β による-353AMTNの活性上昇は、PKA、tyrosine kinase、MEK1/2およびPI3 kinase阻害剤存在下で抑制された。ChIPアッセイの結果、C/EBP1およびC/EBP2配列とC/EBP β との結合、YY1配列とYY1との結合は、TNF- α またはIL-1 β 刺激6および12 h以降に増加した。以上の結果から、上皮細胞でのヒトAMTN遺伝子発現は、TNF- α およびIL-1 β 刺激後に上記のシグナル伝達経路を介しヒトAMTN遺伝子プロモーター中のC/EBPおよびYY1配列への転写因子の結合量が増加することにより調整されると考えられた。

P-34

歯周病罹患の有無によるアテローム性動脈硬化病変部のマイクロバイオームの違い

2401

磯島 大地

キーワード：歯周病、アテローム性動脈硬化症、マイクロバイオーム、次世代シーケンシング

【目的】アテローム性動脈硬化症には慢性細菌感染による炎症が関連するとされる。歯周炎は口腔細菌群のマイクロバイオームが原因の慢性炎症性疾患であり、菌血症等からアテローム性動脈硬化症に関連すると考えられているが、両局所のマイクロバイオームは網羅的に比較されてはいない。本研究では、次世代シーケンサーを用いて両者を網羅的に解析し、歯周病への罹患がアテローム性ブラーク内の細菌に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】内頸動脈狭窄症患者8名を被験者とした。被験者を歯周組織検査結果と歯周病原細菌に対する血清IgG抗体価から、歯周病が中等度から重度な群（4名）と軽度な群（4名）に二分した。歯周ポケット、舌表面、そして内頸動脈のアテローム性ブラークから細菌DNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いてマイクロバイオーム解析を行った。（関連2機関の研究倫理委員会で承認済）

【結果と考察】歯周ポケットと舌表面のマイクロバイオームは、軽度群では類似していたが、中等度から重度群では50%以上異なっていた。また、これらはアテローム性ブラークのものとも全く一致していなかった。アテローム性ブラークからは口腔細菌はほとんど検出されず、*Streptococcus*属がわずかに検出された症例があった。主成分分析とクラスター分析の結果、歯周炎の重症度によってアテローム性ブラークのマイクロバイオームは異なる傾向があった。

【結論】口腔細菌がアテローム性ブラークから検出される頻度は低いが、歯周炎の重症度が増すとアテローム性ブラーク内のマイクロバイオームが変化していた。歯周炎が何らかの形でアテローム性動脈硬化症に関与する可能性がある。

P-36

ポケットの分類によるGCF酵素量の比較 ～生化学マーカーから見た病状安定～

2302

上原 直

キーワード：歯肉溝滲出液

【目的】PPDとBOPの測定は、歯周病の診断において必須項目である。我々は検査精度の向上のために、歯肉溝滲出液（GCF）に注目し、GCF成分解析の意義を検索してきた。今回、歯周治療により病状安定を示しているポケットと同一口腔内のBOP陽性を認める活動期のポケット、さらには歯周病を認めない正常ポケットを有する被験者を対象とし、ポケット分類による比較検討を行い、GCF検査の意義を考察した。

【材料と方法】被験者は、日本歯科大学附属病院に来院した慢性歯周炎と診断されSPTにより通院している26名と、歯周病を認めない26名を対象とした。GCF採取は、健常部位：PPD \leq 4mm BOP (-)、病変部位：PPD \geq 4mm BOP (+)と定義し採取・解析を行った。採取部位における臨床パラメーターとしてPII、GCF量、GI、PPD、CAL、BOPとし、GCFの生化学検査項目はtotal ALP量、骨型ALP量、AST量、タンパク質量、hemoglobin量とした。統計学的解析は、Wilcoxon testを用いた。なお、本研究は日本歯科大学生命歯学部倫理委員会承認のもと遂行された（承認番号：NDU-T 2014-15）。

【結果と考察】GCFに含まれるtotal ALP量と骨型ALP量は、統計学的に有意差は認められないことから、ALPの大部分が骨型ALPと考えられた。また、健常者と歯周病患者の健常部位では各酵素量に統計学的有意差は認められないことから、生化学的見地からも歯周組織の病状が安定していることが示された。

【結論】生化学的見地から、臨床的にPPD \leq 4mm BOP (-)の状態にすることが病状安定を維持する為に重要であることが示唆された。

【資金源】文部省科学研究費（基盤C、課題番号：25463267、26463146）の助成を受けた。

P-37
2504

高脂肪食摂餌ラットの歯周組織に投与した
*Porphyromonas gingivalis*由来LPSの動態
藤田 美也子

キーワード:リポポリサッカライド, ポルフィロモナスジンジバリス, 非アルコール性脂肪肝炎
【目的】近年, 肝疾患とP.g由来LPS (P.g-LPS) との関連について示唆されてきたが, 動物実験で明確に示した報告はない。そこで本研究は, P.g-LPSの歯周組織投与後の上顎及び肝臓に対する影響と, radio isotope (RI) 標識LPSの動態の観察を目的とした。
【材料と方法】8週齢Wistar系雌性ラットを普通食 (BD) 群と高脂肪食 (HD) 群の2群に分け, P.g-LPSを投与する群としない2群に分け飼養した。安楽死10日前からP.g-LPSを口蓋歯肉に毎日投与し, 上顎および肝臓を摘出した。それらは, P.g-LPSの影響組織学的評価のために, H-E染色による病理切片を作製し観察した。さらに, 歯周組織に投与したP.g-LPSの動態を観察するために同様にBD群とHD群に分け飼養し, 各群にRI標識LPSを1回投与後5分, 30分, 1時間, 24時間で安楽死した。上顎および肝臓, その他の臓器, 血液を採取し, 各放射能を測定した。統計はANOVA, Tukey検定を用いた。
【結果と考察】歯周組織に投与したP.g-LPSの影響について, 上顎のH-E染色像では, 炎症性細胞の浸潤, 上皮の肥厚化が観察された。一方, HD群における肝臓のH-E染色像で中心静脈周囲に大滴性脂肪沈着, 肝細胞の風船様腫大, 炎症性細胞の浸潤を示す, 非アルコール性脂肪性肝炎への進行様所見を示した。RI標識LPSの動態については, 上顎では投与部位である右側口蓋歯肉に最も多く, 全身の臓器では肝臓への集積が他臓器に比べ顕著に高かった。また, 血清中の標識LPSについてBD群では30分, HD群では1時間で最大値を示した。
【結論】高脂肪食摂餌により歯周組織および肝臓において標識LPSの残留がより高く認められ, 肝疾患との関連性が示唆された。

P-39
2402

*Porphyromonas gingivalis*菌性感染は肝星細胞を活性化し, 非アルコール性脂肪性肝炎の病態を増悪する
宮内 睦美

キーワード:ポルフィロモナス ジンジバリス, 肝星細胞, 非アルコール性脂肪性肝炎, トランスフォーミング増殖因子, ガレクチン-3, 肝線維化, 歯科的治療介入
近年, 非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis: NASH) の病態進行, 特に線維化の進行機序として, TGF- β 1やGalactin-3 (Gal-3) を介した肝星細胞の活性化が注目されている。我々は*Porphyromonas gingivalis* (P.g.) 菌性感染が肝臓における炎症や線維化を促進することで, NASHの病態を増悪することを報告したが, その機序は不明である。そこで本研究では, I. P.g. 感染やP.g.-LPSによる肝星細胞の活性化とTGF- β 1やGal-3の関与について検討した。また, II. HFD誘導脂肪肝マウスモデルを用い, P.g. 菌性感染の誘導するNASHの病態進行に対する歯科的治療介入の効果について検討した。I. 1) P.g. (W83株) 感染 (MOI 100) 肝星細胞 (LX2) 細胞では, SmadやERK pathwayの活性化を介した線維化マーカーやI型コラーゲンの著明な発現上昇が観察された。肝星細胞および肝細胞 (Hc3716) へのP.g. 感染はTGF- β 1やGal-3発現を著しく増加させた。2) P.g.-LPS刺激は肝星細胞や肝細胞からのGal-3産生を介し, 肝星細胞を活性化した。II. HFD誘導脂肪肝マウスモデルにP.g. を菌性感染させ, 6週後に抗菌薬アジスロマイシンを用いた感染根管治療 (P.g. 感染除去) を行い, 3週後に肝組織の線維化領域や肝線維化と正相関するM Φ の集簇数を検討した。P.g. 菌性感染により増加した線維化領域やM Φ 集簇数は治療群で有意に減少した。以上, P.g. 菌性感染によるNASHの病態進行機序として, P.g. 感染やP.g.-LPSによるTGF- β 1やGal-3の産生を介した肝星細胞の活性化が重要な役割を果たすことが明らかとなった。また, 歯科的治療介入は, 線維化を抑制し, NASHの病態進行を抑制する治療戦略となることが示された。

P-38
2504

エクソソームシーケンスを用いた侵襲性歯周炎家系における原因遺伝子の同定
水野 智仁

キーワード:侵襲性歯周炎, エクソソームシーケンス, ノックインマウス
【目的】侵襲性歯周炎は家族内集積が見られ, 遺伝的因子の関与が高いことは広く知られているが, 現在までのところその原因遺伝子は同定されていない。本研究は急速に進行する遺伝学的解析手法を用いて家族性侵襲性歯周炎の原因遺伝子を同定することを目的とした。
【材料と方法】広島大学病院歯周診療科を受診した侵襲性歯周炎患者を発端とする家系を本研究の対象とした。本家系の侵襲性歯周炎発症者4名と非発症者4名のDNAを用いてlinkage解析をおこなった。さらに発症者3名のexome解析を行い, 得られた遺伝子変異を, AA change, Heterozygous, In house database等の項目でフィルタリングし, 本家系における候補原因遺伝子変異を抽出した。さらに, TALENを用いて同変異を有するノックインマウスを作成した。ノックインマウスとWild type (WT) マウスの上顎第二臼歯に糸糸を結紮し, 7日後に骨格標本を作成し, 上顎第一臼歯遠心, 上顎第二臼歯近心および遠心, 上顎第三臼歯近心のセメントエナメルジャンクションから歯槽骨頂までの距離を測定し, 歯槽骨吸収を評価した。
【結果と考察】ノックインマウスはホモおよびヘテロにおいてWTマウスと比較して, 有意に歯槽骨吸収を認めた。エクソソームシーケンスは侵襲性歯周炎家系の原因遺伝子同定に有用であることが示された。また, 本研究で作成したノックインマウスにおいて炎症誘発性の歯槽骨吸収の機序を解明することは侵襲性歯周炎の病態を解明する一助となる可能性が示唆された。

P-40
3001

乳酸菌を利用した口腔の健康管理~*Lactobacillus salivarius* WB21株の齶蝕, 歯周病, 口臭に対する有効性の評価~
樋口 拓也

キーワード:乳酸菌, プロバイオティクス, 齶蝕, ストレプトコッカス ミュータンス, 歯周病, ポルフィロモナス ジンジバリス, 口臭
【目的】これまでに*Lactobacillus salivarius* WB21株 (WB21) 配合錠菓を用いた臨床試験で, 本菌の口腔利用は口臭や歯肉出血を抑制し, 齶蝕リスクを高めないことを報告した。本研究ではWB21が齶蝕原因菌*Streptococcus mutans* (Sm) と歯周病原菌*Porphyromonas gingivalis* (Pg) に与える影響と茶カテキン (EGCg) の併用効果について*in vitro*試験で調べ, WB21の齶蝕, 歯周病, 口臭に対する有効性を評価した。
【材料と方法】1. Smに対する増殖抑制作用 Sm (JCM 5705株, MT 8148株) とWB21を混合後, 16, 20, 24, 38時間後に生菌数を測定した。2. 不溶性グルカンの産生抑制作用 Sm JCM 5705株とWB21を混合後, 24時間後に培養液中の不溶性グルカン量を定量した。3. Pgに対する増殖抑制作用 Pg (JCM 8525株, ATCC 33277株) とWB21培養ろ液およびEGCgを混合後, 6時間後に生菌数を測定した。4. EGCgのメチルメルカプタン (MMC) に対する消臭効果 MMCにEGCgを添加し10分後, ヘッドスペース中のMMCをガスクロマトグラフィーで分析した。
【結果と考察】1. Sm菌数はWB21の添加菌数依存的に減少した。2. Smより産生される不溶性グルカン量はWB21の添加により減少した。3. Pg菌数はWB21ろ液の添加により減少し, EGCgの添加でさらに減少した。4. EGCgは濃度依存的にMMCを消臭した。WB21は齶蝕リスクを高めないだけでなく齶蝕抑制効果を持つ可能性がある。またWB21とカテキンの併用利用は口臭のコントロールにより有効であると思われる。
【結論】WB21はSmの増殖および不溶性グルカンの産生を抑制した。またWB21のPgに対する増殖抑制作用はEGCgの添加により相乗的に高められた。EGCgはMMCに対して高い消臭効果を示した。

P-41

レゾルビンE1が*P. gingivalis* LPS誘導の炎症反応に及ぼす影響

2504

南原 弘美

Keywords: *P. gingivalis* LPS, Resolvin E1, IL-12p40**Objectives:** *P. gingivalis* is a gram-negative anaerobic rod-shaped bacteria and is a pathogenic microorganism in the development of chronic periodontitis. Previous studies have demonstrated that local application of Resolvin E1 (RvE1) in a *P. gingivalis* induced periodontitis rabbit model prevented the onset of periodontitis and promoted the regeneration of periodontium. However, the modulation of immune response under the control of RvE1 was not clear. The purpose of this study is to investigate the effect of RvE1 on inflammatory response in periodontal disease.**Material and Methods:** Peritoneal Mφ and CD4⁺ Th1 cells were isolated from WT mice and ERV1 transgenic mice. Cells were stimulated with *P. gingivalis* LPS w/ or w/o RvE1. In some experiments, cells were pretreated with specific inhibitors. To investigate the effect of RvE1, real-time RT-PCR, western blotting and ELISA were performed. **Results:** In peritoneal Mφ, (i) RvE1 reduced *P. gingivalis* LPS-induced IL-12p40 mRNA expression and protein secretion and (ii) RvE1 inhibited *P. gingivalis* LPS-induced NF-κB pathway via PI3K/Akt and MAPK pathway. In CD4⁺ Th1 cells, (iii) RvE1 reduced IFN-γ secretion.**Conclusion:** These results suggested that RvE1 might be important in reducing *P. gingivalis* LPS-induced IL-12p40 expression and attenuate the transition from innate to adaptive immunity in periodontal disease.

P-42

頸動脈狭窄症（頸動脈石灰化）と歯周病を含む合併症の関連性についての臨床的研究（第2報）

2299

石岡 康明

【目的】 第59回春季日本歯周病学会において頸動脈の動脈硬化症である頸動脈狭窄症の発症率が患者の現在歯数および年齢と関連性が高いことを報告した。今回、被検者数を増加し、頸動脈硬化症の合併症との関連性を検討した。**【材料と方法】** 被検者は、松本歯科大学病院を受診し、顎口腔領域の診断目的でパノラマエックス線写真およびCT撮影を実施した417名で、健常群と頸動脈石灰化群に分けて検討した。頸動脈石灰化群は247名（女：115名、男：132名）、平均年齢68.3歳（女：69.5歳、男：67.4歳）であった。なお、画像診断は2名の歯科放射線学会指導医がFrielanderの方法で検討した。**【結果ならびに考察】** 健常群と頸動脈石灰化群の平均現在歯数との比較で60歳代と70歳代で有意差がみられた。さらに、パノラマエックス線写真を基に歯槽骨吸収程度をP1~P4に分類して検討した結果、無歯顎患者9名を除く238名の分布は、P1: 34.8%, P2: 45.8%, P3: 16.0%, P4: 3.3%で、P2, P1が多く、残存歯数の多い集団であることと符合した。しかし、歯周炎の既往の程度との関連性は見出せなかった。頸動脈狭窄症患者の全身的合併症の頻度は、高血圧症：36.4%、心疾患：13.0%、脂質異常症：10.1%、糖尿病：6.9%、脳疾患：2.4%、その他：6.4%であった。今後は綿密な歯周組織検査を実施し、その結果と本疾患発症の関連性を追求していきたい。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-43

洗口剤の薬用成分が揮発性硫黄化合物におよぼす影響

2807

藤本 暁江

キーワード: 口臭, 洗口剤, 揮発性硫黄化合物**【緒言】** 近年、口臭を気にする人が増加している。口臭の原因のほとんどが、歯周病やう蝕、舌苔など口腔内由来によるものであり、口臭治療はこれらの原因に対して、治療を行う必要がある。また口臭予防のためには、日常の口腔ケアが重要であると考えられる。洗口剤は、口腔清掃におけるセルフケア用品の1つであり、口臭抑制効果を謳った商品も存在する。製品によって様々な薬用成分が含有されているが、口臭に対してどのような効果があるのか、またこれまで洗口剤の効果について比較検討を行った文献は少ない。そこで我々は、薬用成分の違う洗口剤でそれぞれ洗口を行い、どのような口臭抑制効果がみられるか検討を行った。**【方法】** 平成28年度福岡医療短期大学歯科衛生士学科専攻科（平均年齢25.4±7.5歳）10名を対象者とした。はじめに、1mMのメチオニンで1分間洗口し、人工的に口腔内に揮発性硫黄化合物（VSCs）を発生させ、ガスクロマトグラフィーにて、硫化水素、メチルメルカプタン、ジメチルサルファイドの濃度を測定した。次に洗口剤として、リステリン®、ハイザックNリンス、ガム・デンタルリンス、パトラーCHX洗口液又は水で1分間洗口した後、ガスクロマトグラフィーにて再度VSCsの濃度を測定し、洗口剤の口臭抑制効果について調べた。測定条件はブラッシングより6時間以上および食後3時間以上経過とした。**【結果および考察】** ほとんどの洗口剤で、総VSCおよび各VSC濃度の抑制効果が認められた。今回の研究では、洗口剤の即時的な口臭抑制効果について確認したが、今後は洗口剤の持続的な口臭抑制効果について検討したいと考える。**【結論】** 各VSC濃度に対する口臭抑制効果は、洗口剤によって違いがみられた。

P-44

口腔常在菌 *Veillonella parvula* による腸管免疫機構への影響

2404

小林 良喜

キーワード: バイオネラ菌, 腸管マクロファージ, IgA**【目的】** ヒトの常在菌叢は身体の各場所で独自の細菌叢を構成し生体防御機構を担うだけでなく、様々な生理機能や疾患の発症に関与することが報告されている。腸内細菌叢が腸管免疫機構に及ぼす影響として免疫担当細胞やIgA抗体価の変動が知られており、特定の菌株や代謝産物による影響が多く報告されている。ヒト口腔にも常在菌叢が形成され、歯周疾患の発症や、IgA腎症やリウマチなどの病巣感染、全身疾患のリスクファクターとして知られているが詳細は不明な点が多い。本研究では口腔常在菌による腸内環境への影響を検討するため、免疫担当細胞の動態を検討した。**【材料と方法】** ヒト *Veillonella parvula* 10790 (Vp) を5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液に懸濁させ3週間、マウス口腔内に接種を行なった。最終口腔投与から1日後、小腸粘膜固有層 (SiLP) から単核細胞を採取し、蛍光標識抗体を用いてフローサイトメーターにより検討した。**【結果と考察】** Vp菌の口腔投与によりマクロファージの増加が認められ、中でもCMC摂取群に比べてCD86⁺/CD206⁻ (M1-type) マクロファージの減少と、CD86⁻/CD206⁺ (M2-type) マクロファージの有意な増加が認められた。更に、Th1 polarizationを伴う糞便抽出液中のTotal IgA抗体量の有意な増加が認められた。これらの結果から、口腔のVp菌の腸管への流入がM1/M2マクロファージのバランスを破壊させ、IgAの異常産生を誘導する可能性が示唆された。**【結論】** Vp菌による腸管IgAの過剰産生はIgA腎症などの炎症性疾患を誘発する可能性が示唆された。

P-45

新規炭酸アパタイト製人工骨の開発 ～ウサギ大腿骨内埋植による評価～

3103

山中 克之

キーワード：炭酸アパタイト，人工骨，吸収性材料

【目的】我々は，生体骨の無機成分である炭酸アパタイトに着目し，溶解析出型の相変換反応を応用することで，生体骨と同等以上の炭酸基を含む顆粒状炭酸アパタイト（GCAP-01）の開発に成功しており，歯科領域での適応の取得を目指している。本発表では，GCAP-01をウサギ大腿骨に作製した骨欠損埋植した時の新生骨の量および材料の吸収の推移を計測し，評価した結果について報告する。

【材料と方法】体重2.5kg以上の日本白色種雄ウサギの大腿骨及び脛骨に直径約5mm，深さ8mmの穴を開け，被験物質，対照物質を4週，12週及び26週埋植した。被験物質はGCAP-01，対象物質はHAp製人工骨の製品A，β-TCP製人工骨の製品Bとした。埋植期間終了時に病理組織標本を作製し，新生骨面積率（%）及び残存埋植試験面積率（%）をそれぞれ求めた。

【結果と考察】新生骨面積率については，各群において埋植期間による著差はなく，明らかな経時変化は認められなかった。残存埋植試験面積率は，製品A群では経時的な減少傾向が認められなかったのに対し，GCAP-01群，製品B群では埋植期間4週と比較して12，26週で明らかに減少した。GCAP-01群と製品B群を比較した場合，GCAP-01群の方が吸収が遅い傾向を示した。

【結論】GCAP-01埋植群では，対照物質と同様に組織傷害性はなく，骨伝導性を持つことが示唆された。また経時的に材料は吸収されるが，β-TCPと比較して吸収期間が長いことが確認された。以上の結果よりGCAP-01は吸収性の人工骨として有用であることが示唆された。

P-46

凍結保存した間葉系幹細胞集塊Clumps of MSCs/ECM complexを用いた新規細胞移植療法の開発

3199

本池 総太

キーワード：凍結保存，間葉系幹細胞，細胞外基質，骨再生

【目的】間葉系幹細胞（MSCs）集塊Clumps of MSCs/ECM complex（C-MSC）は，自身が産生する細胞外基質（ECM）を利用して得られる直径約1mmの三次元的細胞集塊であり，立体的に組み合わせることで組織欠損に適合した効果的な細胞移植治療を可能とする（Cytotherapy, 2015）。第59回春季日本歯周病学会学術大会にて，移植体であるC-MSCが凍結保存後も十分な生存性と骨再生能を維持することを報告した。C-MSCを凍結保存後に臨床応用するために，その生存性が維持される機序を理解し，長期保存が可能であるか知る必要がある。本研究では，ECMがC-MSCの生存性に及ぼす影響を明らかにし，さらに長期凍結保存C-MSCの骨再生について評価した。

【方法】ラット大腿骨から分離したMSCsから細胞集塊C-MSCを作成し，一塊（ 2.0×10^5 cells）ずつ10% DMSOとFBS含有のDMEMからなる凍結培地500μlに浸漬後，凍結バイアルを用いて -80°C で凍結した。これを48時間後に 37°C に設定した恒温水槽で急速解凍し，増殖培地で再度培養を行った後，TUNEL染色にて凍結融解後の死細胞数を計測した。対照としてコラゲナーゼ処理を行い，ECMを分解したC-MSCを同様に凍結融解させ，生存性を比較した。次に，C-MSCを上述の凍結保存培地を用いて液体窒素中に6か月間保存し，解凍後，ラット頭蓋骨欠損モデルに移植し，骨再生を評価した。

【結果】ECMを分解したC-MSCは融解後に形態が崩れだし，未処理のC-MSCと比較し多くの細胞死を認めた。6ヶ月凍結保存したC-MSCの移植は骨再生を誘導した。

【結論】C-MSCは融解後もECMによる細胞の足場を提供することで高い細胞生存を維持し，その細胞機能は6ヶ月間の保存後も十分に発揮されることが示唆された。

P-47

手術前に病院歯科を受診した患者の口腔清掃状態

2402

久野 彰子

【目的】全身麻酔を行う手術において，口腔清掃状態を良好にしておくことは術後合併症を防ぐために重要なことである。しかし患者の中には，しばらく歯科受診していない者や口腔に関心のない者がおり，口腔清掃状態が必ずしも良好ではない。そこで今回，手術前に周術期口腔機能管理を目的に病院歯科を受診した患者の口腔清掃状態を調査したので報告する

【方法】日本医科大学付属病院において平成28年6月から11月の6ヶ月間に，手術前に他科から口腔科を紹介され受診した487名を対象とした。対象者の初診時の口腔清掃状態を，良好，中等度，不良の3段階に評価すると共に，歯科の応急処置が必要な場合は，要治療として記録した。対象者のうち，歯の無い者16名，および記録に不備のあった7名を除く464名（男性262名，女性202名，平均年齢65.2歳）の評価を集計した。

【結果と考察】口腔科に依頼された患者は乳がん患者が62名と最も多く，ついで肺，下部消化管，膀胱がん患者が各々53名であった。口腔清掃状態は，良好が165名（35.6%），中等度が238名（51.3%），不良が61名（13.1%）であった。また，歯科の応急処置が必要であった者は86名（18.5%）であり，うち10名は術前に抜歯を行い，25名は動揺歯の固定を行った。口腔清掃状態は男女で差があり，男性に悪い傾向が認められた。また，がんの部位別では，乳がん患者に最も口腔清掃状態の良い者が多かった。手術前の患者の中には，口腔清掃状態が不良であり，脱落の危険がある動揺歯が放置されている者もいるため，全身状態を考慮した術前からの歯科の関わりが重要と考えられる。

P-48

歯肉縁下細菌と血清抗体価を用いた慢性歯周炎進行の評価：24ヵ月多施設前向きコホート研究

2504

両角 俊哉

キーワード：歯周炎進行，*Porphyromonas gingivalis*，歯肉縁下細菌

【目的】歯周治療においてSPTへ移行する際の判断基準は，臨床症状やエックス線画像に基づいているのが現状であり，必ずしも実際の病態を反映しているとは言えない。我々はこれまでに唾液中細菌と血清抗体価の組み合わせによる歯周炎進行指標を報告している（Morozumi et al. J Periodont Res 2016）。そこで本研究では，口腔内最深部の歯肉縁下細菌と血清抗体価による歯周炎進行指標の可能性を評価した。

【材料と方法】17の日本歯周病学会認定研修施設において，歯周基本治療もしくは歯周外科治療を終えた40～70歳の慢性歯周炎患者163名を3ヵ月おきのリコールで24ヵ月モニタリングした。歯周検査は6ヵ月毎に行い，進行の定義は過去の文献に倣い，24ヵ月以内に1ヵ所でも3 mm以上のクリニカルアタッチメントロスが認められた場合とした。最深の歯周ポケット1部位から縁下プラークを計4回，指先毛細血管から採血を計2回採取した。これら検体を用い主要歯周病原菌に対する定量解析（Invader PLUS assay変法）および血清抗体価測定（ELISA法）を行い，臨床データと併せ時系列・横断的に解析した。

【結果】プログラムを完遂した124名中，62名が進行していた。歯周炎の進行に対し，各検査項目についてROC曲線を用いてカットオフ値を決定し，感度や特異度を算出した。その結果，*P. gingivalis*数が歯周炎進行の診断指標として有意に有用であった（ $p < 0.001$ ，カットオフ値 $\log_{10} 1.370$ ，陽性の中度 0.708）。

【結論】最深歯周ポケットにおける*P. gingivalis*数は歯周炎進行の予知において有用である可能性が示唆された。

P-49

各種セメントのエクス線不透透性に関する研究

2604

須永 健一

キーワード：残存セメント，エクス線検査，セメントタイトス

【目的】歯周炎の原因として余剰セメントの残存が挙げられる。特に、補綴物の合着時に隣接面歯肉縁下に余剰セメントの残存が生じやすく、早期の確認が重要になる。また、近年歯科用セメントの接着性能向上により補綴物の脱離は少なくなった反面、余剰セメントは除去困難となり長期間にわたり歯肉縁下に留まる危険性もあり、より注意が必要である。そこで、本研究において各種セメントを用いてエクス線不透透性を測定・比較することにより、臨床における診断に用いることが期待できる。

【材料と方法】本研究に供したセメントはハイボンドテンポラリーセメントハード（松風）、ジーシーフジルーティングセメント（ジーシー）、パナビアV5（クラレノリタケデンタル）の3種類とした。セメント練和は5名がそれぞれ行い、各種セメントを練和後、厚さ0.5mmになるようにアルミプレートで挟み込み均一の厚さに調整した。硬化後、YCRイメージングプレート咬合型DT-1（吉田製作所）を用い、レントゲン撮影装置HELIODENT DS（Sirona）を60kV, 7mA, 0.1秒, ssp20cmの設定でAlステップウェッジを用いて撮影した。ImageJにて測定を行い5名の平均値を算出した。

【結果と考察】エクス線不透透性はハイボンドテンポラリーセメントハードがもっとも高く、ジーシーフジルーティングセメントがもっとも低かった。以上のことは各種セメントの性状が異なりエクス線不透透性に差が生じたためと考えられる。

【結論】今回用いた合着用セメントは不透透性が低いため、実際の臨床では確実に除去しなければならないのはもちろんのこと、定期的なエクス線検査においてもさらなる詳細な確認が必要である事が示された。

P-51

重度歯周炎患者のSupportive Periodontal Therapy期における歯周病による歯の喪失リスク因子の検討

2504

平田 貴久

【目的】歯周病予後リスクの評価指標に、歯周病リスク評価モデル（Periodontal Risk Assessment：PRA）などがあるが、そのモデルの有用性について国内で検討されている報告はほとんどない。そこで、Supportive Periodontal Therapy（SPT）期の歯周病による歯の喪失とPRAを含む歯周治療の予後に影響するリスク因子との関連についてコホート研究によって検討した。

【材料と方法】1981年から2008年に歯周病専門医と認定歯科衛生士が勤務する7施設で歯周治療を受けた重度歯周炎患者で、SPT期間が1年以上の70名を対象とした（神奈川県大学倫理委員会承認：#388）。歯周病リスク診断指標として、初診時の1歯毎の診断指数（Prognosis Index：PI）、SPT開始時のPRA、さらにSRP後に6mm以上の歯周ポケット深さが2mm以上減少した部位率が70%未満の治療抵抗性歯周炎（Therapy Resistant Periodontitis：TRP）を用いた。統計解析はCox比例ハザードモデルを用いて、SPT期における歯周病による歯の喪失の有無と、初診およびSPT開始時の歯周病リスク診断指標との関連を検討した。

【結果と考察】歯周病による歯の喪失は単変量解析からTRP診断とSPT開始時の欠損歯数に有意差があった（TRP診断：HR = 3.58；p = 0.02, SPT開始時の欠損歯数：HR = 3.72；p = 0.04）。また、TRP診断と歯周治療中の歯の喪失の有無を説明変数とした多変量解析から、いずれの変数にも有意差があった（TRP診断：HR = 3.14；p = 0.04, 歯周治療中の歯の喪失の有無：HR = 3.52；p = 0.04）。

【結論】TRP診断と歯周治療中の歯の喪失の有無による総合的な判定法が、歯周病予後リスクの評価指標として有用であることが示唆された。

P-50

IL-1βおよびTNF-αは歯肉上皮細胞でのマウスアメリロチン遺伝子発現を増加させる

2504

能田 佳祐

キーワード：アメリロチン，歯肉上皮細胞，炎症性サイトカイン

【緒言】Amelotin（AMTN）は、成熟期エナメル芽細胞および接合上皮に局限して発現するエナメルタンパク質である。炎症歯周組織でのマウスAMTNの転写調節機構を解析するため、歯肉上皮細胞でのAMTN遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響について解析した。

【材料と方法】マウス歯肉上皮細胞（GE1）をIL-1β（1ng/ml）またはTNF-α（10 ng/ml）で刺激し、AMTN mRNAおよびタンパク質発現量の変化をリアルタイムPCRとWestern blotで解析した。種々の長さのマウスAMTN遺伝子プロモーターを挿入したコンストラクトを用いてルシフェラーゼ（LUC）アッセイを行った。遺伝子プロモーター配列と転写因子との結合をクロマチン免疫沈降法（ChIPアッセイ）で解析した。

【結果と考察】GE1細胞を種々の濃度のIL-1βおよびTNF-αで刺激すると、AMTN mRNA量は1 ng/mlのIL-1βおよび10 ng/mlのTNF-α刺激で有意に増加し、12時間後に最大となった。AMTNタンパク質量は両刺激6時間以降に増加した。-116、-238、-460AMTN LUCコンストラクトをGE1細胞に導入し、IL-1βまたはTNF-αで12時間刺激すると-460AMTNの転写活性が最も上昇した。C/EBP1、C/EBP2およびYY1配列に変異を挿入すると、IL-1βまたはTNF-α刺激後の活性の上昇が部分的に抑制され、C/EBP1とC/EBP2配列の両方を変異させるとさらに抑制された。ChIPアッセイの結果、C/EBP1およびC/EBP2配列とC/EBPβの結合量は、IL-1β刺激12時間またはTNF-α刺激24時間後に最大となった。YY1配列へのYY1の結合は両刺激で12時間後に最大となった。以上の結果から、IL-1βおよびTNF-αは、C/EBPβおよびYY1転写因子を介して歯肉上皮細胞でのマウスAMTN遺伝子発現を調節すると考えられた。

P-52

口腔上皮細胞における電解酸性機能水によるalarminの誘導について

2504

楠 正文

キーワード：電解酸性機能水，口腔上皮細胞，alarmin，EMMPRIN

【目的】口腔上皮細胞に電解酸性機能水（FW）を作用させると、IL-1αとEMMPRIN（extracellular matrix metalloproteinase inducer）が顕著に誘導される。IL-1αは、細胞傷害の際に細胞内から分泌されることで自然免疫誘導や修復を行う分子“alarmin”であることが知られている。本研究では、FWの作用によってIL-1αと同様に口腔上皮細胞から分泌されるEMMPRINがalarminである可能性について検討を行った。

【材料および方法】ヒト口腔扁平上皮癌由来株化細胞（HSC3）をFW（pH 2.7, 酸化還元電位1, 100 mV以上, 遊離有効塩素濃度30 ppm, 三浦電子）で30秒間作用させた後、経時的に培養し、培養上清および細胞溶解液を回収した。EMMPRINおよびalarminであるHMGB1、IL-1αの分泌量についてはELISA法を用いて測定した。また、FWの作用により口腔上皮細胞から分泌されるEMMPRINの間葉系細胞に対する効果を検討するために、FWを作用させた口腔上皮細胞の培養上清をヒト単球性白血病由来細胞（THP1）へ24時間作用させ、細胞溶解液を回収し、real-time PCR法にてPDGF、VEGF、MMP1, 2, 8, 9, 13, 14, IL-8およびEMMPRINの遺伝子それぞれ発現を比較した。

【結果および考察】FWの作用によって、EMMPRIN、HMGB1およびIL-1αの分泌はそれぞれ有意に増強した。また、FWを作用させた口腔上皮細胞の培養上清の作用によって、PDGF、MMP1, 2, 8, 9, 13, 14, IL-8およびEMMPRINの遺伝子発現の有意な増強がみられた。以上よりEMMPRINは、IL-1αおよびHMGB1と同様に、細胞傷害により周囲組織からサイトカインの発現増強を誘導することから、alarminである可能性が示唆された。

P-53
2504

ラット頭頂骨欠損モデルにおける骨再生に対するハイドロキシアパタイト／コラーゲン複合体と機能水の併用効果についての検討

小澤 康正

キーワード：HA/Col, FW, 骨再生

【目的】ハイドロキシアパタイト (HA) と I 型コラーゲン (Col) の複合体である骨移植材 (HA/Col) が開発された。Col の弾力性による操作性に加え、骨本来の構造・組成に近いこと、骨再生に対して有用であることが動物実験と臨床試験により明らかにされてきた。一方、(FW: functional water) は食塩水などを電気分解することにより得られるもので、殺菌効果が高いことが示されている。また、過去の研究から FW のマウス皮膚に人為的に作製された創傷治癒の促進、およびラット下顎骨の骨欠損における新生骨の形成促進が示されてきた。これらのことから、HA/Col と FW の併用による骨再生の促進効果を検討した。

【材料と方法】8週齢の雌性 Wistar ラットの頭頂骨に、トレフィンバーにて左右対称に 5mm の骨欠損を作製した。片側の骨欠損を、(1) HA/Col の単独移植群、(2) FW で 1 分間洗浄後の HA/Col 移植群に分け、反対側は全て生理食塩水で 1 分間洗浄し、対照群とした。手術日を 0 週とし、実験動物用 3D マイクロ X 線 CT を用いて、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。12 週後にパラフィン包埋切片を作製して組織学的に観察し、CT 画像との比較検討を行った。

【結果と考察】マイクロ CT の結果から、HA/Col の単独移植群と比較して FW・HA/Col 併用群で HA/Col 相当部に新生骨様組織の形成が観察された。組織学的観察より、FW・HA/Col 併用群は HA/Col 単独移植群と異なり骨欠損辺縁と材料周囲に顕著な骨形成像が認められた。

【結論】HA/Col 単独よりも HA/Col と FW を併用することにより、HA/Col 単独で移植したものに比較して骨再生は有意に増強された。

P-55
2203

歯周病の発症と進展における EBV 関与の可能性 -EBV の LMP1 は NF- κ B を活性化し歯肉上皮細胞からの炎症性サイトカインを誘導する-

今井 健一

キーワード：EBウイルス、歯周病、歯肉上皮細胞、LMP、炎症性サイトカイン

【目的】我々は歯周病変部から EBV が検出されること、歯周病原菌が潜伏 EBV を再活性化することを報告してきた。しかし、EBV がどのように病態形成に関与しているのかについては世界的に報告がない。最近、EBV が歯肉上皮細胞にも感染すること、EBV の膜蛋白遺伝子 Latent membrane protein (LMP) や再活性化因子 BZLF1 等の発現と歯周病の進行度とが関与していることが報告された。そこで今回、LMP の発現は炎症性サイトカインを誘導することで、歯周病の進展に関与しているのではないかと推察し実験を行った。

【材料と方法】歯肉上皮細胞株 Ca9-22 に LMP1 発現ベクターを導入後、炎症性サイトカインの産生と NF- κ B の活性化を検討した。

【結果】LMP1 により、IL-1 β 、IL-8 および TNF- α の mRNA 発現上昇が認められた。特に IL-8 mRNA の発現は顕著で、LMP1 の量、及び導入時間依存的に大量の IL-8 産生が認められた。また、LMP1 は NF- κ B の活性化も誘導した。LMP1 の TRAF と TRADD 結合領域は NF- κ B の活性化に関与しているが、両部位を変異させた Δ LMP1 の発現においては、IL-8 の産生が認められなかった。

【考察】我々は、EBV が歯肉線維芽細胞から IL-6 と IL-8 を誘導することを報告しているが、LMP1 により歯肉上皮から産生される炎症性サイトカインも歯周病の進展に関与していることが示唆された。最近、ウイルスの関与も含めた新しい病因論：modern periodontitis pathogenesis model が提唱されている。EBV 関与機構の解明は、これまで細菌感染のみでは説明が困難であった歯周病発症機序の解明に繋がる可能性がある。

P-54
2402

骨粗鬆症モデルラットにおける頭頂骨の骨増生に対する影響

久保田 達也

キーワード：骨粗鬆症、卵巣摘出、プラスチックキャップ、骨増生

【目的】本研究では骨粗鬆症モデルラットにおける頭頂骨の骨増生に対する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) モデルを設置し、骨増生を観察した。

【材料と方法】雌性 Wistar ラット 12 匹を無作為に 2 群に分け、6 週齢時に OVX 手術 (実験群) および sham operation (対照群) を行い、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 5mm の外周溝を形成、ラウンドバーにてその内側に 5 か所の骨髄穿通孔を形成した。そして、規格化されたプラスチックキャップ (内径 4.4mm、高さ 1.5mm) を設置した。実験動物用 3D マイクロ X 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。12 週で屠殺し組織化学切片を作製し、光学顕微鏡下にて組織学的観察を行った。

【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。また、組織学的観察より実験群は、対照群と比較し新生骨様組織周囲に多くの結合組織が観察された。

【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た。このことから、骨粗鬆症は、骨の増生を抑制する可能性が示唆された。

P-56
2205

下歯槽神経切除後の顔面皮膚感覚機能回復に対する GDNF の有用性

渡辺 雅弘

キーワード：GDNF、神経再生

【目的】下歯槽神経損傷によるオトガイ部皮膚の感覚鈍麻は、歯科臨床において起こりうる偶発症の一つである。Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) は軸索伸長を促進することが知られており、下歯槽神経損傷後の軸索再生にも有効である可能性がある。今回我々は下歯槽神経切除モデルを作製し、切除部位への GDNF 局所投与による下歯槽神経支配領域皮膚における機械痛覚の経時的回復および下歯槽神経の免疫組織学的変化を解析した。

【材料と方法】SD ラット (7w, ♂) の下歯槽神経を約 2mm 切除し、下歯槽神経切除部位に GDNF (1.25 μ g) または 0.1M PBS を含浸したゼラチンで形成された徐放用ハイドロゲルを埋入し、皮膚縫合した。下歯槽神経支配領域であるオトガイ部皮膚への機械刺激に対する逃避閾値を、機械刺激装置を用いて経時的に計測した。さらに GDNF 受容体 (GFR- α 1) 中和抗体を埋入部に連日局所投与し、同様に逃避閾値を経時的に計測した。下歯槽神経切除後 5 日目に逆行性トレーサーである Fluorogold を下唇へ皮下投与し、三叉神経細胞を標識した。また ELISA 法により下歯槽神経切除部位の GDNF 量を測定した。

【結果】下歯槽神経切除後 5 日目、切除部位への GDNF 投与群は逃避閾値が対照群と比較して有意に回復した。また、GFR- α 1 中和抗体の連日局所投与により、その逃避閾値の回復が抑制された。三叉神経節において、GDNF 投与群は Fluorogold により標識された細胞数の増加が認められた。

【結論】下歯槽神経切除部位への GDNF 投与は神経軸索の伸長に作用し、オトガイ部皮膚の感覚機能回復を促進している可能性があることが示唆された。

