

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

P-01～68

10月26日（金）	ポスター掲示	8：30～10：00
	ポスター展示・閲覧	10：00～17：10
	ポスター討論	17：10～18：00
	ポスター撤去	18：00～18：30

P-01

ヒト3次元培養表皮モデルを用いたビタミンEの吸収性検討

小島 和晃

キーワード：ビタミンE，ホストケア，吸収性，ヒト3次元培養表皮モデル

【背景・目的】歯周病はバイオフィルムの形成を発端とし，病原因子に対する生体防御機能が破綻することにより歯周組織の破壊をおこすと言われている。このため，歯周病の予防には細菌側へのアプローチ（菌コントロール）に加えて生体側へのアプローチ（ホストケア）が重要と考えられている。我々はこれまで，ホストケアに有用な成分としてビタミンE（トコフェロール酢酸エステル；VE）を見出している。本検討では，VEの歯周組織への吸収性向上を目的として，製剤中VEの組織への親和性に関与するノニオン性界面活性剤について検討した。

【材料および方法】一般的な歯磨剤組成にVEと，親水性と親油性のバランスを表すHLBが異なる4種のノニオン性界面活性剤を配合した製剤4種を調製した。ヒト3次元培養表皮モデルはLabCyte EPI-MODEL24を用いた。口腔清掃時を想定した各製剤の人工唾液3倍希釈液を調製し，組織表面に添加，6時間静置後に組織中に含まれるVE量をHPLCにて定量した。

【結果および考察】高HLBノニオン性界面活性剤を配合した製剤と比較し，低HLBノニオン性界面活性剤を配合した製剤は，顕著に高いVE吸収量が認められた。低HLBノニオン性界面活性剤の配合により，製剤中VEの溶存状態が変化し，組織への親和性が向上したことでVE吸収量が増加したと推察された。

【結論】本研究から，ヒト3次元培養表皮モデルを用いることで，製剤に配合したノニオン性界面活性剤のHLBと組織へのVE吸収量の関連性を明らかにし，低HLBノニオン性界面活性剤を配合することにより，製剤中VEの歯周組織への吸収性が向上する可能性が示唆された。

P-03

ビタミンEの歯周組織修復作用について

柚島 眞里

キーワード：ビタミンE，ホストケア，組織修復，歯肉線維芽細胞，細胞増殖

【背景・目的】歯周病はバイオフィルムの形成を発端とし，病原因子に対する生体防御機能が破綻することにより歯周組織の破壊をおこすと言われている。このため，歯周病の予防には細菌側へのアプローチ（菌コントロール）に加えて生体側へのアプローチ（ホストケア）が重要と考えられている。我々はこれまで，生体内で様々な機能を有するビタミンE（トコフェロール酢酸エステル；VE）が歯周組織に及ぼす影響について検討を行い，VEが歯肉上皮のバリア機能に関わるE-カドヘリンを強化することを明らかにしている。一方で，歯肉線維芽細胞（HGFs）に対するVEの作用については十分に解明されていない。そこで本研究では網羅的な遺伝子解析技術を用いて，VEによるHGFsへの影響を検討した。

【材料および方法】HGFsは10%FBS含有α-MEMにて前培養し，実験に用いた。網羅的な遺伝子発現解析はDNAマイクロアレイ法にて実施した。即ち，1%FBS条件下でVEにて刺激し24時間後に抽出したtotal RNAを用いてcDNAを合成しサンプルとした。細胞増殖能の評価は，1%FBS条件下でVEにて刺激し24，48時間後にWST-1 assayを実施した。

【結果および考察】DNAマイクロアレイ解析の結果，HGFsではVEにより組織修復関連の機能を有する遺伝子として，細胞外マトリックスや細胞増殖に関わる遺伝子群の発現変動が認められた。そこで，細胞増殖能を評価した結果，VEの濃度依存的に有意にHGFsの増殖促進作用が認められた。

【結論】本研究からVEがHGFsの増殖を促進することにより，歯周組織修復に有用であることが示唆された。

P-02

ショウガオールはヒト歯肉線維芽細胞におけるAGE誘導性のIL-6およびICAM-1産生を抑制する

野中 康平

キーワード：糖尿病関連歯周炎，最終糖化産物，ヒト歯肉線維芽細胞，ショウガオール，抗酸化作用

【目的】歯周病は糖尿病の合併症の1つであり，糖尿病関連歯周炎では歯周組織に重度の炎症と破壊を生じる場合がある。最終糖化産物（AGEs）は糖尿病合併症の起因物質であり，我々は，歯肉線維芽細胞（HGFs）においてAGEsがIL-6とICAM-1の発現を増強することを報告した。一方，ショウガオールは生姜の主要成分で，抗酸化作用や生体内でのAGEs合成抑制作用を有することから糖尿病合併症予防に注目されているが，歯周組織における作用については不明である。本研究では，ショウガオールがHGFsにおけるAGEs誘導性IL-6とICAM-1に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】ショウガオールによる細胞障害作用を調べるために，HGFs株にショウガオールを作用させ細胞生存率を測定した。また，ショウガオールの抗酸化作用とAGEs誘導性の炎症関連因子産生への影響を調べるために，ショウガオールで前培養後にAGEsを作用させ，酸化ストレスマーカーである活性酸素種（ROS），IL-6およびICAM-1の産生をELISA法で確認した。

【結果および考察】ショウガオールのHGFsに対する細胞障害性は認められなかった。また，AGEsによりROSの産生は経時的に増加し，12h以降ではショウガオールによりAGEs誘導性ROS産生が抑制された。さらにショウガオールはAGEs誘導性IL-6とICAM-1の産生を有意に抑制した。これらの結果は，ショウガオールがHGFsにおいて抗酸化作用を介して，AGEsが誘導する炎症関連因子の産生を抑制することを示し，生姜が糖尿病関連歯周炎の病態改善に有用である可能性が示唆された。

P-04

ダイレクト・コンバージョン技術を用いた新規骨再生療法の開発

中井 敬

キーワード：ダイレクト・コンバージョン，誘導骨芽細胞，骨再生

【目的】顎骨腫瘍手術後の大規模骨欠損や歯周病に伴う歯槽骨吸収による歯牙喪失はQOLを著しく低下させる。近年，線維芽細胞から目的細胞へ直接誘導する技術（ダイレクト・コンバージョン）が報告された。本研究では線維芽細胞から誘導骨芽細胞への直接誘導法を最適化するとともに，スキヤホールドを用いて大規模骨欠損に対応しうる新たな骨再生療法を確立することを目的とする。

【材料と方法】ラット皮膚線維芽細胞にダイレクト・コンバージョン技術を用いて2種類の転写遺伝子を組み合わせ導入し誘導骨芽細胞を作成，骨分化誘導培地で培養した。培養後，Alkaline phosphatase染色，Alizarin Red S染色，von Kossa染色およびrealtime-RT PCRを行った。また，スキヤホールドを用いて誘導骨芽細胞を三次元培養し，骨形成能を検討した。さらに，大腿骨欠損モデルラットを作成し，骨欠損部位にスキヤホールドごと誘導骨芽細胞を移植した。移植4週間後に移植片を採取し，マイクロCTにて検討を加えた。

【結果と考察】線維芽細胞はダイレクト・コンバージョン技術により2次元培養および3次元培養両方の環境下で誘導骨芽細胞へ転換し，石灰化基質を産生することが示された。また，誘導骨芽細胞をスキヤホールドごと大腿骨骨欠損部へ移植したラットでは，移植をしない骨欠損部位と比べて顕著な骨再生を認めた。

【結論】ダイレクト・コンバージョン技術により線維芽細胞を用いて誘導骨芽細胞へ転換し，スキヤホールドを用いて骨欠損部へ移植することで，治療方法が確立されていない難治性の大規模骨欠損を，治療出来る可能性が示された。

P-05

ODAM遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響

鶴屋 祐人

キーワード：ODAM, 接合上皮, 転写調節, TNF- α , IL-1 β

【目的】Odontogenic ameloblast-associated protein (ODAM) は新規のエナメルタンパク質であり、その発現は成熟期エナメル芽細胞および接合上皮に限局することが報告されている。接合上皮でのODAMの役割と炎症歯肉における転写調節機構を解明するために、歯肉上皮細胞でのODAMの遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響について解析を行った。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞株Ca9-22細胞を、TNF- α (10ng/ml) またはIL-1 β (1ng/ml) で時的 (3, 6, 12, 24h) に刺激後、全RNAを抽出し、ODAM mRNA量およびタンパク質発現の変化をReal-time PCRおよびWestern blotで解析した。Ca9-22細胞をTNF- α またはIL-1 β で6時間刺激し、細胞内でのODAMタンパク質発現の変化を免疫染色で解析した。

【結果と考察】Ca9-22細胞をTNF- α (10ng/ml) およびIL-1 β (1ng/ml) で3, 6, 12, 24時間刺激すると、ODAMのmRNA量およびタンパク質量は、それぞれ増加した。

免疫染色ではCa9-22細胞をTNF- α (10ng/ml) およびIL-1 β (1ng/ml) で6時間刺激したところ、それぞれに蛍光強度の増加が認められた。

P-06

NLRP3インフラマソームは外傷性咬合による骨吸収に関与する

有田 陽一

キーワード：外傷性咬合, NLRP3インフラマソーム, IL-1 β

【目的】咬合性外傷によりIL-1 β の発現が誘導され、骨吸収に関与することが報告されているが、NLRP3インフラマソームの関与は明らかではない。本研究では、ラット咬合性外傷モデルを用いて、外傷性咬合による骨吸収にNLRP3インフラマソームが関与しているかを検討した。

【材料と方法】本実験は7週齢雄性的SDラットを用いて、上顎右側第一臼歯咬合面に1mm径のワイヤーをスーパーボンドにて接着することにより咬合性外傷を惹起した外傷群と外傷を与えない1日前から24時間毎にNLRP3インフラマソーム阻害剤であるGlyburideを経食道投与した外傷+Gly群を作製した。また、無処置のラットを無処置群とした。外傷を与えて5日目と10日目に右側下顎骨を採取した。パラフィン切片を作製し、HE染色、TRAP染色、IL-1 β とNLRP3の免疫組織染色を行った。

【結果と考察】外傷群5日では無処置群と比較するとTRAP陽性細胞数と骨吸収において有意に増加を認めた。外傷群10日では無処置群と比較すると有意に骨吸収が起きているが、TRAP陽性細胞数は外傷群5日と比較すると減少していた。また外傷+Gly群5日では外傷群5日と比べ、骨吸収量とTRAP陽性細胞数が有意に減少していた。

IL-1 β とNLRP3の免疫組織染色では外傷群5日で多数の陽性細胞を認めたが、他の群では陽性細胞をほとんど認めなかった。

本研究の結果において、咬合性外傷モデルにおいてNLRP3インフラマソームを抑制すると骨吸収およびIL-1 β が減少したことにより、外傷性咬合による骨吸収にNLRP3インフラマソームが関与している可能性が示唆された。

P-07

*Fusobacterium nucleatum*によるマスト細胞からのextracellular traps産生誘導

石山 莉奈

キーワード：慢性歯周炎, 歯周病関連細菌, マスト細胞

【目的】粘膜組織の細菌感染において、マスト細胞はmast cell extracellular traps (MCETs) というDNAから成る網状構造物を放出し感染防御を担う。マスト細胞は慢性歯周炎の歯肉組織に集積するが、歯周炎の病態形成におけるマスト細胞の役割は不明である。本研究は、歯周病関連細菌*Fusobacterium nucleatum*によるマスト細胞からのMCETs産生誘導について検討した。

【材料と方法】ヒトマスト細胞株HMC-1を*F. nucleatum* ATCC 25586株で刺激した。HMC-1細胞からのMCETs産生は細胞外DNA染色試薬SYTOX Greenの蛍光量で測定した。細胞をDNase Iで処理し分離したMCETsにおけるシトルリン化ヒストンH3および各種サイトカイン発現をウェスタンブロット法およびメンブレンアレイ法で検出した。また、MCETsにおけるMIF発現をELISA法で測定した。

【結果と考察】*F. nucleatum*刺激によりHMC-1細胞から細胞外DNA産生が検出され、DNase I処理抽出物にはシトルリン化ヒストンH3が発現したことから、*F. nucleatum*感染によりマスト細胞からMCETsが産生されることが示された。MCETsにはmacrophage migration inhibitory factor (MIF) が著明に発現した。

【結論】*F. nucleatum*感染によりマスト細胞から産生されるMCETsはMIF等の炎症性サイトカインを発現し、歯周組織の炎症誘導に関与する可能性が示唆された。

P-08

酸化ストレスによる細胞内亜鉛イオン動態の解明

八木 寛子

キーワード：歯周病, 亜鉛イオン, 酸化ストレス

【目的】歯周病の進行に酸化ストレスが深く関与することが既に示されている。一方、酸化ストレスは細胞内亜鉛イオン濃度を増加させ、その細胞毒性を増強することが明らかとなっている。以上の知見より、歯周病病態と細胞内亜鉛イオン動態に何らかの関連性があることが想定される。そこで、本研究では、酸化ストレスによる歯根膜細胞の細胞内亜鉛イオン動態を検討した。

【方法】ヒト歯根膜細胞 (HPDL) に対し、過酸化水素 (10mM~1mM) を添加し、2時間培養後、細胞内亜鉛イオン濃度がどのように変動するのかについて各種蛍光プローブおよび蛍光顕微鏡を用いて評価した。

【結果】HPDL細胞に過酸化水素を添加すると、過酸化水素濃度依存的に細胞内亜鉛イオンを検出する蛍光プローブFluoZin-3-AMの蛍光強度上昇を認めた。この過酸化水素誘導性FluoZin-3-AM蛍光強度上昇は、細胞外亜鉛イオンキレート剤であるDTPA添加では減弱しないが、細胞内亜鉛イオンキレート剤であるTPEN添加で減弱した。このことから、過酸化水素による細胞内亜鉛イオン濃度上昇は細胞内亜鉛イオン貯蔵部位由来であることが示唆された。更に、過酸化水素の添加は、細胞内非タンパクチオールを検出する蛍光プローブCell-Tracker Green CMFDAの蛍光強度の減弱を示した。

以上から、過酸化水素は細胞質内の非タンパクチオールからの亜鉛イオン遊離を促進することで、細胞内亜鉛イオン濃度上昇を誘導することが示唆された。

【考察】歯根膜における酸化ストレスは、細胞内の非タンパクチオールからの亜鉛イオン遊離を促進することが明らかとなった。

P-09

Neutrophil extracellular trapsによるヒト血管内皮細胞のICAM-1発現誘導

米満 由奈帆

キーワード：慢性歯周炎，歯周病関連細菌，好中球

【目的】細菌感染に際して，好中球はDNAから成る網状構造物であるneutrophil extracellular traps (NETs)を放出する。NETsには抗菌分子や炎症性サイトカインが発現し，NETsは細菌を捕捉して破壊することで感染防御を担う。慢性歯周炎の歯肉組織に局在する好中球はNETsを放出することが示されている。血管内皮細胞が発現する接着分子ICAM-1は好中球や単球の細胞外遊走を促進させ，炎症誘導に関わる。本研究は，歯周病関連細菌*Fusobacterium nucleatum*感染で好中球が産生するNETsによる血管内皮細胞のICAM-1発現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all-trans retinoic acidで分化誘導した好中球様細胞（ATRA-HL-60）を*F. nucleatum* ATCC 25586株で刺激した。刺激後，細胞をDNase Iで処理しNETsを回収し，ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）をNETsで刺激した際のICAM-1発現をフローサイトメトリー法で測定した。

【結果と考察】ATRA-HL-60を*F. nucleatum*で刺激するとNETsが放出され，同NETsにはMIFが高発現した。HUVECをNETsで刺激するとICAM-1発現が著明に亢進した。NETsによるHUVECのICAM-1発現亢進作用は，MIFアンタゴニストISO-1により抑制されなかった。

【結論】*F. nucleatum*感染により好中球から放出されるNETsは血管内皮細胞のICAM-1発現を亢進し，歯周組織の炎症誘導に関わる可能性が示唆された。

P-10

露出歯根表面における炎症起因物質浸透度の測定

加納 千博

キーワード：スケーリング，THP-1細胞，IL-1 β ，歯根表面，免疫反応

【目的】歯周治療は，露出歯根表面の炎症起因物質を除去し，生体為害性のない環境を作り出すことである。過去の研究から露出歯根表面のLPSは表層にのみ存在し，過度なルートプレーニングは必要ないとされている。しかし，LPSだけではなく，様々なPAMPsやDAMPsが生体応答を引き起こすと考えられる。本研究では，露出歯根面における炎症起因物質の浸透深度と，細胞に与える影響を検討することにより，どこまで露出歯根表面を削る必要があるのかを評価した。

【材料と方法】ヒト抜去歯露出セメント質にSRPを行い，削合物をストロークごとに回収し，破碎して刺激物とした。刺激物中の細菌ゲノムの存在をPCR法で測定した。次にヒト単球系細胞であるTHP-1細胞をその刺激物存在下で培養，mRNAと培養上清を回収し，炎症性サイトカインのmRNA発現量とタンパク発現量を測定した。また削合した歯根表面をレーザー顕微鏡にてスキャンし，削合深度を計測した。

【結果】レーザー顕微鏡での削合深度測定から，SRPの1～2ストロークは20-30 μ m削れ，3ストロークからは10 μ mずつ削れた。計5ストロークで80 μ mまで削合された。5ストロークまでの削合物すべてにおいて，細菌ゲノムが検出された。また，5ストロークまでの削合物はTHP-1細胞からのIL-1 β 産生を誘導した。

【結論】露出歯根面における炎症起因物質の浸透は，SRPにて5ストロークである80 μ mの深さまで観察され，その削合物はTHP-1細胞にて免疫反応を引き起こすことが明らかとなった。

P-11

miRNAによる歯根膜細胞の軟骨細胞への分化誘導

高井 英樹

キーワード：転写因子，miRNA，分化誘導

【目的】幹細胞を異なる性質の細胞に分化させるためには，特異的な転写因子（TFs）の発現誘導が必要である。miRNAは，複数の標的mRNAの3'UTRに部分相補的に結合し，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。最近の報告では，miR210はOsterixの発現を促進し，間葉系幹細胞を骨芽細胞に分化誘導した。そこで我々は，歯肉および歯根膜で発現量が多いTFsをmiRNAで抑制することで，どのような性質をもつ細胞が分化誘導されるかを解析した。

【材料と方法】Saos2を α MEM培地，HGF，HPDLおよびHCS-2/8をDMEM培地で培養し，間葉系細胞関連TFsのmRNA発現量を解析した。次にHGFとHPDL細胞で発現量が多いTFsの3'UTRに結合するmiRNAを検索し，上記の細胞でのmiRNAの発現量を解析した。さらにHPDL細胞で優位に発現するTFsをmiRNAで抑制後，TFsのmRNAとタンパク質量の変化を解析した。

【結果と考察】他の細胞と比較し，HGFとHPDL細胞ではTwist2とKLF12のmRNA発現量が多く，miRNAを検索した結果，両転写因子の3'UTRに結合するmiRNAはmiR141とmiR200aであり，HCS-2/8での発現量が多かった。HPDLにmiR141およびmiR200aを作用させた結果，両miRNAはTwist2およびKLF12の3'UTRに結合し，Twist2とKLF12のmRNAおよびタンパク質発現を抑制し，Sox5 mRNAおよびタンパク質量を増加させ，HPDL細胞を軟骨細胞に分化誘導する可能性が示唆された。

P-12

C/EBP β およびYY1を介したLPSによるAMTN遺伝子発現の調節

中山 洋平

キーワード：アメロチン，歯肉接合上皮，炎症，転写調節

【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，接合上皮の歯面接着への関与が考えられている。炎症時の歯肉の変化を想定し，リポポリサッカライド（LPS）によるAMTN遺伝子発現の調節機構を解析した。

【材料と方法】マウス歯肉上皮細胞（GE1細胞）を*Porphyromonas gingivalis*（*P. g.*）由来LPSにて刺激し，AMTN mRNA量の変化をReal-time PCRで分析した。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，LPSによる転写活性の変化を解析した。LPSに誘導された転写因子の変化はウエスタンブロットにて解析を行い，それらのプロモーター領域への結合は，ゲルシフトアッセイおよびクロマチン免疫沈降法（ChIPアッセイ）で検索した。

【結果と考察】AMTN mRNA量はLPS刺激後24時間で増加した。ルシフェラーゼアッセイ，ゲルシフトアッセイおよびChIPアッセイの結果，LPS刺激後，+60～-238塩基対上流に存在する，C/EBP β およびYY1応答配列と核内タンパク質の結合が増加した。また，LPS刺激によりC/EBP β およびYY1タンパク質発現量は増加した。

【結論】歯肉上皮細胞において，LPSによって誘導されたC/EBP β およびYY1は，AMTN遺伝子プロモーター領域の応答配列に結合し，AMTN遺伝子発現レベルを増加させた。よって，AMTN遺伝子は炎症時において発現レベルが変化し，接合上皮の恒常性に関与していることが示唆された。

P-13

不死化ヒト歯肉線維芽細胞およびヒト歯根膜線維芽細胞におけるGPR55発現について

三代 紗季

キーワード：ヒト歯肉線維芽細胞、ヒト歯根膜線維芽細胞、GPR55、カンナビノイド

【目的】カンナビノイドは麻に含まれる生理活性物質であり、身体に広範囲に分布するカンナビノイド受容体CB1およびCB2に結合し様々な作用をもたらすことが報告されている。近年CB1、2に続く第3のカンナビノイド受容体としてGPR55が同定された。GPR55は破骨細胞上に多く発現し骨代謝に関係することが示唆されている。また、抗炎症や特定の癌に対するバイオマーカーとしての可能性が報告されるなど、多方面で注目を浴びている。しかし、歯周組織における発現とその役割に関しては不明点が多い。そこで今回我々は、ヒト歯周組織構成細胞におけるGPR55の発現について検討を行った。

【材料と方法】10%FBS添加DMEM/F12にて不死化ヒト歯肉線維芽細胞(hTERT)およびヒト歯根膜線維芽細胞(HPDL)をそれぞれ培養し、GPR55発現の有無を蛍光免疫染色にて観察した。また、RT-PCRにてGPR55 mRNAの発現の比較を行った。

【結果と考察】蛍光免疫染色の結果、GPR55はhTERT、HPDLにおいてびまん性に発現しているのが認められた。両細胞ともにコンフルエント状態の細胞と比較し、対数増殖期にある細胞においてGPR55 mRNAの発現が多く認められた。また、HPDLと比較してhTERTにおいて多くの発現傾向を示した。

【結論】今回我々は、hTERTおよびHPDLにおけるGPR55発現を新規に確認した。これにより、歯周組織においてもGPR55を介したカンナビノイドの作用が存在する可能性が考えられる。今後、カンナビノイドのGPR55を介した歯周組織における抗炎症作用の可能性を検討していく。

P-15

神経堤由来間質細胞から骨分化に関わるマーカーの探索

黄地 健仁

キーワード：ヒトiPS細胞、神経堤由来間質細胞、骨分化

【目的】現在、様々な研究グループにおいて骨欠損に対する細胞治療研究が取り組まれているが、我々のグループでは歯周組織が神経堤に由来する間葉系組織であることに着目し、神経堤由来間質細胞を用いた効率良い骨生成に向けた取り組みを実施している。本研究ではヒトiPS細胞から骨分化段階においてどのような発現系が有効な指標であるか探索することを目的とした。

【材料と方法】ヒトiPS細胞からEGFやFGFなどを添加した基礎培地を用い、神経堤様細胞への誘導を実施し、さらに血清添加基礎培地にて間質細胞を作製した。神経堤由来間質細胞はコロニー形成能、倍加時間評価を実施し、さらに骨誘導培地にて約2週間誘導した。誘導後、Alizarin Red S染色にて骨形成定量評価を実施した。

【結果と考察】ヒトiPS細胞から作製された神経堤様細胞は、神経堤マーカーLNGFRを発現した。さらに、間質細胞誘導後に間葉系マーカーRunx2の発現を認めた。神経堤由来間質細胞は自己複製能を有し、骨分化可能な細胞集団であった。

【結論】ヒトiPS細胞は神経堤を介することで効率良く間質細胞を作製することができた。Runx2は骨前駆細胞のマーカーとして知られているが、近年ではRunx2が間質細胞の幹細胞性質においてヒエラルキーの頂点に位置するという報告もされている。本研究でもヒトiPS細胞から分化した神経堤由来間質細胞でRunx2の発現を認めたことから、Runx2が骨分化への有効な間質細胞指標マーカーである可能性が示唆された。今後、さらなるマーカーの探索およびその組み合わせにより骨再生に向けた効率化が望まれる。

P-14

Lamin A 変異体は骨芽細胞の分化を抑制する

築根 直哉

キーワード：骨芽細胞分化、Lamin A、lamin A (ΔC50) 変異体、老化

【目的】核内膜構成タンパクのlamin Aは、核の形成や細胞の分化に重要な役割を演じている。Lamin AのC末端50アミノ酸配列を欠損した変異体lamin A (lamin AΔC50)は、骨粗鬆症や骨形成不全を伴った早老症の原因タンパクであることが証明されている。しかしながら、lamin A ΔC50が如何なる分子メカニズムで骨形成を抑制しているのかは未だに解明されていない。本研究は、骨芽細胞分化過程におけるlamin A ΔC50の影響を明らかにするため、前骨芽細胞株細胞のMC3T3-E1へlamin A ΔC50を遺伝子導入し、表現形の変化について検討した。

【材料と方法】遺伝子導入したMC3T3-E1の骨芽細胞分化を誘導するためにβ-GP、アスコルビン酸、デキサメサゾン、BMP-2を含む培地で21日間培養した。骨芽細胞分化はアルカリフォスファターゼ染色とアリザリンレッド染色および骨タンパクの遺伝子発現によって評価した。GSK-3βとβ-cateninの発現はWestern blot法で検討した。さらにDCAおよびSB-216763を使用したβ-cateninの活性化実験も行った。

【結果】Lamin A ΔC50の導入はMC3T3-E1の骨タンパクの発現と石灰化を有意に抑制した。また、GSK-3βとβ-cateninの活性化とβ-cateninの核内移動を有意に抑制したことからlamin A ΔC50の骨芽細胞分化抑制メカニズムはWnt/β-cateninシグナルと密接に関係していることが示唆された。

P-16

ラット遊離歯肉移植片における重炭酸リンゲル液の影響について

津守 紀昌

キーワード：保存液、歯肉移植片、細胞活性

【はじめに】遊離歯肉移植術は歯肉退縮や角化歯肉の獲得を目的とした歯周形成手術の一つである。口蓋のドナー領域から外科的に切除された移植片を移植する際、移植片の細胞の壊死は術後の成功率の低下に影響を及ぼす。一般的に採取した移植片は室温の生理食塩水中で保存されることが多い。生理食塩水は血清と同程度の浸透圧を持っているが、生細胞のミトコンドリア活性に対する影響についての報告は認められない。今回、我々は歯肉移植の予後を向上させるため、重炭酸リンゲル液を用いて細胞活性の維持または向上に対して及ぼす影響に関して検討した。

【材料及び方法】8週齢Wistar-STラットを使用し、眼科用メスにて口蓋から歯肉移植片を採取した。採取した移植片を室温と37℃の温度に設定した保存液に浸漬させ1時間放置した後Live/Dead assay kitを用いて細胞の生死を共焦点走査型レーザー顕微鏡で観察した。保存液には実験群として重炭酸リンゲル液、対照群として生理食塩水を使用した。

【結果及び考察】室温および37℃においていずれも、生理食塩水と比較して重炭酸リンゲル液の方が生細胞を多く認めた。

細胞活性維持のためには保存液の浸透圧、栄養素、pH、緩衝能、温度といった様々な条件を整える必要がある。一般的に採取した歯肉移植片は口蓋から採取した後に生理食塩水にて保存されるが、細胞活性をさせる因子はない。重炭酸リンゲル液は医療現場で用いられる細胞外輸液であり、pH、緩衝能があるだけでなく、クエン酸添加によりミトコンドリア内のTCA回路に作用してATP産生に関与しうると考えられ、細胞活性を維持できる保存液となる可能性が示唆された。

P-17

高出力赤色LED照射はヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化および石灰化形成を促進する

阮 亜茹

キーワード：赤色LED, ヒト骨髄間葉系細胞, 硬組織分化

【目的】近年, Light Emitting Diode (以下LED) を用いた光線力学療法の歯周炎に対する有効性が示され, 臨床応用が模索されている。しかしながら, 硬組織再生に及ぼす影響に関する報告は少ない。本研究では, 高出力赤色LEDの硬組織再生への効果を明らかにするため, ヒト骨髄間葉系細胞 (以下BMSCs) の細胞増殖, 細胞毒性および硬組織分化について検討を行なった。

【材料および方法】: BMSCsはPromoCell社から購入し実験に供試し, 光源としてLedEngin社製高出力の赤色LEDを用いて, エネルギー量を調節し照射した。BMSCsを24時間培養後にLED照射を行い, 細胞増殖試験を行なった。また, LED照射による細胞毒性を明らかにするため, LDH産生量を測定した。次に, 分化誘導培地で12時間培養後にLED照射を行い, Alkaline phosphatase活性, ALP染色, カルシウム析出量, Alizarin red染色, Osteocalcin産生量及びRunx2 mRNAの遺伝子発現について検討した。

【結果と考察】: LED照射により, BMSCsの細胞増殖は3, 24および48時間において, エネルギー量依存的に抑制されたが, 72時間では変化は認められなかった。また, 細胞毒性はLED照射後48時間でエネルギー量依存的に促進することが示唆された。硬組織分化誘導後にLED照射を行うと, 硬組織分化能および石灰化物形成能は有意に上昇し, 6 J/cm²エネルギー量で最も促進される傾向を示した。

【結論】以上の結果により, 高出力赤色LEDはBMSCsの硬組織分化と石灰化物形成を促進することが示唆された。

P-18

高出力赤色LED照射における光増感剤がヒト歯肉上皮細胞に及ぼす影響

中島 幸市朗

キーワード: LED, ヒト歯肉上皮細胞

【目的】近年, 慢性歯周炎の治療法として抗菌光線力学療法が注目され, 光増感剤の併用で歯周ポケット内に活性酸素が発生し歯周病原細菌を減少させ, またプラークを抑制することが報告されている。しかし, 光増感剤が及ぼす影響に関する研究は少ない。本研究では光増感剤がLED照射の際にヒト歯肉上皮細胞 (HGEC) に及ぼす影響について比較検討した。

【方法】HGECは大阪大学 村上伸也教授より供与されたヒト歯肉不死化細胞株epi4を, 光源は (株) モリタ製作所より供与されたLedEngin社製高出力赤色LED (中心波長: 650nm) を用いて行なった。HGECに対する様々な照射エネルギーでの細胞増殖を計測し, その結果を基に最適照射エネルギーを策定し, 市販されているMethylene BlueとToluidine Blueを各種濃度で培養液中に溶解させ, LEDを照射し細胞増殖, 細胞毒性, 炎症性サイトカインの産生を計測した。

【結果】LED単体で影響は, 照射群のほうが非照射群より有意に高いHGECの細胞増殖を示し, 最適照射エネルギーを平均4 J/cm²とした。光増感剤を使用してLEDを照射すると, Methylene Blueを用いLED照射を行うと細胞増殖が促進されるが, Toluidine Blueでは逆に細胞増殖を阻害し, 細胞毒性が認められ各種炎症性サイトカインの上昇も認められた。

【考察】本研究ではLEDと光増感剤を併用すると歯肉上皮細胞に影響を及ぼし, 歯周ポケット内への高出力赤色LEDの照射にToluidine BlueよりMethylene Blueを使用するほうが望ましいと示唆される。

P-19

P. gingivalis LPS存在下における高グルコース環境がヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化に及ぼす影響

塩見 慧

キーワード: 糖尿病, 骨髄間葉系細胞, Porphyromonas gingivalis

【目的】歯周病と糖尿病とは双方向性に影響を及ぼしている。慢性歯周炎患者において, 血糖値のコントロールによる骨形成に及ぼす影響を明らかにするため, ヒト骨髄間葉系細胞に歯周病原細菌である*P. gingivalis* LPSを持続的に投与し, 培養液中のグルコース濃度における硬組織形成に及ぼす影響を評価した。

【材料と方法】空腹時血糖値を参考に, 通常グルコース群 (5.5mM), コントロールされた糖尿病患者群 (8.0mM), 非コントロール糖尿病患者群 (12mM, 24mM) の4群に濃度調整した培養液に, *P. gingivalis* LPSを1.0μg/ml添加し, 硬組織分化誘導を行った。その後, 培養1, 2週目のAlkaline phosphatase (ALP) 活性, 培養3, 4週目のOsteocalcin (OCN) 産生, 細胞外マトリックスへのCalcium (Ca) の析出ならびに硬組織組成の検討を行った。

【結果と考察】培養1週目ではグルコース濃度によるALP発現の差は認めなかったが, 培養2週目では高グルコース状態では低いALP活性を示した。培養4週目のOCN産生量とCa析出量では, グルコース濃度による差は認めなかったが, 培養3週目では24mMではその他のグルコース濃度と比較して低い傾向を示した。

【結論】*P. gingivalis* LPS存在下において24mMという高グルコース状態ではヒト骨髄間葉系細胞の硬組織形成に悪影響を及ぼすが, 糖尿病をコントロールしている状態では, 正常に硬組織を形成することができることが示唆された。

P-20

パルミチン酸がヒト歯根膜幹細胞の増殖, 硬組織分化に及ぼす影響

竹内 友規

キーワード: パルミチン酸, ヒト歯根膜幹細胞, 硬組織分化

【目的】パルミチン酸 (Pal) は飽和脂肪酸の一種であり, 高脂肪食の摂取や2型糖尿病の罹患によって血中濃度が増加し, ヒト歯芽細胞の生存と硬組織形成能を抑制することが報告されているが, 歯周組織再生への影響については報告がない。本研究では, Palがヒト歯根膜幹細胞 (hPDLSCs) の増殖, 硬組織分化に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】hPDLSCsは, ヒト抜歯歯根膜から分離培養した。細胞増殖の検討では, hPDLSCsを96穴プレートに2.0 × 10³ cells/wellで播種し, 100, 250および500μMのPalを添加した増殖培地に交換して3, 8, 24, 48および72時間後の生細胞数をホルマザンにて測定した。硬組織分化の検討では, hPDLSCsを24穴プレートに4.0 × 10⁴ cells/wellで播種し, 100, 250および500μMのPalを添加した分化誘導培地に交換して1, 2週後におけるALP活性, 2, 3週後におけるカルシウム沈着量の測定およびAlizarin Redによるカルシウム染色を行い, 3週後にELISA法にてOsteocalcinのタンパク発現量を測定した。

【結果と考察】細胞増殖試験では, Pal添加群において生細胞数は有意に減少した。硬組織分化誘導実験では, Pal添加群においてALP活性およびOsteocalcin発現量は有意に減少し, カルシウム沈着量は有意に増加した。以上の結果から, Palの添加によって硬組織形成量は増加するが, 細胞増殖, ALPとOsteocalcinの発現は抑制され, 正常な硬組織の形成による歯周組織再生が阻害される可能性が示唆された。

P-21

P. gingivalis LPSに起因する糖尿病性腎症の発症とTLR阻害剤による予防効果に関する研究

梶原 弘一郎

キーワード： *Porphyromonas gingivalis*, Toll-like receptor
糖尿病腎糸球体は通常は見られないTLR2/4を発現する。また *P. gingivalis* LPS (PgLPS) 投与糖尿病マウスはTLR活性化によって腎症を引き起こす。そこで、TLR阻害剤は糖尿病マウスのPgLPS誘導性糖尿病性腎症を予防するかを調べた。PgLPSおよびTLR阻害剤Eritoranを頬粘膜に同時投与した1型糖尿病マウスの血清尿素窒素(BUN)・クレアチニン(CRE)、糸球体のTLR2/4, TGF- β , I型コラーゲンおよびTLR2転写因子STAT3の発現を調べた。PgLPSはTLR2活性を引き起こすがTLR4活性はほとんどない(Darveau, ワシントン大学)。PgLPS投与糖尿病マウスはPgLPS投与健常マウス生存期間内にすべてhumane endpointに達した。EritoranはPgLPS投与糖尿病マウスの生存率を大きく改善しなかったが、BUN, CRE, TLR2, TGF- β , I型コラーゲンならびにSTAT3発現を減少させ、腎症を改善したことから、糖尿病性腎症にはTLR2とTLR4の両者が関与すると考えられた。PgLPS投与糖尿病マウス末期では極めてフレイルの状態になる。また、*E. coli* LPSは強力なTLR4リガンドであることから、糖尿病の生体環境でのPgLPS免疫は腸管免疫を作用させ、腸内細菌が壊れて発生したLPSが腎循環に入りTLR4を活性化すること、Eritoranはこれを抑制するが敗血症のような状態は改善できなかったと考えた。以上より、糖尿病性腎症は歯周病原細菌-TLR2経路とTLR4経路を合わせた複雑系で発症する可能性が示された。

P-23

誤嚥性肺炎と歯周病との関連 — *P. gingivalis*はTLR-NF κ B pathwayを介して呼吸器系上皮細胞からのIL-8産生を誘導する—

渡辺 典久

キーワード：歯周病原菌, 誤嚥性肺炎

【目的】誤嚥性肺炎と歯周病との関連はよく知られているが、歯周病がどのように誤嚥性肺炎の発症に関与しているのかは未解明のままである。我々は、*P. gingivalis* (*P.g*) が肺炎の発症において中心的な役割を担う炎症性サイトカインの産生と肺炎関連菌レセプター：PAFRの発現を誘導することを本学会で報告してきた。今回、*P.g*による詳細なサイトカイン誘導機構を検討したので報告する。

【方法と結果】*P.g*は、気管支上皮細胞及びマウスを用いた実験において、肺炎球菌と比較し数倍強くIL-8やIL-6の産生を誘導した。*P.g*による両サイトカインの産生には、主にNF- κ Bが、その他にp38とJNKが関与していた。次に、宿主側のレセプターを検討するために実験を行った結果、TLR2の中和抗体前処理により、*P.g*誘導性の炎症性サイトカイン産生はほぼ抑制された。さらに、293細胞にTLR2もしくはTLR4、及びNF- κ Bレポーターを安定的に発現させた細胞株に*P.g*を添加した結果、TLR2発現細胞でのみNF- κ Bの活性化が認められた。

【考察】誤嚥した*P.g*は、気管支上皮細胞のTLR2に作用し、主にNF- κ Bを活性化することにより炎症性サイトカインの産生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。実際に、口腔衛生状態が悪い人は 10^{12} 個以上の細菌を日々嚥下していると考えられるが、本研究ではそれ以下の菌量を実験に使用している。本研究により、歯周病原菌による肺炎発症機序、及び肺炎予防に口腔ケアが有効であることの一端を分子レベルで提示できたと考える。

P-22

内因性抗炎症Del-1分子誘導による炎症性骨破壊の新規治療戦略

前川 知樹

キーワード：抗炎症分子, 骨免疫, 非古典経路, リウマチ関節炎モデル

【目的】Del1は、白血球の遊走および炎症を制御している。近年、Del1が β カテニンを介さない非古典経路で重要な役割を果たしていることが報告された。そこでWnt5a-Ror2シグナル伝達系が、非古典経路の活性化と破骨細胞の分化において重要な因子の一つであることに着目し、Del1の炎症性骨破壊の制御能についてリウマチ関節炎、歯周炎を対象に検索した。

【方法】野生型とDel1KO, Ror2KO由来のマウス破骨前駆細胞を用いて、Wnt5aとDel1による破骨細胞分化関連分子の変動を評価した。Del1とWnt5a, Ror2との相互作用は、Biacoreにて結合能を測定することで評価した。Wnt5aデコイ受容体とDel1接種、自律的誘導法によるリウマチ関節炎と歯周炎の制御に関しては、WTマウスとDel1KOMausを用いたCAIAと歯牙結紮モデルを用いて解析した。

【結果と考察】マウス破骨前駆細胞において、Del1はWnt5a-Ror2伝達経路を阻害することが認められた。またDel1はWnt5aと競合的にRor2に結合するため、Del1はWnt5aの競合的拮抗剤として働くことが示唆された。さらにDel1の自律的誘導はCAIAによる炎症性骨破壊を抑制した。

【結論】Del-1は既存のインテグリンを介する破骨細胞分化抑制能と、白血球の遊走抑制による局所の炎症の抑制能に加え、Wnt5aに競合的に作用することによってリウマチ関節炎などの炎症性骨破壊を抑制していることが示唆された。

(本研究は平成29年度日本歯周病学会シーズ育成若手奨励研究助成を受けておこなわれた)

P-24

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のナisin耐性株の解析

有井 かおる

キーワード：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌, ナisin A, 耐性

【目的】細菌が産生する抗菌ペプチドであるバクテリオシンによるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)への耐性化の検証ならびに耐性機構を解明する。

【方法】黄色ブドウ球菌(*Sa*)のMRSAである実験株MW2を用いて、その 10^5 cellに乳酸菌が産生するバクテリオシンであるナisinをsub-MIC濃度24時間、3回作用させ、液体培地希釈法にてナisin MICが上昇した耐性菌株を分離した。遺伝子発現はacid phenol法によりRNA抽出後作製したcDNAを用いて、定量性PCR法により、タンパク発現はウェスタンブロッディング法により発現を検証した。シーケンス解析により変異部位を特定した。

【結果】ナisin MIC値の上昇を示した耐性株14株(SAN1-14)の遺伝子解析の結果、SAN8-14では、本来ナisin作用時に二成分制御系因子を介した発現誘導が起こるABCトランスポーター遺伝子発現が、ナisin非作用時においても恒常的に過剰発現していることが明らかになった。SAN8株のシーケンス解析結果から、二成分制御系因子に遺伝子変異を認めたため、不活性化株を作製し検証したところ、ナisin耐性野生株と比較し、不活性化株ではナisin MIC値の低下ならびに遺伝子発現及びタンパク発現の消失を示した。また欠損部位の遺伝子相補株では、ナisin耐性野生株と同様のMIC値を示した。

【考察】MW2株はナisinを高濃度、長期間暴露することにより、二成分制御系の遺伝子変異が生じることによりナisin耐性因子であるABCトランスポーターの過剰発現が起こり、ナisinに耐性化することが明らかになった。(会員外協力者：松尾美樹)

P-25

細菌感染による母体免疫活性化と胎児脳システム発達の関連性

安松 香奈江

キーワード：細菌感染、母体免疫活性化

【目的】これまで、脳システムは免疫システムからは隔離された領域として理解されていたが、最近になって脳システム発達に関与していることが明らかになってきている。胎児脳システム発達環境要因として、母体の感染によって引き起こされる母体免疫活性化（MIA）が注目されている。近年、ウイルス感染を模倣したモデルにおいてMIAが胎児脳システムに影響を与えることが報告されたが、細菌感染ではよく分かっていない。そこで本研究では、母体の病原性細菌感染によるMIAと胎児脳システム発達の関連性を解明することを目的とする。

【材料と方法】C57BL/6マウスに大腸菌由来リポ多糖（*E. coli* LPS）を腹腔内投与し、細菌感染を模倣したマウスモデルを構築した。そのモデルを用いてMIAにおける胎児を取り巻く母体免疫環境の解析を行った。また、MIAを起こしたマウスから生まれた仔マウスを用いてmarble burying test等による行動学的表現型の解析を行った。

【結果、考察】*E. coli* LPSで引き起こされたMIAでは、LPS投与後に特定のサイトカインの上昇が認められた。現在、MIAを起こした母親マウスから産まれた仔マウスの行動試験を行っている。

【結論】細菌感染を模倣した大腸菌由来LPSの腹腔内投与により、母体の免疫活性化を引き起こす系を構築した。

P-26

ジルコニアおよびチタンディスク上におけるStreptococciの付着評価

小田 由香里

キーワード：Streptococci、ジルコニア、チタン

【目的】天然菌における病原性プラークは、初期定着細菌群の付着後に、後期定着菌群が蓄積し形成されると報告されているが、インプラント表面における初期定着細菌群の付着についてはほとんど報告がなく、本研究は、ジルコニア及びチタンディスク上における初期定着細菌群Streptococciの付着評価を行うことを目的とした。

【材料および方法】直径13mmディスク状のイトリウム安定型正方晶ジルコニア多結晶（Y-TZP）と商業用純チタン（CpTi）に鏡面処理を実施し試料とし、算術平均粗さRa及び接触角θを用い表面性状を解析した。標準菌株*Streptococcus sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis*及び*S. mutans*を用い、Y-TZP及びCpTi上に24時間培養後、付着生菌数をATP-bioluminescent assayにて算定した。細菌形態については走査電子顕微鏡にて、また細胞外高分子物質および核酸を蛍光免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて評価を行った。

【結果および考察】Ra, θについては、Y-TZP及びCpTi間に有意差が認められなかった。また、付着生菌数については*Streptococcus* 3菌種において、CpTiと比較してY-TZPで有意に低い結果が得られた（ $p<0.05$ ）。一方、*S. mutans*はY-TZP及びCpTi間で有意差が認められなかった。形態観察においても同様の結果が得られた。以上より*S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis*はともにジルコニアに付着しにくく、*S. mutans*はジルコニアとチタンで付着量に差がないことが示唆された。

P-27

ペプチド核酸による*Porphyromonas gingivalis*ならびに*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*に対する特異的増殖抑制法の検討

杉本 貞臣

キーワード：ペプチド核酸、アンチセンス創薬、キャリアーペプチド

【目的】本研究は、細菌叢のコントロール方法として、ペプチド核酸（PNA）を応用したアンチセンス創薬の開発を目指すものである。今回、PNAを応用し、*P. gingivalis* (Pg) ならびに*A. actinomycetemcomitans* (Aa) を標的とし、菌種特異的な増殖抑制が可能であるか検討した。

【材料および方法】アンチセンスPNAはPg, Aaの保有するhsp60, acpPを標的遺伝子とし、翻訳開始点上流の12塩基に対するアンチセンス鎖、ならびに細胞導入のためのキャリアーペプチドを付加して合成した。増殖抑制効果は菌培養液にアンチセンスPNA（1μM, 3μM, 10μM）を添加し、培養液の吸光度を継続的に測定して評価した。さらに、標的遺伝子（hsp60）の蛋白質発現量をWestern blot法により調べた。

【結果および考察】Pg, Aaのhsp60に対するアンチセンスPNAは各標的菌の増殖を抑制した。アンチセンスPNAは標的以外の3菌種に対しては増殖抑制効果を示さなかった。PgのacpPに対するアンチセンスPNAは10μMの濃度で増殖を抑制したが、AaのacpPに対するアンチセンスPNAは増殖抑制を示さなかった。アンチセンスPNAの添加によってAaのhsp60蛋白質発現量の低下を確認した。設計したアンチセンスPNAは標的遺伝子に特異的に作用し、タンパク質発現と細菌増殖を抑制していると考えられる。acpPの増殖抑制効果が低かったのは、mRNAの高次構造が原因かもしれない。

【結論】アンチセンスPNAによって細菌叢中の標的細菌種の増殖を特異的に抑制できる可能性が示唆された。

P-28

*P. gingivalis*由来LPS及び酪酸の継続的な歯周組織内接種は、マウスの行動異常を惹起する

川瀬 貴博

キーワード：行動異常、リポ多糖、酪酸

【目的】歯周病は、*Porphyromonas gingivalis* (PG) をはじめとする一群の歯周細菌により発症することが知られている。近年、歯周病とアルツハイマー病（AD）の関係が盛んに議論され、最近ではPG感染がマウスの記憶障害を誘導することも報告されている。我々は、PGが生産するLPS及び酪酸の接種によりマウスに行動異常が起こるか否かを検討を行った。

【方法】ICRマウス28匹を4群〔生食塩水投与（C）、酪酸投与（B）、LPS投与（L）、酪酸+LPS投与（BL）〕に群分けした。1日1回計36日間、歯頸部に各被験物質を接種した。接種開始後0, 14, 21及び28日に、オープンフィールドを用いた行動解析（OFT）を行った。100 lux条件下で、10分間フィールド内を自由に行動させ、移動距離を記録した。接種開始後36日で剖検した。脳及び肝臓を摘出し、病理組織学的な検討を行った。

【結果】マウスは、新規のフィールドと比較して既知のフィールドでは探索欲求が低下する。よって、C群マウスは初回のOFTよりも接種開始後14日の2回目のテストで移動距離は65%まで減少した。しかし、L群マウスは減少率が85%であり、顕著な行動異常が認められた。2-way ANOVAの結果、要因“LPS”に有意差が認められた。この傾向は接種開始後21日も持続した。病理組織学的検査の結果、脳に顕著な異常は認められなかったが、肝細胞脂肪変性が要因“酪酸”で悪化した。

【結論】PG由来のLPSの接種でマウスが行動異常を起こし、酪酸で肝臓の組織異常が認められた。本実験系は追試を行い、再現性が認められた。

P-29

骨誘導と抗菌性を有する窒化ケイ素セラミックの口腔インプラントへの応用

堀口 智史

キーワード：骨誘導，窒化ケイ素セラミック

【目的】窒化ケイ素セラミックは優れた機械的特性と高い生体適合性と骨伝導性を有するため，米国では脊椎固定術用インプラントとして臨床応用されている。我々の研究グループは，窒化ケイ素の歯周病菌に対し抗菌性を世界で初めて報告した。本研究では，これまであまり知られていなかった窒化ケイ素の骨誘導性と常在菌に対する抗菌効果を検証し，歯科分野における新たなインプラント材料になり得るかを検討した。

【材料と方法】窒化ケイ素またはチタン合金の基板上に間葉系幹細胞株KUSA-A1を播種し，骨誘導下で2週間培養を行った。基板上の細胞の石灰化質の局在をレーザーラマン顕微鏡で観察した。培養上清中の成長因子IGF-1と骨基質タンパク質オステオカルシンをELISAで測定した。また，窒化ケイ素上の表皮ブドウ球菌の生存率を，テトラゾリウム塩法で測定した。

【結果と考察】窒化ケイ素の基板上で培養したKUSA-A1は，チタン基板に比べてより多くハイドロキシアパタイトと骨基質タンパクが沈着することを確認した。また，窒化ケイ素の基板上の細胞はチタンと比較し，IGF-1とオステオカルシンの有意な増加を認めた。また，窒化ケイ素の基板上で培養した表皮ブドウ球菌の生存率はチタンと比較し，有意に減少した。

【結論】骨誘導や成長因子の産生を促す窒化ケイ素は，早期に安定した骨結合と母床骨の再生を促進することが予想される。また，窒化ケイ素は歯周病菌だけでなく，常在菌に対しても抗菌効果を有することで，インプラント周囲炎の予防効果も期待できる。骨誘導と抗菌効果を併せ持つ窒化ケイ素セラミックは次世代のインプラントデバイスとして有望である。

P-31

機能性モチーフ修飾自己組織化ペプチドハイドロゲル応用がラットの歯周組織欠損の治療に及ぼす影響

松上 大亮

キーワード：機能性モチーフ修飾自己組織化ペプチド，フィブロネクチン，ラミニン，歯周組織再生療法

【目的】必須アミノ酸由来合成ゲルである自己組織化ペプチドハイドロゲル（RADA16）は三次元的足場材料として注目されている。当講座では，RADA16の歯周組織治療における効果を検討してきた。RADA16は機能性モチーフを修飾し，様々な機能を持たせることができる。本研究では，RADA16に，細胞接着に関与しているフィブロネクチンまたはラミニンを修飾したRADA16+PRG（PRG），RADA16+PDS（PDS）をラット歯周組織欠損に応用し，その治療への影響を検討した。

【材料および方法】走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて，RADA16，PRG，PDSの微細構造を観察した。10週齢の雄性Wistarラットの上顎第一臼歯近心に外科的に規格化欠損を作製し，根面をルートプレーニングしたのち，欠損内に生理食塩水（対照群），RADA16，PRG，PDSを応用した。術後2，4週で形態学的にはμCTによる骨梁構造解析を行い，組織学的にはH-E染色，Azan染色を行い，治療過程の解析を行った。

【結果と考察】RADA16，PRG，PDSは，生体の細胞外マトリックスと類似した微細な網目状構造を認めた。術後2週でPRG群は，対照群と比較して，骨体積率が有意に高く（ $p<0.001$ ），術後4週でPRG，PDS群は，対照群およびRADA16群と比較して骨体積率が有意に高かった（ $p<0.01$ ）。H-E染色において，術後2週ではRADA16，PRG，PDS群は対照群と比較して新生骨梁構造が多く認められた。

【結論】PRG，PDSの歯周組織欠損への応用は，新生骨形成を促進することが示唆された。

P-30

骨補填材を用いたGBRにおける純チタン製メンブレンの有効性について

石幡 浩志

キーワード：純チタン，骨増生，再生療法，骨補填材，リテーナー

【目的】GBRにおける骨補填材のリテーナーである純チタン製メンブレン（Tiハニカムメンブレン：TiHM）の効果について，吸収性メンブレン（Bio-Gide®: BG）と比較し検討した。

【材料と方法】9匹のビーグル犬の両側下顎P2-M1を抜歯後に4つの側方性骨欠損を作成し，それぞれを3群に分け，骨補填材のOSferion（OS），Bio-OSS®（BO），NEOBONE®（NB）のいずれかを充填した。次にOS，BO，NBが充填された各群について，充填後のリテーナーとしてTiHMあるいはBGにて被覆して閉創，さらに対照として骨補填材充填後，リテーナーを用いずに閉創した3亜群（TiHMs，BGs，対照， $n=4$ ）を設けた。剖検は術後16週目に行い，マイクロCTによる画像検査と組織学的形態計測を行った。

【結果と考察】再生骨体積はBO群とNB群ではTiHMs，BGsともに対照よりも増加したが，OS群-BGsでは減少した。骨密度はすべての群においてTiHMs，BGsともに対照より減少した。再生骨面積はTiHMsでは，すべての群において対照より増加したが，BGsではOS，NB群で減少した。一方，骨組織中の石灰化面積はTiHMs，BGsとも対照と同等ないし減少，但しOS-TiHMsはNB群-BGsより有意に大きかった。

【結論】TiHMは3種の骨補填材の充填下でBGよりも再生骨量を増加しうが，石灰化骨量はTiHM，BGともに骨補填材単独使用と同程度あるいは減少することが示唆された。

P-32

異なる骨移植材料を用いた再生組織に対する細菌感染の影響

野原 康平

キーワード：歯周組織再生治療，骨移植材，歯周炎

【目的】現在，歯周組織再生治療では様々な骨移植材が用いられている。一般的に吸収されない材料は感染に弱いとされているが，それらを用いて再生した組織に歯周炎が生じた場合，どのような変化が起きるのかを調べた報告はない。本研究では様々な骨移植材を用いた歯周組織再生治療により再生した歯周組織に歯周炎を惹起させ，使用した骨移植材によって，組織破壊に差があるかどうかを評価した。

【材料および方法】ビーグル成犬6頭（オス）を使用した。下顎両側第2前臼歯遠心および第4前臼歯近心に3壁性歯周組織欠損を作製し，自家骨，異種骨（無機ウシ骨基質），人工骨（ β -TCP）を無作為に移植した。術後12週で，歯肉溝に糸糸を挿入・結紮し，歯周炎を誘発させた。経時的にエックス線写真にて骨吸収を確認し，4週後に糸糸を除去した。急性炎症消退後に標本ブロックを採取した。micro-CTによる骨構造の解析，光学顕微鏡による組織学的評価を行った。

【結果】術後12週では全ての群で良好な治療を認めた。歯周炎誘発後には歯肉の発赤・腫脹などの炎症所見および僅かな骨吸収を認めた。組織学的評価では，自家骨群では既存骨と同程度に成熟した新生骨を認めた。異種骨群では歯冠側根面付近に顆粒の残存を多く認めた。人工骨群では歯冠側の大部分の顆粒は吸収され，新生骨に置換されていた。残存した移植材周囲への細菌感染を示唆するような所見は認められなかった。

【結論】本研究で用いた3種の骨移植材料においては，移植材料の残存に差が認められたものの，実験的に惹起した歯周炎による骨吸収への影響はほとんどないことが示唆された。

P-33

新規GBR用純チタン製メンブレンの有用性について：
βTCPを用いた *in vivo* での評価

須藤 瑞樹

キーワード：純チタン，歯槽骨，再生治療，骨補填材，リテーナー
【目的】 新規GBR用メンブレンであるTiHMの有用性について，βTCPを用いた既存品のFRIOS® BoneShield（FBS，DENTSPLY Sirona）と比較検討した。
【材料と方法】 8匹のビーグル犬の両側下顎P2-M1を抜歯後にそれぞれ4つの側方性骨欠損を作成した。動物を2群に分け，16骨欠損中15欠損にβTCP（OSferion G1-1，オリンパス）を充填し，TiHMF-（フレーム無），TiHMF+（フレーム有），FBSのいずれかで覆い閉鎖した（各群n=5）。剖検は術後6週目と12週目に行い，マイクロCTによる画像検査と組織学的評価を行った。
【結果と考察】 画像検査では，再生骨の体積はTiHMF+群が6週目，12週目とも最も大きかったが有意差は認められなかった。一方，骨密度は3群ともほぼ同じであった。組織学的評価について，TiHMでは6週目にメッシュ構造に未熟な線維芽細胞が付着増殖していた。12週目では，メンブレン直下の骨様組織の割合はFBSより高かった。また，標本上における再生骨面積はTiHMF+群が最も大きく，6週目ではFBS群に対して有意に大きかった。12週目の骨面積はTiHMF+群，TiHMF-群，FBS群の順で大きく，TiHMF+群はFBS群に対し有意に大きかった。
【結論】 βTCPを用いたGBRにおいて，TiHM上には組織由来細胞の付着と増殖を促すことが認められた。このためTiHMはFBSよりも同等以上の有用性が示唆された。

P-35

Er: YAGレーザーによるインプラント周囲炎に対するLPS除去，および再生外科治療の効果について

小松 康高

キーワード：インプラント周囲炎，エルビウムヤグレーザー
【目的】 感染インプラント体表面のLPS除去，およびインプラント周囲炎に対する再生外科治療の効果をEr: YAGレーザーと従来法において比較，検討すること。
【材料と方法】 対象はインプラント周囲炎（CIST: D）で，無作為に2群に分け（実験群：レーザー群12名，対照群：超音波＋生理食塩水綿球群13名）外科処置を行った。インプラント体の汚染物質除去に実験群はEr: YAGレーザーを，対照群は生理食塩水を浸した滅菌綿球で清拭し，歯石付着が認められる場合は併せて超音波スケーラー（チタンチップ）を使用した。その際，処置前後でインプラント体表面を滅菌ダクロン樹脂にて擦過し，LPSを測定した（エンドスペーサー法）。その後，骨欠損部に対し，Bio-Ossを補填した。ペースライン，3，12か月後において，臨床の評価，ポケット内細菌検査（PCRインベダー法；総菌数，*P.g.*，*T.f.*，*T.d.*，*P.i.*，*F.n.*）を行った。
【結果と考察】 ①臨床マーカーは2群とも術後に有意な改善が認められた。また2群間で有意差は認められなかった。②ポケット内細菌は2群とも術前後で有意な変化は認められなかった。③LPSは2群とも処置前に比較し，処置後有意に減少した（レーザー群：P<0.0001，超音波群：P=0.001）。また，術後LPS値は，レーザー群で超音波群と比較し有意に低かった（P=0.016）。
【結論】 Er: YAGレーザーによるインプラント周囲炎に対する再生外科治療は，従来法と同等の臨床改善効果が期待でき，またインプラント体表面に付着したLPS除去並びに不活化により効果的な可能性が示唆された。

P-34

*in vivo*での新規GBR用純チタン製メンブレンの有効性について

向阪 幸彦

キーワード：純チタン，歯槽骨，再生療法，骨移植，リテーナー
【目的】 薄い純チタン膜に超精密微細加工により小孔を付与し，骨再生用の足場を重ね持ったTiハニカムメンブレン（TiHM）の有用性について，既存のチタンメッシュ（Ultra flex mesh plate: UFMP）と比較し検討した。
【材料と方法】 厚さ20μmの純チタン膜に孔径20μm，孔間距離50μmのハニカム構造をレーザー加工にて付与し，純チタン製フレームを抵抗溶接法にて接合した（TiHM）。4匹のビーグル犬の両側下顎P2-M1を抜歯後に，25×6×4.5mm大の側方性骨欠損を作成し，腸骨からの粉砕自家骨を充填後，TiHMあるいはUFMPで覆い閉鎖した（n=4）。その後，経時的に肉眼的観察を行い，術後16週目にTiHMとUFMPを抜き出し剖検を行い，マイクロCTによる画像検査と組織学的形態計測を行った。
【結果と考察】 肉眼的観察において，TiHM群では，メンブレンあるいは固定用スクリューの露出を1例ずつ認め，前者の1例は9週目にメンブレンを抜去した。UFMP群では，2例にスクリューの露出を認めたが抜去例はなかった。抜去処置において，TiHMは周囲癒着なく剥離も容易であったことに対して，UFMPは歯肉直下の剥離が困難であった。再生骨体積は，TiHM群の方がUFMP群よりも有意に大きかった。また，骨密度はほぼ同程度であった。一方，骨欠損中央部の再生骨面積，石灰化骨面積はUFMP群の方がTiHM群より大きく，石灰化率も高かったが有意な差は認めなかった。
【結論】 自家骨移植において，TiHMはチタンメッシュと同程度の有用性が期待しうるが，メンブレンの露出により造骨が不十分になる可能性がある。

P-36

イヌ根分岐部Ⅱ級骨欠損におけるサンゴ外骨格由来骨補填材の可能性

田幡 元

キーワード：サンゴ外骨格由来骨補填材，歯周組織再生，根分岐部Ⅱ級骨欠損
【緒言】 骨移植術は歯周組織再生療法の一方法として臨床応用されており，様々な骨補填材が開発されてきたが，各々に利点・欠点があり万能のものは存在しない。我々は過去に生体吸収性で物理的強度が認められるサンゴ外骨格の骨誘導能を検討してきた。本研究では，ビーグル犬の前臼歯部に人工的に作成した根分岐部病変に顆粒状のサンゴ外骨格を骨補填材として応用し，サンゴ外骨格の歯周組織再生の可能性について検討した。
【材料および方法】 2歳齢の雌性ビーグル犬の前臼歯部に垂直の高さ5mm，水平的深さ3mmの根分岐部Ⅱ級骨欠損を作成し，露出根面にスケーリング・ルートプレーニングを行い，シリコン印象材を入れ2週間放置した。2週間後，同部位の歯肉を剥離し実験群（n=8）には除タンパク処理したエダコモンサンゴ外骨格の顆粒を埋入した。また何も埋入しない群を対照群（n=8）とした。術後1週ごとにデンタルエックス線撮影し，犠牲7日前にカルセイン，3日前にアリザリンを腹腔投与し，術後8週に安楽死させ，CBCT撮影にてエックス線学的評価を行った。また，骨組織におけるカルシウムの動態を共焦点レーザー走査型顕微鏡で，さらにH-E染色にて病理組織学的評価した。
【結果および考察】 エックス線学的評価では，実験群は周囲骨との境界は不明瞭になり，対照群と比較して根分岐部の骨体積の増加が観察された。共焦点レーザー走査型顕微鏡において人工的骨欠損部にカルシウムの添加が認められ，病理組織学的評価ではまた骨組織への置換を認めた。以上の結果からサンゴ外骨格由来骨補填材の埋入は歯周組織再生において有効であることが示唆された。

P-37

歯周組織再生治療におけるヒトリコンビナント線維芽細胞増殖因子 (rhFGF-2) と骨移植材の併用効果について

福場 駿介

キーワード：リコンビナントヒト線維芽細胞増殖因子、骨移植材、歯周組織再生

rhFGF-2は歯周組織再生における有効性が報告されている。歯周組織再生療法においてより大きな骨欠損には、生物製剤と、足場としての骨移植材の併用が推奨されているが、rhFGF-2と骨移植材を併用した研究報告は少ない。本研究では歯周組織再生治療におけるrhFGF-2の人工骨β-TCPもしくは異種骨との併用効果を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。下顎両側第3小白歯抜歯12週後、下顎第2小白歯遠心側、第4小白歯近心側に幅4mm、深さ5mmの1壁性骨欠損を作製した。実験群には、欠損部にrhFGF-2を塗布後、rhFGF-2と混和した骨移植材（オスフェリオン®もしくはBio-Oss®）を無作為に移植した。対称群は、骨移植材のみを移植した。術後12週で標本ブロックを採取し、micro-CT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。micro-CTでの所見では、両群とも欠損作製部は骨様組織にて満たされていた。また補填した骨移植材は残存していたがその周囲で新生骨の形成が認められた。組織切片での計測では、異種骨を用いた場合、FGF-2を併用した実験群では、有意に新生骨の形成が認められた。

【結論】本研究の結果からrhFGF-2と骨補填材を併用すると歯周組織再生を促進する可能性が示唆された。

P-39

塩化セチルピリジニウム配合含嗽剤を用いた歯周ポケットの超音波洗浄効果におよぼす口腔清掃の影響

鷺巣 太郎

キーワード：SPT、塩化セチルピリジニウム、超音波洗浄、Red Complex

【目的】第61回春季日本歯周病学会学術大会において、SPT期の歯周炎患者でプロービング時の出血（BOP）が持続する深い歯周ポケットに、セチルピリジニウム塩化物水和物（CPC）を用いて超音波洗浄することで、BOP陽性率が低下することを報告した。本研究ではBOPや細菌叢の改善とplaque Index (PII)との関係について分析を行った。

【材料と方法】(1) 研究デザインは標準治療対照、ランダム化、層別化、評価の盲検化、並行群間比較試験（北大病院自主臨床研究015-0532, UMIN000023851）(2) 対象はSPT中の歯周炎患者でPD6mm以上、SPT時に3回連続でBOP+の歯 (3) 試験方法は実薬群は0.5%システマSP-Tメディカルガーグル（ライオン）、対照群は水道水、介入開始日と4週後にポケット内の超音波洗浄 (4) 割付方法は無作為かつPDによる層別割付 (5) 検査は0、8週後にBOP、ポケット内細菌検査等を行い、診査を術者と異なる歯科医師が担当し評価の盲検化 (6) 目標症例数38症例

【結果と考察】実薬群において0週→8週後のRed complex (%)は5.24→3.35%へと有意に減少を認めたが、対照群は5.06%→4.4%で有意差を認めなかった。実薬群では特にTannerella forsythiaは大きな減少を示したが、Treponema denticolaには効果が低かった。また、実薬群ではPIIが高かった歯でもRed complexが減少してBOPに改善が見られたことから、深い歯周ポケットで清掃状態が悪くてもCPCを用いた超音波洗浄は歯周炎の活動性低下が期待できると考えられた。

P-38

歯周病口臭に対するグルコン酸銅の有効性検討

高橋 雅人

キーワード：歯周病、口臭、メチルメルカプタン、グルコン酸銅、バイオフィルム

【目的】歯周病口臭の主成分であるメチルメルカプタン（CH₃SH）は、口腔内の嫌気性菌が産生し、独特で不快な臭いを有する。さらに、CH₃SHは歯周組織の細胞増殖性やバリア機能を低下させることから、歯周病の悪化因子とも考えられている。深化した歯周ポケットでは、特に嫌気性菌が繁殖しやすく、CH₃SHの産生と歯周組織の機能低下が繰り返される可能性があると考えられる。本報では、歯周病口臭のより効果的な抑制を目指し、CH₃SH抑制成分の探索とメカニズム解析を行った。

【材料と方法】スクリーニングは、密閉容器にサンプルとCH₃SH水溶液を加えて37℃で10分間インキュベートし、気相中に揮散したCH₃SH濃度の比較により行った。また、含硫アミノ酸の代謝抑制効果は、培養皿に*A. viscosus*, *V. parvula*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*の混合菌液を加え37℃で4日間培養して作成したバイオフィルム（BF）を用いて行った。スクリーニングした成分で処置したBFを密閉容器に移し、基質であるメチオニン溶液中でインキュベートし、産生されたCH₃SHを測定した。

【結果および考察】スクリーニングの結果、グルコン酸銅（Gcu）に高いCH₃SH揮散抑制効果が認められ、Gcu配合製剤でBFを処置することにより、産生されるCH₃SHは顕著に抑制された。さらに、GcuはBFに吸着して増殖を抑制すること、メチオニンに結合してCH₃SH代謝を阻害することが示唆された。

【結論】Gcuは複数の作用点で効率的にCH₃SHを抑制できることから、歯周病口臭に対して有効であることが示唆された。

P-40

PCR法を用いた歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* 検出装置の開発

辻 勇輔

キーワード：歯周病、*Porphyromonas gingivalis*、PCR、検出装置、POCT

【目的】歯周病発症と進行にはRed Complexから構成される細菌が関与しており、その中でも *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.* 菌) は歯周病との関連性が強く、口腔内の *P.g.* 菌の数をすることで歯周病リスク診断が可能となる。しかし、歯科医療現場では *P.g.* 菌の数を即時的に測定する手段がなく、早急な対応ができなかった。本研究では、POCTに適した *P.g.* 菌検出装置を開発し、臨床応用について検討した。

【材料と方法】臨床サンプルには、同意を得られた大阪大学歯学部附属病院の患者100名から採取したブラークを使用し、ブラーク中の *P.g.* 菌数を測定した。本検出装置の測定結果については、real-time PCR法で得られた測定結果と比較した。また、ブラークサンプルについてはDNA処理を施し、検証を行った。なお、本研究は大阪大学倫理委員会承認のもと遂行した（承認番号：H29-E5）。

【結果と考察】real-time PCR法で *P.g.* 菌陽性を示す群は、本検出装置においてその約90%が陽性と判定された。また、*P.g.* 菌陰性を示す群についても同様の結果が得られたことから、本検出装置の測定結果はreal-time PCR装置の測定結果と遜色が無いことが示された。今後は、DNA化していないブラークを直接用いた臨床研究を進める。

【結論】本検出装置で *P.g.* 菌を検出・定量することができた。以上の結果から、本検出装置はPOCTに応用できる可能性が示唆された。

P-41

新規BANA分解酵素検出キット・アドチェックの評価 —第二報—

白井 通彦

キーワード：歯周病, BANA 分解酵素

【目的】歯周病の病態形成や進行に関与する *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythensis* (Tf), *T. denticola* (Td) は N-ベンゾイル-DL-アルギニルペプチターゼ (BANA 分解酵素) を産生する。我々は、第61回春季日本歯周病学会学術大会において、新規BANA分解酵素検出キット (アドチェック：アドテック社) がPg細菌株培養液や患者サンプルからBANA分解酵素を高感度で検出できることを報告した。今回、我々は本キットを用いて、他菌種との交差性試験を行った。さらに、患者の舌苔サンプル中のBANA分解酵素を検出し、歯周病への罹患との関係について検証した。

【材料と方法】アドチェックとPg, Tf, Td以外の41種類の口腔内細菌株の培養液を用いて、BANA分解酵素活性の検出を行った。次に、歯周病患者と健康者の舌苔サンプル中のPg, Tf, TdをアドチェックとリアルタイムPCR法にて検出し、歯周病への罹患に対する一致率を分析した。

【結果・考察】Pg, Tf, Td以外の41菌種の培養液にアドチェックによるBANA分解酵素活性は検出されず、交差性は認められなかった。次に、リアルタイムPCR法による舌苔サンプル中のPg, Tf, Tdの検出と歯周病罹患との全体一致率は93.2%であったが、アドチェックによる舌苔サンプル中のBANA分解酵素活性検出と歯周病罹患との一致率も94.5%と高い値を示した。以上の結果より、アドチェックはPg, Tf, Tdの検出キットとして有用であることが示唆された。

P-42

侵襲性歯周炎患者の血漿エクソソーム由来microRNAの発現解析

高木 美奈

キーワード：侵襲性歯周炎, エクソソーム, マイクロRNA

【目的】エクソソームはmicroRNA (miRNA) などの細胞機能を制御する分子を内包する微小分泌小胞であり、血液中の循環によって種々の疾患に関与する。さらに、エクソソームは標的指向性を有するため、全身的に健康な若年者の歯周組織破壊を来す侵襲性歯周炎 (AgP) の発症に関与する可能性がある。本研究では、AgPの病態を制御するmiRNAの同定を目的に、AgP患者の臨床検査値とエクソソーム中のmiRNA発現プロファイルとの関連を調べた。

【方法】AgPを罹患範囲によって局限型 (L-AgP, 4名) と広汎型 (G-AgP, 5名) に分類し (日本歯周病学会歯周治療の指針2015)、健康者 (H, 3名) と計3群12名の初診時を対象に、以下の解析を行った (本研究科倫理委員会承認：#1706-039)。

1. 歯周組織の炎症部位面積 (PISA) と Schei の歯槽骨吸収率を算出した。

2. 末梢血からエクソソームを単離し、全RNAから選択的にmiRNAを抽出した。

3. PCRアレイを用いて炎症反応と自己免疫に関連する86種のmiRNA発現を調べた。

4. ANOVA/Tukey-Kramer testを用いて有意性 ($p < 0.05$) を調べた。

【結果】1. PISAはG-AgPとH間のみ有意差があり、Scheiの骨吸収率はL-AgPよりG-AgPで有意に高かった。

2.3群間で発現量が異なる3種類のmiRNAを同定した。これらのうちの1種はG-AgPよりL-AgPで有意に高発現した。

【結論】AgP患者の血漿エクソソーム中に特徴的なmiRNAが発現することが明らかになった。

(平成29年度日本歯周病学会企画調査研究)

P-43

インプラント周囲炎の発症率と口腔清掃状態との関連についての調査研究

阪本 貴司

キーワード：インプラント周囲炎, インプラント周囲粘膜炎, 発症率, 口腔清掃状態, ブラークコントロールレコード

【目的】インプラント周囲炎の発症率を調べることを目的に当診療所でインプラント治療を行った544名の術後の経過を調査した。

【材料および方法】2001年1月から2015年12月までに当院で治療したインプラント患者112名、544本のインプラント周囲炎 (以後周囲炎) について調査した。インプラント周囲炎の診断基準はエックス線検査で2mm以上の骨吸収を認め、かつPPDが6mm以上でBOPが+のものとした。BOPが+でPPDが6mm以内、骨吸収を認めないものはインプラント周囲粘膜炎と診断した。また発症率とPraque control record (以後PCR) 値との関連も検討した (危険率1%)。

【結果と考察】周囲炎はインプラント単位で544本中42本 (7.7%)、患者単位で112名中12名 (10.7%) であった。周囲炎と診断された42本中、PCR値の記載があった32本の平均PCR値は23.4%であった。周囲炎でない502本中、PCR値の記載があった438本の平均PCR値は19.9%であった。PCR値の記載があった、周囲炎32本は周囲炎でない438本より有意にPCR値が悪かった ($p < 0.01$)。

【結論】当院にて埋入したインプラント544本のインプラント周囲炎の発症率についての調査した結果、周囲炎の発症率はインプラント単位で7.7%、患者単位で10.7%であった。周囲炎の発症率とPCR値に有意差が見られたことから、口腔清掃状態がインプラント周囲炎の発生に関与している可能性が示唆された。(当会倫理委員会承認 承認番号3201)

P-44

遊離歯肉移植術後の口腔関連QOLと疼痛の評価

鈴木 允文

キーワード：歯周外科手術, 口腔関連QOL, 疼痛

【目的】遊離歯肉移植術 (FGG) は手術部位が供側と受容側の2部位に及び、他の歯周外科手術と比較して患者への侵襲が大きい手術であると考えられている。しかしながら患者の負担に関する定量的評価はほとんどなされていない。そこで本研究ではFGG後の口腔関連QOLと疼痛のアンケート調査を行うことで、術後の患者の負担の度合いを定量的に評価することを目的とした。

【方法】明海大学歯学部付属明海大学病院歯周病科において2016年9月から2017年8月に歯周外科手術を行った患者のうち、FGGを施行された11名、フラップキュレタージュ (FC) を施行された16名を対象とした。口腔関連QOLの評価としてGOHAI、疼痛の評価としてVASを用いた。アンケートは術前及び術後3, 7, 14日目に行った。

【結果】GOHAIの合計値はFGG群では術前と比較して3日目に有意な低下がみられたが、FC群との群間差はみられなかった。さらにGOHAIを3つの下位尺度別に検討したところ、「機能面」においてFGG群、FC群ともに3日目に有意な低下がみられ、3, 7日目においては、FGG群はFC群と比較して有意な低下がみられた。「心理社会面」、「疼痛・不快」に関しては群内ならびに群間での有意差は見られなかった。一方、VASはFGG群では3日目に有意な上昇がみられ、3, 7日目においてはFC群との有意な群間差もみられた。

【考察】FGGはFCと比較して術後疼痛が高い術式ではあるが、術後の口腔関連QOLの低下は、手術部位が2部位に及ぶことや歯周バック、創部保護用シーネ等の使用による摂食、嚥下および発音の障害が原因であることが示唆された。

P-45

歯周病原細菌によるヒトと伴侶動物イヌとの人獣共通感染症検査の研究

田井 真砂子

キーワード：歯周病，人獣共通感染症，細菌DNA検査，血清IgG抗体価検査

【目的】歯周病はヒトだけではなくイヌにおいても罹患率が高く，両者間の歯周病原細菌の交差感染を示唆する報告があるが，実態は不明である。本研究では，ヒトで確立されている歯周病原細菌のDNA検査および血清IgG抗体価検査をイヌにも応用し，歯周病原細菌による人獣共通感染症の実態を把握するために検査法を検討した。

【材料と方法】対象細菌は，ヒトとイヌの主要な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* と *Porphyromonas gulae* を選択した。細菌検査では，16S-23S rRNA 遺伝子間スパーサー領域を標的とした各菌の特異的プライマーを設計し，リアルタイムPCR法で各菌の遺伝子を定量した。血清抗体価検査では，各菌の超音波破碎抗原を作製し，イヌ血清中のIgG抗体価をELISA法で定量した。動物病院を受診したイヌから歯肉縁下ブラークおよび血液を採取し，細菌数および抗体価を健常，歯肉炎，歯周炎群で比較した。(OKU-2015396, 2017598)

【結果と考察】歯周炎群は，口腔内の総菌数に占める *P. gulae* の割合が高く，*P. gingivalis* と *P. gulae* に対する抗体価が高い傾向があった。*P. gingivalis* と *P. gulae* に対する抗体価は概ね同等であり，共通抗原が存在する可能性があった。各菌の特異抗原を調製することによって，両宿主間の交差感染による免疫応答を識別できると考える。

【結論】イヌの歯周病原細菌感染の評価には，細菌DNA検査だけではなく，血清IgG抗体価検査は有効であり，ヒトとイヌ間の交差感染を把握する検査になることが示唆された。

P-46

オミックス情報のデータシェアリングによる歯周炎のメカニズム解明と全身疾患との関連についての解析
鈴木 麻美

キーワード：歯周炎，データシェアリング，全身疾患，オミックス情報，パスウェイ

【目的】歯周炎は多因子が複雑に関与し発症・進行する。近年は，他の疾患との関連も報告されている。メカニズム解明には，多くのサンプルや時間，高額な研究費用が必要となる。現在，研究によって得られた貴重なデータを公共データベースに登録し，他の研究者とのデータシェアリングが推奨されている。本研究では，複数の研究機関から登録された歯周炎，および，関連が考えられる疾患について，登録されているデータを用い，解析方法と結果の検討から，問題点の検討を行った上で，データシェアリングの有用性の検討を目的とする。

【材料と方法】公共データベースに登録されているオミックス情報から，歯周炎，および，関連があると考えられている疾患のデータセットを抽出し，複数のバイオインフォマティクス解析方法を用いて，結果と問題点の比較検討を行った。

【結果と考察】データベースに登録されているデータは，研究環境，および，研究方法の異なる状況を考慮する必要がある。データセットごとに行った解析結果には，異なる研究方法によるバイアスがあり，比較検討することは難しいが，共通する結果については，比較検討することにより，共通因子の疾患へ関連を検討することは，歯周炎のメカニズム解明，および，他の疾患との分子レベルで解明するために有効な手法である。

【結論】公共データベースには，多くのデータ登録がされており，複数のデータセットを比較解析することにより，検証実験の必要性は残るものの，疾患の分子レベルでの解析の方向性，さらなる研究計画の立案につながる。このことから，オミックス情報をデータシェアリングすることの重要性が今後さらに増すものと考えられる。

P-47

ICTを活用した歯科衛生士による要介護高齢者の口腔健康管理について

三浦 久美子

キーワード：口腔健康管理，クラウド型Webアプリケーションシステム，医療・介護連携

【背景と目的】介護施設で要介護高齢者の口腔健康管理を担う歯科衛生士が，業務情報を機動的に管理し，受容可能な表現物（紙媒体）を用いて効率的かつ効果的に発信することは，関係職員や施設利用者などの「口腔・栄養管理」に対する動機付けや良質なケア業務の継続化の原動力となる。今回，施設勤務の歯科衛生士が扱う情報を管理すべく開発したWebアプリケーションシステムを併用し定着した一連の業務フロー，および表現物などの活用方法と効果について報告する。

【方法】システムは，アプリケーション用サーバ（HTML5）とデータベースサーバ（PostgreSQL）の2基構成のクラウド型システムとして構築し，業務用端末からHTTPS通信でログイン認証しデータを送受することで，情報セキュリティを確保した。メイン機能として，身体状況等の基本情報，口腔衛生・口腔機能の評価結果，歯式および画像情報の入力機能，ならびに口腔衛生管理加算算定や介護職員への情報提供に必要な紙媒体の出力機能を装備した。また，複数の評価結果の組合せから介護職員の口腔健康管理時の要点や誤嚥性肺炎発症の示唆などを，介護職員が理解できる定型文として自動的に導出するロジックプログラムを搭載した。

【結果および考察】本システムを併用した口腔健康管理の業務フローが定着した現在，紙媒体出力までのバックオフィス業務の効率化は勿論のこと，上記の紙媒体が施設利用者家族への説明，あるいは介護職員との情報共有や連携において効果的に活用されていた。また，口腔状態など画像の提示で施設利用者の動機付けに繋げるなど，システムのメリットを活かした業務が実践されていることが示された。

P-48

要介護者の個別課題を共有・管理するICTシステムの開発

尾崎 和美

キーワード：クラウド型Webアプリケーションシステム，地域ケア会議，タイムライン機能，医療・介護・福祉連携

【背景と目的】医療・介護・福祉のニーズ（個別課題）を併せ持つ要介護者を地域で支えていくためには，これらサービスの提供者間で生じる連携を，地域ケア会議など適時適切な体制（運用）や手段でマネージする必要がある。今回，徳島県内の一中山間地域で運用されていた要介護者の情報共有ツールの通信環境改善と利便性向上を目的に，クラウド型Webアプリケーションシステムを新規に構築したので，運用上の特徴や利用状況を報告する。

【方法】メイン機能として，地域ケア会議での利用を前提に要介護者の個別課題や訪問調査結果の事前入力と解決策など会議時の逐次入力に対応できるインターフェースを装備した。また，個別課題の迅速な情報伝達と共有を目的としたタイムライン機能を新たに装備した。利用状況として，要介護者の登録状況やシステムユーザである地域職員の属性内訳のほか，テキストマイニングによって職種間での情報交換の内容を分析した。

【結果と考察】システム導入後220日経過した時点で，導入自治体の総人口の約23%，65歳以上人口の約44%にあたる要介護者の情報が本システムで管理されている。システムユーザとして，医療職（約31%），介護職（約28%）および行政職（約22%）に加え，約18%の救急隊員が本システムを使用しており，多数の救急搬送情報を入力している点が運用上の特徴の一つである。また，本システムの登録情報をテキストマイニング分析したところ，受診勧奨や制度介入に加え，認知度の確認や福祉職による検査実施，あるいは残薬や身体・精神状況の確認など見守りの中で得られる情報の密な交換が実践されていることが明らかになった。

P-49

歯周病患者における機能指標としての咀嚼機能検査の有用性について

宮沢 春菜

キーワード：歯周病，炎症指標，機能指標

【目的】歯周病と糖尿病など様々な全身疾患が双方向性の関連を持つことが報告されており，健康寿命の延伸には医科歯科連携が重要である。歯周病が全身に与える影響を客観的に評価でき，かつ医科の関係者に提供する際にわかりやすい指標の臨床への導入が求められる。歯周病は全身の炎症状態を悪化させると同時に歯周組織破壊に伴い咀嚼能力の低下を来すことから栄養学的な面で全身に悪影響を及ぼすが，歯周病罹患状態と咀嚼能力の相関についてのデータは不十分である。本研究では，歯周病罹患状態を評価する炎症指標と咀嚼能力を予測する機能検査指標の相関と有用性を検証した。

【材料と方法】中等度から重度慢性歯周炎と診断され歯周治療を受け，現在SPT中の患者（SPT群），これから歯周治療を開始する患者（歯周炎群），歯周炎を有しない者（健常群）を対象とした。歯周病重症度の指標としてPISA値，PESA値，残存歯数，動揺歯数，平均骨吸収度を，咀嚼機能はGC社製グルコセンサー[®]にて評価し，各々の指標について統計解析を行い群間比較した。

【結果と考察】PISA値，PESA値はSPT群，健常群と比べ歯周炎群で有意に大きかった。歯周炎群と比べ残存歯数は健常群で有意に多く，動揺歯数はSPT群，健常群で有意に少なかった。咀嚼機能検査値はSPT群，歯周炎群と比べ健常群で有意に高かった。咀嚼機能検査値と各歯周病重症度の指標との相関は低かった。

【結論】咀嚼機能検査値は，歯周組織破壊や炎症の程度とは独立した項目として考慮する必要がある，歯周病罹患の影響を総合的に評価するためには炎症指標と咀嚼機能検査指標の併用が望ましいことが示唆された。

P-51

歯周基本治療における歯肉溝滲出液中サイトカイン量の変化

笠井 信吾

キーワード：歯周炎，歯肉溝滲出液，サイトカイン

【目的】歯の動揺が歯周組織の治癒を阻害している可能性が指摘されているが，ヒトにおいてそれを検証した研究は少ない。本研究では，歯周基本治療において歯肉溝滲出液（GCF）中の多種のサイトカイン量を測定することにより，咬合調整を含む歯周基本治療によってどのように変化するかを調べた。

【材料及び方法】九州歯科大学附属病院歯周病科を受診した慢性歯周炎患者のうち，研究参加への同意が得られた11名を被験者とした（九州歯科大学倫理委員会承認番号：15-1）。これら被験者の前歯・小臼歯のうち動揺度1度あるいは2度である18歯を被験歯とした。垂直性骨欠損が認められる部位から，初診時，歯肉縁上スケールリング（SC）後，咬合調整後，SRP後にGCFを採取し，メンブレン抗体アレイによって40種類のサイトカイン量を測定した。被験歯については6点法でPPD，BOPを測定し，歯周ポケット内表面積/炎症表面積（PESA/PISA）を算出した。

【結果及び考察】PESA及びPISAは，初診時と比較して全ての採取時点で有意に減少していた。GCF中サイトカイン量について初診時と比較すると，SC後ではEotaxin，Eotaxin-2，ICAM-1，IFN- γ ，I-309，IL-11，IL-12p40が，SRP後ではEotaxin，Eotaxin-2，G-CSF，GM-CSF，ICAM-1，IFN- γ ，IL-1 α ，IL-6sR，IL-11が，各々有意に減少していた。SRP後にのみ有意に減少していたG-CSF，GM-CSF，IL-1 α ，IL-6sRは，咬合調整及びSRPによる効果と関連している可能性が考えられた。

P-50

 β -グリチルレチン酸配合 α ゲル製剤が歯肉炎症に及ぼす影響

佐藤 佳昌

キーワード： β -グリチルレチン酸， α ゲル，歯肉炎症

【背景】 β -グリチルレチン酸（BGA）は甘草由来の抗炎症剤であり，有効成分として歯磨剤等に配合されている。これまでに我々は，スキンケア領域等で用いられている α -ゲル技術を応用した製剤（ α ゲル製剤）がBGAを歯肉へ高収着させる可能性を示唆してきた。本試験ではBGA配合 α ゲル製剤の連用がヒト歯肉炎症に及ぼす影響について検討した。

【方法】歯肉の出血や腫脹を自覚している首都圏在住の60歳代男女34名を被験者とし，普段使用している歯磨剤に置き換えて，試験製剤にてブラッシングを行わせた。試験製剤は α ゲル製剤および非 α ゲル製剤の2種であり，BGAの配合量は同様とした。試験は2重盲検ランダム化比較試験にて実施した。口腔診察は試験開始日（初期値），2週間後，1か月後，2か月後に行い，GI，BOP，PPD，CALおよびOHIの測定を行った。

【結果および考察】 α ゲル製剤および非 α ゲル製剤の使用により，初期値に比して2週間後，1か月後および2か月後でBOPが改善し，2週間後および1か月後にPPDの改善が認められた。このことから，BGAは歯肉炎症を改善することが改めて確かめられた。一方，6mm以上の歯周ポケットを有する被験者での解析では， α ゲル製剤では初期値に比してBOPおよびGIが2週間後，1か月後および2か月後で有意に改善したが，非 α ゲル製剤では有意差を認めなかった。これには， α ゲル製剤のBGAの歯肉への高収着が関与した可能性が推察される。

【結論】BGA配合 α ゲル製剤は歯肉炎症の改善に有効である。

P-52

生活習慣病患者における心臓血管イベントとApolipoprotein Hに対する自己抗体の関係

加藤 幸紀

キーワード：生活習慣病，心臓血管イベント，Apolipoprotein H，TLRVYK peptide

【目的】歯周炎患者では歯周病原細菌に対する抗体が産生される。歯周病原細菌と宿主のApolipoprotein H（ApoH）上のTLRVYK peptideとの間には分子相同性が存在し，TLRVYK peptideに対する抗体はApoHの機能を損ない，血栓リスクを増加させることが報告されている。本研究では抗TLRVYK抗体の役割を明らかにするため，抗TLRVYK抗体価と心臓血管イベントの関連を検討した。

【材料と方法】生活習慣病患者（糖尿病，高血圧，高脂血症）91名と健康者23名を対象とし，血糖，LDL・HDLコレステロール，ApoH依存性および非依存性抗カルジオリビン抗体，抗TLRVYK抗体価を測定した。患者群と健康者群とで抗TLRVYK抗体価の比較を行い，さらに患者群の中で心臓血管イベント（脳梗塞，心筋梗塞）の既往者と健康者との間で抗TLRVYK抗体価を比較した。抗TLRVYK抗体価高値群と低値群に分けて心臓血管疾患イベントを従属変数としてロジスティック回帰分析を行った。

【結果】ApoH依存性及非依存性抗カルジオリビン抗体価，抗TLRVYK抗体価は生活習慣病患者と健康者の間で有意差は認められなかった。抗TLRVYK抗体価は心臓血管イベントの既往がある生活習慣病患者で健康者より有意に高かった。ロジスティック回帰分析で抗TLRVYK抗体価が高値の患者では有意に心筋梗塞の既往を有する割合が高かった。

【考察】生活習慣病患者の中で抗TLRVYK抗体価が高い患者では心筋梗塞の既往を有する割合が高かったことから，抗TLRVYK抗体の上昇が心臓血管イベントのリスクを上昇させる可能性が示唆された。

P-53

インプラント治療におけるリスクファクターの明確化—唾液を用いた歯周病関連細菌検査—

野本 冬歌

キーワード：歯周病関連細菌検査、唾液、RT-PCR法、インプラント
【目的】 インプラント周囲炎は口腔内細菌による感染症であり、その原因菌は歯周病関連細菌とほぼ一致していると言われている。このことより歯周病関連細菌検査は、歯周病の診断やインプラント周囲炎のリスク判定に有用であると考えられる。そこで、インプラント治療前に採取が簡便で口腔内の細菌叢を反映していると考えられる唾液で歯周病関連細菌の検出と定量を行い、インプラント周囲炎のスクリーニング検査として有用性を検討した。

【対象および方法】 東京歯科大学口腔インプラント科に来院した患者1288名（平均年齢53.2±12.9歳）を対象とし、各被験者より刺激全唾液1mLを採取した。*Porphyromonas. gingivalis* (*P.g*)、*Aggregatibacter. Actinomycetemcomitans* (*A.a*)、*Prevotella. Intermedia* (*P.i*)、*Tannerella. Forsythia* (*T.f*)、*Treponema. denticola* (*T.d*)の5菌種においてRT-PCR法を用いて定量測定を行った。PPD (Probing pocket depth)は最深部を測定し、統計解析はSpearmanの相関分析で行った。**【結果および考察】** 平均PPDは5.0±2.0mmであった。PPDと*P.g* ($r=0.31$, $r=0.30$)、*P.i* ($r=0.25$, $r=0.24$)、*T.f* ($r=0.31$, $r=0.29$)、*T.d* ($r=0.32$, $r=0.29$)において、菌数および総菌比率ともにそれぞれ有意な相関を認めた ($p<0.01$)。以上によりPPDと各歯周病関連細菌に相関があり、本検査の有用性が示唆された。

P-54

歯周病模型に対する従来法印象とデジタル印象法の再現性についての評価

杉原 俊太郎

キーワード：口腔内スキャナー、デジタル印象、動揺歯

【目的】 中等度以上に進行した動揺歯を補綴により固定する際には、印象や技工操作による歯の変位量を少なくすることが必要である。本研究は、デジタル印象法と従来の印象法の位置再現性の比較検討を行った。

【材料と方法】 歯周病学基礎実習用模型（；以下実習模型）を使用し上顎右側中切歯、上顎右側側切歯、上顎右側犬歯の動揺度が一定となるように固定ねじを調節した。印象採得法は、①アルギン酸と寒天印象材による連合印象法、②シリコン印象材によるダブルミックス法、③口腔内スキャナーを使用したデジタル印象法とした。①と②は印象採得後、超硬石膏を注入し石膏模型を作製した。実習模型と①、②の石膏模型を技工用スキャナーを用いSTLデータとした。再現性の評価として3D計測ソフトウェアを用いて実習模型の対象歯に対してそれぞれのSTLデータの重ね合わせ評価を行った。

【結果と考察】 上顎右側側切歯の変位量は①は $0.17 \pm 0.01\text{mm}$ 、②は $0.26 \pm 0.04\text{mm}$ 、③は $0.04 \pm 0.08\text{mm}$ であり、③は①と②と比較し有意に低値を示した。上顎右側犬歯では①は $0.17 \pm 0.04\text{mm}$ 、②は $0.18 \pm 0.1\text{mm}$ 、③は $0.06 \pm 0.02\text{mm}$ であり③は①と②と比較し有意に低値を示した。デジタル印象法は、動揺歯における従来法の印象と模型作成時の変形を補正できるものと考えられる。

【結論】 本研究により、動揺歯の補綴による固定を行う場合の印象採得においてデジタル印象法が従来の印象法と比較して有用である可能性が示唆された。

P-55

音波ブラシによる隣接面プラーク除去効率の評価

佐藤 博紀

キーワード：隣接面プラーク、音波歯ブラシ

【背景・目的】 歯間部のブラッシングは手用歯ブラシだけでは困難なことも多く、患者には歯間ブラシやデンタルフロスなどの歯間清掃用具を指導することが多い。音波ブラシでは頬舌側中央部のプラーク除去に限らず、音波が生み出す水流によって歯間部のプラークが除去できる可能性が示されている。そこで、本研究は音波歯ブラシの歯間部プラーク除去効果を調査することを目的としている。

【材料と方法】 東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来でメインテナンスを行なっている患者30名を対象として、音波歯ブラシ（ソニッケアー、PHILIPS社製）と手用歯ブラシで、隣接面プラークの除去率を比較した。対象部位は犬歯から第一大臼歯までの4歯の連続歯列を、2部位任意に選択して、一方は音波歯ブラシを使用して、もう一方は手用ブラシを使用して1歯10秒ずつ磨き、歯磨き前後でプラーク付着部位を評価し、その除去率を比較した。

【結果】 隣接面のプラークの除去率について、音波ブラシは手用ブラシと比較して有意に除去率が高かった。下部鼓形空隙の形態（幅：1mmまたは2mm、高さ：1mm、2mmまたは3mm以上）に関わらず、音波歯ブラシで有意に除去率が高かった。

【考察】 音波歯ブラシの使用は、手用歯ブラシでは除去しにくい隣接面のプラークの除去できる可能性があることが示唆された。習得・熟達に時間がかかる歯間清掃用具使用を補うことができるかもしれない。

P-56

ソーラーN4®のプラーク除去効果について

吉峰 正彌

キーワード：TiO₂、ソーラーパネル、Rustogi Modified Navy Plaque Index

【目的】 酸化チタン（以下TiO₂）触媒機能、ソーラーパネルを搭載した歯ブラシが歯周組織の改善に有用である事が報告されている。本研究では、搭載するソーラーパネルの面積を増加させて応用した歯ブラシを用いて歯周組織の改善効果を、臨床パラメーターから検討した。

【材料と方法】 被験者は日本医科大学千葉北総病院歯科の軽度～中等度歯周炎外来患者とし、歯周基本治療を終了し、SPTに移行した者10名（男性2名、女性8名、平均年齢 61.4±14.1歳）とした。使用した歯ブラシはTiO₂光触媒機能、ソーラーパネルを搭載したソーラーN4®（株式会社シケン）とした。10名の被験者を、5名ずつ割付したクロスオーバー試験とし、TBI終了後、1クール、2クールにてソーラーN4®とプラセボを各被験者に交互に使用させ、Test群・Control群とした。付着プラークの評価には、Rustogi Modified Navy Plaque Indexを用いた。また同時に、細菌カウンタ®（パナソニックヘルスケア）で口腔内細菌数・細菌レベルを、ペリオトロン®（ヨシダ）にて肉肉溝滲出液（以下GCF）を測定した。

【結果と考察】 Test群ではGCFは歯ブラシ使用後に減少した。細菌レベルは、Test群で小さいレベルを示した。また、プラークの付着は、Test群でより改善が認められた。以上より、ソーラーN4®に搭載されたソーラーパネルおよびTiO₂からの電子の発生効果により、GCF、細菌レベルをより効果的に阻害できる事が推察された。またTBI終了後の状態において、ソーラーN4®の使用で、プラークコントロールの更なる改善に寄与できると推察された。

P-57

Web アプリを利用した臨床実習学生意識調査結果
—愛知学院大学歯学部歯周病学ケースについて—
菱川 敏光

キーワード: 歯学教育, 臨床実習, 学生アンケート, Web アプリ
本学歯学部の診療参加型実習について, 実際に臨床実習を行った学生が診療参加および自験に対してどのように考え行動したかを知ること, 自験機会の活用につながると思える。従来の質問紙調査は多大な労力を要するが, 記述入力可能なwebアプリを用いることで同等の調査が容易に行える可能性がある。そこで, 平成28年度臨床実習終了時に, webアプリによる学生アンケートを行い調査の有用性を試すと共に, 診療参加型実習に対する学生の意識を調査した。調査は2016年7月の臨床実習終了直後の第6学年125名に対して行い, 93名の有効な回答を得た。アンケートは臨床実習の期間・内容から環境に至る43項目の選択式・記述式調査で, webアプリを利用して配布し, 学生はスマートフォンあるいはPCより回答を行った。集計・分析は同アプリおよびExcelを用いて行った。アンケート回答率は74.4%で記述式回答についても集計することが出来た。臨床実習全体に関して, 多忙で, 楽しく, 有益と感じていることがわかった。歯周病学実習に関して, 実習の大部分にあたる見学および介助の印象に比べ, ブラッシング指導やスケーリング・ルートプレーニング等の歯周基本治療の内容と対応した処置を行う自験では, その困難さと診療後の達成感が強く印象に残っていることがわかった。学生の大部分は臨床実習における自験に積極的に取り組み, 知識・技能の不足を補うために様々な自己学習を行っていた。学生アンケートの集計・分析にwebアプリは簡便な方法と考えられた。自験は臨床実習中の積極的な学習につながる有効な手段であることが示唆された。

P-59

Concentrated Growth Factor (CGF) utilization on Periodontal Defect Case Series: A Future Direction of Periodontal Treatment?

Erni Noor

Keywords: Concentrated growth factor, Periodontal healing, Bone healing, Gingival recession

Objectives: This case report series were aimed to describes the application of Concentrated Growth Factor (CGF) from patient's own blood on periodontal intrabony defects and furcation involvements, and gingival recession.

Materials and methods: This case report describes cases of periodontal intrabony defects and furcation involvements, and gingival recession. Before the surgical procedures, the patients were given oral hygiene instructions and initial cause related periodontal therapy was conducted. All patients were informed about the treatment procedures, and were required to fill out a consent form and thorough medical history were taken. Prior to the surgical procedures, patients underwent oral hygiene instructions and scaling with ultrasonic and hand instruments to remove any local irritating factors that may have been responsible for the gingival inflammation at the surgical wound healing duration. Each of the cases (intrabony defect and furcation involvements, and gingival recession) utilized CGF with standardized proposed protocol from previous studies.

Results: Based on all these results, it can be said that CGF accelerated the periodontal and bone healing process and affected the stabilization values positively.

Conclusions: It was observed in our case series that CGF has favourable effects on periodontal and bone healing period.

P-58

3D printed polycaprolactone scaffold mixed with β -tricalcium phosphate as a bone regenerative material in rabbit calvarial defects

Alharthi Waleed

Keywords: Bone regeneration, Biocompatible material, 3D printing, Polycaprolactone, Beta-tricalcium phosphate

Objectives: The objectives of this study was to assess biocompatibility and osteogenic efficacy of 3D printed polycaprolactone (PCL) scaffold and evaluate the effectiveness of β -tricalcium phosphate (β -TCP) addition in PCL scaffold.

Materials and methods: Four circular defects (diameter: 8mm) in calvarium of New Zealand white rabbits were randomly assigned to (i) negative control (control), (ii) PCL block (PCL), (iii) PCL mixed with 10 wt % β -TCP (PCL/ β -TCP), and (iv) PCL/ β -TCP plus collagen membrane (PCL/ β -TCP+M). Animals were euthanized at 2 ($n=5$) and 8 weeks ($n=5$). Outcome measures included micro-CT and histomorphometric analysis.

Results: In micro-CT, PCL/ β -TCP+M showed the highest total augmented volume ($216.25 \pm 25.66 \text{ mm}^3$) and new bone volume ($35.34 \pm 10.92 \text{ mm}^3$) at 8 weeks, but there was no significant difference among four groups. Histomorphometrically, PCL ($14.93 \pm 3.26 \text{ mm}^2$), PCL/ β -TCP ($10.93 \pm 1.84 \text{ mm}^2$), PCL/ β -TCP+M ($11.59 \pm 0.79 \text{ mm}^2$) showed the significantly higher total augmented area compared to the control ($6.24 \pm 1.71 \text{ mm}^2$) ($P=0.008, 0.016, 0.008$ respectively). PCL/ β -TCP+M ($2.66 \pm 0.91 \text{ mm}^2$) showed the highest new bone area, but not statistically higher than the control ($2.63 \pm 0.95 \text{ mm}^2$) ($P>0.05$). New bone formation deep inside the scaffold was observed only in the β -TCP added scaffold.

Conclusions: PCL showed high biocompatibility with great volume maintenance. Addition of β -TCP to PCL seemed to increase hydrophilicity and osteoconductivity. Developments in 3D printed PCL material using various tissue engineering are expected.

P-60

Evaluation of various prosthetic types in anterior dental implants

Helen Hyein Kweon

Keywords: Implant prosthetic type, Cement-retained implants, Lateral screw-implants, Alips type, Complications of dental implants

Objectives: The aim of the study was to evaluate complications of dental implants with various prosthetic type in the anterior region.

Materials and methods: This study included 52 patients in whom 84 implants were placed on the anterior region by one clinician between August 2009 and December 2016. The prosthesis was applied at least 4 months after fixture installation (mean loading time 8.5 months). The complications of implants were analyzed. Surgical and prosthetic features were recorded.

Results: Single type implants were 29 (34.5%) and splint type implants were 55 (63.5%). Among them, screw retained implants were 8 (9.5%), cement-retained implants were 43 (51.2%), and lateral screw-implants (Alips type) were 32 (38.1%).

The most frequently observed complication was loss of retention in cement-retained type implants (29.5%). The most common complication was screw loosening in Alips type implants (56.3%). Peri-implant mucositis was observed most frequently in Alips type (25%). However, there showed no statistical significance between prosthetic types in Peri-implant mucositis and peri-implantitis ($p=0.503$).

Conclusions: The cement type prosthesis is recommended in the anterior dental implants. However, considering esthetics and maintenance, other systems will need to be considered.

P-61

Bone regeneration using DOPA (3,4-dihydroxyphenylalanine) as bone adhesive with collagen membrane and block-type DPBM (deproteinized porcine bone mineral)
Inpyo Hong

Keywords: Guided bone regeneration, Bone adhesive, 3,4-dihydroxyphenylalanine

Objectives: (i) To assess biocompatibility of 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) by testing its adhesiveness and cell cytotoxicity (ii) To evaluate effectiveness of DOPA in guided bone regeneration using cross-linked collagen membrane and block-type deproteinized porcine bone mineral (DPBM).

Materials and methods: *In vitro* study. Peel resistance test and cell cytotoxicity test using murine preosteoblast were performed in which cyanoacrylate was used to compare the characteristics. *In vivo* study. In 9 rabbits, four circular defects (diameter: 8mm) in calvarium was randomly allocated to i) blood clot only (control) ii) membrane only (membrane) iii) DPBM covered with collagen membrane with DOPA (DOPA) iv) DPBM covered with collagen membrane with cyanoacrylate (Cyanoacrylate). Animals were sacrificed at 2 weeks (n=4) and 8 weeks (n=5) for micro-CT and histomorphometric analysis.

Results: *In vitro*, DOPA showed little resistance to peeling load compared to that of cyanoacrylate ($0.06 \pm 0.04N$ and $2.64 \pm 0.41N$, respectively), whereas higher cell viability was shown in the presence of DOPA ($99.69 \pm 6.82\%$) than cyanoacrylate ($10.20 \pm 0.09\%$). In micro-CT, both cyanoacrylate and DOPA groups showed significantly higher new bone volume (NBV), $51.43 \pm 4.96mm^3$ and $46.90 \pm 4.08mm^3$ respectively, compared to control and membrane groups at 2 weeks ($6.68 \pm 4.84mm^3$ and $11.00 \pm 9.81mm^3$, respectively). At 8 weeks, the highest NBV was shown in DOPA group ($43.29 \pm 7.49mm^3$) with having no significant difference from cyanoacrylate group ($42.55 \pm 9.88mm^3$). Histomorphometric analysis revealed there was no significant difference in the area of total augmentation among four groups. However in terms of new bone formation, a significantly higher area was observed for DOPA group at 8 weeks ($4.29 \pm 1.64mm^2$, $P < 0.029$). Moreover, bone formation was significantly increased from 2 to 8 weeks in DOPA group only ($P < 0.016$).

Conclusions: The *in vitro* effect of DOPA via application onto collagen membrane showed high cell viability and *in vivo* study revealed predictable outcome in bone regeneration.

P-63

The root coverage on lower anterior teeth using the tunnel technique and partial epithelialized connective tissue graft
Kyung Min Kang

Keywords: Root coverage, Tunnel technique, Partial epithelialized connective tissue graft, Gingival recession, Lower anterior teeth

Objectives: The aim of this study was to assess clinical indices after root coverage with partial epithelialized connective tissue graft only on a single tooth root exposure of the lower anterior teeth.

Materials and methods: Among 20 patient who received root coverage, 3 cases were selected. The recipient site was prepared using tunnel technique. The partial epithelialized connective tissue graft was harvested from the hard palate in the region of the maxillary premolar to molar area. The graft was gently pulled into the tunnel. Then the adaptation and fixation of the graft without coronal advancement.

Results: The mean root coverage (MRC) and apico-coronal keratinized tissue width (KTW) was assessed at before surgery and 12 months after surgery. Case I resulted in partial root coverage (MRC: 83.3%) and the apico-coronal KTW was 1mm before surgery, and 5mm after 12months. Case II resulted in complete root coverage (MRC: 100%) with apico-coronal KTW of 0mm before surgery and 3mm after 12months. Case III also resulted in complete root coverage (MRC: 100%) with apico-coronal KTW of 0.5mm before surgery and 3mm after 12months.

Conclusions: For the treatment of single tooth root exposure on the lower anterior teeth, root coverage using tunnel technique and partially epithelial connective tissue graft can be alternative of conventional root coverage as it displays advantages in surgical convenience, and since coronal advancement is unneeded, the mucogingival junction (MGJ) is maintained.

P-62

Ridge Augmentation Using Titanium Mesh and Allogenic Bone Graft
Se Jin Sung

Keywords: Ti-mesh, Allogenic bone graft, Edentulous ridges, GBR, Ridge augmentation

Objectives: This study aims to clinically and radiographically evaluate the results of bone gain in bone defects after GBR using Ti-mesh and allogenic bone graft to reconstruct edentulous ridges.

Materials and methods: Alveolar reconstruction was performed on a total of 60 defect areas of 24 patients. For ridge augmentation, mixed allograft material and PRF were mixed. Horizontal bone gain and shrinkage rate were evaluated at a distance 2mm (H1), 7mm (H2), and 12mm (H3) apical from the regenerated alveolar crest. Vertical bone gain and shrinkage rate were evaluated at the long axis of the reconstructed alveolar crest (VC) and the area 2mm (VB) buccal and 2mm (VL) lingual from the axis.

Results: In horizontal defects, average bone gain was $4.97 (\pm 2.01)$ mm at H1, $4.95 (\pm 2.24)$ mm at H2, and $1.83 (\pm 2.28)$ mm at H3. There were no significant differences in shrinkage rates.

In vertical defects, average bone gain was $7.52 (\pm 1.51)$ mm at VB, $7.97 (\pm 1.89)$ mm at VC, and $7.03 (\pm 1.45)$ mm at VL. There were no significant differences in shrinkage rates.

In combined defects, horizontal bone gain was $7.51 (\pm 2.11)$ mm at H1, $6.02 (\pm 2.77)$ mm at H2, and $2.72 (\pm 3.16)$ mm at H3 and vertical bone gain was $5.73 (\pm 3.04)$ mm at VC. Vertical shrinkage rate of allografts was statistically lower than horizontal shrinkage rate.

Conclusions: GBR using allograft and Ti-mesh is a predictable procedure in the reconstruction of edentulous ridges. Favorable results were obtained in both vertical and horizontal ridge augmentation.

P-64

Quantification of dental plaque using quantitative light-induced fluorescence technology
Hee-Eun Kim

Keywords: Dental plaque, Optical imaging, Red fluorescence, Quantitative light-induced fluorescence

Objectives: The aim of this study was to evaluate the applicability of quantitative light-induced fluorescence (QLF) technology to detect and quantify dental plaque by comparing with conventional plaque indices.

Materials and methods: The facial surfaces of 600 sound anterior teeth of 50 subjects were examined. The subjects received dental plaque examination using Turesky modified Quigley Hein plaque index (QHI) and Silness& Loe plaque index (SLI). The fluorescence images were taken before the plaque examination with QLF-Digital, and plaque percent index (PPI) was calculated. Correlation between two existing plaque indices and the PPI of the QLF method was evaluated. Area under the ROC curve (AUC) analysis and intra- and inter-examiner reliability tests were performed.

Results: The QLF method showed a moderate correlation with two existing plaque indices (ρ of QHI = 0.48, SLI = 0.51). This methodology fell in the fair category and it had an excellent reliability. The QLF method also showed possibility to detect heavy plaque with fair validity.

Conclusions: The QLF method showed excellent reliability, and fair validity, compared with conventional plaque indices. The QLF technology has the potential for detecting and quantifying the level of plaque accumulation objectively and noninvasively.

P-65

The effect of high low-density lipoprotein cholesterol levels on gingival inflammation in adults aged 40 years or older

Jun Seon Choi

Keywords: Gingival inflammation, LDL cholesterol, HDL cholesterol, Triglyceride

Objectives: The aim of the study was to analyze the effect of hyperlipidemia on gingival inflammation.

Materials and methods: This study included 206 participants aged ≥ 40 years. We measured height and weight, and used questionnaires to survey their oral-health behaviors. To evaluate gingival inflammation, we assessed the prevalence of gingival bleeding on probing on six representative teeth. Participants who showed gingival bleeding in any surface of the teeth, were placed in the gingivitis group and those with no gingival bleeding, in the healthy group. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and triglycerides (TG) were assessed.

Results: The risk of developing gingival inflammation was 2.64 times higher in smokers than non-smokers ($p=0.045$) and 2.37 times higher in participants who brushed their teeth ≤ 2 times than in those who brushed their teeth ≥ 3 times a day ($p=0.039$). Moreover, the risk was higher when the body mass index ($p=0.003$) and LDL-C levels were higher ($p=0.035$).

Conclusions: Our findings indicate that a high LDL-C levels may be associated with gingival inflammation. Although we could not identify the predisposing factor between the two variables, it is suggested that more attention is needed in the area of hyperlipidemia, a major cause of cardiovascular disease, to lower the risk of gingivitis.

P-66

BMP7-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells contribute to periodontal tissue regeneration in periodontitis of rats

Yang-Hun Jung

Keywords: BMP7, mesenchymal stem cells, periodontitis, Periodontium, regeneration

Objectives: The aim of this study was to investigate whether local injection of BMP7-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMP7-BMSCs) promotes periodontal tissue regeneration in ligature-induced periodontitis of rats.

Materials and methods: To induce periodontitis, a 3-0 silk was tied around the maxillary second molar of rats. Control-BMSCs and BMP7-BMSCs were injected onto palatal side of maxillary second molar of rat 4 weeks after ligature. No ligatured and no cell treated rats were used as negative control. All rats were sacrificed 8 weeks after control-BMSCs and BMP7-BMSCs injection for further analyses. Periodontal tissue regeneration was examined by histologic, histometric and microcomputed tomography analyses.

Results: Although level of BMP7 in culture supernatant of BMP7-BMSCs was elevated, those characteristics were comparable to control-BMSCs. Micro CT findings revealed that percentages of alveolar bone loss were increased in all of three ligature groups, compared with negative control. Among ligature groups, percentages of alveolar bone loss were decreased in BMP7-BMSCs treated group. However, regeneration of cementum was not clearly detected in all rats by histological analysis.

Conclusions: BMP7-BMSCs promoted alveolar bone regeneration of ligature-induced periodontitis of rats, compared with control-BMSCs and negative control. Our results suggest that BMP7-BMSCs might enhance therapeutic potential for periodontal tissue regeneration.

This work was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant number: H117C0450) and the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (NRF-2017 R1A6A3A11034402).

P-67

Nd: YAG レーザーによるヒト歯周組織の創傷治癒促進に関する検討

丸山 昂介

キーワード: 歯周組織由来血管内皮細胞, Nd: YAG レーザー, 創傷治癒

【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, 創傷治癒の促進を期待できる。

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, 止血, 凝固や血流の改善・促進, 抗炎症および創傷治癒促進効果を目的として使用されている。一方, レーザーを使用した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。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。コントロールとしてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。

【結果及び考察】 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, 創傷治癒促進に効果があると考えられる。

P-68

歯周病原細菌のジペプチジルペプチダーゼ4活性による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】 歯周病は2型糖尿病のリスクファクターとなることが示唆されているものの, その詳細な分子機構については未だに明らかではない。2型糖尿病の病態形成の一機序として, ヒトのジペプチジルペプチダーゼ4 (DPP4) によりインクレチンが不活性化され, 膵β細胞からのインスリン分泌量が低下することが挙げられている。*Porphyromonas gingivalis* (Pg) をはじめとする歯周病原細菌 DPP4 はこのヒト DPP4 と相同性を有することから, 歯周病原細菌の感染によりインクレチンが不活性化され, 2型糖尿病の発症・増悪が惹起される可能性がある。本研究では, 歯周病原細菌による2型糖尿病の病態形成機序を明らかにすることを目的として, 歯周病原細菌 DPP4 のインクレチン切断能を検討した。

【材料と方法】 歯周病原細菌6菌種の DPP4 活性は蛍光基質 GP-MCA を用いて測定した。また, 菌体の DPP4 発現は Western blotting 法にて検討した。さらにリコンビナント体を作製し, 歯周病原細菌および rDPP4 によるインクレチン切断能を検討した。

【結果と考察】 Pg, *Tannerella forsythia* (Tf) および *Prevotella intermedia* (Pi) に DPP4 活性および DPP4 の発現を認めた。rPgDPP4 と rTfDPP4 は同程度の DPP4 活性を有し, ヒト DPP4 阻害薬によりその活性は有意に阻害された。さらに Pg, Tf および Pi 菌体及び rDPP4 は活性型 GLP-1 を減少させた。以上のことから, 歯周病原細菌はインクレチンの切断・不活性化を介して, 2型糖尿病の病態形成に関与することが強く示唆された。