

一般演題ポスター

P-01~34



P-01

メカニカルストレスに対する口腔粘膜組織由来細胞の影響

山本 俊郎

キーワード：メカニカルストレス、サイトカイン、成長因子、口腔粘膜組織

【目的】義歯直下の口腔粘膜組織には、義歯を介して咬合力をはじめとしたメカニカルストレス（Mechanical Stress, 以下MS）が加わっている。そこで本研究では、そのメカニズムの一端を解明する目的にヒト口腔粘膜由来細胞にMSを負荷し、検討を行った。

【材料と方法】ヒト口腔粘膜上皮細胞（HO-1-N-1）ならびにヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）を静水圧負荷装置を用いてMS（1MPaと3MPa, 60min）に暴露させた。その後、ギムザ染色で細胞の形態的变化、WST assayで細胞活性の変化を検討した。そして、炎症性サイトカインおよび成長因子をRT-PCR法およびELISA法にて測定した。

【結果】MS付与後のHO-1-N-1ならびにHGFsは、細胞形態の変形を認めず、細胞活性の減少を認めた。HO-1-N-1において、IL-6, IL-8のmRNA発現と蛋白産生量は、1MPaでコントロールと比べ有意に増加した。EGF, FGFのmRNA発現は、3MPaでコントロールと比べ有意に増加した。HGFsにおいて、IL-6のmRNA発現とIL-8の蛋白産生量は、1MPaでコントロールと比べ有意に増加した。FGFのmRNA発現と蛋白産生量は、1, 3MPaでコントロールと比べ有意に増強した。

【考察】義歯直下の口腔粘膜組織の炎症には、義歯を介して負荷されるMSによる細胞障害ならびに炎症性サイトカイン産生の増大が関与している可能性が示唆された。過度のMSは口腔粘膜由来細胞の成長因子の産生を促進させ、口腔粘膜の創傷治癒を促進させる可能性が考えられた。

P-02

高出力赤色LED照射はWnt/ β -catenin経路を介して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：LED、ヒト骨髄間葉系細胞、硬組織分化、Wnt/ β -catenin経路

【目的】近年、LEDを用いた抗菌光線力学療法の慢性歯周炎やインプラント周囲炎に対する有効性が示されている。しかし、硬組織分化誘導に及ぼす影響について報告は少ない。今回、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（BMSCs）の増殖、硬組織分化およびWnt/ β -catenin経路の関与について検討した。

【材料および方法】BMSCsはPromoCell社から購入し実験に供試した。光源として高出力の赤色LEDを用いて、照射時間を変えることで照射エネルギー量を調節しBMSCsの増殖能、硬組織分化能および石灰化物形成能を検討した。またWnt/ β -catenin経路を構成するGSK-3 β , phosphor-GSK-3 β , β -cateninタンパク発現を観察し、Wnt/ β -catenin阻害剤（XAV939）を用いてWnt/ β -catenin経路の関与を検討した。

【結果と考察】LED照射により、BMSCsの増殖は培養3, 24および48時間で、エネルギー量依存的に抑制されたが、培養72時間では変化は認められなかった。硬組織分化および石灰化物形成は有意に促進し、6 J/cm²の照射エネルギー量で最も促進される傾向を示した。また、GSK-3 β , phosphor-GSK-3 β , β -cateninの発現はLED照射で活性化された。XAV939によりLEDによって誘導された硬組織分化と石灰化物形成は抑制された。

【結論】高出力赤色LEDはWnt/ β -catenin経路を介して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る。

P-03

歯肉上皮細胞における細胞間相互作用によるアモロチン遺伝子発現の調節

中山 洋平

キーワード：接合上皮、アモロチン、細胞間相互作用、歯周組織

【目的】歯肉接合上皮は、生物学的幅径の上皮性付着を構成する部位であるが、他の歯周組織との相互作用による接合上皮制御機構はほとんど研究されていない。今回、セメント芽細胞および歯根膜細胞との共培養によって、歯肉上皮細胞における接合上皮特異的遺伝子の発現レベルの変化を調べ、どのような制御機構が関連しているかを検索した。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞（TIGKs-TERT）、ヒトセメント芽細胞（HCEM-hTERT）、ヒト歯根膜細胞（HPL-hTERT）細胞を使用した。共培養システムには、NICOI水平接続型共培養システムを使用した。共培養24および48時間後に、TIGKs細胞の形態を観察した。また、TIGKs細胞からRNAを抽出し、接合上皮特異的遺伝子であるアモロチン（*Amtn*）mRNA量をReal-time PCRにて比較した。AMTNタンパク質発現レベルの変化は蛍光免疫染色法にて比較した。共培養時培地成分の代謝産物は、液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）を行った。統計解析にはMetaboAnalystとKEGGデータベースを使用した。

【結果と考察】TIGKs細胞における*Amtn* mRNA量およびAMTNタンパク質レベルは、HCEMおよびHPLと共培養によって減少した。LC-MS分析の結果、HCEMとの共培養で43種、HPLとの共培養で33種の代謝産物（分子式）に、有意な2倍以上の増加を認め、HCEMとの共培養で20種、HPLとの共培養で27種の代謝産物（分子式）に2倍以上の減少を認めた。KEGG分析の結果、*Amtn*遺伝子抑制作用としてヒポキサンチン関連、促進作用としてヒスチジン関連因子が候補として検索された。

【結論】セメント芽細胞および歯根膜細胞との共培養により、ヒポキサンチンおよびヒスチジン関連のシグナリングが関与し、*Amtn*遺伝子の発現を調節している可能性が示唆された。

P-04

歯周病原菌感染マクロファージの細胞外小胞が肺に線維化を誘導する可能性の検証

吉田 佳世

キーワード：肺線維症、ボルフィロモナス・ジンジバリス、細胞外小胞、マクロファージ

【背景】これまでに我々は、歯周病原菌*Porphyromonas gingivalis* (Pg)を感染させたマクロファージ（THP-1）が産生する細胞外小胞（Extracellular Vesicle, EV）が肺に炎症を誘導すること、炎症の誘導にヒストンが関与することを報告してきた（第63回春季歯周病学会Web開催）。また、Pg感染THP-1由来EVsをBalb/cマウス（30週齢、メス）の腹腔内に12週間投与したマウス肺をHE染色法で組織学的に観察すると肺間質の増殖がみられた。そこで本研究では、Pg感染THP-1由来EVsが肺に線維化を誘導する可能性を検証した。

【方法】THP-1にPgを感染させ、培養上清からEVを抽出した。前回HE染色法にて観察した上記マウス肺の連続切片を、マッソントリクローム染色し組織学的に観察した。また、このマウス肺を用い、リアルタイムPCR法にて線維化に関与する遺伝子（ α -SMA, Vimentin, Fibronectin1）のmRNA発現を検出した。

【結果・考察】Pg感染THP-1由来EVを投与したマウス肺は、非感染THP-1由来EVを投与した群やPBSのみを投与した群と比較して、間質の増殖がみられただけでなく、増殖箇所でコラーゲン線維の蓄積が亢進していた。しかしながら、線維化に関与する遺伝子のmRNA発現の亢進は、いずれもみられなかった。

以上より、Pg感染THP-1由来EVが線維化を誘導する可能性について、今後はより慎重に検討する必要があると考えられた。

P-05

Toll-like Receptor 2刺激は酸化LDL受容体を介して破骨細胞形成を促進する

大城 希美子

キーワード：歯周病，破骨細胞，脂質異常症

【背景】Lox-1は酸化LDLの受容体であり，Toll-like receptor (TLR)-2は，*P. gingivalis* LPSの受容体である。歯周炎が脂質異常症に悪影響を及ぼすという報告はあるが，脂質異常症の破骨細胞形成への影響メカニズムは明らかでない。

【方法】動物実験は福岡歯科大学にて承認された（承認番号13013）。マウス骨髄細胞（BMC）をM-CSFで刺激して骨髄マクロファージ（BMM）に分化させた。その後，RANKLの有無にかかわらず，TLR2の合成リガンド（Pam3CSK4）で刺激し，TRAP染色，免疫染色，ウェスタン，FACS，リアルタイムPCR，およびRT-PCRにより破骨細胞形成を評価した。

【結果】Lox-1の発現は，BMCではPam3CSK4によって有意に情報制御されたが，BMMではされなかった。FACSでは，Pam3CSK4がBMCにおけるRANKとLox-1の発現を上方制御した。TRAP陽性細胞は，Pam3CSK4のみでの刺激では増加しなかったが，Pam3CSKとoxLDLの共刺激で増加した。Lox-1とMyD88の発現は，TLR2とMAPKの各阻害剤により抑制された。

【結論】BMCでは，oxLDLがあるとTLR2誘導性にLox-1発現が上昇し，その結果破骨細胞形成が促進することを示唆している。脂質異常症の進行に伴って歯周炎が悪化する可能性を示している。

P-06

AI-2阻害を介したヒノキチオールの歯周病菌への作用機序解析

濱田 昌子

キーワード：オートインデューサー-2，ヒノキチオール，*Porphyromonas gingivalis*，バイオフィルム

【背景】歯周病菌のバイオフィルム（以下，BF）やプロテアーゼは歯周病の発症と関連することが知られており，BF形成やジンジバイン産生はautoinducer-2（以下，AI-2）を介したクオラムセンシングによって制御されることが報告されている。そこで，ヒノキチオールが歯周病菌*Porphyromonas gingivalis*のAI-2を阻害することによりBF形成を抑制すると仮説を立て，解析を行った。

【材料及び方法】*Vibrio harveyi* MM32株のレポーターアッセイ系を用いて，AI-2の代替物質として作用する4-ヒドロキシ-5-メチル-3(2H)-フラノン及び*P. gingivalis* JCM12257の培養上清に含まれるAI-2によって誘導される*V. harveyi*の発光がヒノキチオールによって抑制されるか評価した。96穴マイクロタイタープレートに分注したヘミンメナジオン加BHI液体培地にヒノキチオールを添加し*P. gingivalis* JCM12257を培養した後，プレート上に形成されたBFをクリスタルバイオレット水溶液で染色し，ヒノキチオール未添加区と比較した。

【結果及び考察】ヒノキチオールのAI-2阻害効果を評価したところ，30μM以上で*V. harveyi*の発光が抑制されたことから，ヒノキチオールが*P. gingivalis*のAI-2を阻害する可能性が示唆された。またヒノキチオールを添加した場合，濃度依存的に*P. gingivalis*のBF形成量が低下した。以上の結果から，ヒノキチオールは歯周病菌*P. gingivalis*のAI-2を阻害し，BF形成を抑制することが明らかとなった。

P-07

黄緑色LEDとローズベンガルを用いた抗菌的光線力学療法法の*Porphyromonas gingivalis*に対する殺菌効果

北中 祐太郎

キーワード：黄緑色LED，ローズベンガル，抗菌的光線力学療法

【目的】Light Emitting Diode (LED) とローズベンガル (RB) を用いた新規の抗菌的光線力学療法 (aPDT) が*P. gingivalis* (*Pg*) に及ぼす影響を検証した。

【方法】*Pg*懸濁液に濃度の異なるRBを添加し，黄緑色LED (YGL; 565nm) または青色LED (BL; 470nm) (428mW/cm²) を10-20秒照射し (aPDT)，0.2%クロロヘキシジン (CHG) と比較し，処置後のコロニー形成数を測定した。菌体の形態変化は，走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。さらに*Pg*懸濁液にaPDT処置を行い，経時的な濁度（細菌の増殖）の変化を調べた。同時に細菌RNAを抽出し，RIN値の測定およびmRNAの発現解析をreal-time PCR法により行った。aPDTのヒト歯肉線維芽細胞 (HGF-1) への影響はWST-8 assayにより活性を評価した。

【結果】RB+YGLはRB+BLと比べ，RBの濃度依存的に有意に高い殺菌効果を示した。RB（最終濃度1.6μg/ml）+YGL（20秒照射，8.56 J/cm²）でのaPDTにより，菌液の濁度は急速に減少し，分子シャペロンをはじめ，複製や細胞分裂に関連した遺伝子発現は顕著に低下した。この殺菌効果はCHGと比べ有意に高く，SEM上でもより大きな細菌形態変化が観察された。また本処理はHGF-1の細胞活性を低下させたものの，CHGと比較して影響は小さい傾向が見られた。

【結論】波長565nmの黄緑色LEDとローズベンガルを組み合わせた新規aPDTは，*Pg*に対して高い殺菌効果を有することが示唆された。

P-08

ヒト歯根膜由来線維芽細胞のBMP-9誘導性骨芽細胞様分化に対するIL-1βの抑制作用

江部 由佳梨

キーワード：歯周組織再生，BMP-9，歯根膜線維芽細胞

【目的】本研究の目的は，ヒト歯根膜由来線維芽細胞 (hPDLFs) において，炎症性サイトカインIL-1βがBone morphogenetic protein (BMP) -9の骨芽細胞様分化に対して与える影響について明らかにすることである。

【材料と方法】①HPDLFs：ヒト抜去歯より採取した歯根膜組織を酵素処理法にて分離培養した細胞を使用した。②添加因子：ヒトリコンビナントタンパクのBMP-9，Activin A (ActA)，follistatin (FST)，IL-1βを用いた。③骨関連遺伝子の発現解析：リアルタイムPCR法④表現型解析：ALP活性および石灰化物形成能解析⑤タンパク発現解析：ActAの細胞培養上清中の濃度をELISA法にて測定⑥シグナル伝達経路の解析：MAPK inhibitor存在下にて，IL-1β刺激によるActA遺伝子発現を解析。

【結果】①BMP-9により誘導された骨関連遺伝子の発現とALP活性および石灰化物形成は，IL-1βにより抑制された。②BMP-9の抑制作用が報告されているActA遺伝子発現及び培養上清中のタンパク濃度はIL-1β刺激にて上昇し，一方ActAを阻害するFSTの遺伝子発現が減少した。BMP-9により誘導されたOsterixとID-1の遺伝子の発現は，外因性に添加したActAにより抑制され，かつBMP-9とIL-1βの共刺激下では，外因性にFSTを添加することでALP活性が上昇した。③p38およびERK阻害剤添加によって，IL-1βにより誘導されたActA遺伝子発現が抑制された。

【考察】hPDLFsにおいて，IL-1βはMAPKのシグナルを介してActAの産生を亢進させ，BMP-9の骨芽細胞様分化促進作用の一部を抑制することが示唆された。

P-09

高出力赤色LED照射がヒト骨髄間葉系幹細胞に与える生物学的影响

蔡 祐維

キーワード：赤色LED, ヒト骨髄間葉系幹細胞, 炎症性サイトカイン

【目的】LEDやレーザーを用いた光線力学療法が歯周組織の再生に対して有効であることが示されている。我々は高出力赤色LEDがヒト歯根膜幹細胞やヒト骨髄間葉系幹細胞 (hBMSCs) の硬組織分化を促進することを明らかにした。しかし、LEDは硬組織分化を促す一方、細胞毒性や炎症性サイトカインの産生を誘導する可能性が示唆されている。本研究では高出力赤色LEDがhBMSCsの細胞増殖、細胞毒性、石灰化物形成能、および炎症性サイトカインの発現に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】hBMSCsはPromoCell社から購入し、実験に供した。光源としてLedEngin社製高出力赤色LEDを用いて、照射時間を変えることで照射エネルギー量を調節し、MTT変法による細胞増殖試験とLDH測定法による細胞毒性試験を行った。またアリザリンレッド染色による石灰化物形成能とリアルタイムPCR法による*IL-6*、*IL-8*の遺伝子発現について検討を行った。

【結果と考察】LED照射により、BMSCsの増殖は照射24, 48時間において、エネルギー量依存的に抑制され、細胞毒性は照射48時間では、エネルギー量依存的に促進された。また石灰化物形成能は6 J/cm²エネルギー量で最も促進される傾向が認められた。*IL-6*の発現は48時間で促進され、*IL-8*の発現は24, 48時間ともにLED照射で促進された。

【結論】高出力赤色LEDはhBMSCsの石灰化物形成を促進する一方、細胞毒性と炎症性サイトカインの発現を促進することが示唆される。

P-11

IL-1βとTNF-αは歯肉上皮細胞におけるODAM遺伝子の転写を調節する

鶴屋 祐人

キーワード：ODAM, 接合上皮, 転写調節, IL-1β, TNF-α

【緒言】Odontogenic ameloblast-associated protein (ODAM)は成熟期エナメル芽細胞と接合上皮で発現する。炎症歯周組織中でのODAMの転写調節機構を解明するために、ヒト歯肉上皮Ca9-22細胞におけるODAM遺伝子発現に対するIL-1βとTNF-αの影響を解析した。

【材料と方法】Ca9-22細胞をIL-1β (1ng/ml) またはTNF-α (10ng/ml) で経時的に刺激し、ODAM mRNAおよびタンパク質量の変化をリアルタイムPCRとウエスタンブロットで解析した。ODAM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Ca9-22細胞に導入後、IL-1βまたはTNF-αで12時間刺激し、LUC活性を測定した。IL-1βまたはTNF-αでCa9-22細胞を刺激し、核内タンパク質を使用してゲルシフトアッセイを行った。

【結果と考察】Ca9-22細胞をIL-1βまたはTNF-αで刺激すると、ODAMのmRNAおよびタンパク質量の増加が認められ、転写開始点から-480塩基対上流までのODAM遺伝子プロモーターを含むLUCコンストラクトの活性が上昇し、MEK, チロシンおよびPI3キナーゼ阻害剤によりLUC活性は抑制された。IL-1βまたはTNF-αで刺激するとYin Yang1およびCCAAT/enhancer binding protein結合配列への核内タンパク質の結合が増加したことから、IL-1βとTNF-α刺激により誘導された転写因子がYY1およびC/EBP配列に結合し、ODAMの転写を調節している可能性が示唆された。

P-10

EMD由来合成ペプチドはERK経路を介してヒト歯根膜幹細胞の増殖と接着を促進する

陳 怡潔

キーワード：Emdogain, 歯根膜, 幹細胞

【目的】我々はEmdogain (EMD)を用いた基礎研究から硬組織誘導能を有するEMD由来合成ペプチド (SP) を作製した。このSPは骨髄間葉系細胞や歯根膜線維芽細胞の細胞増殖や硬組織分化誘導を促進することが明らかになっている。しかし、歯周組織再生に重要なヒト歯根膜幹細胞 (hPDLSCs) の細胞増殖と細胞接着への影響は未だ明らかでない。本研究ではSPがhPDLSCsの増殖と接着に及ぼす影響について検討を行った。さらに、SPがhPDLSCsのExtracellular Signal-regulated Kinase (ERK) 1/2のリン酸化に及ぼす影響について検討を行った。

【材料と方法】hPDLSCsはヒト抜去歯より歯根膜組織を採取し、酵素処理により初代培養を行った。hPDLSCsをSP (0, 1, 10, 100, 1000 ng/mL) 添加培地で1日～7日間培養し、増殖試験を行った。またSP (0, 1, 10, 100, 1000ng/mL) 添加培地で15分～240分間培養し、接着試験を行った。さらに、ウエスタンブロットング法にてERK1/2のリン酸化について検討し、ERKの特異的阻害剤であるPD98059を用いてSPがERK経路に及ぼす影響について検討を行った。

【結果】SPは100ng/mLの濃度でhPDLSCsの増殖と接着を最も促進し、ERK1/2のリン酸化を促進した。またPD98059はSPによって促進された増殖と接着を阻害することが明らかになった。

【考察】SPはERK1/2経路を介してhPDLSCsの増殖と接着を促進することが示唆される。

P-12

Nifedipine誘発性歯肉増殖症モデルを用いた肝細胞増殖因子の抗線維化作用の検討

山崎 桂

キーワード：薬物性歯肉増殖症, ニフェジピン, 肝細胞増殖因子, 歯肉線維芽細胞, 抗線維化作用

【目的】薬物性歯肉増殖症は、薬物の副作用として起こる歯肉の過形成である。現在治療法では、変薬は全身状態に関り、歯肉切除後の再発も少なくないため、新規治療法の開発が期待されている。そこで肝細胞増殖因子 (HGF) の抗線維化作用に着目し *in vitro* での nifedipine 誘発性歯肉増殖症モデルを構築し、HGFの抗線維化作用について検索を行った。

【材料と方法】健常歯肉から分離した歯肉線維芽細胞を10%FBS添加DMEM/F-12にて培養し、0.1, 1, 10μg/ml nifedipine, 10ng/ml IL-1β +0.1, 1, 10μg/ml nifedipine (N0.1, N1, N10, IL+N0.1, IL+N1, IL+N10) を作用させ、WST-8により細胞数の測定を行った。その結果より、培養上清中のコラーゲンI型のタンパク質量をELISA法にて測定し、IL-1βおよびnifedipineの濃度を決定した。その後、定めたIL-1β, nifedipineと同時に10, 50ng/ml HGFを投与し、48時間後培養上清中のコラーゲンI型のタンパク質量をELISA法にて測定した。

【結果と考察】ヒト歯肉線維芽細胞においてN10群とIL+N10群で細胞増殖の抑制が認められた。また、N1群とIL+N0.1群を48時間作用させた場合に、コラーゲンI型のタンパク質量が他群と比較して増加した。この条件下でHGFを添加した際、IL+N0.1群において、濃度依存的にコラーゲンI型のタンパク質量が減少した。

【結論】HGFがnifedipine誘発性歯肉増殖症に対して抗線維化作用をもたらすことが示唆された。今後、さらにメカニズムについて検討していく予定である。

P-13

歯周治療応用を目的とした末梢血からの抗炎症性マクロファージの効率的な大量調整法の検討

滝沢 尚希

キーワード：抗炎症マクロファージ、間葉系幹細胞、歯周病

【目的】抗炎症性MΦ (M2-MΦ) は、抗炎症性サイトカインのIL-10などを発現し、炎症の収束に作用することが知られており、炎症性疾患に対する細胞治療への応用が有効と考えられる。我々はこれまでにマウスの骨髄の低酸素培養下において、血球系マーカー陽性の血球細胞が間葉系幹細胞 (MSC) との相互作用により増殖促進され、さらにM2-MΦに分化誘導されることを見いだした。そこで我々は、M2-MΦの効率的な大量培養法の確立を目的として、MSCと血球系細胞の相互作用によるM2-MΦ増殖・分化メカニズムを詳細に検討した。

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

【結果及び考察】MSCは自身の分泌するM-CSFにより未分化のpre-M2-MΦの増殖を促進させるとともに、pre-M2-MΦとの細胞間接触作用によりM2-MΦのpopulationを増加させた。興味深いことに、その細胞間接触作用においてはpre-M2-MΦ上のLFA-1とMSC上のICAM-1との接着がM2-MΦへの分化誘導に関与していることが示唆された。我々は最近、マウス顎骨後部の静脈から末梢血を採取し、M-CSFを作用させて長期培養することで、M2-MΦを生成することに成功した。今後はさらに、MSCに頼ることなく、M-CSFやICAM-1を用いた低侵襲で効率的なM2-MΦ大量培養系の確立を目指している。

P-15

メトホルミンによる歯周炎進行予防効果の検討
- 1. 正常歯周組織へのメトホルミン投与の効果 -

伊神 裕高

キーワード：メトホルミン、歯肉、mTORシグナル

【目的】ビグアニド系糖尿病薬であるメトホルミンが、AMPKの活性を介してmTORシグナル経路を抑えることに着目し、様々な病気に対する予防効果が検討されている。PankajらはSRP後のポケット内にメトホルミンを投与し、ポケット深さの改善効果を見た。さらにTada Hらにより老化による歯肉のバリアー機能低下が証明されていることから、われわれは、メトホルミン投与が歯周炎の進行を抑制するかどうか、また老化による歯肉のバリアー機能低下を抑制するかどうかを検討する為、まず健康な歯周組織を有する若齢および老齢マウスにメトホルミンを局所投与し、組織学的あるいはサイトカイン産生ならびに創傷治癒関連遺伝子について検討した。

【材料及び方法】10週令と70週齢のC57BL/6J雄性マウス（歯周炎発症なし）各5匹に週3回4週間計12回1%メトホルミン溶液を口蓋歯肉に接種した。対照側にはリン酸緩衝液を投与した。接種終了から2週間後に顎骨、口蓋歯肉、末梢血を採取した。X線学的評価（μCT）、組織学的評価（H-E染色、免疫染色）、血清中および歯周組織の炎症性サイトカイン産生や創傷治癒関連遺伝子の評価（ELISA、定量RT-PCR）を行った。

【結果と考察】メトホルミン投与による歯槽骨吸収抑制状態を10、70週齢の実験群および対照群と比較したが違いは認められなかった。老齢マウスでは、歯肉組織内の創傷治癒関連遺伝子のカテプシンK、IV型コラーゲンおよびインテグリンαにおいて遺伝子発現の抑制傾向を認めたが、今後定量的に観察予定である。

【結論】メトホルミンの歯肉への局所投与が、老化に伴う歯周炎の発症の阻止に働く可能性が示唆された。

P-14

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) はマクロファージからのCCL2分泌を制御して抜歯窩の歯周組織再生を促進する

井手口 英隆

キーワード：HMGB1、創傷治癒、間葉系幹細胞

【目的】HMGB1は、組織損傷などによって細胞外へ放出されて炎症メディエーターとして機能する核内タンパク質である。我々は、HMGB1が間葉系幹細胞 (MSC) の局在に影響を及ぼして抜歯窩組織の創傷治癒を制御することを確認した。近年、MSCとマクロファージ (Mφ) は相互に機能調整をしており、Mφの分泌するケモカインがその調整に関与するという報告がある。本研究では、HMGB1中和抗体を投与した抜歯マウスを解析し、HMGB1が創傷治癒におけるMSCとMφに及ぼす影響を免疫学的に調べた。

【材料及び方法】HMGB1中和抗体がMφのフェノタイプ変化と抜歯窩組織におけるCCL2分泌に及ぼす影響：上顎第二大臼歯を抜歯したマウスにHMGB1中和抗体または対照抗体 (2mg/匹) を腹腔投与し、5日後に腹腔内洗浄液と歯周組織を回収した。その後以下の解析を行った。(a) フローサイトメトリー法による腹腔内のMφフェノタイプ解析、(b) 定量RT-PCR法による歯周組織の遺伝子発現解析、(c) 免疫染色法による組織学的解析、(d) フローサイトメトリー法による歯周組織のM1Mφが分泌するCCL2の解析

CCL2 inhibitorが抜歯窩組織へのMSC遊走に及ぼす影響：抜歯マウスの口蓋歯肉にCCL2 inhibitor (100μg/匹) を投与し、5日後に歯周組織を回収した。その後、フローサイトメトリー法によってMSC数を解析した。

【結果】HMGB1中和抗体投与群では対照抗体群と比較して腹腔内のM1 Mφの割合が減少した。さらに、抜歯窩組織におけるM1 Mφの割合とCCL2の発現が減少した。CCL2 inhibitor投与群では抜歯窩組織におけるMSC数が減少した。

【結論】本研究の結果、HMGB1はMφフェノタイプの制御を介してCCL2の分泌量を調整し、抜歯窩組織へのMSC遊走に関与することが明らかとなった。

P-16

Porphyromonas gingivalis による歯血症は褐色脂肪の内分泌機能を変化させる

畑佐 将宏

キーワード：歯周病、褐色脂肪細胞、歯血症、肥満、*Porphyromonas gingivalis*

【目的】脂肪細胞はエネルギーを貯蓄するだけでなく内分泌器官としての側面があり、脂肪細胞の内分泌の変化によって様々な疾患に影響を及ぼすことが知られている。また、熱を産生することで脂肪を燃焼する褐色脂肪細胞の機能低下が肥満やメタボリックシンドロームの原因となることで注目されている。我々はすでに超音波破碎した *Porphyromonas gingivalis* (Pg) の静脈内投与によって、体重・皮下脂肪・内臓脂肪の増加、インスリン抵抗性を惹起することを報告しているが、Pgの静脈内投与による褐色脂肪細胞への直接的な影響については未だ報告がない。本研究の目的は、超音波破碎したPgを静脈内投与し、褐色脂肪への直接的な影響を評価することである。

【材料及び方法】C57BL/6J雄マウス（12週齢）に超音波破碎したPgを静脈内投与した18時間後に、肩甲骨間褐色脂肪からRNAを抽出しRT-PCR法にてmRNA発現の変化を評価した。また、マイクロアレイにて網羅的な遺伝子発現解析を行った。

【結果と考察】Pgを投与した褐色脂肪で、炎症性サイトカインのmRNA発現の有意な上昇とアディポネクチン、UCP1、PPARγのmRNA発現量の有意な低下を認めた。マイクロアレイ解析にて106個の発現変動遺伝子を認め、Pgの投与群とコントロール群では異なる遺伝子発現パターンを示した。また、Gene Set Enrichment Analysisにおいて、Pgを投与した褐色脂肪の炎症の亢進、コレステロール代謝の低下、インスリンシグナルの低下が示唆された。

【結論】歯周病による歯血症は、褐色脂肪細胞におけるアディポサイトカインの分泌や脂質代謝を変化させる可能性が考えられる。歯周病による歯血症が褐色脂肪細胞のエネルギー代謝を変化させることで、歯周病が褐色脂肪細胞を介して肥満へ影響する可能性が示唆された。

P-17

HERSの細胞の歯周組織再生の解明

高瀬 稔

キーワード：セメント芽細胞，上皮間葉転換，apical bud，Hertwig 上皮鞘

【目的】Hertwig上皮鞘（HERS）は，歯の発生において重要な役割を果たすが，HERS及びMalassezの上皮遺残（ERM）が歯周組織の再生において果たす役割については未だよく分かっていない。我々はHERS/ERMの細胞動態に着目している。生涯にわたって伸び続けるマウスの下顎前歯の根尖部の組織幹細胞集団（apical bud）はHERS/ERMに分化するので，これを細胞ソースとし，*in vivo*実験系において移植後の動態を追跡した。

【材料及び方法】ドナーとなる細胞は，GFP遺伝子を導入した10日齢のC57BL/6-TG（CAG-EGFP）マウスの下顎前歯apical budから採取した。これを分散化して6週齢の野生型のマウス（C57BL/6）上顎臼歯歯根膜に移植した。移植後2，4，6週にて動物を安楽死させ，サンプルを採取しホルマリン固定を行った。組織学的な形態については，川本法による未脱炭凍結切片によって作製した標本をHE染色及び免疫組織染色法にて観察を行った。免疫染色法において1次抗体として，サイトケラチン14とオステオポンチン，2次抗体としてアレクサフルオロ568抗体を使用し，GFPの緑色蛍光を頼りにHERS細胞の動態を追跡した。

【結果】移植手術後4週では，細胞が歯根膜腔内に埋伏されているのを確認した。この細胞が，類セメント質を分泌するセメント芽細胞／セメント細胞に分化しているのか，セメント質に埋められた上皮系細胞のままなのかを検証している。

【結論】HERS細胞の移植後，セメント芽細胞／セメント細胞に分化している可能性が示唆された。

P-19

ラット頭蓋骨由来初代培養骨芽細胞様細胞の増殖と石灰化に対するEr:YAGレーザーの効果

新見 ひろみ

キーワード：Er:YAGレーザー，骨芽細胞様細胞，マイクロアレイ，増殖活性，石灰化，遺伝子発現

【目的】各種レーザーによる細胞への生物学的効果の報告は増えていくが，Er:YAGレーザーによる骨芽細胞への影響については報告が少ない。本研究の目的は，低出力Er:YAGレーザー照射による初代培養骨芽細胞様細胞の増殖と石灰化への影響を評価することである。

【材料及び方法】3-5日齢のWistarラットの頭蓋骨より分離した骨芽細胞様細胞を培養し，Er:YAGレーザーを2.2, 3.3, 4.3 J/cm²のエネルギー密度で照射した。照射時細胞表面温度の測定および照射後細胞増殖活性をフローサイトメトリーで観察した。照射後7日間骨分化誘導培地で培養した骨芽細胞様細胞の石灰化をAlizarin red S染色で評価した。照射3, 6, 12時間後の遺伝子発現をqPCRと比較し，3.3 J/cm²で照射した細胞の照射6時間後の包括的遺伝子発現をマイクロアレイで解析した。

【結果】低出力Er:YAGレーザー照射による細胞表面温度の急激な上昇は認められず，レーザー照射は細胞増殖活性に影響を及ぼさなかった。3.3 J/cm²での照射7日後に細胞外基質の石灰化が有意に増加した。3.3 J/cm²での照射6時間後に*Bglap*の発現が有意に亢進し，マイクロアレイにより炎症関連遺伝子発現の亢進と*Wisp2*の発現の減少が明らかになった。Gene Set Enrichment Analysisにおいて炎症とNotch signalingに関連する遺伝子群が亢進していた。

【結論】低出力Er:YAGレーザー照射は*Bglap*の発現亢進とNotch signalingの遺伝子群の亢進を介して初代培養骨芽細胞様細胞の石灰化を促進することが示唆された。

P-18

Er:YAGレーザー照射は骨組織と骨細胞様細胞においてsclerostinの発現を減少する

大杉 勇人

キーワード：エルビウムヤグレーザー，スクレロstin，骨，骨細胞様細胞，マイクロアレイ

【目的】Er:YAGレーザーは歯周治療やインプラント治療で骨蒸散に用いられている。しかしながらEr:YAGレーザー照射の骨組織に対する影響は明らかになっていない。本研究の目的は，レーザー蒸散骨，バー切削骨，非切削骨の遺伝子発現を網羅的かつ経時的に評価し，レーザー照射による骨組織の生物学的反応を明らかにすることである。

【材料及び方法】10週齢の雄性Wistarラットの頭頂骨を用いて，レーザー蒸散とバー切削を行った。レーザー照射とバー切削および非切削骨の遺伝子発現を6, 24, 72時間後にマイクロアレイにて評価した。骨芽細胞様細胞は生後3-5日のラットの頭頂骨から単離した。骨細胞様細胞へ誘導するために骨分化誘導培地で21日間培養を行い，骨細胞様細胞は1.5, 3.1 J/cm²のエネルギー密度でそれぞれレーザー照射を行った。照射群と非照射群においてqPCRとELISA法を用いてsclerostinの発現を評価した。

【結果と考察】マイクロアレイにより24時間後で非切削骨，バー切削骨，レーザー蒸散骨間で大きく遺伝子発現が変化していた。Gene Set Enrichment Analysisでは，バー切削群において6時間後から炎症の亢進が認められたが，レーザー蒸散骨では72時間後に初めて亢進が認められ，発現変動遺伝子よりレーザー蒸散骨では炎症が少ないことが示された。レーザー照射による骨細胞様細胞への細胞障害は認められなかった。レーザー照射により骨組織と骨細胞様細胞ともに*Sost*の遺伝子発現レベルが有意に減少した。ELISA法においても骨細胞様細胞培養上清中のsclerostinの有意な減少が認められた。

【結論】Er:YAGレーザー照射は骨組織内の骨細胞を刺激し，sclerostinの減少に示されるような新生骨形成に有利な反応を引き起こす可能性が示唆された。

P-20

口臭を予測する新しい口腔機能マーカーの探索

高江洲 雄

キーワード：口臭，唾液検査，咬合力，口唇閉鎖力

【目的】本研究では口臭判定に利用できる新しい口腔機能マーカーを探索することを目的として，唾液成分，咬合力，口唇閉鎖力に注目し，口臭の有無や原因との関係を調べた。

【方法】口臭外来患者96名に対し，起床時より絶飲食，非口腔清掃，非喫煙の条件で，口臭検査，口腔内診査，唾液検査，咬合力測定，口唇閉鎖力測定を行った。唾液検査ではスポットケムST（アークレイ）を用いて7指標（腐蝕原因菌，酸性度，緩衝能，潜血，白血球，たんぱく質，アンモニア）を測定した。咬合力測定にはオクルーザルフォースメーターGM10（長野計器），口唇閉鎖力測定にはりっぶるくん（松風）を利用した。20歳以上で全データが揃っていた75名（男性34名，女性41名，平均年齢50.4 ± 16.4歳）を分析対象とし，口臭なし21名，口臭あり54名（歯周病なし24名，歯周病由来30名）で結果を比較した。統計分析にはIBM SPSS ver. 22.0を用いた。本研究は福岡学園倫理審査委員会の承認を得て行った（322号）。

【結果】多変量解析で舌苔とアンモニアが口臭ありに有意に関係し，舌苔，ブラーク指数，潜血が歯周病由来口臭に有意に関係していた。咬合力と口唇閉鎖力は単独では口臭への関与を認めなかったが，女性の口臭の有無において有意な交互作用を示した。

【結論】唾液成分のうち，アンモニアは口臭ありの判定に，潜血は歯周病由来口臭の判定に，それぞれ利用できることが示唆された。また咬合力と口唇閉鎖力はそのバランスが口臭の有無に関与する可能性がある。

キーワード：歯周歯内病変, 細菌, PCR法

【目的】歯周歯内複合病変（エンドペリオ病変）は、歯周ポケットと根尖病変が交通した病変である。歯内病変から引き起こされたエンドペリオ病変は治癒しやすく、歯周炎から進行したものは治癒しにくい、という臨床実感がある。しかし、エンドペリオ病変はどちらから起きたものなのかを疾患成立後に判断することは難しい。そこで、歯内病変から波及したエンドペリオ病変では、病変部にエンド由来の菌が多く、また歯周病変由来の病変では、病変部にペリオの菌が多いのではないかと仮説を立てた。本研究の目的は、治癒しやすいエンドペリオ病変を術前検査により判別可能にすることである。

【方法】東京医科歯科大学歯学部附属病院の来院患者から、エンドペリオ病変を持つ患者を11名選定した。エンドペリオ病変の治療は歯内治療から行った。術前に、歯周ポケットから細菌のサンプリングを行った。各種細菌量はTaqManプローブとプライマー、また総菌数はSYBR Greenを用いてRealtime-PCR法にて定量した。細菌は、歯周病で高頻度に検出される*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, 根尖病変内で高頻度に検出される*P. endodontalis*, *D. invisus*, *P. alactolyticus*, う蝕関連細菌である*S. mutans*, *S. sobrinus*を選択した。歯内治療を行い、根管充填3ヶ月後に病変が「治癒した」「治癒していない」を評価した。

【結果と考察】3症例が歯内治療のみで改善し、4症例は歯内治療のみでは改善しなかった。4症例は除外された。術前の歯周ポケット内に歯周病由来の菌が多いほど、治癒しづらかった。深い歯周ポケットが排膿路にすぎないケースでは、歯内治療のみで劇的に治癒した。

【結論】本研究から、根管治療のみで治癒するエンドペリオ病変を、術前のポケット内細菌検査により判断できる可能性が示された。

キーワード：喫煙, ヒト微小血管

【目的】歯周組織の微小血管は、分岐や吻合を行いながら網目の細かな血管網を形成し、歯周組織の炎症、感染などの免疫応答に関与している。一方、喫煙は歯周病のリスクファクターの1つであり、タバコに含まれるニコチンは、微小血管の収縮、循環機能の低下、血中酸素分圧の低下を起こすことが知られている。本研究では、血流マイクロスコプを用いてヒト微小血管を観察し、喫煙による形態変化について検討を行った。

【方法】被験者は、健康な成人男性20名（喫煙群10名、非喫煙群10名 平均年齢26.3±2.4歳）とした。微小血管の撮影は、卓上・ハンディー兼用型血流スコプ GOKO Bscan-Z（GOKO映像機器株式会社）を用い、撮影した画像を計測ソフトIC Measure（GOKO映像機器株式会社）にて計測を行った。計測箇所は、下顎右側側切歯唇側辺縁歯肉中央部、両側第2指爪半月部とした。計測項目は、喫煙30分及び1時間後の①血管ループの本数、②血管ループの形態変化率とした。

【結果】喫煙30分、1時間後の血管ループの本数は、それぞれの計測箇所において喫煙群と非喫煙群の間に有意差を認めなかった。喫煙30分、喫煙1時間後の血管ループの形態変化率は、それぞれの計測箇所において喫煙群で有意に高かった。また、喫煙30分後と1時間後では喫煙1時間後において高い形態変化率が認められた。

【考察・結論】本研究において血管ループの形態変化は、喫煙30分後ですでに観察され、1時間後においてはさらに形態変化の増加が認められた。これらのことからニコチンは、喫煙後体内に吸収され、血管ループの形態に影響を及ぼし、微小血管の循環機能を低下させることが示唆された。

キーワード：イムノクロマト法, カルプロテクチン, インプラント疾患, インプラント周囲溝滲出液

【目的】歯科インプラント治療の普及に伴いインプラント疾患の発症が増加している。本疾患の早期発見は、インプラント体の長期維持に貢献する。私たちは、最近、インプラント周囲溝滲出液（PICF）中のカルプロテクチン（CPT）がインプラント疾患の炎症マーカーとなることを示した。本研究では、簡易測定が可能なイムノクロマト（IC）法を用いてPICF中のCPTを測定し、インプラント疾患の診断に有用である可能性を検討した。

【材料と方法】徳島大学病院歯科を受診したインプラント患者46名から本研究への参加同意を得た。インプラント部位の周囲溝深さ（PD）、歯肉炎指数（GI）とブローピング時出血（BOP）の評価から疾患部位と健常部位を選択した。ペーパーストリップスを用いて周囲溝からPICFを採取した。IC法とELISA法にてCPTを定量し、ICチップのCPTシグナル強度をICリーダーにて測定した。

【結果と考察】CPTのICリーダー値（IC値）はELISA値と高い相関関係を有し、またPDと有意な正の相関関係を示した。GI=1および2の部位から採取したPICFのIC値はGI=0のサンプルと比較して有意に高い値を示した。また、BOP（+）部位由来PICFのIC値は、BOP（-）群より有意に高い値であった。インプラント疾患部位と健常部位のROC解析ではAUC値が0.908（95%CI=0.847～0.969）で、ICのカットオフ値が5の場合、感度は84.2%、特異度は85.7%であった。

【結論】IC法を用いたPICFカルプロテクチンの測定は、インプラント疾患の診断に有用である可能性が示唆された。

キーワード：糖尿病, 歯周病

【研究目的】糖尿病と歯周病の関連において、細小血管障害により歯周炎の発症や進行に影響する可能性が示唆されている。歯肉は毛細血管が豊富な組織であるが、その観察方法は確立されていない。本研究の目的は、歯肉毛細血管の形態学的な評価方法を検討し、糖尿病が歯肉の毛細血管に及ぼす影響を解析することである。

【材料および方法】本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理委員会の承認の下で行われた（D2018-070）。同歯学部附属病院歯周病外来にて、初診およびメンテナンス下にある20歳以上の慢性歯周炎患者20名（2型糖尿病患者9名、非糖尿病患者11名）を被験者とした。上顎中切歯を対象歯とし、歯周組織検査および毛細血管血流スコプ（BSCAN-Z, GOKO映像機器株式会社）を用いた頬側辺縁歯肉の毛細血管の撮影を行った。撮影した歯肉毛細血管像を定量的、定性的に評価した。

【結果と考察】非糖尿病群と糖尿病群の平均年齢はそれぞれ70.3±8.8歳、68.4±7.3歳であった。糖尿病群の平均HbA1cは7.5±0.9%であった。非糖尿病群と糖尿病群の被検部位の平均ブローピングポケット深さ（PPD）はそれぞれ1.6±0.5mm、2.2±1.5mmであった。被験歯の平均PPD、ブランク指数、歯肉炎指数に両群間で統計学的な有意な差は認められなかった。歯肉毛細血管密度は、非糖尿病群では14.4±5.9/mm²、糖尿病群では9.1±3.0/mm²と糖尿病群で有意な減少を示した。毛細血管の形態異常は糖尿病群において高い頻度で認められた。

【結論】毛細血管血流スコプを用いた撮影により、歯肉毛細血管を簡便かつ非侵襲的に観察することができた。さらに歯肉毛細血管の評価により、2型糖尿病が歯肉に微小血管障害を生じさせる可能性が示唆された。

P-25

歯周炎が唾液中のエクソソーム内の成分に及ぼす影響

山口 亜利彩

キーワード：エクソソーム，唾液，miRNA，CD81，TSG101，HSP70

【目的】エクソソームは細胞から分泌される膜小胞で，タンパク質や核酸などの生理活性物質を豊富に含む。また口腔内では唾液中に安定して存在することから，その解析は歯周炎の病態を知る手がかりとなる可能性がある。本研究は，中等度～重度歯周炎患者を対象に初診時に唾液を採取し，唾液中のエクソソーム内の成分を健常者と比較し，歯周炎が唾液中のエクソソーム内の成分に及ぼす影響を解析した。

【材料と方法】中等度～重度歯周炎患者の初診時に唾液を採取し，コントロール群として健常者から唾液を採取して，エクソソームを精製した。エクソソームから抽出した全RNAおよびタンパク質を使用し，歯周炎患者と健常者の唾液エクソソーム中のmiRNAの発現量をリアルタイムPCRで，エクソソームのマーカータンパク質であるCD81，TSG101およびHSP70の発現量の変化をWestern Blotでそれぞれ比較解析した。

【結果と考察】唾液エクソソーム中のmir-143-3pとmir-223の発現量は，健常者よりも歯周炎患者で有意に多く，mir-144-3p，mir-150およびmir-200bの発現量は健常者よりも歯周炎患者で有意に少なかった。エクソソーム中のマーカータンパク質のうち，CD81，TSG101のタンパク質量は健常者よりも歯周炎患者で多く，HSP70のタンパク質発現量は健常者と歯周炎患者で変化を認めなかったが，HSP70のmRNA発現量は健常者よりも歯周炎患者で多かった。現在，歯周炎患者の歯周基本治療前後での唾液中のエクソソーム内の成分の発現量の変化について解析を進めている。

P-27

慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中における熱ショックタンパク質（HSP）70に対する歯周基本治療の効果
古瀬 信久

キーワード：ヒートショックタンパク質70，歯肉溝滲出液，歯周炎

【目的】HSP70は炎症組織で発現し，細胞保護に関連する熱ショックタンパク質であり，慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液（GCF）中のHSP70発現量は，健常者と比べて増加している。本研究では，慢性歯周炎患者のGCF中のHSP70発現量に対する歯周基本治療の効果を検討した。

【材料と方法】慢性歯周炎患者10名を対象として，初診時，歯周基本治療終了時および歯周基本治療終了3か月後に，被験歯のブローイングポケット深さ（PPD），臨床的アタッチメントレベル（CAL），PPD測定時の出血（BOP），プラーク指数（PII）および歯肉炎指数（GI）の測定を行った。また，同一口腔内から，5mm以上のPPD（CP; Chronic Periodontitis）部位と3mm以下のPPD（HC; Healthy Control）部位の2ヶ所からGCFを採取し，GCF量を測定した。さらに，HSP70タンパク質量をELISA法によって測定した。

【結果と考察】CP部位のBOPおよびGIは，HC部位よりも高かった。両部位のPIIは，歯周基本治療後に有意な減少を認めた。CP部位のPPDは，歯周基本治療後で有意に減少し，CP部位のBOPおよびGIは，歯周基本治療終了3か月後で有意に減少した。GCF中のHSP70タンパク質量はHC部位に比較してCP部位で多く，CP部位で歯周基本治療終了3か月後に有意に減少した。GCF量は，歯周基本治療終了3か月後にHCとCP部位で有意差は認めなかった。GCF中のHSP70発現量は臨床パラメーターの改善に伴い減少しているため，歯周病改善度の重要な指標になる可能性が示された。

P-26

各種歯ブラシによるプラーク除去効果の比較～第2報～歯の部位による違い

坪崎 健斗

キーワード：歯ブラシ，プラークコントロール，熟練度，歯の部位

【目的】我々は日本歯周病学会第63回春季学術大会にて5種の歯ブラシのプラーク除去効果の違いについて全顎を1単位として検討した。今回，さらに全顎を6ブロックに分け各種歯ブラシのプラーク除去効果を検討したので報告する。また，全ての実験を通して利き腕による左右のプラーク除去効果の比較についても検討を行った。

【研究方法】対象者はブラッシングが標準化された歯科医師の10名（ペリオ群：P群）とブラッシング指導を受けたことが無い非医療従事者10名（ボランティア群：V群）とした。

研究に用いた歯ブラシは，先端集中毛（A），無平線植毛（B），幅広ヘッド（C），スリムヘッド（D），台形状ヘッド（E）の5種とした。

試験当日はブラッシングを中止し，各種歯ブラシを用い3分間P群ではスクラビング法，V群では方法を指定せずに行った。その後プラークの染め出しを行い，プラークスコアの測定を測定部位（頬舌側近心・中央・遠心）6点で行なった。前後の変化を前歯・小臼歯・大臼歯にわけて重回帰分析（説明変数：年齢・性別・残存歯数・歯ブラシA～E）を用いて評価した。

【結果・考察】P群において前歯と小臼歯では，歯ブラシの違いによりプラーク除去率に有意差がみられた。V群はすべての部位において，歯ブラシの違いによるプラークの除去率の差はみられなかった。大臼歯では歯ブラシの違いによるプラークの除去率に有意差が無く除去効果も低いため，歯磨き指導にはより注意が必要であると考えられた。

【結論】ブラッシングの熟練度を高め，適切な歯ブラシを歯の部位を考慮して選択することが重要であると示唆された。

P-28

重度歯周炎において超音波スケーラーによるデブライドメントにアジスロマイシンを併用したフルマウスディスイنفェクションの1回治療の効果

青木 章

キーワード：歯周炎，超音波スケーラー，アジスロマイシン，フルマウスディスイنفェクション

【目的】近年，フルマウスディスイنفェクションや抗菌薬の使用の有効性が多数報告されてきている。本症例報告では，超音波スケーラーによるデブライドメント（USD）にアジスロマイシンの全身投与を併用した1回治療の効果について報告する。

【被験者と方法】2010年から2020年までに東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来および先端歯科診療センターで，広汎型重度歯周炎に対し，初診時に近い段階で歯周炎の急性症状時あるいは私費治療において，患者の同意を得て歯肉縁下も含めた全顎1回のUSDを実施し同時にアジスロマイシンを処方した治療が行なわれた症例を過去の診療録から抽出した（歯学部倫理委員会承認D2019-044）。術後にTBIを開始し，咬合調整，露出した残存歯石の除去やクリーニングを継続的に数回実施し，再評価を行なった。

【結果】抽出した5症例の1回のアポイントメントは約40-50分で，超音波スケーラーのみで歯肉ポケットを徹底的にデブライドメントし，アジスロマイシンを処方した。術後の体調不良や副作用は認められず，早期に重篤な炎症の軽減が認められた。再評価検査時にすべての症例で歯肉ポケットは顕著に改善し，4mm以上の歯肉ポケットは術前の平均72部位から12部位へ減少し，その後のハンドスケーラーによるSRP治療を最小限にすることができた。歯肉縁下歯石のUSDは技術的に難しい面があるが，本治療により治療の容易化が達成され，患者術者ともに負担の少ない治療を供受することができた。

【結論】重度歯周炎においてUSDにアジスロマイシンの全身投与を併用した1回治療は症例によって有効な治療法であると考えられる。

P-29

歯周基本治療後に残存した歯周ポケットへの光殺菌治療の安全性および有効性の検討

吉村 篤利

キーワード：慢性歯周炎、歯周ポケット、光殺菌治療

【目的】慢性歯周炎の治療では、全身疾患の罹患や多種の服用薬剤のために歯周外科治療を行うことができない症例が多くみられる。近年、光感受性物質に特定の波長の光を照射して殺菌作用を生じさせる、いわゆる光殺菌治療（PDT）が注目されており、慢性歯周炎に有効であるとの報告がある。本研究では、歯周基本治療後に残存した歯周ポケットにPDTを行い、その安全性と有効性について検討した。

【材料と方法】PDTには、FotoSan®630光照射器（CMS Dental社）およびFotoSan®agent（国内未承認）を用いた。未承認薬の使用にあたり、長崎大学臨床研究審査委員会による審査・承認を受けた（CRB19-013）。歯周基本治療後に4～6mmの歯周ポケットが残存した68部位（患者34名、男/女=16/18）を、洗浄群とPDT群にランダム化均等割付けした。洗浄群では、超音波スケーラーによる洗浄のみを行った。PDT群は、洗浄後、ポケット内にFotoSan®agentを注入し、FotoSan®630で30秒間光照射を行い、洗浄して終了した。治療日および治療後7日目に対象歯のブロービング時の出血（BOP）、歯周ポケットの深さ（PPD）、動揺度を検査するとともに、安全性について評価した。

【結果】PPDおよび動揺度については、両群間に有意差はなかった。BOPについては、PDT群で有意な減少を認めた（ $P<0.05$ ）。全例において両日とも有害事象は認められなかった。

【結論】FotoSan®を用いた光殺菌治療は、歯周基本治療後に残存した歯周ポケットのBOPの減少に有効であることが示唆された。

P-30

長期SPT患者における歯の喪失原因

加藤 智崇

キーワード：Supportive periodontal treatment（SPT）、失活歯、後ろ向き研究

【目的】2020年の診療報酬改定において歯周病重症化予防治療が新設されるなど、ますます継続的な口腔の管理が重要視されている。我々は、多数の長期SPT患者の臨床データを蓄積しており、今回は歯の喪失について解析したので報告する。

【研究方法】対象者は、ある一般歯科医院において、10年継続的に通院している20歳以上すべての患者。智歯や予後不良の歯は除いた。抜歯原因をう蝕、歯周病、歯の破折、その他のカテゴリーに分類した。また、抜歯のリスクファクターとして、年齢、性別、喫煙、糖尿病、DMFT値、歯周ポケットの深さ、大臼歯、補綴処置歯、失活歯を説明変数としてCox比例ハザード解析で各リスク比をもとめた。そして10年間における歯の予後について生存曲線を作成した。

【結果】対象者は297名で対象歯は7584歯であった。10年間で181本の歯が抜歯され、抜歯原因は歯の破折が最も多い原因であった。Cox比例ハザード解析より、“失活歯”が最もリスク比が大きく、生存曲線でも“生活歯”と“失活歯”では有意な差がみられた。

【考察・結論】10年という長期に管理された患者の抜歯原因は歯の破折が多く、歯周状態が安定しているSPT期間中においては、抜歯による歯の喪失のリスクが高いことが示唆された。一方で、過去の報告と比べて、10年間において、7000本以上の歯に対して181本の抜歯は極めて少なく、SPTによる管理が抜歯数の減少に寄与している可能性が考えられた。今後も、継続的に患者の臨床データを蓄積して、抜歯、歯周病等のリスクについて長期の解析を予定したい。

P-31

SPT期における臨床パラメーターとGCFヘモグロビン量の推移

酒寄 智央

キーワード：歯肉溝滲出液、歯周組織検査、ヘモグロビン、SPT

【目的】我々は、歯肉溝滲出液（GCF）に観察されるヘモグロビン（Hb）に注目し、従来の歯周組織検査やGCFに観察される組織損傷のマーカーとの関連性を検索し報告してきた。今回、SPT期におけるGCFのHb量の推移について従来の歯周組織検査と共に観察し考察を加えた。

【材料および方法】日本歯科大学附属病院にてSPTを受診している全身疾患のない非喫煙者33名を対象とした。研究プロトコルは、3か月毎のリコールとし、機械的歯面清掃を含めた歯肉縁下デブライドメントを行った。33名の66部位に対して、初回の歯周組織検査とGCF採取を行い、同一患者の同一部位に対し1年後の来院時において2回目の歯周組織検査とGCFの採取を行った。GCFの採取は、単根歯に限定しPeriopaper®を用い、Hb量の測定は、immuno-chromatography法を応用した。歯周組織検査は、PII, PD, GI, BOP, CAL, GCF量とした。

【結果】初回と2回目の各歯周組織検査では、統計学的な有意差は認められなかった。一方、GCFのHb量は、初回は $29.28 \pm 61.4 \text{ ng/pocket}$ 、2回目は $4.11 \pm 13.4 \text{ ng/pocket}$ となり統計学的に有意に低下した。

【考察および結論】今回の検索結果から、SPT期間での臨床パラメーターの変化は認められなかった。しかしながら、Hb量に有意な変化が認められた。すなわち、GCFのHb量の測定は、臨床パラメーターには反映されない微弱な変化を捉えることを示した。今後、GCFの生化学マーカーを加えた追跡調査を行う予定である。

【倫理的配慮および資金源】日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認のもと本研究は行われた（承認番号：NDU-T 2017-12）。また、文部科学省科学研究費助成金：基盤C（課題番号：20K09964・20K09981）の一部を資金源とした。

P-32

急性期脳卒中患者における喀痰内の多剤耐性菌検出とその関連因子（横断研究）

井上 裕貴

キーワード：多剤耐性菌、脳卒中、口腔ケア

【目的】急性期脳卒中患者では、意識障害や運動障害によって口腔衛生状態が悪化しやすい。また、患者の約50％に後遺症の嚥下障害があるので、誤嚥性肺炎の発症リスクが非常に高い。その起因菌が薬剤耐性である場合には予後がさらに不良となるが、これらの患者の多剤耐性菌感染率と感染誘因は未詳のままである。

そこで本研究は、急性期脳卒中患者の喀痰から多剤耐性菌を検出し、これら患者の背景因子を調べ、相互の関連を検討した。

【方法】本研究では、2016年4月～2018年3月の2年間に、脳神経疾患の専門病院に入院した急性期脳卒中患者のうち、喀痰の細菌培養検査を受けた162人を対象とした後ろ向き観察研究を行った。入院時の医科および歯科の問診や検査で得た情報を、多剤耐性菌の検出有無による2群間で比較し、単変量解析と多変量解析を行った。

【結果】単変量解析では、多剤耐性菌が検出された群は検出されなかった群と比較して、入院時のアルブミン値が有意に低く、また腎不全を有する割合と介護施設を利用している割合が高かった。（ $p<0.05$ ）

多変量解析では、腎不全を有する者は、有しない者と比較して、多剤耐性菌検出のオッズ比が4.54（95％信頼区間：1.16-17.76）と高かった。また、介護施設を利用している者は、利用していない者と比較して、多剤耐性菌検出のオッズ比が2.50（95％信頼区間：1.21-5.17）と高かった。なお、歯科受診の有無は、関連しなかった。

【結論】急性期脳卒中患者における多剤耐性菌の検出頻度を高くする因子は、腎不全の既往と入院前の介護施設利用である。口腔の感染対策時に注意が必要である。

P-33

歯科診療所に通院する2型糖尿病申告患者の歯周精密検査データと患者背景の解析

野田 めぐみ

キーワード：糖尿病，歯周精密検査，ブラークコントロール，歯数

【目的】糖尿病と歯周病および歯牙喪失リスクの関係性が多くの疫学研究や介入研究で報告されているが，歯科診療所通院患者における実態の報告は乏しい。本研究では，診療記録を用い，歯科診療所に通院する2型糖尿病申告者の歯周病の臨床パラメーターと患者背景を検討することを目的とした。

【方法】2019年の当歯科診療所受診歴を有し，2型糖尿病罹患を申告した患者を対象とした。診療記録上の歯周精密検査データから，歯数，Plaque Control Record (PCR)，Bleeding on Probing (BOP) 率，Probing Pocket Depth (PD) $\geq 4\text{mm}$ ， $\geq 6\text{mm}$ の部位数・率を抽出し，問診から得たその他の全身疾患，HbA1cの申告データとともに解析を行った。

【結果と考察】2型糖尿病申告患者数は335名，うち歯周精密検査データ保有者は232名だった。その他の全身疾患では，高血圧が35%と最も高い申告率だった。年代別歯数の中央値は60，70，80代以上でそれぞれ26，23，22歯であり，平成28年歯科疾患実態調査の有歯者における中央値25，23，19歯と比べ同等以上であった。PCR，BOPの中央値は21%，8%で，PDは良好にコントロールされていた。自己申告HbA1c値（142名）と臨床パラメーターの関係を検討したところ，PCRのみ有意な相関関係を示した（相関係数0.187， $p<0.05$ ）。本研究においては，データ収集方法による質的な限界を考慮する必要がある。

【結論】歯科診療所に通院する2型糖尿病患者の歯周病は，適切な管理により良好にコントロールできる可能性が示唆された。

P-34

血糖コントロールが歯の残存に及ぼす影響：医療データベースを用いた解析

原田 佳代

キーワード：医療データ，HbA1c，歯数，歯種，糖尿病

【目的】高血糖状態は歯周病の発症，重症化および歯牙喪失リスクを増大させるが，血糖コントロール状況を表すHbA1cと歯の残存の関係性を調査した大規模研究はない。本研究の目的は，医療データを用いてHbA1cが歯の残存に与える影響を検討する事とした。

【方法】企業健康保険合の医療レセプトと健康診断データを基にした（株）ミナケアのデータベース（2015年度版）のうち，HbA1cと歯数データを有する成人233,555例を解析対象とした。歯数は歯科レセプトで，歯周炎，歯肉炎，慢性歯周炎の病名がついた智歯を除く歯数とし，年代およびHbA1cクラス（ <6.0 ， $6.0-6.9$ ， $7.0-7.9$ ， 8.0% ）別に比較した。HbA1c $\geq 7.0\%$ を高値群と定義し，歯種別の保有者率を群間比較した。

【結果と考察】30代以上の全年代においてHbA1cが高いほど歯数が少なかった（ p for trend <0.001 ）。クラス間の差が最大の60代における平均歯数（標準偏差）はHbA1c低クラス順に23.9（5.0），23.5（5.3），22.7（5.8），22.2（5.8）だった。HbA1c高値群で有意に低保有者率であった歯種数は，30，40，50，60代でそれぞれ12，20，28，26歯であり，下顎大臼歯部において群間差が大きかった。本研究のlimitationとして，解析対象が歯科受診時に特定病名がついた者に限定されることによる健康意識偏性や無歯顎データ欠損等のselection biasが挙げられる。

【結論】HbA1c高値は30代以降の歯数の減少に関与し，下顎大臼歯部は特に影響を受けやすい。