

一般演題ポスター

(ポスター会場)

6月1日(金)	ポスター受付・掲示	8:30~10:00
	ポスター展示・閲覧	10:00~16:50
	ポスター討論	16:50~17:40
	ポスター撤去	17:40~18:10

ポスター会場

P-01~49



P-01

2504

IL-27はヒト口腔上皮細胞のCXCR3リガンド産生を誘導する

細川 義隆

キーワード：IL-27, CXCR3リガンド, ヒト口腔上皮細胞

【目的】IL-27はIL-12 familyに属するサイトカインであり、歯周炎患者の歯肉溝浸出液中でその存在が確認された。しかしながら、IL-27が歯周組織構成細胞に及ぼす影響に関する報告はなく不明な点が多い。本研究ではIL-27がTh1細胞浸潤に関与するCXCR3リガンド産生を誘導するかどうかを確認するためヒト口腔上皮由来細胞（TR146）を用い検討を行った。

【材料と方法】TR146はMark Herzberg博士（University of Minnesota, MN, USA）より供与して頂いたものを用いた。TR146のCXCR3リガンド（CXCL9, CXCL10, CXCL11）産生をELISA法により、シグナル伝達経路（p38 MAPK, ERK, JNK, STAT1, STAT3）の活性化をwestern blot法を用い解析した。また、どのシグナル伝達経路がCXCR3リガンド産生に関与しているかを調べるために各シグナル伝達経路の阻害剤を使用した。

【結果と考察】IL-27はTR146細胞のCXCR3リガンド産生を濃度依存的に誘導した。IL-27はTR146のp38 MAPK, ERK, JNK, STAT1およびSTAT3のリン酸化を誘導した。CXCR3リガンドの産生はp38 MAPK, STAT1およびSTAT3の阻害剤により抑制された。

【結論】これらの結果よりIL-27は口腔上皮細胞のCXCR3リガンド産生を誘導する事により歯周炎病変局所へのTh1細胞浸潤・集積を促し、歯周組織破壊に積極的に関与している事が示唆された。

P-02

2206

ヒト歯肉線維芽細胞におけるIL-6発現へのmiR-200bの影響

小方 頼昌

キーワード：マイクロRNA, インターロイキン6, IKK β , Zeb1, 歯肉線維芽細胞

【研究目的】MicroRNA (miRNA) は、長さ約22塩基の一本鎖ノンコーディングRNAで、標的mRNAの3'末端非翻訳領域に結合し翻訳を抑制する。歯周病へのmiRNAの関与を解明するため、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) でのIL-6遺伝子発現に対するmiR-200bの影響を検索した。

【材料および方法】炎症と非炎症性歯肉を用いたmiRNAマイクロアレイの結果、炎症歯肉でmiR-200bの発現が上昇した。miR-200b発現プラスミドをHGFに導入後、IL-1 β (1ng/ml) またはTNF- α (10 ng/ml) で24時間刺激し、IL-6とmiR-200bの標的であるIKK β , Zeb1の遺伝子およびタンパク発現を検索した。

【結果および考察】HGFでのIL-6 mRNAとタンパク発現量は、IL-1 β またはTNF- α 刺激で増加し、miR-200bの過剰発現で減少した。IL-1 β またはTNF- α 刺激で増加したIL-6 mRNAとタンパク発現量は、miR-200b inhibitorによりさらに増加した。IKK β mRNAとタンパク発現量は、IL-1 β またはTNF- α 刺激で増加し、miR-200bの過剰発現で減少し、miR-200b inhibitorにより増加した。Zeb1の遺伝子とタンパク発現量は、IL-1 β またはTNF- α 刺激で減少し、miR-200bの過剰発現でさらに減少した。miR-200bはIKK β とZeb1の発現を抑制し、E-cadherin mRNAとタンパク発現量を増加させた。

【結論】HGFでのIL-6の発現量は、miR-200bによるIKK β とZeb1の発現調整を介して調節される。

P-03

2206

歯肉上皮細胞におけるTGF β 1誘導AMTN遺伝子発現はBax発現によって抑制される

中山 洋平

キーワード：歯肉接合上皮, アメロチン, アポトーシス

【研究目的】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報告されている。我々は以前、歯肉上皮細胞において、TGF β 1によるAMTN遺伝子発現の一過性の増加を示した。今回、TGF β 1に誘導されたAMTN遺伝子発現の減少にアポトーシス誘導因子であるBaxが関与していることを明らかにした。

【材料および方法】マウス歯肉上皮細胞 (GE1細胞) をTGF β 1で刺激およびBax過剰発現下で、AMTN mRNA量の変化をReal-time PCRで分析し、Smad3およびBaxの発現は免疫染色で観察した。マウスAMTN遺伝子プロモーター配列を含むシフエ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。

【結果および考察】AMTN mRNA量はTGF β 1刺激24時間で最大になり、その後減少した。TGF β 1刺激24時間後Smad3発現は最大になり、48時間後Baxは最大になった。Bax過剰発現でGE1細胞のアポトーシスは誘導された。TGF β 1刺激による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の結合が増加したが、Baxの過剰発現によりその転写活性とSBE-Smad3の結合は減少した。

【結論】歯肉上皮細胞のTGF β 1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、その減少にはBaxの発現とSmad3が関与していた。

P-04

2206

エナメル芽細胞に及ぼすTGF- β の影響

大久保 水羽

キーワード：TGF- β , エナメル芽細胞, アポトーシス

トランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β) は、歯の形成に関わる重要な生理活性物質である。哺乳類のTGF- β には3種類のアイソフォーム (β 1, β 2, β 3) が存在するが、いずれのタイプも潜在型として合成され、pHや温度などの環境因子、酸などの物質によって活性化されることが知られている。我々はこれまでにTGF- β がマトリックスメタロプロテアーゼ20 (MMP20) によって活性化されることを明らかにした。

【目的】マウスのエナメル芽細胞を使用して (1) TGF- β によって惹起されるエナメルタンパク質の遺伝子と (2) TGF- β アイソフォームのアポトーシス誘導能について検討を行った。

【材料と方法】マウスのエナメル芽細胞であるmHAT9dを、10%ウシ血清を加えたDMEM/F12培地を用いて5%CO₂空気中37℃の条件下で培養した。TGF- β 1, β 2, β 3を添加した各群を実験群とし、10日間培養を行った。細胞からトータルRNAを抽出、逆転写し、エナメル質の各形成ステージに特有の遺伝子マーカー発現量をリアルタイムPCRにて確認した。また、同様の条件下にて培養したmHAT9dに、カスパーゼ3による免疫染色を行った。

【結果と考察】基質形成期エナメル芽細胞に特有の遺伝子マーカーは発現を確認することが出来なかった。成熟期エナメル芽細胞に特有の遺伝子マーカーの多くはTGF- β 3の添加によって遺伝子発現が低下した。また、免疫染色ではTGF- β 3の添加によってアポトーシスが多くの認められた。

【結論】TGF- β はアイソフォーム特異的に遺伝子発現を調整し、アポトーシスに関与する重要因子の1つであることが判明した。

P-05

2206

破骨細胞由来のLIFは、sclerostin発現を低下させて骨形成を促進する

小出 雅則

キーワード：骨細胞、スクレロステイン、骨吸収、骨形成

【目的】骨の恒常性は骨吸収と骨形成が共役し維持される。我々は、(1) 骨吸収が亢進したOPG欠損マウス(OPG-KO)では骨形成も亢進すること、(2) OPG-KOにおいて骨吸収を抑制すると骨形成も抑制されることを示した。近年、骨細胞はWntシグナルの阻害因子であるsclerostinを産生し、骨形成を抑制することが示されている。我々は、骨吸収の促進が骨細胞のsclerostinの発現低下を介して骨形成を促進させることを報告した。今回、sclerostinの発現を低下させる破骨細胞由来の因子を検討した。

【方法と結果】(1) 抗体アレイを用いて、破骨細胞の培養上清中のサイトカイン量を測定したところ、sclerostin発現を抑制する可能性のある因子としてleukaemia inhibitory factor (LIF)を見出した。(2) Sclerostinを高発現するUMR106細胞培養にLIFを添加すると、WB法にてsclerostinの発現が抑制された。また、この培養に破骨細胞の培養上清を添加すると、sclerostinの発現が抑制された。抗LIF中和抗体を添加することにより、破骨細胞の培養上清によるsclerostinの発現抑制効果は、消失した。(3) 12週齢のOPG-KOの長管骨におけるLIFとsclerostinの発現を免疫染色法およびqPCR法で検討した。LIF発現が著しく増加し、sclerostin発現は低下した。以上の結果より、破骨細胞由来のLIFがsclerostinの発現を抑制し、骨形成を亢進させることが示唆された。

P-06

2504

ヒトアメロジェニン由来ペプチド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：アメロジェニン、歯根膜幹細胞、硬組織分化

【目的】近年、歯周組織再生療法に広く適用されているEMDはブタの歯胚に由来し、主成分としてアメロジェニンを含んでいる。ブタアメロジェニンのエクソン5に相当する配列をもつ合成ペプチドによりヒト歯根膜幹細胞(hPDLSCs)の骨芽細胞への分化が促進されることが報告されている。本研究では、ヒトアメロジェニンのエクソン5に相当する配列をもつ合成ペプチド(SP)が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、ヒト抜去歯歯根膜より分離培養した。細胞増殖の検討では、hPDLSCsを96穴プレートに 2.0×10^4 cells/wellで播種し、SPを添加した増殖培地に交換して3, 6, 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、SPの至適濃度を測定した。硬組織分化の検討では、hPDLSCsを24穴プレートに 4.0×10^4 cells/wellで播種し、決定した濃度のSP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、3週後におけるカルシウム沈着量を測定し、Alizarin Redによるカルシウム染色を行い、ELISA法によりOsteocalcinのタンパク発現量を測定した。

【結果と考察】細胞増殖では、SPの濃度は $1\mu\text{g/mL}$ で最も生細胞数が増加したため、 $1\mu\text{g/mL}$ を至適濃度とした。硬組織分化では、SPの添加によりALP活性、カルシウム沈着量、Osteocalcinのタンパク発現量は有意に増加した。

【結論】SPはhPDLSCsの増殖と硬組織分化を促進し、歯周組織再生に応用できる可能性が示唆された。

P-07

2504

食物由来ペプチドを用いた炎症と骨吸収の制御法の検索

田村 光

キーワード：米ペプチド、破骨細胞

【背景】先行研究では様々な食物由来ペプチドが、歯周病原細菌に対して抗菌作用を呈すと報告されている。しかしながら、歯周炎病態の形成で重要となる炎症と骨吸収に与える影響はないことが示されており、抗菌作用と生体防御作用をもつペプチドの検索は新規性が高い。そこで本研究では、種々の米由来ペプチドに着目し、創薬研究の推進を最終目標として、生体防御機構、特に炎症と骨吸収へ与える影響を調べた。

【材料と方法】本研究では、数種類の米由来ペプチドを使用した(共同研究者：新潟大学 谷口正之教授より供与)。ペプチドの抗炎症作用および破骨細胞分化に対する影響を評価するために、細胞添加実験を行った。ペプチドで前処理したマウスマクロファージ由来RAW 264.7細胞に*Porphyromonas gingivalis* LPSを加え、炎症性サイトカインの転写活性をReal-time PCR解析した。また、RANKLとペプチドを添加した培地にてRAW264.7細胞を培養し、破骨細胞分化関連因子の転写活性を測定した。続いて、マウス歯牙結紮モデルを用いて、ペプチドの歯槽骨吸収に対する効果を検証した。BALB/c, 12週齢のマウスにおいて第二臼歯を結紮した後、ペプチドを1日1回、7日間歯肉に接種した。結紮から1週間後に上顎骨を回収し、歯槽骨の変化量を測定した。

【結果と考察】米由来ペプチドは、RAW264.7細胞の炎症および破骨細胞分化関連因子の転写活性を有意に抑制した。またマウスにおいて、歯牙結紮による歯槽骨吸収量は、ペプチドの投与により有意に抑制された。

【結論】本研究で選出した米ペプチドは、生体防御効果を持つ可能性が示唆された。

P-08

2504

天然由来物質Shikoninによりヒト歯肉線維芽細胞の創傷治癒は促進される

今井 一貴

キーワード：シコニン、ヒト歯肉線維芽細胞、創傷治癒、細胞外シグナル調節キナーゼ

【目的】ムラサキ科ムラサキの根である紫根は抗炎症作用や抗菌作用を有し創傷治癒を目的として使用され、軟組織の治癒に有効であるとされている。歯周外科治療において歯肉線維芽細胞の治癒は予後に大きく作用するが、現在市販されているEmdogain®, bFGFなどの多くの歯周組織再生材料は口腔内の軟組織の治癒に関しては有効であるとの報告は少ない。そこで我々は紫根の成分の一つであるShikoninに着目し、ヒト歯肉線維芽細胞(hGF)の創傷治癒に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】hGFは歯周組織に炎症を有していない患者より採取した歯肉より初代培養を行い実験に供試した。hGFを5種の濃度(0.01 μM , 0.1 μM , 1 μM , 10 μM , 100 μM)のShikoninを含む培養液で培養し、細胞増殖試験、細胞接着試験、細胞遊走試験(Boyden Chamber法, Scratch Assay)にて至適濃度を策定した。また、その至適濃度のShikoninを含む培養液で培養したhGFのERK1/2のリン酸化の発現をWestern Blot法にて検討した。

【結果と考察】hGFの細胞増殖試験、細胞接着試験、細胞遊走試験において1 μM で活性を示した。またMAPK経路が関与していることが認められ、1 μM のShikoninはERKシグナルを介し創傷治癒の促進に関与していることが示唆された。

【結論】Shikoninを添加することにより歯周組織の創傷治癒が促進することが示唆された。

P-09

2206

ZFNを用いたヒト歯髄細胞におけるHLAゲノムエディティング

小足 周平

キーワード：歯髄細胞，ジnkフィンガースクレアーゼ，ヒト白血球抗原

【目的】ヒト白血球抗原（HLA）は自己と非自己を区別する役割を果たしている。HLA-A, B, DRB1がハプロタイプホモである場合，レシピエント側のHLAハプロタイプの少なくとも一方と合致した場合には，理論上免疫拒絶を回避できる。現在，HLA-A, B, DRB1のローカスがホモである歯髄細胞を収集しiPS細胞にすることで移植用細胞バンクの構築が進められているが，そのためには膨大な費用と時間を必要とする。そこで，ジnkフィンガースクレアーゼ（ZFN）を用い，特定のHLAローカスに遺伝子変異を誘導し擬似的にHLAハプロタイプホモ細胞の作製を試みた。

【材料と方法】GFPプラスミドで導入率を確認し，HLA-A*02ローカスを特異的に切断するよう設計したZFNプラスミドを導入した。抗HLA-A*02-FITCで細胞を蛍光標識し，FACSを用いてHLA-A*02陰性画分を分取し拡大培養を行った。DNAのHLA-A*02ローカスと，HLA-A*33ローカスをPCRで増幅し遺伝子配列を解析した。

【結果と考察】FACSを用いて，ZFN処理群にてHLA-A*02分子の発現が低下した分画を得た。この分画の遺伝子配列を解析した結果，HLA-A*33アリルと比較して，HLA-A*02アリルに選択的な欠失やHLA-C, Hローカスとの相同組み換え変異を認めた。以上より，ZFN処理群ではHLA-A*02ローカスを認識して切断し，様々な遺伝子変異が導入されていたことが明示された。

【結論】ZFNはHLA-Aローカスをアリル特異的に認識切断でき，人工的に擬似HLAハプロタイプホモ細胞が作製できる可能性が示された。

P-11

3102

非コロイドナノプラチナ溶液の抗菌作用と有機質分解能について

松島 友二

キーワード：非コロイドナノプラチナ溶液，抗菌作用，有機質分解能，機能水

【背景および目的】非コロイドナノプラチナ溶液は，ナノプラチナの触媒作用によって水分子からのヒドロキシラジカルの反応性が高まり，活性の高まったヒドロキシラジカルが細菌や有機物から酸素を引き抜くことで抗菌・有機質分解作用をもつと考えられている。しかし，これまで歯科領域への応用についての報告はほとんどない。そこで我々は，非コロイドナノプラチナ溶液の有機質分解能や殺菌作用について評価することを目的に本実験を行った。

【方法】有機質の分解能は，ウシ血清由来のアルブミンを用い，非コロイドナノプラチナ溶液と一定時間反応させ，その反応状態を電気泳動で分子量を確認することで評価した。また同様にプロテインアッセイでも反応状態を調べた。抗菌作用の評価としては*S. mutans*（う蝕病原細菌：グラム陽性球菌）*E. faecalis*（難治性根管内細菌：グラム陽性球菌）*P. gingivalis*（歯周病原細菌：グラム陰性嫌気性桿菌）に対して抗菌作用があるかを調べた。培養細菌の懸濁液に非コロイドナノプラチナ溶液を一定時間反応させ，その後培養し，コロニー数を計測することで評価を行った。

【結果および考察】電気泳動およびプロテインアッセイの結果，コントロールと比較してアルブミンのバンド幅の減少と吸光度の低下を認めたことから，非コロイドナノプラチナ溶液によって有機質が分解されることが示された。また非コロイドナノプラチナ溶液を作用させて細菌培養を行った結果，コントロールと比較してコロニー数が減少したことから抗菌作用を有することが示された。以上より非コロイドナノプラチナ溶液は有機質の分解能および抗菌作用があると考えられる。

P-10

2205

ヒトiPS細胞由来LNGFR/THY-1強陽性神経堤様細胞は間葉系幹細胞の性質をもつ

黄地 健仁

キーワード：ヒトiPS細胞，神経堤様細胞，間葉系幹細胞

【目的】歯周組織は神経堤由来外胚葉性間葉を発生起源とする。発生学的に立脚した歯周組織再生治療を目指し，我々はヒトiPS細胞から神経堤様細胞への誘導を介し，LNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞を作製することに成功した。LNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞は骨分化能を有する間葉系幹細胞の性質と同時に，神経系細胞の性質を保持していた。本研究ではLNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞から骨分化能を高く有する細胞集団のさらなる分離を目的とした。

【材料と方法】ヒトiPS細胞をスフェア形成法を用いて神経堤様細胞へ誘導した。誘導後の神経堤様細胞はフローサイトメトリーを用いて細胞表面抗原の解析を実施した。細胞分離後，免疫染色解析，細胞増殖能および分化能解析を実施した。

【結果と考察】ヒトiPS細胞由来LNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞は間葉系幹細胞マーカーであるCD73，CD105，CD146や神経堤マーカーであるCD49d，CD57を発現した。またLNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞はシュワン前駆細胞マーカーであるEGR2，POU3F1陽性細胞が混在した。LNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞はさらにLNGFR/THY-1弱陽性群と強陽性群に分類され，弱陽性群に比較し，強陽性群では種々の間葉系幹細胞マーカーを高く発現した。強陽性群はコロニー形成能と骨分化能を高く有した。

【結論】LNGFR/THY-1両陽性神経堤様細胞は間葉系幹細胞とシュワン系細胞の性質を有した。本研究では，LNGFR/THY-1強陽性群をさらに分離することで，骨芽細胞への高い分化能を示す間葉系幹細胞を効率よく回収できた。

P-12

2504

FotoSan®の有機質分解能および抗菌作用について

深谷 芽吏

キーワード：抗菌光線力学療法，有機質分解能

【目的】近年，特定波長領域の光と光感受性物質を組み合わせた抗菌光線力学療法は，医科領域では癌治療などに応用されており，歯科領域においても臨床応用が進んでいる。現在市販されているFotoSan 630（FS）は，光感受性物質であるトルイジンブルーに，これを励起する波長の光を照射することで活性酸素種を発生させることができる。発生した活性酸素種を利用してポケット内や根管内の細菌を減少させることから臨床に応用され始めている。我々は，基礎的な研究としてFSの有機質分解能および抗菌作用について評価することとした。

【材料と方法】器材はFotoSan630（CMS社製）を用い，光感受性物質はトルイジンブルーを用いた。有機質分解能の評価は，LPSとアルブミン（Alb）の分解について評価した。LPSは検出用キットを用い，FSを一定時間作用させLPSが分解されるかを評価した。またAlbの分解能の評価には，2mg/ml Alb水溶液にFSを一定時間作用させ試料として回収し，電気泳動を行った。また抗菌作用については細菌にFSを作用させ，コロニー数をカウントし評価した。

【結果および考察】FSは今回の実験ではLPSの分解を認めなかった。また電気泳動の結果，コントロールと比較して，泳動後のバンド幅の減少を認め，AlbはFSによって分解されることが示された。またFSを作用させて細菌培養を行った結果，コントロールと比較してコロニー数が減少し，抗菌作用を有することが示された。以上よりFSは，抗菌作用があると考えられるが，LPSの分解能はなかった。Albの分解を示したことから有機質の分解能があることが示された。

P-13

2206

低酸素環境下で *in vitro* 培養された抗炎症性マクロファージの歯周病治療への応用

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

免疫抑制／抗炎症性マクロファージは、M2マクロファージ (M2-MΦ) マーカーのCD206や抗炎症性サイトカインのIL-10などを発現し免疫抑制的に働くので、免疫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td-Tomatoトランスジェニック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 (Lineage-positive/Lin+) 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。またそのメカニズムを詳細に検討すると、MSCは自身の産生・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との細胞接着すなわちcell-to-cell相互作用によりM2-MΦのpopulationを増加させた。また接着因子an inhibitor for intercellular adhesion molecule (ICAM)-1のreceptorの選択的阻害剤はLin+細胞のCD206発現を濃度依存的に減少させたが、VCAM-1 receptorの選択的阻害剤は影響しなかったことから、細胞間接着にはICAM-1 receptorであるpre-M2-MΦ上のLFA-1とMSC上のICAM-1との接着がM2-MΦの分化に関与していることが示唆された。以上より、低酸素培養下における、骨髄由来Lin+血球細胞とMSCを含む骨髄細胞共培養系はM2-MΦの供給系として有用であり、この系で得られる大量のM2-MΦを、歯周病に代表される炎症性疾患の治療促進に適用できる点で臨床的にも価値がある。

P-14

2204

マクロファージ極性化におけるグルコース濃度の影響

工藤 崇裕

キーワード：マクロファージ、糖代謝、創傷治療

【目的】糖尿病では、炎症の遷延や創傷治療の遅延を認めるが、その発症や病態形成にはマクロファージの関与が注目されている。マクロファージはM1やM2と呼ばれる状態に極性化し、それぞれ組織障害やインスリン抵抗性の誘導、障害組織の修復や代謝恒常性の維持に関わる。マクロファージの極性決定機構の解明は、メタボリックシンドロームに起因する病態の理解と新たな治療法の開発につながると考えられる。今回我々はマクロファージのM1/M2極性化に細胞外グルコース濃度が及ぼす影響を調べた。

【方法】マウス由来マクロファージ様細胞株Raw 264.7細胞を、高および低グルコース培地として、4.5g/Lおよび1g/Lグルコースを含む培地中で培養した。M1/M2への分化はIL-4およびLPSによって誘導し、RT-PCR法にてArg1, NOS2遺伝子の発現上昇を指標として検討した。エネルギー代謝に関わる細胞内シグナル分子の活性化は、ウェスタンブロット法によりモニターした。

【結果および考察】Raw 264.7細胞において、低グルコース環境下では高グルコース環境下と比べてIL-4刺激後のArg1発現量が上昇し、LPS刺激後のNOS2発現量が低下しており、M2分化への誘導が促進されていた。また低グルコース環境下で活性化するAMPKを、AICARによって直接活性化するとM2分化への誘導を促進した。

【結論】本結果は、組織局所のグルコース濃度はAMPKを介してマクロファージの極性に影響することを示唆し、糖尿病患者の歯周病治療にAMPKを標的とする薬物応用の可能性を期待させる。

P-15

2504

Ⅱ型糖尿病モデルラット由来骨髄間葉系細胞に及ぼすα-トコフェロールの影響

野口 正皓

キーワード：α-トコフェロール、骨髄間葉系細胞、糖尿病

【目的】酸化ストレスは癌や老化などの多くの疾患に関与し、歯周病の病態制御にも一翼を担っている抗酸化剤であるビタミンE群で最も生理活性が高く、遺伝子発現の調節や細胞増殖阻害などの様々な代謝調節に関与しているα-トコフェロールに着目した。本研究の目的はα-トコフェロールがⅡ型糖尿病モデルラット由来骨髄間葉系細胞 (GK-BMMCs) に及ぼす影響を検討することである。

【材料と方法】α-トコフェロール濃度を欠乏群 (1.0μM)、正常群 (10μM)、過剰群 (100μM) および対照群 (0μM) の4群に調整した増殖培地で培養後、細胞増殖、過酸化水素の産生量、炎症性サイトカインの発現、ERKシグナルの発現、カタラーゼの産生量について測定した。

【結果と考察】α-トコフェロールによってGK-BMMCsの増殖を促進せず、過剰群で過酸化水素は有意に高い産生量を示した。欠乏群での過酸化水素の産生は対象群と同様であった。正常群では、IL-1β mRNA, TNF-α mRNAの発現を増加させたが、IL-6 mRNAの発現は変化しなかったが、ERKシグナルの活性化を認め、低いカタラーゼ産生量を示した。以上のことから、GK-BMMCsの抗酸化作用に対して低濃度のα-トコフェロールが有用であることが示唆された。

P-16

2504

最終糖化産物と *Porphyromonas gingivalis* 由来LPSが誘導するヒト歯肉上皮細胞の遺伝子発現の解析

廣島 佑香

キーワード：糖尿病関連歯周炎、ヒト歯肉上皮細胞、マイクロアレイ解析

【目的】糖尿病関連歯周炎では歯周組織での最終糖化産物 (AGE) の蓄積により炎症や組織破壊が促進し、病態が重症化する場合がある。一方、AGEの歯肉上皮細胞に対する影響については報告が少なく、とくに歯周病原細菌由来リポ多糖 (LPS) との相互作用については未だ不明な点が多い。本研究では、糖尿病関連歯周炎に関連する病原因子が歯肉上皮細胞の遺伝子発現に与える影響について網羅的に解析を行った。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞 (OBA-9細胞、大阪大学村上伸也教授より供与) を使い、AGEや *P. gingivalis* 由来LPS (PgLPS) を加えて培養し、通法に従いRNAを抽出した。その後、DNAマイクロアレイ法にて遺伝子発現レベルを網羅的に解析した。発現上昇が認められた一部の遺伝子についてはリアルタイムPCRにて発現変化の確認を行った。

【結果と考察】マイクロアレイ解析の結果、BSAと比較してAGEにより1.6倍以上発現増加した遺伝子は5遺伝子で、S100A8, CXCR4, SAA2など炎症関連因子の増加が認められた。一方、1.6倍以上減少したものは29遺伝子であった。また、AGEとPgLPSの共存下では、S100A8, S100A9, SAA2, IL-6, CCL2などの遺伝子において2倍以上の増加が認められた。これらの増加はリアルタイムPCRにより確認された。一方、1.6倍以上減少したものは6遺伝子であった。以上の結果から、AGEやPgLPSは歯肉上皮細胞において、自然免疫や炎症に関連する遺伝子などを誘導し、糖尿病関連歯周炎の病態や生体防御反応に影響を与える可能性が示唆された。

P-17

2203

Porphyromonas gingivalis の分泌小胞は肝臓の糖代謝に影響を与える

瀬山 真莉子

キーワード：ポルフィロモナスジンジバリス，外膜小胞，ジンジバイン

【背景と目的】*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) を口腔に感染させたマウスの肝臓では *Pg* 由来の DNA が検出され、インスリンシグナルやグリコーゲン蓄積が抑制されることを明らかにした。しかし、*Pg* やその病原因子がどのように肝臓に到達するかは不明である。今回は *Pg* の分泌小胞 (outer membrane vesicle, OMV) に着目し、OMV が肝臓における糖代謝に及ぼす影響について検討した。

【方法】*Pg* ATCC33277 の形質変換株 (SNAP-*Pg*) の培養上清より、高性能ポリマー試薬を用いて OMV を抽出した。OMV の粒子径及び LPS 活性を測定し、質量分析 (Nano LC-MS/MS) を行った。OMV をヒト肝臓癌由来細胞株 HepG2 に添加し、インスリンが誘導する Akt/GSK-3 β リン酸化への影響を Western Blotting (WB) で解析した。*E. coli* 又は *Pg* 由来 LPS 添加時のリン酸化への影響を、OMV 添加時の結果と比較した。OMV 内のジンジバインを WB で検出し、活性を測定した。

【結果と考察】SNAP-*Pg* の培養上清より、直径約 100nm で二重膜構造をもつ OMV が抽出された。OMV は LPS 活性を有し、HepG2 におけるインスリンシグナルを抑制した。*E. coli* または *Pg* 由来 LPS はインスリンシグナルに影響を与えなかった。質量分析から OMV はジンジバインや、FimA を含むことが示された。実際に OMV はジンジバイン蛋白質を含有し、ジンジバイン活性を有していた。OMV はジンジバインなどの *Pg* 菌由来の病原因子を含み、肝臓の糖代謝に影響する可能性が示唆された。

P-19

2402

心臓ならびに冠動脈内皮細胞に対する *P. gingivalis* 由来 LPS の影響

山本 俊郎

キーワード：冠動脈内皮細胞，炎症性サイトカイン，LPS

【目的】全身疾患と口腔の関係に関する報告が散見されるようになり、特に、歯周病原細菌が心内膜細胞や冠動脈内皮細胞に影響を与える可能性が示唆されている。そこで我々は、歯周病原細菌 *P. gingivalis* 由来の LPS (以下、*P. g* LPS) が、心臓に与える影響について検討した。

【材料と方法】ヒト冠動脈内皮細胞 (以下、HCAECs; human coronary artery endothelial cells) ならびに BALB/c マウスに対して *P. g* LPS 刺激を与え、経時的に炎症性サイトカイン遺伝子を real-time RT-PCR 法にて測定した。そして、炎症性免疫細胞の発現を FACS で解析した。

【結果と考察】HCAECs の炎症性サイトカイン遺伝子の発現は、*P. g* LPS 刺激 6・24 時間後に時間依存的に増加した。次に、マウス心臓の炎症性サイトカイン遺伝子の発現は、*P. g* LPS 投与 1・3 時間後にコントロールと比較して有意に増加した。その後、*P. g* LPS 投与 48 時間後にその発現が有意に減少するとともに、骨髓由来免疫細胞 (CD11b + Gr-1 + 骨髓細胞) の割合が増加した。

【結論】歯周病原菌は、冠動脈内皮細胞および心臓組織全体の炎症を惹起した。そして骨髓由来免疫細胞は、この炎症を鎮静化に関与する可能性が考えられた。

P-18

2402

歯周病原菌誤嚥による肺炎発症メカニズム (2)

—*P. gingivalis* は PAFR 発現と肺炎レンサ球菌の肺細胞への付着を促進する—

早田 真由美

キーワード：誤嚥性肺炎，歯周病と全身疾患，肺炎球菌レセプター，*P. gingivalis*

【目的】口腔細菌が誤嚥性肺炎の原因となること、口腔ケアがその予防に有効であることから、周術期の患者を中心に医歯連携による口腔管理が行われている。特に高齢者や要介護者では口腔細菌を含んだ唾液や食物残渣を誤嚥する機会が多く、誤嚥性肺炎の発症リスクが高い。しかし、口腔細菌がどのように肺炎の発症に関与しているのか、EBM 実践の上でも重要な点は未解明のままである。この点を明らかにするために、肺炎関連細菌 (肺炎球菌等) のレセプターとして機能している Platelet-activating factor receptor (PAFR) に着目し実験を行った。

【結果】*P. gingivalis* (*P.g*) の培養上清で肺上皮細胞を刺激した結果、mRNA と蛋白レベルで PAFR 発現が増加した。2 つの PAFR プロモーターを用いた解析の結果、*P.g* は転写レベルで PAFR 発現を誘導した。また、*P.g* 刺激により肺炎球菌の細胞への付着が増加すること、付着が PAFR 阻害剤で抑制されることを認めた。さらに、PAFR 発現及び菌の付着促進効果はジンジバイン欠損 *P.g* 菌株では認められないことを見出した。

【考察】*P.g* は PAFR の発現を誘導、肺炎関連細菌の定着・感染を促進することで肺炎の発症に関わっていることが示唆された。また、その効果にはジンジバインが深く関与する。実際に PAFR KO マウスでは肺炎による死亡率が減少すること、肺炎患者では PAFR 発現が亢進していることが報告されている。我々は歯周病原菌が呼吸器細胞から IL-8 や IL-6 を誘導することも見出し (口頭発表)、誤嚥性肺炎発症機序の一端を分子レベルで解明できたと考える。

P-20

2504

Aggregatibacter actinomycetemcomitans による歯周組織破壊メカニズムの解析

日吉 巧

キーワード：*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*，ロイコトキシン，好中球，エラスターゼ

【目的】歯周炎患者の唾液中では、好中球エラスターゼ活性が上昇すると報告されている。しかしながら、歯周炎において本酵素が誘導されるメカニズム、およびその作用は不明である。本研究では、*A.a* のロイコトキシンにより好中球が細胞死してエラスターゼが漏出し、次いで歯周組織の破壊を誘導するとの仮説を立て、解析を行った。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞、歯肉線維芽細胞および好中球に *A.a* HK1651 株由来のロイコトキシンを各種濃度 (0.05~1 μ g/mL) で添加し、LDH 法による細胞傷害性を調べた。また、ロイコトキシンを添加した好中球から培養上清を採取し、エラスターゼ活性を測定した。次に、歯肉上皮細胞および歯肉線維芽細胞に好中球エラスターゼを各種濃度 (10~100mU/mL) で添加し、MTT 試験を行った。

【結果と考察】ロイコトキシンは、1 μ g/mL においても歯肉上皮細胞および歯肉線維芽細胞に対して細胞傷害性を示さなかった。一方、ロイコトキシンは 0.05 μ g/mL 以上で好中球に対して細胞傷害性を示した。免疫蛍光染色により、細胞死した好中球からエラスターゼが漏出することが観察された。さらに、好中球エラスターゼは、20mU/mL 以上で歯肉上皮細胞および歯肉線維芽細胞に対して細胞剥離作用を示した。

【結論】*A.a* のロイコトキシンは、歯肉上皮細胞および歯肉線維芽細胞を直接傷害しない。しかし、好中球には細胞死を誘導し、エラスターゼを漏出させることが明らかとなった。そして、漏出したエラスターゼは歯周組織を傷害し、歯周病の重症化に関与する可能性が示唆された。

P-21

2203

ポリアクリル酸ナトリウムの *in vitro* 歯周病バイオフィルムモデルに対する有効性評価

川延 勇介

キーワード：バイオフィルム，細菌外マトリクス，ポリアクリル酸ナトリウム

【目的】歯周病の原因となる細菌は，多数の口腔細菌と凝集体を形成し，細菌外マトリクス（EPS）を産出しながらバイオフィルム（BF）を形成している。EPSは，カルシウム等の多価金属イオンと結合して，より強固な構造をとることが知られており，最終的に石灰化して歯石となる。歯石はブラッシングによる除去が困難であると同時に，新たなBFの足場にもなるため，BFの硬化を抑制し，容易に除去可能な状態に留めることが歯周病予防の一手段として成り得る。そこで，BFの硬化抑制を目指すため，カルシウムイオン（ Ca^{2+} ）に対してキレート効果を有するポリアクリル酸Na（PA）に着目し，BFモデルを用いた検討に着手した。

【材料と方法】プロテオースペプトンを主成分とする培地に唾液相当濃度の Ca^{2+} ，リン酸イオン及びPA水溶液（未処理群は水）を添加し，4菌種（*A. viscosus*，*V. parvula*，*F. nucleatum*，*P. gingivalis*）を37℃，8日間嫌気培養することで歯周病原因菌を含むBFをプレート上に形成させた後，BF中の Ca^{2+} 濃度及びBF分散液の濁度（OD550）を測定した。

【結果と考察】PAの添加濃度依存的にBF中の Ca^{2+} 濃度が減少することを確認したため，PAが菌体及び培地中の Ca^{2+} をキレートし，BFの硬化を抑制していると推察した。さらに，低分子量のPAに顕著なBF形成抑制効果を有することを見出した。

【結論】本結果より，PAにはBFの硬化抑制効果に加え，BF形成抑制効果を有することが明らかとなった。

P-23

2504

甘露飲エキス配合製剤はラット実験的歯周炎において歯槽骨吸収を抑制する

稲垣 裕司

キーワード：甘露飲エキス，ラット実験的歯周炎，破骨細胞

【目的】甘露飲エキスは，甘草，枳実，地黄，麦門冬，黄芩，茵陳蒿，枇杷葉，石斛，天門冬の9種の生薬から抽出した漢方製剤で，口内炎，舌の荒れや痛み，歯周炎に効能・効果があるとされている。しかし歯周炎に対する効能の詳細，特に歯槽骨代謝への影響は明らかでない。本研究では歯周炎モデルラットを用いて，甘露飲エキス配合製剤の歯槽骨吸収抑制効果を検討した。

【材料と方法】甘露飲エキス配合製剤はサンスター株式会社より提供を受けた。8週齢Wistar系雄性ラットを用い，結紮1週間前から甘露飲エキス配合製剤を経口投与（60mg/kg）した製剤前投与群，結紮当日から製剤を経口投与した製剤投与群と非投与群に分けた。ラットの上顎右側第2臼歯をナイロン糸で結紮して片側に歯周炎を惹起した後，結紮20日目に歯周組織を採取し，非結紮の左側第2臼歯を対照側としてマイクロCT解析を行い3群間で歯槽骨吸収レベルを比較した。またマウスマクロファージ様細胞Raw264.7を用いて，破骨細胞分化に対する本製剤（0.01～1mg/ml）の影響を検討した。

【結果と考察】マイクロCT解析の結果，製剤前投与群と製剤投与群は，非投与群と比較して30～40%の歯槽骨吸収の抑制が認められた（ $P<0.01$ ）。しかし製剤前投与群と製剤投与群の間に有意差はなかった。またRaw264.7では，0.05mg/ml以上の濃度でRANKL誘導性（50 ng/ml）の破骨細胞分化が有意に抑制された。以上の結果より，甘露飲エキス配合製剤は歯周炎モデルラットにおいて，破骨細胞への分化を抑制することによって，実験的歯周炎の歯槽骨吸収を抑制することが示唆された。

P-22

2206

ペリクル，歯肉溝浸出液，唾液のタンパク質プロファイルの比較：ペリクルタンパク質の由来について

小田中 響

キーワード：ペリクル，歯肉溝浸出液，唾液，質量分析法，セロトランスフェリン

【目的】ペリクルは，唾液中のタンパク質が歯面に吸着することで形成される獲得被膜である。耐酸性など歯面の保護に働く一方で，細菌付着の足場となるが，その由来や機能には不明な点が残されている。本研究では，同一の健康成人からペリクル，GCF，唾液を採取し，三者のタンパク質パターンを比較することでこれらの口腔内成分の特性とペリクルの由来を明らかにすることを目的とした。

【対象・方法】健康成人4名のペリクル，GCF，耳下腺唾液，混合腺唾液を採取し，安定同位体標識を用いた質量分析法（iTRAQ法）でタンパク質の網羅的定量解析を行った。SDS-PAGEによってバンドパターンを比較し，質量分析法によってタンパク質を同定した。ウェスタンブロット法を用いて差があったタンパク質を検出した。

【結果・考察】iTRAQ法を用いた質量分析法により存在比が異なるタンパク質が多数見出され，ペリクル，GCF，唾液の組成に差があることが分かった。ペリクルと唾液に存在する酸性タンパク質であるシタチンSと α -アミラーゼは，質量分析およびウェスタンブロットでもGCFには検出されず，iTRAQ法の存在比でも低かった。またセロトランスフェリンはペリクルとGCFにのみ認められた。ミエロペルオキシダーゼは，すべてのサンプルに存在したが，GCFに特に多く含まれた。

【結論】ペリクルは唾液由来であると一般に考えられていたが，唾液およびGCFに由来するタンパク質がともに含まれていることが明らかになった。

P-24

2504

ラットの実験的歯周炎惹起歯周組織におけるレーザードップラー流速計測法を用いた歯肉血流量の評価

倉治 竜太郎

キーワード：歯肉血流量，レーザードップラー流速計測法，実験的歯周炎，開口器，動物実験

【目的】齧歯類の実験的歯周炎モデルは，従来から結紮糸留置による方法が利用されているが，歯周炎と歯肉の微小循環との関係はほとんど報告されていない。本研究の目的は，結紮糸留置により惹起したラットの実験的歯周炎が歯肉血流量に及ぼす影響をレーザードップラー流速計測法により評価することである。

【方法】本実験は，実験的歯周炎を惹起するため，8週齢雄性Wistarラットの上顎右側第一臼歯に結紮糸を留置した結紮群と未処置ラットの対照群に分けて実施した。口蓋歯肉の血流量を，結紮前，結紮後30分，1，3，7，14，21，28日で測定した。血流量の解析には，我々が過去に報告したラット専用開口器（実用新案：2014-004789）に非接触型レーザードップラー血流計を装着して行った。また，同時に歯周組織の病理組織的観察や μ CT解析も行った。

【結果】結紮群の歯肉血流量は，対照群に比べて結紮後30分で8%有意に増加したが，3日と7日では逆に有意に減少することが明らかになった。その後の血流量も減少傾向を示したが，有意差は認められなかった。一方，結紮した歯周組織において，結紮後3日から28日では，上皮の肥厚と炎症性細胞浸潤，強い血管拡張が認められ，7日目で最も顕著であった。また，結紮群の歯槽骨量は，結紮後3日から28日にかけて対照群に比べ有意に減少し，その減少率は3日と7日の間で最も大きかった。

【結論】結紮糸留置により実験的歯周炎を惹起すると，術後直ちに歯肉の血流量は増加したが，その後3日以降は持続的に減少する傾向が認められた。これら歯肉血流量の変化は，病理組織学的所見および歯槽骨吸収と矛盾のない結果であった。

P-25
2207

遺伝子導入剤を含有したナノハイドロキシアパタイトーコラーゲン scaffold の開発

天雲 太一

キーワード：遺伝子導入、リン酸カルシウム、ドラッグデリバリー
【目的】コラーゲンを基盤とした scaffold に BMP-2 発現遺伝子導入剤を含有させ、BMP-2 の徐放量及び ALP 活性を生化学的、組織学的に検討した。
【材料と方法】酸性コラーゲン溶液を基材としてハイドロキシアパタイトーコラーゲン複合体（以下 nHAC）を精製し、架橋剤の種類から EDC 群、アスコルビン酸塩銅群を作成した。コラーゲンのみの scaffold としてテルダーミス[®]を使用した。また、BMP-2/Plasmid を付与したリン酸カルシウムナノ粒子遺伝子導入剤（以下 CaP）を作成、各 Scaffold にそれぞれ 0, 5, 10, 25 及び 60µl を配合し、濃度別に計 5 群を作成した。また、コントロール群として scaffold に BMP-2 溶液を含浸させた scaffold/solution 群を設定した。ラット背部皮下にそれぞれ移植し、4, 7, 14, 21, 28 日後に屠殺し BMP-2 の徐放量及び ALP 活性を生化学的、組織学的に観察した。
【結果と考察】nHAC 群において、nHAC/solution 群の BMP-2 の徐放量及び ALP 活性は、scaffold の分解に伴い減少したのに対し、CaP を含有した群では増加を示した。一方テルダーミス群での BMP-2 の徐放量と観察期間の関係は、両群とも scaffold の分解に伴い徐放量は減少し、ALP 活性も同様の傾向を示した。
【結論】CaP 遺伝子導入剤を含有した nHAC 群は BMP-2 を含浸させた群と比較して有意に長期間 BMP-2 を徐放させた。また、CaP 遺伝子導入剤からの BMP-2 の徐放期間は母体となる scaffold に依存することが明らかとなった。

P-27
2799

歯槽堤保存術における吸収性遮蔽膜を用いた Open Membrane Technique に関する基礎的検討

夏堀 壮一郎

キーワード：Open Membrane Technique、歯槽堤保存術、生体吸収性膜、創傷治癒
【目的】インプラント治療などの欠損補綴の前処置として行われる歯槽堤保存術において、近年、Open Membrane Technique と呼ばれる、拔牙窩上に設置した遮蔽膜を意図的に口腔内に開放する術式が用いられ、臨床的に良好な結果が得られることが報告されている。Open Membrane Technique には、外科的な侵襲が小さいなど、様々な臨床的な利点があるが、吸収性の遮蔽膜を用いた場合の治癒に関する基礎的な検討はまだほとんどされていない。本研究の目的は、歯槽堤保存術において、吸収性の遮蔽膜を用いた Open Membrane Technique が歯槽堤の創傷治癒に及ぼす影響を、ラットを用いた動物実験により検討することである。
【材料と方法】実験動物には、5 週齢の Wistar 系ラットを用いた。全身麻酔の後、上顎右側第一臼歯を抜去し、拔牙窩を整形した後、欠損部に脱タンパクウシ由来骨ミネラル（Bio-Oss[®]）を填入し、ブタ由来コラーゲン膜（Bio-Gide[®]）を設置した。遮蔽膜上に粘膜で閉鎖しない群を実験群とし、閉鎖したものを対照群とした。そして、処置後 3 日、5 日、および 7 日に創部の治癒状態を形態観察により評価した。
【結果】術後感染などの偶発症はすべての検体で観察されなかった。実験群および対照群ともに、5 日後および 7 日後の創部は軟組織に被覆されていた。実験群の 7 日では、粘膜に陥凹がみられたが、遮蔽膜上には上皮様の軟組織の形成が認められた。また、実験群は対照群と比較して角化粘膜幅が大きくなる傾向が観察された。

P-26
3103

炭酸アパタイト製人工骨 サイトランズ グラニューールの開発 ～吸収・骨置換性の部位別評価～

増田 聖

キーワード：骨補填材、炭酸アパタイト、インプラント、骨置換、骨
【目的】我々は、生体骨の無機成分である炭酸アパタイトと類似した組成の顆粒状炭酸アパタイト（サイトランズ グラニューール、CO₃AP）を開発し、インプラント周囲を含む歯科領域で適応可能な人工骨として上市した。今回、本開発品の吸収・骨置換性について 2 種の動物および部位を用いて評価した結果を報告する。
【方法】日本白色種ウサギ大腿骨欠損部（φ5×8mm）およびビーグル犬の左右下顎前臼歯 P3、P4 の新鮮拔牙窩に CO₃AP を埋植した。ウサギ大腿骨は 2, 4, 12, 26 週、2 年後、ビーグル犬拔牙窩は 12, 26, 39, 52 週後の非脱灰標本を作製し、埋植部位の経時変化を評価した。動物試験は AAALAC 認定施設にて行い、動物倫理委員会の承認を得て実施した。
【結果と考察】ウサギ大腿骨欠損部およびビーグル犬顎骨拔牙窩の両部位において CO₃AP 顆粒は経時的に小さくなり、それに伴い顆粒周囲に新生骨が形成されている様子が観察された。また両部位とも 26 週後には、残存した顆粒のほぼ全てが新しく形成された骨に覆われていた。このことは、CO₃AP が部位に依らず、材料表面で破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が効率よく起こるため、埋植する骨の場所や種に依ることなく骨置換できる材料であることを示唆している。
【結論】サイトランズ グラニューールは、骨のリモデリングと共に吸収・骨置換される新しい材料である。

P-28
3101

QCM を用いた細菌計測システムの開発

金田 研郎

キーワード：細菌定量、QCM、Protein A
【目的】細菌を簡便かつ迅速に定量することを目的として、水晶振動子マイクロバランス（QCM）を用いた測定法を検討した。
【材料と方法】QCM チタンセンサーに Protein A 濃度を変化させて吸着させた。Protein A の飽和吸着濃度の決定後、その濃度で結合させた Protein A 上に *E. coli* 抗体を濃度変化させて吸着させ、飽和吸着濃度を決定した。これらの処理を行った QCM チタンセンサーで *E. coli* 懸濁液による周波数変化を濃度増加系列順に測定した。*E. coli* 付着による周波数変化は、*E. coli* を同条件で付着させたチタン表面の分光反射率測定でも確認した。
E. coli センサーと同様の濃度で、チタン表面に Protein A を吸着させ、その Protein A に抗 *A. actinomycetemcomitans* (*A. a*) 抗体を結合させて *A. a* センサーを作製した。*A. a* 懸濁液による周波数変化を濃度増加系列順に測定した。
【結果と考察】*E. coli* センサーを用いた QCM 測定の結果から、10⁵～10⁸ CFU/mL の範囲で *E. coli* の検量線を得ることができた。また、分光反射率の測定では抗体処理したディスクの反射率は有意に低下した。これらの結果から、QCM センサーに細菌が付着することで QCM の周波数変化が起こることが示された。また、*A. a* センサーを用いた QCM 測定の結果から、10⁵～10⁸ CFU/mL の範囲で検量線を得ることができた。
【結論】Protein A を介して細菌の抗体を結合させた QCM センサーを作製した。10⁵～10⁸ CFU/mL の範囲で *E. coli* および *A. a* の検量線が得られた。

P-29

新規BANA分解酵素検出キット・アドチェックの評価

3101

白井 通彦

キーワード：レッドコンプレックス、N-ベンゾイル-DL-アルギニルペプチターゼ

【目的】歯周病の病態進行に深く関与する *P. gingivalis* (Pg), *T. forsythensis* (Tf), *T. denticola* (Td) はレッドコンプレックスと呼ばれ、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。新規BANA分解酵素検出キット (アドチェック：アドテック社) は特別な機器を必要とせず、常温にて検査できるのが特徴である。我々はPg細菌株と患者サンプルを用いて、アドチェックの有用性について検証した。

【材料と方法】アドチェックとリアルタイムPCR法により、Pg細菌株 (JCM12257, ATCC BAA-308) の細菌数とBANA分解酵素活性の相関と感度を検証した。さらに、患者の舌苔をサンプルとして、アドチェックとリアルタイムPCR法について比較検討を行った。

【結果・考察】アドチェックはJCM12257菌株800cfu/ml, ATCC BAA-308菌株1000cfu/mlよりBANA分解酵素活性を検出することができた。また、Pg細菌株の菌数増加に伴い、アドチェックの発色も増強した。次に、舌苔サンプル (n=73) におけるPg, Tf, Td菌の有無をリアルタイムPCR法にて、BANA分解酵素活性をアドチェックにて検証した。リアルタイムPCR法により、舌苔に含まれるPg, Tf, Tdの細菌数1000以上を陽性とした結果、アドチェックは陽性一致率：85.2%，陰性一致率：91.3%，全体一致率：89.0%を示した。以上の結果より、アドチェックはレッドコンプレックスの検出に有用であることが示唆された。

P-30

DNAチップによる歯肉溝滲出液中の口腔内細菌叢解析と細菌叢の変動

3101

笹部 奈津季

キーワード：歯周病原細菌、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であり、より詳細に歯周状態を知ることができると期待される。本研究では、DNAチップを用いて歯肉溝滲出液中の細菌叢を解析し、細菌叢の経時的な変化をみることを目的とした。

【方法】試験協力者9名から歯肉溝滲出液を採取後、臨床情報 (ポケット深さ、BOPの有無) を評価した。得られた歯肉溝滲出液中の細菌叢を、28種類の歯周病関連細菌および総菌検出用のプローブを搭載したDNAチップ (三菱ケミカル) で分析した。ポケット深さが4mmでBOP陰性であった部位について、初回採取から3ヶ月経過後にも再度歯肉溝滲出液を採取し、試験を行った。

【結果】初回採取時の細菌叢は同じポケット深さ4mmにおいて大きく分けて、オレンジコンプレックスがほとんどない (A)、中程度 (B)、大量 (C) の3種類であった。部位A及びBでは3ヵ月後も臨床所見に変化はなかったが、部位Cでは3ヵ月後にはレッドコンプレックス検出量が増え、ポケット深さがさらに深くなっていた。

【結論】臨床所見が同じでも細菌叢によって歯周病リスクは異なることが示唆された。本検査では一度に28種類の歯周病関連細菌を測定することが可能であり、数菌種を対象とした従来の細菌検査と比較して、より詳細に歯周ポケット内の状態を知ることができ、基本歯周組織検査では分からないリスクを明らかにできると期待される。本試験は株式会社ジーシーの倫理委員会の承認を得て実施した。

P-31

川崎病患者デンタルプラークを用いた急性期病態における dysbiosis に関する研究

2203

濱岡 秀樹

キーワード：川崎病、歯周病、メタゲノム解析

【背景】川崎病 (KD) は主に乳幼児が罹る全身性血管症候群のことで、発熱・発疹・冠動脈病変・口腔内の発赤 (咽頭発赤とイチゴ舌) など様々な症状を起こす。KD発症に口腔内細菌の感染が関与すると考えられているが、その起炎菌は未だ不明である。

【目的】KD患者の口腔内細菌叢をメタゲノム解析により、急性期病態に関連する口腔内細菌を網羅的に探索する。

【方法】KD治療前患者5名 (KD群)、健康小児6名 (健康群) から採針を用いてデンタルプラークを採取しDNA抽出後に、次世代シーケンサーによる16Sメタゲノム解析を行った。operational taxonomic unit解析 (OTU：配列類似度に基づいた分類) による相対的な菌種の存在量を算出し、Unifrac解析およびランダムフォレスト法による解析を行った。

【結果】Unifrac解析では菌種の構成がKD群と健康群で異なっていた。また多様性解析では、KD群は健康群よりも菌の多様性が低い傾向を示した。細菌種の系統組成を比較したところ *Haemophilus* 属や *TM7* が健康群に比較してKD群で有意に低値を示した (各 $p=0.043$)。ランダムフォレスト解析でも、*Haemophilus* 属や *TM7* が、健康群とKD群を鑑別できる細菌種として検出された。

【考察】健康群で認められる細菌種がKD群では減少するという dysbiosis を観察した。関節リウマチ患者のデンタルプラークを用いたメタゲノム解析でも、*Haemophilus* 属の疾患群における減少と血清自己抗体価との負の相関が示されており、KDの急性期病態においても dysbiosis が関与している可能性が示唆された。

P-32

デジタルパノラマX線による歯槽骨レベル測定の新システム

2504

原井 一雄

キーワード：デジタルパノラマX線、歯槽骨レベル、歯周病診断

【目的】歯周病の診断及び治療計画立案においては、その進行度を正確に把握することが必要であり、X線写真による歯槽骨レベルの測定は最も重要な検査の一つである。現在主にデンタルX線を利用して歯根周囲の歯槽骨吸収度を測定する方法が用いられているが、歯の部位毎に撮影が必要であり、煩雑かつ被曝線量増や患者へのストレスも多い方法である。そこで、これらの問題点を改善すべく簡便に歯槽骨レベルを測定する方法を開発した。

【材料と方法】今回新たに提案する方法には (株) アクシオンジャパン社製デジタルパノラマX線装置PanoACTと同社製画像解析ソフトウェアPeriodontalソフトウェアを使用した。本方法はパノラマ画像に対して歯槽骨レベルをデジタルで数値化することができるシステムであり、操作は以下の流れにより行われる。

1. パノラマ画像を撮影し、画像データをソフトウェアに取り込む。2. 最適焦点のパノラマ画像を表示し、その表示された画面上で歯及び周囲歯槽骨の特徴点 (CEJ, 歯根先端, 歯槽骨頂) を指定する。3. 歯根周囲の歯槽骨レベルの測定及び歯根長・歯槽骨レベル比を算出する。歯根長・歯槽骨レベル比は、(「根先から近心歯槽骨頂までの長さ」と「根先から遠心歯槽骨頂までの長さ」の平均値) ÷ (歯根長) で算出される。4. 測定値 (歯根・歯槽骨レベル比) を患者毎の履歴として保存・管理する

【結論】本法は従来の方法と比較して、低被曝、衛生面 (口腔外から撮影)、検査時間短縮、低検査費用などの優位性があり、簡便な手法で精度の高い情報を得ることができることから、歯周病進行の正確な診断の一助となると思われる。

P-33

2299

日常診療において頸動脈狭窄症のスクリーニングを行う重要性

内田 啓一

キーワード：骨粗鬆症疾患、頸動脈狭窄症

頸動脈狭窄症の診断には頸動脈超音波検査、頸部MRI、血管造影、腰椎や大腿骨の骨密度測定などにより早期に発見を行っている。しかしながら、頸動脈狭窄症は自覚症状がないため、検診や医科への受診をする機会が少ない。そこでわれわれは、パノラマエックス線写真から頸動脈狭窄症を診断するためのCAD（Computer-Aided Diagnosis）システムあるいはスクリーニングワークフローの検討を行ってきた。今回、日常診療において頸動脈狭窄症のスクリーニングを行う重要性についての概要を報告する。

本邦におけるパノラマエックス線撮影装置の保有率は59059台であり、年間の撮影件数は12336万件と報告されている。また、パノラマエックス線検査の行う年層では40歳から70歳代が最も多く、動脈硬化の危険因子をもつ年代や骨粗鬆症患者の年層と相関しているため、歯科で撮影されるパノラマエックス線写真を用いて頸動脈狭窄症を早期に発見し、歯科から医科への受診を勧めることができれば、早期に頸動脈狭窄症の治療を行うことができる。

パノラマエックス線写真撮影装置は多くの歯科医院にあり、歯科・医科の連携による頸動脈狭窄症の早期スクリーニングの可能であり、とくにパノラマエックス線検査から頸動脈狭窄症対策に対応できれば、年間1兆7821億円と言われる脳血管疾患治療に係る莫大な医療費の大幅低減が可能となると思われる。

P-34

2504

歯科用エックス線CT装置（CBCT）を応用した口蓋粘膜厚径の計測

小川 実穂

キーワード：CBCT、光学印象、口蓋粘膜

【目的】歯科用エックス線CT装置（CBCT）を用いた検査・診断は特に硬組織における有用性が多く報告されているが、近年、軟組織への適応も報告されている。本研究は、CBCTを用いた口蓋粘膜の厚みを求める方法を構築すること、また、口蓋粘膜の厚みに影響する要因を分析することを目的とした。

【材料及び方法】歯周形成外科手術実施予定者10名を対象とし、右側犬歯、第一小臼歯、第二小臼歯、第一大臼歯の4点の口蓋側歯肉辺縁中央から、それぞれ3mm、8mmの位置を8カ所の計測点として定め、刺入位置と刺入方向を規制したステントを作製した。ステントを装着し、得られたCBCTデータと被験者の口腔内光学印象データを重ね合わせて口蓋粘膜の厚みを計測し「CT計測値」とした。また、浸潤麻酔下で同ステントを装着しリーマーを用いて刺入し計測した値を「実測値」とした。これらの値をもとに、CBCTデータから口蓋粘膜の厚みを推測する「換算値」を求める重回帰分析式を作成した。その式を用いてさらに174名のCT計測値から換算値を求め、年齢、性別、PPD、BOPに対して統計解析した。

【結果と考察】CT計測値は実測値より平均0.33mm小さい値を示し、また歯種と歯肉辺縁からの距離を考慮した口蓋粘膜厚径を求める重回帰分析式が構築できた。この重回帰分析式を用いたCTデータからの換算値より、犬歯部では加齢、小臼歯部では4mm以上のPPD、大臼歯部では男性が口蓋粘膜の厚みを増す要因であることが示された。口蓋粘膜の厚みは、どの部位においてもBOPの有無による有意差はなかったことから、炎症の有無よりもPPDに影響を受ける可能性が示唆された。

P-35

3001

インプラント周囲溝滲出液中のカルプロテクチンとNTxを用いたインプラント疾患の診断

木戸 理恵

キーワード：インプラント疾患、インプラント周囲溝滲出液、カルプロテクチン、NTx

【目的】インプラント治療に伴いインプラント粘膜炎・周囲炎の疾患発症率が上昇している。その検査は周囲溝深さ（PD）、骨吸収量の測定、BOPや動揺等により行われているが、精度や客観性の問題が指摘されている。一方、インプラント周囲溝滲出液（Peri-implant crevicular fluid：PICF）中には様々な物質が含まれている。本研究では、PICF中の炎症関連蛋白カルプロテクチン（Calprotectin：CPT）と骨吸収マーカーNTxのレベルを調べ、インプラント疾患の診断への有用性を検討した。

【材料及び方法】徳島大学病院を受診したインプラント治療患者35名から本研究への参加同意を得た。インプラント部位のPD、BOP、歯肉炎指数（GI）及び骨吸収率の評価からインプラント疾患部位（n=40）と健常部位（n=34）に分類し、通法に従いペーパーストリップスを用いてPICFを採取後、CPT及びNTxの量をELISAにより定量した。

【結果および考察】CPTとNTxの量と濃度は、インプラント疾患部位において健常部位と比較して有意に高いレベルを示した。PICF中のCPT量とPDやGIとの間に有意な正の相関関係が認められ、NTx量はPDや骨吸収率と有意な相関関係を示した。マーカーのROC曲線では、CPT量のカットオフ値が60.4ngの時、感度92.5%と特異度90.9%であり、NTx量のカットオフ値が1.88ngでは、感度82.5%と特異度63.6%であった。

【結論】PICF中のカルプロテクチンとNTxは、インプラント疾患の診断マーカーとして有用である可能性が示唆された。

P-36

2504

エナメルマトリックスデリバティブを用いた歯周組織再生療法：2.5年の臨床成績

勢島 典

キーワード：歯周組織再生療法、先進医療、エナメルマトリックスデリバティブ

【目的】エナメルマトリックスデリバティブ（EMD）を用いた先進医療「歯周外科治療におけるバイオリジェネレーション法」は、東京歯科大学千葉病院では2008年から、水道橋病院で2012年から行われている。本研究の目的は、本先進医療による歯周組織再生療法後2.5年における臨床成績を評価することである。

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

【結果と考察】22名（平均年齢55.2±10.6歳、男性9名、女性13名）の42部位に手術を行った。術前の平均PDは6.8±1.2mm、臨床的アタッチメントレベル（CAL）は7.6±1.8mm、術後1年で平均PDは3.3±1.0mm、CALは4.8±1.3mm、術後2.5年で平均PDは3.0±1.0mm、CALは4.2±1.6mmであった。術前の歯根長に対する骨欠損率は47.5±13.3%、術後1年で骨欠損改善率は25.6±12.9%、術後2.5年で37.8±17.8%であった。

【結論】対象となった歯周炎患者にEMDを用いた先進医療を行った結果、2.5年後まで臨床的に良好な結果を示した。今後、更に長期間評価を行っていく。

P-37
2504

塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 製剤と脱タンパク質ウシ骨ミネラルを併用した垂直性骨欠損の治療：症例シリーズ

武内 崇博

キーワード：慢性歯周炎，歯周組織再生療法，成長因子，骨補填材
【目的】わが国で新たに歯周組織再生剤として塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF, FGF-2) 製剤の臨床応用が2016年12月に開始された。再生療法において増殖因子と骨補填材の併用により，臨床効果が期待される症例もあるが，不明点も多い。そこで今回，FGF-2製剤と骨補填材を併用した歯周組織再生療法を行い，6ヶ月経過後の臨床成果を報告する。

【材料と方法】歯周基本治療後にPPD 4mm以上，深さ3mm以上の垂直性骨欠損を持つ歯周炎患者3名 (46, 48, 76歳) を対象に，FGF-2製剤 (リグロス®歯科用液キット) と脱タンパク質ウシ骨ミネラル (Bio-Oss®) の併用による歯周組織再生療法を行った。評価項目は，主要アウトカムとして術後6ヶ月におけるクリニカルアタッチメントレベル (CAL) ゲイン，副次アウトカムとしてPPD, BOP, 動揺度，X線画像検査における骨レベルおよび口腔関連QOL (OHRQL) とした。

【結果と考察】3症例とも術後の不快症状や弁の裂開等は認められず，術後6ヶ月にわたり良好な経過を示した。平均CALレベルは9.3mmから3.7mm (CALゲイン5.7mm)，平均PPDは7.3mmから2.3mmへと変化した。術前に認められたBOPは消失し，動揺も認められなかった。X線画像所見として垂直性骨欠損の改善が認められた。口腔関連QOLの値は改善傾向を示した。

【結論】今回の3症例において，FGF-2製剤と脱タンパク質ウシ骨ミネラルの併用は術後早期のCALゲインをもたらし，垂直性骨欠損の改善に有効であった。

P-39
2402

血糖コントロール良好な2型糖尿病患者における尿アルブミン値と歯周病指標との関連—全国臨床糖尿病医会との多施設協同研究—

田中 道雄

キーワード：糖尿病，歯周病，尿アルブミン

【目的】糖尿病治療が進歩し，糖尿病性腎症重症化や動脈硬化性疾患発症の予防が重要視されている。尿アルブミンは腎症の早期診断指標で，歯周病と共に動脈硬化性疾患の予測指標でもあり，両者の関連の検討は予防施策上重要である。本研究では血糖コントロール良好な2型糖尿病患者における尿アルブミン値と歯周病の関連を検討した。

【方法】全国臨床糖尿病医会の14施設において2型糖尿病治療中で血糖コントロール良好な1,258名 (男性62%，平均67歳) を対象とした。診療録から性，年齢，HbA1c，尿アルブミン値，Body Mass Index，収縮期血圧，罹病期間のデータを，質問紙から学歴，年収，喫煙，歯磨き頻度のデータを得た。各施設から紹介された歯科診療所で，歯周ポケット深さ (PD)，ブローピング時出血 (BOP)，歯の動揺，現在歯数を診査した。目的変数を尿アルブミン値，説明変数を各歯周病指標，共変量を診療録と質問紙のデータとして重回帰分析を行った。

【結果】尿アルブミン値の中央値 (四分位範囲) は12.0 (6.2, 28.6) mg/gCrであった。歯周病指標の平均値は，PD2.7mm，PD4mm以上部位率17%，BOP歯率38%，動揺歯率18%，歯数22であった。重回帰分析では，PD4mm以上部位率 (標準偏回帰係数：0.091) と動揺歯率 (標準偏回帰係数：0.066) において尿アルブミン値との間に有意 ($p<0.05$) な関連がみられた。

【結論】血糖コントロール良好な2型糖尿病患者において，尿アルブミン値と歯周病重症度とは正の相関関係にあり，腎症と動脈硬化性疾患の予防として両者の早期からの管理の重要性が示唆された。

P-38
2402

2型糖尿病を有する歯周炎患者における *P.gingivalis* と MnSOD の関係

渡邊 裕之

キーワード：糖尿病，歯周炎，*P. gingivalis*，MnSOD

【目的】糖尿病を有する歯周炎患者ではグルコースの代謝異常と歯周病原細菌により多量の活性酸素の産生が示唆されるが，活性酸素は生体内で直接測定することは困難であり，これまで糖尿病を有する歯周炎患者に対する活性酸素が与える影響については十分に明らかになっていない。そこで本研究では2型糖尿病を有する歯周炎患者における *P. gingivalis* と MnSOD の関係を検討した。

【材料と方法】被験者は北海道医療大学病院歯科に通院する糖尿病患者76名，非糖尿病患者78名とした。歯科検査，血液検査を行い，唾液，血液から細菌数，血液からMnSODを測定した。THP-1を異なるグルコース濃度下と *P. gingivalis* LPS刺激下で培養した。

【結果と考察】糖尿病群は非糖尿病群と比べて血清MnSODが有意に高かった。糖尿病群の血清MnSODを従属変数とし，血液検査，歯科検査および細菌検査を独立変数に設定して重回帰分析を行ったところ，血清MnSODと唾液 *P. gingivalis* 細菌数との間に有意な正の相関が認められた。また，THP-1を異なるグルコース濃度 (100-300ng/dl) と *P. gingivalis* LPS刺激を行ったところ，高いグルコース濃度で *P. gingivalis* LPS刺激を行った時にMnSOD mRNA発現量の上昇が最も高かった。これらのことより糖尿病を有する歯周炎患者では *P. gingivalis* 感染によって血清MnSODの上昇が起こる可能性が示唆された。

【結論】糖尿病を有する歯周炎患者において，血清MnSODは *P. gingivalis* 感染に伴い上昇することが示唆された。

P-40
2504

ブローピング時の出血があるSPT期の深い歯周ポケットに対する塩化セチルピリジニウム配合含嗽剤を用いた超音波洗浄の有効性

鶯巣 太郎

キーワード：塩化セチルピリジニウム，超音波洗浄，含嗽剤，SPT

【目的】本研究の目的は，SPT期の歯周炎患者においてBOP+が続いている深い歯周ポケットに，塩化セチルピリジニウム (CPC) を用いて超音波洗浄することの有効性を検討することである。

【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，並行群間比較試験とした (北海道大学病院自主臨床研究015-0532, UMIN000023851)。(2) 対象はSPT中の歯周炎患者でPD6mm以上，リコール時に3回連続でBOP+の歯とした。(3) 試験方法は実業群では0.5%システムSP-Tメディカルガーグル (ライオン歯科材)，対照群では水道水を用いて，介入開始日と4週後にポケット内の超音波洗浄を行った。(4) 割付方法は無作為かつPDによる層別割付を行った。(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することで評価の盲検化を行った。(6) 目標症例数は先行研究 (北海道大学病院自主臨床研究015-0051) 結果から，両側有意水準0.05，検出力80%で38症例とした。

【結果と考察】8週後のBOP+は実業群13%，対照群79%であった ($p=0.001$)。また，Red complexの総歯数に占める割合は，実業群が0週5.24%，8週3.35%で有意 ($p=0.036$) に減少したのに対し，対照群では0週5.06%，8週4.40%で有意差はなかった。この結果から，SPT期のBOP+が改善しない深いポケットに対して，SP-Tメディカルガーグルで超音波洗浄を行うことは歯周炎リスクの低下に高い効果があると考えられた。

P-41

歯周疾患治療用歯磨剤アセス®の歯周病患者に対する臨床パラメーターと細菌学的評価

2504

白川 哲

キーワード：アセス®, 臨床パラメーター, 細菌検査

【目的】歯周疾患治療薬アセス®は配合成分（ラタニア、カミツレ、ミルラ）に抗炎症・歯肉収斂作用があり歯肉の炎症を改善するとの報告がある。また、これらの成分には抗菌性があることも示されている。しかし、アセス®使用に伴う口腔内細菌に与える影響についての検討は行われていない。本研究では通常のブラッシングにアセス®を適用し臨床パラメーターに与える影響と口腔内細菌に与える影響をPCR-Invaser法にて確認することを目的とした。

【材料および方法】試験はランダム化非盲検並行群間比較試験として行った。ブラッシングを朝夕2回、各5分間アセスあるいは対照製剤を用いバス改良法にて行わせ、開始日、2週および4週後にGI、PD、BOP、PCR測定、唾液サンプル法による細菌検査を行った。

【結果および考察】アセス群は対照製剤群に比べ、2週ならびに4週後で全ての臨床パラメーターにおいて有意な改善を認めた。アセス群の群内比較においてGI、BOPおよびPDは開始日と比べ2週ならびに4週後で有意な改善を認めた。さらにPDでは2週・4週後間でも有意に改善を認めた。細菌検査では、対照製剤群の総菌数、歯周病原菌数ともに変化を示さなかったが、アセス群の歯周病細菌ならびに総菌数が有意に減少した。また細菌減少率を検討したところアセス群で有意に高かった。

アセス®は、抗菌性による口腔内細菌への影響と、抗炎症作用との協働により炎症の改善が生じ、さらに収斂作用によりPDが減少したと考えられた。

【結論】アセス®は歯周炎の臨床パラメーターであるGI、BOP、PDの改善を示すとともに、口腔内総細菌数、歯周病原菌数にも影響を与えた。

P-42

高密度植毛歯ブラシを用いたプラーク除去効果の検討

3002

平井 亮

キーワード：歯周病, 口腔ケア, 歯ブラシ

【目的】歯周病の進行予防にはプラークコントロールが重要である。ナイロンよりも弾力があるCuren®繊維を高密度に植毛した歯ブラシは、歯や歯肉を痛めることなく効果的にプラークを除去できる可能性がある。本研究の目的は、高密度植毛歯ブラシ（CS5460、クラブロック）のプラーク除去効果を調査することとした。

【材料と方法】被験者は、無作為に選出された年齢25歳以上の男女20人の歯科医師とした。検査日前日からブラッシングを中断し、頬側部のプラークの染め出しを行った。側切歯、第一小臼歯、第二大臼歯を代表歯とした。口腔内を4分割し、4種類の歯ブラシ（試験群：CS5460ウルトラソフト、対照群A：やわらかめ（A社製）、対照群B：ふつう（B社製）、対照群C：かため（C社製））を無作為に割り当て、口腔清掃後、再度染め出しを行い、プラーク除去量を計測した。統計学的検定はKruskal-Wallis検定とSteelの多重比較検定を用いた。本研究は本学歯学部倫理審査委員会（D2016-007）の承認を得て行った。

【結果と考察】CS5460は大白歯部ではBよりもよりプラーク除去能が高い傾向にあることを認めた。小臼歯部では、CS5460はAよりもプラーク除去能は有意に高く、Bよりも高い傾向を示した。前歯部では、CS5460はAよりもプラーク除去能が高かった。歯頸部や歯間部では他の歯ブラシと同等の除去能を認めた。

【結論】CS5460は他の歯ブラシより、前歯部、小臼歯部、大白歯部において同じストローク数でも有意に除去することが認められ、歯頸部や歯間部においても他の歯ブラシと同等のプラーク除去効率を得られた。

P-43

歯肉縁下に用いるエアフローチップの比較

3101

美濃 直輝

キーワード：歯肉縁下イリゲーション, グリシンパウダー, インプラント周囲炎

【目的】歯周ポケット内のイリゲーションに関しては、これまで様々な研究がなされその効果については実証されてきた。近年では歯肉縁下のバイオフィルムを除去する目的で、グリシンパウダーを用いたエアフローが用いられるようになってきた。本邦では現在数種類の機種が発売されそれぞれ特徴があるが、適応症例や作用機序などが異なっている。最大の違いはチップの形態であるため、本研究において各種チップについての詳細な検討を行った。

【材料および方法】エアフロースタービエゾン（株式会社 松風）、ペリオメイト（株式会社ナカニシ）の2機種に付属されているプラスチック製のチップ、エアNゴーイージー（白水貿易株式会社）に付属されているステンレス製のチップを対象とした。計測項目として、①チップ先端の幅計と厚さ、②適応ポケット深さに相当する位置の幅計と厚さ、③グリシンパウダーが噴射される位置と方向。以上3項目に加え、各種チップの曲げ応力についても検討した。

【結果および考察】チップの幅計と厚さに関しては、プラスチック製の2種類についてはほぼ同様な値であったが、8~10mmの深い歯周ポケットを対象とするステンレス製のチップが先端から最深部に相当する部位の幅計が最小であった。また、グリシンパウダーの噴射位置においては、各チップとも先端から1~1.5mmの位置にあるが、噴射方向に関しては3機種ともそれぞれ特徴的であった。以上の結果より、臨床で用いる際はチップの特徴と適応症を十分考慮して、安心・安全・効果的に用いることが示唆された。

P-44

東京医科歯科大学歯学部第5・第6学年の歯周治療臨床実習の現状

2111

青木 章

キーワード：歯学教育, 歯周治療, 臨床実習

東京医科歯科大学歯学部歯学科では第5・第6学年時に、歯学部附属病院で包括臨床実習が行われている。包括臨床実習はPhase I-IIIの3部構成となっており、第5学年の9-10月にPhase Iとして各診療科における臨床前外来実習（6週間）、11月から翌年第6学年の11月までPhase IIとして第一総合診療室での総合臨床実習と各科実習（約47週間）、国家試験後の2-3月にPhase IIIとして各科におけるアドバンス選択実習（約5週間）を行う。Phase IIにおいては、第一総合診療室にて各科の教員の指導の下に、各治療内容についてクレジット制を採用した臨床実習が行われている。歯周治療に関しては、試験ケース（1症例必須）、一般ケース、SPT/メインテナンスケース患者において、歯周精密検査、口腔清掃指導、歯周基本治療、歯周外科治療（介助あるいは見学）、メンテナンス/SPT治療などを実習する。2017年度卒業の学生51名は、第5-6学年時に、試験ケース患者計51名（1名/学生）、一般ケース患者計129名（平均2.5±1.9名/学生）およびSPT/メインテナンス患者計615名（平均12.1±4.0名/学生）を担当し、歯周治療を実施した。51名の学生は、試験ケースでの術前検査および再評価検査時の口頭試問に合格し、歯周治療における各治療内容のエッセンシャル・リクワイアメントを達成することで、臨床実習を全員修了した。臨床実習は、実習後に学生からの評価を受け、小改善を継続的に行いながら現在に至っている。2017年度卒業の学生を例として、本学における歯周治療臨床実習の最新の現状について報告する。

P-45

2206

Evaluation the biological effects of Ozone Ultrafine-Bubble Water *in vitro*

Anongwee Leewananthawet

Keywords: Ozone Ultrafine-Bubble Water (OUBW), MAPK phosphorylation

Objectives: Ozone provides a wide variety of physiological as well as pathophysiological effect via the level of oxidative stress. Previous study demonstrated that Ozone Ultrafine-Bubble Water (OUBW) possessed bactericidal activity against some kinds of bacteria including periodontopathic bacteria¹⁾. Moreover, we have previously reported that OUBW significantly improved periodontal clinical parameters such as periodontal pocket depth and clinical attachment level when it was used as an adjunctive irrigation on ultrasonic scaling compared with tap water²⁾. Although bactericidal effect and improvement in periodontal tissues were confirmed, biological mechanism of OUBW remains unknown. The purpose of the present study was to examine the effects of OUBW on the potential signaling pathways by using cells derived from oral cavity. **Materials and methods:** OUBW was purchased from Kyocera Co. (Kyoto, Japan). Human gingival epithelial cells (Ca 9-22) and primary human periodontal ligament (H-PDL) cells were cultured and treated with OUBW for 10 minutes duration time, followed by incubated for 1, 2 and 3 hours at 37°C. TNF- α and ultraviolet irradiation were used as positive control. MTT assay was carried out for evaluating the effects of OUBW on the viability of cells. Western blot analysis was used to examine the induction of MAPK pathway (p38, JNK and ERK). **Results:** The results of MTT assay revealed that there was no remarkable effect on cell viability in both OUBW treated cells (10 and 30 minutes). By the Western blot analysis, the following results were obtained: OUBW induced phosphorylation of p38, p44/42, and SAPK/JNK in Ca9-22 cells and p38 in H-PDL cells. The intensity of bands of phosphorylated p38 was decreased at 1 to 3 hours in H-PDL cells while those of all phosphorylated p38, p44/42 and SAPK/JNK were not changed in Ca9-22 cells. **Conclusions:** This is the first report that OUBW could activate MAPK pathway. This finding would lead to better understanding of how OUBW regulates the innate immune and inflammatory responses at cellular level. Our study provides the molecular evidence to support the evidence of biological activity of OUBW other than the bactericidal activity. **References:** 1) S Hayakumo, et al. Effects of ozone nano-bubble water on periodontopathic bacteria and oral cells - in vitro studies. Science and Technology of Advanced Materials. Vol.15, p.1-7. 2014. doi:10.1088/1468-6996/15/5/0550032 COI 2) S Hayakumo, et al. Clinical and microbiological effects of ozone nano-bubble water irrigation as an adjunct to mechanical subgingival debridement in periodontitis patients in a randomized controlled trial. Clin Oral Invest. 2013; 17: 379-388.

P-47

2504

Evaluation change of tissue volume between two different cross-linked types of collagen membrane in ridge preservation

Jungtae Lee

Keywords: bone grafting, regeneration, graft material, membranes, ridge preservation

Objectives: The object of this study was to investigate dimensional changes during ridge preservation between two different types of collagen membrane (physically and chemically cross-linked membranes).

Materials and methods: Fourteen patients who were admitted to the Department of Periodontology, Seoul National University Dental Hospital, Seoul, South Korea for the treatment of tooth extraction were enrolled in the study. The patients were randomly divided into the control group (n=7) and the test group (n=7). In both groups, alloplastic bone graft material (Ovis Bone BCP® (Dentis Co, Ltd, Daegu, South Korea)) was placed in the fresh socket after extraction. Two types of collagen membrane (physically cross linked membrane (Ovis BCP/Collagen membrane®) and chemically cross linked membrane (Cross-linked collagen membrane®)) were applied on grafted site. Bone height and width were measured at the day and 3 months after surgery using cone-beam computed tomography (CBCT) scans. To evaluate volumetric change, master casts of each patient were made at pre-operation, 1 week and 3 months after the ridge preservation procedure. Optical scanner was used to scan the casts.

Results: According to CBCT images, height, width and quantity of bone were not different between two different types of collagen membrane (physically and chemically cross-linked membranes). Also there was no significant difference for volumetric change between two groups using casts and optical scanner.

Conclusions: Ridge preservation procedure using a bone graft and resorbable membrane is effective in decreasing dimensional changes of the edentulous ridge. However, no differences between physically and chemically cross-linking resorbable membranes were found in this study.

P-46

2204

Josamycin, a macrolide antibiotic with a 16-atom lactone ring, suppresses *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and interleukin-1 β in murine macrophages

Sung-Jo Kim

Keywords: Josamycin, Nitric oxide, Interleukin-1 β , HO-1, NF- κ B, SOCS1

Objectives: Josamycin has immunomodulatory properties independent of its antibacterial actions. This study was designed to explore the influences and associated mechanisms of josamycin upon the generation of proinflammatory mediators in murine macrophages activated with lipopolysaccharide (LPS) from *Prevotella intermedia*, a pathogenic bacterium associated with periodontal disease.

Materials and methods: LPS was purified by employing phenol-water extraction protocol. Culture supernatants were analyzed for nitric oxide (NO) and interleukin (IL)-1 β . Real-time PCR and immunoblotting were conducted to quantify mRNA and protein expression, respectively. The amount of intracellular IL-1 β was analyzed by using confocal laser scanning microscopy. NF- κ B-dependent SEAP levels were estimated by reporter assay.

Results: Josamycin significantly attenuated NO production elicited by *P. intermedia* LPS as well as induction of iNOS protein and mRNA in RAW264.7 cells. While the release of IL-1 β from cells stimulated by LPS was suppressed in the presence of josamycin, josamycin failed to reduce the degree of IL-1 β mRNA expression. Josamycin did not reduce the stability of IL-1 β mRNA induced by *P. intermedia* LPS, at the same time josamycin also failed to suppress the LPS-induced intracellular IL-1 β expression. Josamycin augmented HO-1 induction in cells exposed to *P. intermedia* LPS, and SnPP, an inhibitor of HO-1 activity, reversed the suppressive impact of josamycin upon NO generation induced by LPS. In addition, josamycin diminished NF- κ B transcriptional activity induced by *P. intermedia* LPS. Josamycin enhanced SOCS1 mRNA level in cells activated with LPS.

Conclusions: Further studies are needed to appraise the capability of josamycin as a host response modulator in treating periodontal disease.

P-48

2504

Clinical and microbiological effects of additional use of erythritol powder air polishing device on non-surgical periodontal therapy

Eon Jeong Park

Keywords: air-polishing, erythritol, subgingival plaque removal

Objectives: The purpose of this study was to evaluate the clinical and microbiological effects of erythritol powder air polishing device in addition to scaling and root planing (SRP) in moderate chronic periodontitis.

Materials and methods: Clinical and Microbiological evaluation were performed in 21 sites treated with SRP (control) and 21 sites treated with the addition of erythritol powder air polishing device (EPAP) to SRP (test). All examinations were performed before treatment and at 1 and 3 months after treatment, respectively. For the microbiological analysis, the total amount of bacterial counts and the relative expression of eight typical periodontal bacteria were analyzed by realtime PCR.

Results: There was no significant clinical difference between the test group and the control group. Microbiologically, the relative expression level of *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) was significantly lower in the test group than in the control group between baseline and 1 month after treatment. Clinical and microbiological results were improved after 1 month compared to the baseline, but result of the 3 months after the treatment was worse than 1 month.

Conclusions: In this study, both SRP and additional use of the EPAP were clinically and microbiologically effective in non surgical periodontal treatments. Particularly in case of using EPAP additionally, erythritol had antimicrobial effect on *P. gingivalis*, a keystone bacterium of chronic periodontitis, in a short term period. Periodic periodontal therapy at least three months interval is important for sustaining microbiological effect.

Keywords: cholesterol, C- reactive protein, Chronic periodontitis

Objectives: Many studies have shown that local infection like chronic periodontitis increase the levels of C-reactive protein and cholesterol which may increase chance of cardiovascular disease. Therefore, the aim of this study was to assess cholesterol and C-reactive protein (CRP) levels in adults with and without chronic periodontitis.

Materials and methods: A total of 152 subjects aged between 26 to 75 years were included in the study and categorized them into two groups: systemically healthy subjects with chronic periodontitis; and systemically healthy subjects without chronic periodontitis. The periodontal parameters measured included gingival index and clinical attachment level. Serum samples were collected for estimation of low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), total cholesterol, and hsCRP.

Results: The results showed that serum LDL cholesterol, total cholesterol, and hsCRP in patients with chronic periodontitis was found to be significantly elevated compared with those of healthy individuals. The serum HDL cholesterol was lower in periodontitis group compared with subjects without periodontitis but the difference was not statistically significant.

Conclusions: The current study indicated that persistent infection like chronic periodontitis is associated with increased levels of CRP, LDL and total cholesterol among systemically healthy patients, signifying possibility of periodontal disease a novel cardiovascular risk factor in our population. This may provide a window of opportunity for prevention of cardiovascular disease through better oral health. However, there was no association observed between periodontitis and renal disease.