一般演題ポスター

（ポスター会場）

10月25日（金）	ポスター掲示	8：30～10：00
	ポスター展示・閲覧	10：00～16：30
	ポスター討論	16：30～17：10
	ポスター撤去	17：10～17：40

P-01 炎症性サイトカインは歯肉上皮細胞での細胞-基質接着分子の構成に影響を及ぼす

目澤　優

キーワード：細胞-基質接着分子，炎症性サイトカイン

【背景】接合上皮の内側基底板を構成する接着分子は，ヘミデスモゾーム結合を介してエナメル質と接着し，細菌の歯周組織内への侵入に抵抗する。炎症性サイトカインは，マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の機能を介して細胞外マトリックスの分解を調節する。本研究では，歯肉上皮細胞の細胞-基質接着分子に対する炎症性サイトカインの効果を検討した。

【材料および方法】歯肉上皮細胞は，10％ウシ胎児血清を含むα-MEMで70-80％コンフルエントまで培養された。細胞は，IL-1β（1ng/ml）で刺激され，細胞-基質接着分子mRNA量が測定された。免疫蛍光染色では，細胞-基質接着分子抗体を使用して共染色を行った。それぞれのタンパクの共局在化は，共焦点顕微鏡を使用して解析され，ピアソン相関係数により定量化した。

【結果】IL-1β（1ng/ml）1時間刺激で，インテグリンβ4，ラミニン-α3，-β3，-γ2鎖，focal adhesion kinase（FAK），Ⅳ型コラーゲンα1鎖およびⅠ型コラーゲンα1鎖mRNA量が増加した。IL-1βの3時間刺激では，Ⅳ型コラーゲンα1鎖および Ⅰ型コラーゲンα1鎖 mRNA量が減少した。インテグリンβ4とラミニン5，プレクチンそれぞれの共局在化は，IL-1βの1時間刺激後に増加し，インテグリンβ4とプレクチン，Ⅳ型コラーゲンそれぞれの共局在化は，刺激後3時間で減少した。

【結論】歯肉上皮細胞で発現し，ヘミデスモゾーム結合を構成するインテグリンβ4，ラミニン5およびプレクチンが歯周病局所のポケット深化に対する防御機構に関係することが示唆された。

P-02 炎症性サイトカインがエクソソームに及ぼす影響

山口　亜利彩

キーワード：エクソソーム，miRNA，TNF-α，IL-1β

【目的】エクソソームは，細胞から分泌される直径約50-150nmの細胞外小胞で，血漿や尿などの生体液や細胞培養液中に存在する。エクソソーム表面には，脂質やタンパク質が，その内部にはmiRNA，mRNAやタンパク質などを含んでおり，体液を介して隣接もしくは隔離した組織に取り込まれ，細胞間情報伝達媒体としての役割を持つ。我々は，ヒト歯肉線維芽細胞（HGF）およびSaos2骨芽様細胞からのエクソソームへの炎症性サイトカインの影響を解析した。

【材料と方法】HGFおよびSaos2細胞をTNF-α（10ng/ml）またはIL-1β（1ng/ml）で24時間刺激後，培養上清からCapturem Exosome Isolation Kitを用いてエクソソームを精製した。精製エクソソームおよび両細胞から全RNAとタンパク質を抽出し，miRNA発現とタンパク質発現量の変化をreal-time PCRおよびWestern blotで解析した。

【結果と考察】HGFおよびSaos2細胞をTNF-α（10ng/ml）またはIL-1β（1ng/ml）で24時間刺激すると，エクソソーム中のmir-150，mir-200b，mir-223，mir-379およびmir-144の発現量の増加が認められた。細胞内に比較して，エクソソーム中の上記のmiRNAの発現量が有意に多かったことから，miRNAはエクソソーム中に濃縮されて存在すると考えられた。エクソソーム中のタンパク質量の変化に関しては，現在解析中である。

P-03 炎症性サイトカインによるODAM転写調節機構の解析

鶴屋　祐人

キーワード：ODAM，接合上皮，転写調節，IL-1β，TNF-α

【目的】Odontogenic ameloblast-associated protein（ODAM）は，成熟期エナメル芽細胞と接合上皮に発現するエナメルタンパク質である。接合上皮におけるODAMの役割と炎症歯肉での転写調節機構を解明するために，歯肉上皮細胞でのODAM遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響を解析した。

【材料と方法】Ca9-22ヒト歯肉上皮細胞を，IL-1β（1ng/ml）またはTNF-α（10ng/ml）で経時的（3, 6, 12, 24h）に刺激後，全RNAおよび総タンパクを抽出し，ODAM mRNAおよびタンパク質量の変化をReal-time PCRとWestern blotで解析した。pGL3basicルシフェラーゼプラスミドに様々な長さのヒトODAM遺伝子プロモーターを挿入して，ルシフェラーゼ（LUC）コンストラクトを作製し，Ca9-22細胞に導入後，IL-1βまたはTNF-αで12時間刺激し，ルシフェラーゼ活性を測定した。

【結果と考察】Ca9-22細胞をIL-1βまたはTNF-αで刺激すると，ODAM mRNAおよびタンパク質量は増加した。LUCコンストラクトを導入したCa9-22細胞をIL-1βまたはTNF-αで12時間刺激すると，転写開始点から-116塩基対上流までのヒトODAM遺伝子プロモーターを含むコンストラクトのLUC活性が上昇した。このLUC活性の上昇は，MEK，チロシンキナーゼおよびPI3キナーゼ阻害剤で抑制された。今後はIL-1βおよびTNF-α刺激後のシグナル伝達や転写調節機構に関して解析を進める予定である。

P-04 HLAハプロタイプホモ歯髄細胞由来エクソソームの特性評価および生物学的効果

清水　雄太

キーワード：歯髄細胞，エクソソーム，ヒト白血球抗原

【背景・目的】HLA多ローカスホモの細胞は提示する自己抗原の種類が少なく，他家移植において拒絶されにくいと考えられる。間葉系幹細胞からはエクソソームと呼ばれる細胞外小胞が分泌され，細胞間のコミュニケーションツールとしての役割を果たしている。そこで，HLAハプロタイプホモ（HHH）-歯髄細胞（DPC）由来エクソソームの特性やDPCへの効果を評価すると共に，同細胞から誘導したHHH-iPSCエクソソームとのmiRNA発現比較を行った。

【方法】HHH-DPCおよびHHH-iPSCよりエクソソームを精製した。精製したエクソソームは，特性を電子顕微鏡およびウエスタンブロッティングにて確認した。また，HLAの発現及び細胞内への取り込みを評価し，HHH-iPSCエクソソームとのmiRNA発現比較も行った。また，HHH-DPCエクソソームの細胞遊走能，増殖能に対する効果の確認を行った。

【結果】DPCsから精製したエクソソームは，均質な球状膜構造を持ち，DPC内への取り込みを確認することができた。CD9/CD63/CD81の発現を認め，HLAの発現も確認できた。miRNA解析により，HHH-DPCエクソソームでは，複数のLet-7ファミリーの発現が高い事が分かった。また，DPCエクソソームの添加は，細胞の遊走能及び増殖能を上昇させた。

【考察】エクソソームにもHLAが低いながらも発現しているため，HHH細胞を用いて移植に伴う拒絶や免疫応答を抑制する意義があると考えられた。また，DPCエクソソームが細胞の遊走能，増殖能といった活性を上昇させるため，細胞移植治療の効果を一部代替できる可能性がある。

P-05

ヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化における*P. gingivalis* LPS存在下での高グルコース環境の影響

塩見　慧

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

【目的】歯周病と糖尿病は発症と進行において双方向性に影響を及ぼしている。慢性歯周炎患者の血糖値コントロールの状態による骨形成の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（*P.g* 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. g* 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週目のアルカリフォスファターゼ（ALP）活性と炎症性サイトカインの発現，培養3，4週目のオステオカルシン（OCN）産生，細胞外マトリックスへのカルシウム（Ca）の析出について硬組織組成の検討を行った。

【結果と考察】培養1週ではグルコース濃度によるALP産生の差は認められなかったが，培養2週では高グルコース状態では低いALP活性を示した。またグルコース濃度が上昇するにつれて炎症性サイトカインの発現は一度は低下したものの24mMでは増加した。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. g* LPS存在下において高い濃度の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，高い濃度であるが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-06

High Mobility Group Box 1（HMGB1）は間葉系幹細胞の遊走を介して抜歯窩の創傷治癒を促進する

平井　杏奈

キーワード：High Mobility Group Box 1，抜歯，間葉系幹細胞

【目的】HMGB1は組織の損傷や壊死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。我々は，抜歯窩のHMGB1が初期の炎症反応を制御して創傷治癒に関与していることを報告した。抜歯後の創傷治癒において間葉系幹細胞（MSC）の遊走は重要であるが，HMGB1との関連は不明である。本研究は，HMGB1中和抗体を投与したマウス抜歯モデルを用いてHMGB1のMSC遊走への影響を調べた。

【材料と方法】C57BL/6マウス（9週齢，雄）の上顎第二大臼歯を抜歯し，1，3，5，7日後に回収した抜歯窩周囲組織の*IL1β*，*CXCL2*，*CCL2*，*TGFβ*，*Nanog*，*Oct4*，*RUNX2*，*CD44*の遺伝子発現量を定量RT-PCR法で解析した。次に，抜歯後にHMGB1中和抗体または対照抗体を投与し，7日後に回収した抜歯窩周囲組織を用いて上記の遺伝子発現を定量RT-PCR法で解析し，$CD45^-CD31^-CD14^-CD44^+CD140a^+$細胞（MSC）の割合をフローサイトメトリー解析した。

【結果】抜歯窩周囲組織では，*IL1β*と*CXCL2*（1日後），*CCL2*と*TGFβ*（3日後），*RUNX2*と*CD44*（5日と7日後），*Nanog*と*Oct4*（7日後）の順で遺伝子発現が上昇した。しかし，中和抗体群では抜歯7日後の*RUNX2*，*CD44*，*Nanog*，*Oct4*の遺伝子発現が抑制された。また，MSCの割合は対照抗体群と比較して中和抗体群で低かった。

【結論】これまでの結果から，抜歯窩のHMGB1は初期の炎症反応を惹起することで，MSCの遊走を促進して創傷治癒を制御する可能性が示唆された。

P-07

ヒト臍帯組織由来細胞（HUCPVCs）の軟骨細胞への分化誘導

永島　百合

キーワード：ヒト臍帯組織由来幹細胞，軟骨細胞，再生医療

【目的】新たな間葉系幹細胞（MSC）ソースとしてヒト臍帯組織由来幹細胞（HUCPVCs）が注目されている。この細胞は，医療廃棄物である臍帯動静脈周囲に豊富に存在し，十分な細胞確保ができることから臨床への応用可能な細胞ソースとして期待されている。これまで我々は，HUCPVCsを骨髄幹細胞の培養上清を用いて培養することで骨芽細胞へ分化することを確認した。本研究では軟骨細胞（AC）の培養上清を用いてHUCPVCsを培養することで，HUCPVCsがACへ分化するかについて*in vitro*において検討した。

【材料と方法】軟骨増殖培地で培養したHUCPVCsをHUC-群，ACをAC-群とした。AC培養上清をHUCPVCsに添加し培養したAC-HUCを実験群として培養後1週，2週，3週でRT-PCRにより軟骨関連の遺伝子発現について調べた。

【結果と考察】AC-HUCでは2週においてCOMP，SOX9に遺伝子発現の上昇を認めた。3週においてはAggrecanとCol2に上昇が認められた。Col1はHUC-において3週まで経時的に上昇したが，AC-HUCにおいては経時的に減少が見られた。これらの結果からAC培養上清をHUCPVCsに添加し，培養することにより軟骨関連の遺伝子発現の上昇が認められた。このことからHUCPVCsがAC培養上清を加えることでACへ分化誘導する可能性が示唆された。

P-08

Twist2またはKlf12阻害によるヒト歯根膜細胞からの軟骨形成または間葉系幹細胞への誘導

高井　英樹

キーワード：歯根膜細胞，分化，転写因子

【目的】歯周組織再生療法は，歯根膜に存在する間葉系幹細胞（MSC）に依存し，転写因子は未分化間葉系細胞の分化の方向を決定する。今回我々は歯根膜の特性を維持するために重要である転写因子を解析した。

【材料と方法】ヒト骨芽細胞様細胞（Saos2）をαMEM培地，ヒト歯肉線維芽細胞（HGF）およびヒト歯根膜線維芽細胞（HPDL）をDMEM培地で培養し，細胞を回収後，種々の転写因子mRNAを定量PCR法で解析した。さらにsiMix（siTwist2，siPax9，およびsiKlf12），siTwist2またはsiKlf12をHPDLに72時間導入後，細胞を回収し，種々の転写因子mRNAとタンパク質量の変化を定量PCR法およびWestern Blotを用いて解析した。siRNAを21日導入したHPDLはアルシアンブルー染色を行った。

【結果と考察】Saos2に比べてHGFおよびHPDLでTwist2，Klf12およびPax9遺伝子が高発現していた。siRNAを72時間導入した結果，siMixおよびsiTwist2はCol1a1 mRNA量を減少し，Sox5 mRNAとタンパク質量を増加させ，Aggrecan mRNA量を増加させた。また，siKlf12はSox2，Klf4，CD90およびCD105 mRNA量を増加させ，Klf4タンパク質量を増加させた。siMixおよびsiTwist2を21日導入したHPDLはアルシアンブルーにて青く染色された。以上の結果から，HPDLはsiMixおよびsiTwist2により軟骨形成細胞，siKlf12によりMSCへ分化誘導される可能性が示唆された。

P-09 パルミチン酸はヒト歯根膜幹細胞のアポトーシスを誘導し，骨芽細胞分化を阻害する

竹内　友規

キーワード：パルミチン酸，歯根膜幹細胞，アポトーシス，骨芽細胞分化

【目的】飽和脂肪酸の一種であるパルミチン酸（Pal）は，2型糖尿病の罹患によって血中濃度が増加し，ヒト骨芽細胞のアポトーシスを誘導し，骨分化を阻害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が歯根膜幹細胞（PDLSCs）の細胞増殖，アポトーシス誘導，骨芽細胞分化，炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】PDLSCsは，ヒト抜去歯歯根膜から分離培養した。PDLSCsを100μMおよび250μMのPalを含む増殖培地で6～168時間培養し，細胞増殖，ELISA法およびTUNEL染色によるアポトーシス誘導の検討を行った。また，PDLSCsを100μMおよび250μMのPalを含む骨芽細胞分化誘導培地で3～21日間培養し，ALP活性の測定，タイプⅠコラーゲン（PIP）およびオステオカルシン（OCN）産生量のELISA法による測定，カルシウム析出量の測定，アリザリンレッド染色による石灰化物形成の評価，Runx2，IL-6およびIL-8発現量のPCR法による測定を行った。

【結果と考察】Pal添加群において生細胞数は有意に減少し，アポトーシスを示す細胞数は有意に増加した。また，Pal添加群においてALP活性，PIP産生量，OCN産生量，カルシウム析出量およびRunx2発現量は250μMにおいて特に有意に減少し，IL-6およびIL-8発現量は250μMにおいて特に有意に増加した。以上の結果より，PalはPDLSCsのアポトーシス誘導および骨芽細胞分化の阻害によって歯周組織再生を阻害する可能性が示唆された。

P-10 歯肉繊維芽細胞におけるヒノキチオールの抗酸化作用

倉光　祥平

キーワード：ヒノキチオール，歯肉繊維芽細胞，抗酸化作用

【目的】近年，歯周組織の炎症に酸化ストレスが関与していることが報告されている。本研究では，ヒノキチオールの抗酸化作用について検証するために，ヒト歯肉繊維芽細胞（HGF）に対する酸化ストレス刺激の影響について検討を行った。

【材料と方法】ヒト歯肉繊維芽細胞をDMEM／HamF12培地でサブコンフルエントになるまで培養し，H_2O_2とヒノキチオールを同時に添加した。培養完了後，アラマーブルー10％を加えた培地に交換し細胞生存率を算出した。ヒノキチオールの抗酸化関連遺伝子への作用は，RNA－seq法にて解析した。さらに，H_2O_2とヒノキチオール，チオレドキシン還元酵素阻害剤を同時に添加し，細胞生存率を評価した。

【結果と考察】ヒノキチオールは濃度依存的にH_2O_2による細胞生存率の低下を抑制した。ヒノキチオールの添加により，チオレドキシン還元酵素およびスルフィレドキシンの遺伝子発現が促進された。一方，スーパーオキシドジスムターゼ，グルタチオンペルオキシダーゼ，カタラーゼ等の抗酸化関連遺伝子については明らかな作用が認められなかった。また，チオレドキシン還元酵素阻害剤を作用させるとヒノキチオールの効果は認められなくなったことから，ヒノキチオールはチオレドキシンシステムを介した抗酸化作用を有することが示唆された。

【結論】ヒノキチオールは歯肉繊維芽細胞においてチオレドキシンシステムを介した抗酸化作用を有すると考える。

P-11 ショウガオールはヒト歯肉線維芽細胞においてAGEs誘導性の酸化ストレスを抑制する

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）において生姜の主要成分であるショウガオール（SG）がAGEs誘導性のIL-6とICAM-1発現増加を抑制することを報告したが，その機序は不明である。本研究では，HGFsにおけるAGEs誘導性炎症反応や酸化ストレスに関する作用機序にSGが及ぼす影響について検討した。

【材料・方法】HGFsをSGで前処理後にAGEsを作用させ，活性酸素種（ROS）の活性と抗酸化酵素であるHO-1の産生とNQO1の活性を調べた。また，AGEs受容体（RAGE）発現及びMAPK，NF-kBのリン酸化をウエスタンブロットで調べた。さらに，ROS阻害剤（NAC）で前処理後にAGEsを作用させ，IL-6とICAM-1の発現をELISA法で調べた。

【結果・考察】SGはAGEs誘導性のROS活性を抑制した。AGEsはNQO1活性を抑制したが，HO-1は変化がなく，SGはAGEsにより抑制されたNQO1を活性化させ，HO-1もAGEs単独刺激時より増加させた。また，SGはAGEs誘導性のRAGE発現，MAPKとNF-kBのリン酸化を抑制した。NACは，AGEs誘導性IL-6とICAM-1産生を抑制した。これらの結果は，SGがHGFsにおいて酸化ストレス，RAGE，MAPK及びNF-kB経路の抑制を介してAGEs誘導性炎症関連因子の発現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-12 ヒノキチオール及びシャクヤクエキスの歯肉上皮細胞への歯周病菌侵入抑制効果

稲垣　みずき

キーワード：歯周病菌，歯肉上皮細胞，ジンジパイン，ヒノキチオール，シャクヤクエキス

【目的】歯周病菌*Porphyromonas gingivalis*（*P.g.*）は歯肉上皮細胞へ侵入することで，歯周病を悪化させることが知られている。本研究では，植物由来成分であるヒノキチオール及びシャクヤクエキスの，歯肉上皮細胞への*P.g.*侵入抑制効果及びそのメカニズムを検証した。

【材料と方法】歯肉上皮細胞への*P.g.*侵入抑制試験は，*P.g.*とヒト歯肉上皮細胞（Ca9-22）を共培養し，細胞に付着した*P.g.*を除去した後に細胞を溶解し，寒天培地にて培養し，コロニー数から細胞内に侵入した菌数を計測した。侵入抑制メカニズムの検証として，Ca9-22への*P.g.*付着抑制試験及びジンジパイン活性測定を行った。付着抑制試験は，細胞に付着した*P.g.*の除去を行わなかった以外は，侵入抑制試験と同様に評価した。ジンジパイン活性は，硫安分画により精製した*P.g.*培養上清を，ジンジパイン特異的基質と混合し，基質が分解された時の発色により評価した。

【結果と考察】ヒノキチオール及びシャクヤクエキスは，Ca9-22への*P.g.*の侵入を抑制した。シャクヤクエキスはCa9-22への*P.g.*の付着を抑制した。ヒノキチオール及びシャクヤクエキスは，ジンジパイン活性を抑制した。

【結論】ヒノキチオール及びシャクヤクエキスは，歯肉上皮細胞への*P.g.*侵入抑制効果により，歯周病の悪化を抑制する可能性が示唆された。ヒノキチオールはジンジパイン活性抑制を介して，シャクヤクエキスは*P.g.*の細胞への付着抑制及びジンジパイン活性抑制を介して，侵入抑制効果を示したと考察される。

P-13 Nd:YAGレーザーによるHLLTがヒト歯肉線維芽細胞に与える影響について

五十嵐　寛子

キーワード：Nd:YAGレーザー，SEM，HLLT，歯肉線維芽細胞

【目的】Nd:YAGレーザーは組織内部まで浸透する性質を有する。HLLTでは，表層部の組織は蒸散または炭化し除去されるが，これらを取り巻く外周にはタンパク変性層および組織活性化層が存在し，照射後も存在する。そこで，ヒト歯肉線維芽細胞における蒸散層の外周への影響に焦点を当て実験を行った。

【材料および方法】歯科用パルスNd：YAGレーザー（インパルス デンタルレーザー，インサイシブジャパン社，承認機器）にて照射を行った。照射条件を次の3群（非照射群，100mJ，30pps，10秒および200mJ，30pps，10秒照射群）に分け照射し24時間培養を行い照射した。細胞増殖能および細胞遊走能の測定，走査型電子顕微鏡（SEM）による観察を行った。本実験は日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認を受け実施した。

【結果】非照射群と比較し100mJ，30pps，10秒照射群において細胞数の有意な増加が認められ（$p<0.001$），200mJ，30pps，10秒照射群では有意な減少が認められた（$p<0.001$）。200mJ，30pps，10秒照射群は有意な細胞遊走能の低下が認められ（$p<0.001$），SEMによる観察では細胞がカバーガラス底面に焼き付けられたように圧平化し，細胞表面の連続性が破断し細胞内部の構造が認められた。

【考察および結論】Nd:YAGレーザーは組織内部まで浸透するため，その外周への影響十分に理解している必要がある。接触照射の際には，蒸散範囲をきちんと確認し誤照射を行わないように注意すべきであると示唆された。

P-14 歯周組織構成細胞における酸化ストレス誘導性亜鉛イオン増加の影響評価

八木　寛子

キーワード：歯周病，酸化ストレス，亜鉛イオン

【目的】酸化ストレスは歯周病の病態形成に深く関与している。しかしながら，酸化ストレスにより誘導される細胞内Zn^{2+}濃度増加が，歯周病病態に対し，どのように寄与するかについては明らかにされていない。本研究では，酸化ストレス誘導性細胞内Zn^{2+}濃度増加が歯周組織構成細胞の細胞機能に及ぼす影響について検討した。

【方法】ヒト歯肉上皮細胞株（epi4），ヒト歯根膜細胞株（HPDL）あるいはマウス歯根膜細胞株（MPDL）に対し，過酸化水素（300μM）あるいは細胞内Zn^{2+}キレート剤TPEN（10μM）を添加し30～90分間培養後，タンパク質を回収しウエスタンブロッティング法にてタンパク質の発現変化を解析した。また，epi4細胞に対し過酸化水素あるいはTPENを添加し12時間培養後，RNAを回収しreal-time PCR法にてmRNAの発現変化を解析した。

【結果】epi4細胞およびHPDL細胞において，過酸化水素はMAPKカスケードの一つであるp38およびその下流で機能する転写因子CREBのリン酸化を増加させるが，TPENの添加はこれらのリン酸化を抑制した。更にMPDL細胞では過酸化水素はPI3K/Aktシグナル経路のAktリン酸化を増加させるが，TPENはこれを抑制した。また，epi4細胞において過酸化水素はIL-1β mRNAおよびTNF-α mRNAの発現を増加させるが，TPENの添加はこれら発現上昇を抑制した。

【考察】酸化ストレスにより増加する細胞内Zn^{2+}は，歯周組織構成細胞のMAPKおよびPI3K/Aktシグナル経路の活性化および炎症性サイトカイン発現に寄与する可能性が示唆された。

P-15 miR-200bはヒト歯肉上皮細胞におけるアメロチン遺伝子発現を抑制する

高井　瑞穂

キーワード：miR-200b，アメロチン，ヒト歯肉上皮細胞，TNF-α

【緒言】MicroRNA（miRNA）は，標的mRNAの3末端非翻訳領域（3'-UTR）に結合し遺伝子発現を調節する。アメロチン（AMTN）は，接合上皮の内側基底板に限局して発現する分泌エナメルタンパク質である。本研究では，ヒト歯肉上皮細胞においてTNF-α誘導性のAMTN遺伝子転写に及ぼすmiR-200bの影響を解析した。

【方法】Ca9-22細胞にmiR-200b発現ベクターを導入し，TNF-α（10ng/ml）で12時間刺激後のAMTNとIKKβのmRNAおよびタンパク量をqPCRまたはwestern blotで解析した。ヒトAMTN遺伝子プロモーター配列を含むルシフェラーゼ（LUC）プラスミドにmiR-200bの結合部位を含むAMTN 3'-UTR配列を挿入し，miR-200b発現ベクターと共にCa9-22に導入後，TNF-αで12時間刺激しLUCアッセイを行った。

【結果と考察】Ca9-22におけるTNF-α誘導性のAMTN mRNA発現は，miR-200b過剰発現で抑制された。Ca9-22をTNF-αで刺激するとIKKβ mRNAおよびタンパク量は増加したが，miR-200bを過剰発現させると抑制された。AMTN 3'-UTR LUCプラスミドをCa9-22に導入しTNF-αで刺激するとLUC活性は増加し，miR-200b過剰発現により活性上昇が抑制され，IKKβおよびNF-κB阻害剤存在下でほぼ完全に抑制された。以上の結果から，miR-200bはAMTN 3'-UTRおよびIKKβ mRNAを標的として，ヒトAMTN遺伝子の転写調節に関与する可能性が示唆された。

P-16 ハイドロキシアパタイト上での培養が不死化接合上皮細胞および口腔上皮細胞の遺伝子発現に及ぼす影響

田中　慧介

キーワード：接合上皮，再構成歯胚，不死化細胞

【背景および目的】接合上皮（JE）は歯原性上皮由来であり，他の歯肉上皮とは異なる構造，機能を有している。これまでJEは創傷治癒において歯原性上皮ではなく口腔上皮（OE）細胞によって治癒することが示唆された。このことから，OE細胞はハイドロキシアパタイト（HA）に接触することで性質が変化する可能性があると考えた。本研究では過去に報告した不死化JE細胞（JE-1）に加え，新たに不死化口腔上皮細胞（OE-1）を樹立し，HAディスク上での培養が遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】レンチウイルスを用いて野性型マウスの口蓋歯肉由来の上皮細胞にSV40 large Tを導入し，限界希釈法を用いて単一細胞由来の不死化口腔上皮細胞としてOE-1を作製した。HAディスク上で48時間培養したJE-1およびOE-1の遺伝子発現についてreal-time PCR法を用いて解析した。

【結果】HAディスク上で培養したJE-1およびOE-1において，免疫細胞の誘導に関与する*Cxcl10*，抗酸化物質グルタチオンの合成を制御する*Slc7a11*の発現の増加が認められた。しかし，JEの内側基底板で発現が報告されている*Odam*は認められなかった。

【考察および結論】JEは細菌の侵入に対し感染防御の役割を果たすため，免疫細胞を誘導する因子の発現や酸化ストレスへの抵抗性が高いと考えられている。JE-1は*Odam*を発現しないJE細胞由来であると考えられ，HA上でもその発現が認められなかった。JE-1およびOE-1はHA上で細菌感染防御機構に関連する分子発現が増強され，より生体に近い性質が発現する可能性が示唆された。

P-17 老齢マウス歯肉組織における遺伝子発現の網羅的解析

松田　一成

キーワード：細胞老化，炎症，歯肉線維芽細胞

【目的】歯周病の罹患率は加齢とともに増加することから，歯周組織の加齢変化が歯周病の病因に関連することが示唆されている。しかし，歯周組織の老化の実態とその病態形成に及ぼす影響については不明のままである。本研究では，マウス歯肉組織及びヒト歯肉線維芽細胞を用いて，老化に伴う遺伝子発現の変化を網羅的に解析し，歯周組織の老化が歯周病に及ぼす影響を分子レベルで検討した。

【材料と方法】若齢（6週齢）及び老齢（20月齢）のC57BL/6NCrlマウスより歯肉組織（口蓋）を採取した。同組織より抽出したmRNAをマイクロアレイによって，老化に伴う遺伝子発現変化を網羅的に解析した。ヒト歯肉線維芽細胞に①過酸化水素を低濃度で添加する，②継代を繰り返すという2種の方法で，*in vitro*において細胞老化を模倣できるかを検討した。

【結果と考察】マイクロアレイ解析の結果，老齢マウスは若齢マウスと比較して，炎症性サイトカイン，免疫グロブリン遺伝子の発現が増加し，コラーゲンや基底膜に関する遺伝子の発現が低下していることが明らかとなった。加えて，ヒト歯肉線維芽細胞の過酸化水素処理や継代を繰り返すことによっても，マイクロアレイと同様の遺伝子発現変化が見られた。これらの遺伝子発現の変化は，炎症反応・免疫応答の増強や創傷治癒の遅延等に影響を及ぼす可能性が考えられる。

【結論】若齢及び老齢マウス歯肉組織のマイクロアレイ解析により，分子レベルの老化が確認された。また，*in vitro*でヒト歯肉線維芽細胞の老化を誘導できることを確認した。今後，これらの遺伝子発現変化と歯周病の病態形成との関連性を詳細に検討する予定である。

P-18 miR-150は歯肉上皮細胞においてMKP-5を介してマウスアメロチン遺伝子発現を調節する

能田　佳祐

キーワード：アメロチン，miR-150，MKP-5

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

【材料および方法】GE1歯肉上皮細胞にmiR-150発現プラスミドを導入し，TNF-α（10ng/ml）刺激後のAMTNとMKP-5 mRNAおよびタンパク質量をリアルタイムPCRおよびウエスタンブロットで解析した。マウスAMTN遺伝子プロモーター（-2200～+60）を挿入したルシフェラーゼ（LUC）プラスミドに，miR-150の結合部位を有するAMTN遺伝子3'-UTR exon9および+9811～+10797を挿入し，miR-150発現プラスミドと共にGE1細胞に導入し，TNF-αで12時間刺激後にLUC活性を測定した。

【結果および考察】GE1細胞をTNF-αで刺激すると，AMTNとMKP-5のmRNAおよびタンパク質量と-2200AMTN LUC3'-UTRの転写活性は増加したが，miR-150の過剰発現でその増加量は部分的に抑制された。以上の結果から，miR-150はAMTN遺伝子の3'-UTRに結合しAMTN遺伝子の翻訳抑制に直接的に関与するとともに，MAPK系経路中のMKP-5を阻害し，MAPK系経路を活性化させることで間接的にAMTN遺伝子の転写を調節することが考えられた。

P-19 老化誘発性歯肉上皮と幼若歯肉上皮における細胞間接着関連タンパク質の発現比較

Sarita Giri

Keywords: 接合タンパク質，老化，claudin，E-cadherin，firaggrin

Objective: Aging changes in gingival tissues influences the onset and exacerbation of periodontal disease. The intercellular junctional proteins of gingival epithelium protect the underlying connective tissue from the external environment and plays an important role in maintaining periodontal tissues. However, there have been no reports on changes in junctional protein with aging. The objective of our study is to compare the expression of junctional proteins in young and senescence induced gingival epithelial cells.

Materials and methods: Immortal human gingival epithelial cell (OBA-9) was cultured in Hu media, passaged up to 27th passaging and RNA was extracted. The young cell (4th passage) was used as a control. SA-β gal assay and mRNA expression of p16 and p53 through RT-PCR were done to check for the senescence. The mRNA expression of junctional proteins like Claudin-1, -2, -10, occludin, E-cadherin and filaggrin were checked through RT-PCR. Mann Whitney U test was used to test the significance.

Results: SA-β gal assay showed that the senescent cells were significantly higher in 27th passaging as compared to control ($p<0.01$). The senescent markers, p16 and p53 were significantly higher in 27th passaging as compared to control ($p<0.05$). The expression of claudin-1 and filaggrin was upregulated in 27th passaging as compared to control ($p<0.05$). Claudin-2, Occludin and E-cadherin showed downregulated expression in 27th passaging as compared to control ($p<0.05$).

Conclusion: The cellular senescence in gingival epithelium might play a role in altering junctional proteins to reduce the barrier function.

P-20 *Treponema denticola*の環境ストレス応答機構の解明

深澤　俊也

キーワード：*Treponema denticola*，TDE_1382，環境ストレス

【目的】*Treponema denticola*は慢性歯周炎の患者の歯周ポケット内から高頻度で検出され，本菌が歯周ポケット内に定着する際，様々な環境ストレスに曝されている。我々は血清制限の条件での本菌の培養において，TDE_1382を含む複数の遺伝子の発現の変化が起きることを報告している。TDE_1382はDNA binding domainを持ち，遺伝子発現調節に関わるタンパクであることが予想されている。本研究の目的は，*T. denticola* TDE_1382のストレス応答における役割について解明することである。

【材料および方法】*T. denticola* ATCC 35405株のTDE_1382をエリスロマイシン耐性遺伝子の相同組換えによって，欠損株を作出した。次に欠損株と野生株の環境ストレス下における違いについて解析を行った。1%，10% 血清添加培地での増殖能，好気条件下における生菌数，培地に滅菌水を加え培養することによる浸透圧低下時の生菌数を評価した。増殖能の評価は吸光度，生菌数はATPの発光により測定した。

【結果と考察】欠損株の増殖能は10%血清添加培地では変化が認められなかったが，血清1%に下げると野生株に比べ有意に低下した（p<0.001）。さらに欠損株で酸素ストレス下での生菌数は曝露後1h，2hとも有意に低い値を示した（p<0.01）。浸透圧低下時に生菌数は少ない傾向にあった。これらの結果から，TDE_1382はストレス条件下での本菌の生存や増殖に関わることが考えられた。

【結論】TDE_1382は酸素ストレス，血清制限等のストレスに対する本菌の応答に関わっていることが示唆された。

P-21 歯周炎患者唾液細菌叢が腸内細菌叢に与える影響の解析

山崎　恭子

キーワード：口腸連関，Dysbiosis，口腔細菌，腸内細菌

【目的】我々はマウスを用いて，嚥下された*P. gingivalis*が腸内細菌叢を変動させ，それに伴い腸管透過性が亢進することで内毒素血症および腸内細菌の体内への流入が誘導され，全身性の炎症とインスリン抵抗性が誘導されることを明らかにした。そこで，動物実験の結果をもとに歯周炎患者における歯周病原細菌嚥下の腸内細菌叢に及ぼす影響を検証した。

【材料および方法】インフォームドコンセントの得られた中等度から重度歯周炎患者23名，健常者10名を対象とし，歯肉縁下プラーク，血清，糞便，唾液を採取した。糞便，唾液から抽出したDNAは16Sr-RNA遺伝子のV1-V2領域をPCR増幅しMiSeqにて配列解析を行った。口腔由来細菌の照合にはHuman Oral Microbiome Databaseを用いた。血清バイオマーカーの解析にはマルチプレックス解析を用いた。

【結果および考察】唾液細菌叢，腸内細菌叢はともにUni Frac解析により統計学的な有意差が認められ，健常者群と歯周炎患者群が異なる細菌叢を持つことが明らかとなった。腸内細菌叢においては過去の報告と同様に，健常者と比較して歯周炎患者群においてPhylumレベルでBacteroidetes，GenusレベルでBacteroidesが高頻度に検出された。血清バイオマーカーに関しては，インスリン感受性を亢進させると報告されているAdiponectinレベルが歯周炎患者群において有意に低下していた。以上より，健常者と異なる唾液細菌叢を持つ歯周炎患者において腸内細菌叢が変動し，メタボリックシンドローム等の疾患リスクを高める可能性が示唆された。

P-22 *Lactobacillus salivarius* WB21株・茶カテキン（EGCg）配合オーラルタブレットの摂取回数変更の検討

石井　春生

キーワード：乳酸菌，茶カテキン，オーラルケア，サプリメント，口臭，口腔自覚症状

【目的】*Lactobacillus salivarius* WB21株と茶カテキン（EGCg）を配合したオーラルタブレットを1日3回摂取した際の臨床効果については既に報告をしたが（石井ら，日本歯周病学会60周年記念京都大会，2017），摂取をする際の利便性を考慮すると，摂取回数はできるだけ少ない方が良い。今回の研究では，摂取回数を3回から2回に減らすよう処方変更した製剤の臨床効果について検討した。

【方法】健常者12名（男3名，女9名，47.6 ± 4.9歳）を対象にオーラルタブレットを1日2回，4週間なめて摂取させ，摂取前，摂取1，2，4週間後に評価した。評価方法は，オーラルクロマによる呼気中の揮発性硫黄化合物（VSC）の測定及びVASスコアによる口腔自覚症状に関するアンケート調査にて行った。

【結果】VSC：硫化水素は試験開始前に比べて試験食品摂取1週間後から，メチルメルカプタン，ジメチルサルファイドはそれぞれ2週間後，1週間後に有意に減少した。口腔自覚症状：7項目中6項目で摂取1週間後からスコアが有意に減少し，摂取2週間後以降は全ての項目で有意に減少した。1日3回摂取製剤とのVSC抑制効果の比較：硫化水素は1日2回摂取製剤のみで有意に抑制され，メチルメルカプタン及びジメチルサルファイドの抑制効果は同等であった。

【結論】*Lactobacillus salivarius* WB21株と茶カテキン配合オーラルタブレットの1日2回摂取製剤は，口臭及び口腔自覚症状の改善に有用で，1日3回摂取製剤と同等かそれ以上の臨床効果が認められた。

P-23 *Porphyromonas gingivalis* 感染DBAマウスにおける唾液中ACPA検出の検討

坂口　和歌子

キーワード：関節リウマチ（RA），*Porphyromanas gingivalis*，抗シトルリン化タンパク抗体，DBAマウス

【目的】関節リウマチ（RA）の自己抗体である抗シトルリン化タンパク抗体（ACPA）は，RAの診断において非常に特異的であり，そしてRAの初期の症例およびRAの発症の数年前に検出されている。本研究では，ACPAに焦点を当て，それが歯周病との関連を含めて唾液中に検出されるかどうかを検討した。

【材料および方法】DBA/1JJmsSlcマウスを用いて，*Porphyromonas gingivalis*（Pg）をマウスの口腔に投与した。足の骨の関節炎指数の測定，および唾液と血清の採取，ならびに足の骨の採取を行った。血清および唾液中のACPAの量をELISA法で測定し血清，唾液および足の骨中の抗体をウエスタンブロット法により検出および分析した。

【結果と考察】Pg/RA群の足骨の病理組織学的調製は炎症性細胞浸潤，破骨細胞を検出し，骨吸収は明白であった。さらに，ELISAの結果，血清中に検出されたACPAの量は他の群と比較してPg/RA群で有意に多く（$P<0.05$，唾液中でも増加する傾向を示した。また，ウエスタンブロッティングの結果，RA群，Pg/RA群の血清および唾液中に55kDaのシトルリン化タンパク質が検出された。Pg感染は血清中のACPAを増加させ，唾液にも反映されることが示唆された。

【結論】Pgは，RAの炎症の進行に関与し，唾液中からRAの自己抗体ACPAが検出されることが分かった。

P-24 *Porphyromonas gingivalis*がヒト口腔粘膜上皮細胞機能に与える影響

笠　孝成

キーワード：ポルフィロモナス・ジンジバリス，ヒト口腔粘膜上皮細胞，三次元培養モデル

【目的】歯肉上皮細胞は歯周病原細菌と最初に接する細胞であり，バリア機能の破綻が易感染性の状態を生み出し，歯周炎の進行に関与すると考えられている。本研究は，歯周病原細菌である*Porphyromonas gingivalis* ATCC33277（*P.g*）がヒト口腔粘膜上皮細胞機能に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料及び方法】ヒト口腔粘膜上皮細胞株の三次元培養モデルを作製し，*P.g*菌粉砕物の作用について検討した。遺伝子発現については，DNAマイクロアレイ解析及びqRT-PCR法。組織学的な形態については，HE染色及び免疫組織染色法を用いた。

【結果】三次元培養モデルにおいて，*P.g*菌粉砕物を滴下するとAir Lift 6日目に有意な上皮層の厚みの増加を認めた。マイクロアレイパスウェイ解析の結果，細胞周期及び細胞間接着に関連する遺伝子発現の変化を認めた。細胞周期においてG2期からM期に移行する際に関与するCdk1及びCcnb1を抑制するCdkn1a及びG1期に抑制するCdkn2d mRNA発現量の有意な低下を認め，細胞増殖マーカーであるKi67免疫組織染色においてKi67陽性細胞数の割合が有意に増加した。細胞間接着においてOccludin1 mRNA発現量の有意な低下を認め，免疫組織染色において，E-cadherin染色強度及び染色面積の有意な低下を認めた。

【結論】ヒト口腔粘膜上皮は*Pg*菌感染に伴い細胞増殖が亢進し上皮バリア機能が低下していることが示唆された。

P-25 ラット下顎角骨欠損モデルにおけるFGF-2添加コラーゲンメンブレンの骨再生に及ぼす影響

古畑　光昭

キーワード：骨再生，FGF-2，コラーゲンメンブレン

【目的】現在，歯周病治療や歯科インプラント治療では，失われた歯周組織とくに歯槽骨再生を積極的に促す方法が数多く応用されており，その1つにコラーゲンメンブレン（collagen membrane；CM）を用いたものがある。また，生体為害性のない新たな成長因子の模索や組織再生の効率（改善量ならびに治癒機関の短縮）を更に高める必要性があると考えられる。そこで本研究では，成長因子として日常臨床で使用可能なFibroblast Growth Factor（FGF）-2をコラーゲンメンブレンに添加した新規再生ユニット（CM/FGF-2）を考案し，骨再生に及ぼす影響についてラット下顎角欠損モデルを用いて検討した。

【材料と方法】雄性近交系ラット（F344jcl）8週齢の下顎角に，内径 4.0 mmのトレファインバーで下顎角骨欠損モデルを作製した。欠損のみ（control群），欠損をコラーゲン膜で被覆（CM群），CMにFGF-2を低用量 0.5μg添加（FGF-2［L］群），高用量2.0μg添加（FGF-2［H］群）し被覆した群に分けた。実験動物用3Dマイクロ CTによるエックス線学的観察と切片標本による組織学的評価を，術後6週において行った。

【結果と考察】FGF-2［L］群，FGF-2［H］群とcontrol群，CM群を比較し，で骨欠損部に顕著な新生骨様組織の増加を認めた。また，新生骨は既存骨と類似した組織学的特徴を有していた。このことから，CM/FGF-2は骨再生に促進的に働く可能性が示された。

【結論】CM/FGF-2は，ラット下顎角骨欠損モデルに対して骨再生を顕著に誘導することが示唆された。

P-26 リン酸三カルシウム（TCP）およびリン酸化プルラン（PPL）含有新規骨補填材の開発

森本　康仁

キーワード：リン酸三カルシウム，リン酸化プルラン，再生療法

骨縁下欠損の歯周組織再生療法を行う際，骨補填材としてβ-TCP（非自己硬化型：TERUFILL®）が用いられるが，α-TCP（自己硬化型：BIOPEX®）と比較して，欠損部における骨補填剤の保持が難しいという難点がある。生体親和性を有し，骨と接着する可能性があるリン酸化プルラン（PPL）をTCPと混和することで，骨補填剤の保持を容易にし，あらゆる骨欠損形態に使用できる可能性がある。今回，我々はPPL含有新規骨補填剤における骨再生能の評価を目的として，生後10週齢雄性Wistarラット脛骨に直径2mmの骨欠損を作成し，骨髄内に1）TERUFILL®のみ，2）BIOPEX®のみ，3）PPL+ TERUFILL®，4）PPL+ BIOPEX®を埋入し，1，2，4週後に形成された新生骨を組織学的に検索した。その結果，全ての実験群で形成した窩洞や新生骨周囲に炎症性浸潤は認められなかった。1）・3）群では，骨髄内部に比較的厚い骨梁の形成が認められ，埋入2，4週後にはTERUFILL®が僅かしか保持されていなかった。一方，2）・4）群では，窩洞やBIOPEX®を取り囲むように薄い骨梁が形成されており，欠損部に充填されたBIOPEX®は埋入4週後でも残存し，その内部に細胞浸潤はあまり認められなかった。以上より，PPLは，生体為害性を有せず，また，骨欠損部へ補填した場合には，TERUFILL®やBIOPEX®で誘導される骨新生を阻害しない可能性が推察された。

P-27 副甲状腺ホルモンの間歇的全身投与と中性自己組織化ペプチドの局所応用の併用がラットの歯周組織欠損の治癒に及ぼす影響

吉田　航

キーワード：副甲状腺ホルモン，中性自己組織化ペプチド，歯周組織欠損

【目的】副甲状腺ホルモン（PTH）は骨粗鬆症治療薬として使用されており，骨形成の促進作用が明らかにされている。一方，中性自己組織化ペプチドハイドロゲル（SPG-178）は，三次元的足場材料として注目されているが，歯周組織への応用の効果は明らかにされていない。そこで本研究の目的はPTHの全身投与とSPG-178の併用による歯周組織治癒の影響を検討することとした。

【材料および方法】本研究は東京歯科大学動物実験委員会規定に従って実施した（承認番号：192201）。SPG-178に播種したラット歯根膜由来細胞の増殖能をWST-1にて評価した。*In vivo*では10週齢のWistarラットの上顎第一臼歯近心に規格化した歯周組織欠損を作製した。欠損内にSPG-178を応用した群としない群（対象群），各々にPTH全身投与・非投与の群に分け，計4群を設定した。術後2，4週で形態学的，組織学的，免疫組織化学的に検討した。

【結果および考察】SPG-178群は対象群と比較し，歯根膜由来細胞の増殖率が有意に上昇した（$p < 0.001$）。骨梁構造解析の結果，術後4週ではPTH非投与/対照群と比較し，PTH投与/SPG-178群では骨体積率が有意に増加した（$p < 0.001$）。Azan染色では術後4週のPTH投与/SPG-178群で，歯根表面に斜走する歯根膜様線維が観察された。VEGF，Osterix陽性細胞数は，術後2週のPTH投与/SPG-178群で最も増加した。

【結論】PTHの全身投与とSPG-178の併用は，細胞増殖を活性化させ，新生血管形成を促し，歯周組織欠損の治癒を促進することが示唆された。

P-28 BMP9のClass1 PI3K-Akt経路を介した直接的な骨芽細胞分化誘導

榮樂　菜保子

キーワード：BMP9，Gsk3β

【目的】Bone morphogenetic protein 9（BMP9）はBMPsの中で最も強い骨誘導能があることが報告され，骨再生療法に有用な成長因子となる可能性があるが，その詳細な分子メカニズムは不明である。そこで本研究は，シグナル分子の活性化を解析することで，BMP9に特異的なシグナル経路を同定することを目的とした。

【材料と方法】マウス骨芽細胞株MC3T3-E1細胞，マウス頭蓋骨由来骨芽細胞を用いた。リコンビナントBMP-9刺激後，活性化シグナルを解析した。さらに上流のシグナル経路の解明のために特異的阻害剤および，siRNAを用いタンパク発現量をWestern blottingにて，遺伝子発現をreal-time PCR法にて解析した。

【結果と考察】BMP-9はBMP-2に比べて，早期にGSK3βのリン酸化を誘導した。このGSK3βのリン酸化は，タンパク合成阻害剤であるCHXの前処理では抑制されなかった。また，BMP-9によるGsk3βのリン酸化は，ERK，p38，JNKの阻害薬では抑制されず，一方，PI3K-Akt経路の特異的阻害剤での前処置によって顕著に抑制された。また，EndoglinとGIPC1のsiRNAにおけるノックダウン下では，BMP-9によるAktおよびGSK3βのリン酸化は抑制され，同時にALPの発現誘導も著明に抑制された。

【結論】骨芽細胞のBMP-9刺激によって，直接的に速い経過でGSK3βおよびAktのリン酸が誘導された。この経路はGIPC1とEndoglinに密接に関与し，BMP-9の強力な骨芽細胞分化誘導に関与している可能性が示唆された。

P-29 リコンビナントヒトBMP-9とLIPUS照射がラット頭蓋骨欠損の骨再生に及ぼす影響

今藤　隆智

キーワード：リコンビナントヒトBMP-9（rhBMP-9），Low-intensity pulsed ultrasound（LIPUS），骨誘導，骨再生，動物実験

【目的】近年，BMP-9はBMP-2と異なる機序で強力な骨誘導能を有する成長因子として注目されている。また，Low-intensity pulsed ultrasound（LIPUS）は難治性の骨折に対する低侵襲で効果的な治療法として整形外科領域で用いられている。そこで今回，ラット頭蓋骨欠損を用いてリコンビナントヒトBMP-9（rhBMP-9）の局所投与とLIPUS照射の併用による骨再生への影響を評価した。

【材料と方法】実験動物にはWistar系ラット（10週齢・雄・18匹）を用いた。全身麻酔下にてトレフィンバー（直径2.7mm）を用いて頭蓋骨頂部に骨欠損（4欠損/匹）を外科的に作製し，A群：欠損のみ，B群：吸収性コラーゲンスポンジ（ACS）埋植，C群：rhBMP-9/ACS，D群：LIPUS照射のみ，E群：ACS+LIPUS，F群：BMP-9/ACS+LIPUSの6処置を施術した。D，E，F群では術直後よりLIPUS照射（1.5 MHz，30mW/cm^2）を週に5回（20分/回）行った。4週後，動物の安楽死を行い脱灰薄切標本を作製後，組織学的評価・計測を行った。

【結果と考察】A，D群間，B，E群間で骨形成量に有意差は認められず，LIPUS単独の骨再生効果は限定的であった。F群は全群の中で骨形成量が最大で骨欠損閉鎖率はA群とD群より，また新生骨の厚みに関してA群，B群，D群より有意に高い値を示した。さらにF群は新生骨面積率に関してC群より有意に高かった。以上のことより，本実験モデルにおいてrhBMP-9の局所投与とLIPUS照射の併用が骨再生を促進する可能性があることが示唆された。

P-30 ストロンチウムを修飾したチタン表面のMC3T3-E1細胞に対する影響

Urangoo Sugarbaatar

Keywords: ストロンチウム，機械研磨面，次亜塩素酸ナトリウム，チタン，MC3T3-E1細胞

Objectives: The objective of this study is to create the smooth titanium surface with strong capability to enhance titanium/bone integration.

Materials and methods: Commercially pure grade-2 titanium disks were mechanically polished using colloidal silica. The test group was immersed in 5% NaOCl solution for 24 h and ultrasonically cleaned in distilled deionized water（DDW). Subsequently dipped in 1% strontium nitrate solution for 30 seconds and dried with spinning method. Afterward, specimens transferred to 24 well plate and MC3T3-E1 cells were seeded 1.0 x 10^5/well. Cells were counted after 2 h. Surface of coating was evaluated by X-ray photoelectron spectroscopy, scanning probe microscopy.

Results: For the Sr doped surface, TiO_2 film with approximately 0.1 μm thickness was formed and Sr was doped into the whole TiO_2 film from uppermost surface to the interface between the oxide film and the titanium substrate. Since no peak for N 1s was detected, Sr was probably doped as Strontium divalent ions（Sr^{2+}）which bound chemically with TiO^2. Furthermore, average roughness was 0.014 μm for the Sr doped surface. The number of cells attached to the Sr doped surface was higher than that to the as-polished titanium surfaces.

Conclusions: Sr doped smooth titanium surface could be created by simple chemical treatments. The Sr doped titanium surface may enhance MC3T3-E1 initial attachment.

P-31 炭酸アパタイト製人工骨表面の新生骨形成の組織学的評価

田淵　和

キーワード：人工骨

【目的】我々は炭酸アパタイト製顆粒（サイトランスグラニュール，以下CO_3Ap）を開発し，2018年に上市した。ハイドロキシアパタイトやβ-リン酸三カルシウムとは異なる新しい人工骨である。生体内で吸収・骨置換することがわかっているが，骨形成の機序については不明な点が多い。本研究ではウサギ大腿骨骨欠損モデルにおいて，埋植早期のCO_3Ap近傍で起こる骨形成の状態を評価した。

【材料と方法】CO_3Ap顆粒（300-600μm）は溶解析出反応を用いて作製した。動物試験はAAALAC認定の施設にて動物倫理委員会の承認を得て実施した。体重2.5kg以上の日本白色種雄ウサギ（3匹）の大腿骨に直径5mm，深さ8mmの規格化した孔を開け，CO_3Ap顆粒を埋埴した。4週後に剖検して組織を採取し，非脱灰標本（Toluidine Blue染色）を作製し，CO_3Ap周囲の状態を組織学的に評価した。

【結果と考察】CO_3Ap顆粒の表面での骨形成の状態を確認したところ，埋植後4週ですべての顆粒に対し95±3%の顆粒の周囲で新生骨を認め，材料と骨の複合組織が形成されていることを確認した。CO_3Ap顆粒表面で形成された新生骨の表面には，骨芽細胞が観察され，骨形成初期の段階であることが確認された。また，破骨細胞による材料の貪食も確認された。新生骨形成の途中段階であるため，血管の数も多く存在し，活性の高い骨が存在していると考えられる。

【結論】埋植早期のCO_3Ap顆粒の表面で新生骨形成を認めたことから，CO_3Ap顆粒は埋植後早期に骨芽細胞が遊走し，骨形成を起こす骨伝導能の高い材料であることが示唆された。

P-32 ナノS-PRGフィラー分散液と超音波スケーラー注水システムによる抗菌性歯面の構築 ―フィラーの歯面付着性の検討―

眞弓　佳代子

キーワード：S-PRGフィラー，象牙質，超音波スケーラー

【目的】Surface Pre-Reacted Glass-ionomer（S-PRG）フィラーはFイオンやBイオンを徐放することから，歯質強化や抗菌効果が期待される。我々はこれまでにナノ粒子化したS-PRGフィラーが歯面に付着し抗菌性を示すことを明らかにした。本研究ではナノS-PRGフィラーを含んだ分散液を，超音波スケーラーによる歯面スケーリング時の注水に使用した場合の，歯面へのナノS-PRGフィラーの付着について検討した。

【材料と方法】ヒト象牙質ブロック（5×5×1mm）を蒸留水あるいはEDTA溶液（スメアクリーン）中で5分間超音波洗浄後，超音波スケーラー（ピエゾン250LED），ピエゾンチップ（DS-016A），および注水液にナノS-PRGフィラー分散液（平均フィラー粒径830nm，含有濃度0，0.01，0.1，1%）を用いて，出力3で10秒間スケーリングした。蒸留水にて洗浄後，象牙質ブロック表面をSEM観察し，1万倍の画像を用いて付着フィラー数をカウントした（臨床研究自17－222）。

【結果と考察】SEM観察の結果，象牙質上には濃度依存的にナノS-PRGフィラーの付着を認めた。象牙細管内へ侵入したナノS-PRGフィラーも観察された。EDTA前処理歯面では付着フィラー数が多く，蒸留水による前処理歯面の約2倍の付着数であった。EDTAによる歯面改質がフィラーの付着性に影響を与えたことが示唆された。

【結論】ナノS-PRGフィラー分散液を注水に用いて超音波スケーリングを行うと，ナノS-PRGフィラーが歯面上に付着した。

P-33 AIを利用した歯周病画像判定システムの開発と実施調査

吉永　泰周

キーワード：人工知能，Convolution Neural Network，画像判定，歯周病

【目的・背景】歯周病は痛みもなく，ほとんど無自覚のまま進行し，気付いた時には悪化しているケースが多い。歯周病の検診は，歯周プローブの使用が必要で，未だ広範囲に行われていない。そこで，簡易的に歯周病を判定できるシステムがあれば，健康診断におけるスクリーニングなどに応用できると考えた。本研究は，既存の口腔内写真を用いて画像加工処理及びConvolution Neural Network（CNN）による学習で，口腔の写真から歯周病の重症度を判定するAIシステムの開発と実施調査を行うことを目的とした。

【材料と方法】福岡歯科大学医科歯科総合病院歯周病科を受診した患者212名の初診時の正面観口腔内写真とポケット深さ（PD）の値を診療録より抽出した。＃13～23，#33～43の12歯のPDより歯周炎の重症度を判定し，判定結果と口腔内写真をセットとし，画像加工処理とCNN学習を用いて歯周病画像判定システムの開発を行った。さらに開発したシステムの使用感を調べるために，福岡歯科大学医科歯科総合病院歯周病科及び総合歯科を受診した患者を被験者として検査を実施し，アンケートを行った。

【結果･考察】収集した既存の口腔内写真の一部を用いた判定結果では，正答率は44.4％であった。またアンケート結果は被験者への負担はほとんどなく，おおむね良好な感想を得た。今回開発したシステムの実施調査は，福岡市と福岡地域戦略推進協議会による福岡ヘルス・ラボの協力を得て取り組んでいる産官学連携の成果であり，健康診断などにおける歯周病患者の掘り起こしへとつながるツールとして確実な手ごたえを得ることができたと考えている。

P-34 ポケット探針を用いたプロービングポケット深さと歯周ポケット測定器での測定値の比較

吉野　祥一

キーワード：プロービング深さ，BOP，歯周ポケット測定器

【目的】歯周ポケット測定器Pam（ナルコーム社）を使用して得られたプロービング深さ（PPD）とポケット探針（PCP11，Hu-Friedy）で測定したPPD値を比較検討した。

【材料と方法】歯肉炎～軽度慢性歯周炎と診断されたボランティア14名に2回測定を行った。①歯周ポケット測定器Pamに被験者毎にディスポヘッド（7mm）を装着し，6点法でPPDとBleeding on probing（BOP）を測定した。②PCP11プローブを使用し，6点法でPPDとBOPを測定した。PPD値とBOPの有無を統計処理を行い比較解析した。

【結果】PPD値を1～3mm，4～5mmおよび6mm以上の3つに分類し，Pam測定値とPCP11プローブを使用したPPD値で対応のあるt-検定を行った。0～3mm（両側検定：t（13）＝-2.9，P<0.05），4～5mm（両側検定：t（13）＝2.8，P<0.05）および6mm以上（両側検定：t（13）＝＝2.8，P<0.05）の部位で，Pam測定値とPCP11プローブでのPPD値に有意差を認めた。BOPは，PCP11プローブを使用した測定時よりもPam測定時が有意に高値であった（両側検定：t（13）＝0.2，P<0.05）。

【結論】手用プローブでのPPD値とPam測定値の比較では，1～3mmの部位でPam測定値が有意に浅く，4～5mmおよび6mm以上の部位では，Pam測定値が有意に深かった。BOPは，Pamでの測定時に有意に高値であった。以上のことから，Pamは，短時間で検査ができる可能性を有するが，正確な測定値を得るためには，さらなる改良が必要と考えられる。

P-35 リアルタイム口腔内カメラ付電動ブラシの有用性について

廣松　亮

キーワード：口腔内カメラ，電動ブラシ，プラークコントロール

【目的】歯周病の治療および予防には，日々のプラークコントロールが極めて重要である。しかし，自身の口腔内の清掃状態は確認しづらいこともあり，歯ブラシによるブラッシング技術の習得に困難を伴う。そこで本研究では，電動歯ブラシのヘッド部分にカメラを内蔵し，歯面のプラーク付着をリアルタイムに確認しながらブラッシングを行うことを可能としたデバイスの有用性を検証し，使用感について評価を行う。

【方法】被検者は，本研究への参加に同意の得られた，福岡歯科大学・口腔歯学部の5年生10名を対象とした。測定1週前に全顎のスケーリングとPMTCを行い，測定前日からブラッシングを中断した。通常の電動ブラシでブラッシングを行うグループ（カメラ未使用群）5名と，カメラ付電動ブラシで口腔内映像を確認しながらブラッシングを行うグループ（カメラ使用群）5名に分け，ブラッシング時間および前後のO'LearyのPlaque control record（PCR）を測定し，アンケート調査を行った。さらに一週後，両群を逆転し，同様の測定とアンケート調査を行った。

【結果】カメラ使用群はカメラ未使用群と比べて，プラークの除去率が有意に高かった。また，ブラッシング時間は，カメラ使用群の方がカメラ未使用群よりも有意に長かった。

【考察】カメラ付電動ブラシを用いてリアルタイムに口腔内映像を確認しながらブラッシングを行うことで，ブラッシングに時間をかけ，より高いプラーク除去効果が得られることが明らかとなった。結果からカメラ付電動ブラシの有用性が示された。

P-36 CoolBrightエックスリミットによる光漂白効果とホームホワイトニング，EXクリーナーを用いた漂白後の再着色防止に効果的なホームケア方法の検討

平野　絵美

キーワード：ホワイトニング，CoolBrightエックスリミット，着色歯，ペリクル，細菌付着

【目的】ナノオプテック有限会社製CoolBrightエックスリミット（CE）による光漂白，ホームミックス（HM），EXクリーナー（EX）と協和純薬製5.9％過酸化水を用いたオフィスホワイトニング後の再着色，及び凝塊形成防止に効果的なホームケア方法の検討。

【方法】①8種類の紅茶，ヘマトポルフィリンアセトン液（HeP）等の着色成分含有溶液に試薬塩化鉄四水和物飽和水溶液添加。②8種類の混和溶液にEXを添加。③ヒト唾液にタンニンを添加。④ ③にEX，試薬5.9％過酸化水素水（協和純薬）とHM（5.9HM）を添加。⑤8種類の着色成分含有溶液に浸した試験紙に，5.9HMを15分間作用させる。⑥3種類の溶液に浸した試験紙に，5.9HMを塗布し，CE5分間の光漂白を行う。

【結果】①HePを除く溶液で黒褐色～褐色へ変化。②濃色変化溶液はEXを加え混和後，塩化鉄四水和物添加前の色へ戻った。③タンニンを加え混和後瞬時に凝塊形成を確認。④EX添加により凝塊分散。試薬5.9％過酸化水素水（協和純薬）添加後の変化は確認できなかった。さらにHMを加えると分散凝塊は溶解。⑤HePを除き試験紙の脱色確認。⑥3種類全て試験紙漂白変化を確認。

【考察】唾液タンパクとタンニンによる瞬時凝塊形成，溶解はホワイトニング後再着色に影響を及ぼす可能性が考えられる。凝塊への細菌関与については今後の研究が必要である。

【結論】内部着色因子であるヘマトポルフィリン，飲料着色は光照器CoolBrightエックスリミットにより脱色される。ホームミックス添加の5.9％過酸化水素水，EXクリーナーはホワイトニング後の再着色防止に効果的である。

P-37 歯周炎－動脈硬化モデルマウスの作製について

柳瀬　舜佑

キーワード：歯周炎，アテローム性動脈硬化症，ポルフィロモナスジンジバリス

【目的】現在，歯周炎は，様々な全身疾患に影響を及ぼす可能性が示唆されている。中でも動脈硬化性疾患との関連については，動脈病変から歯周病原細菌の遺伝子が検出されたということが報告されており（Stelzel *et al.* 2002），*in vivo*実験では，*P. gingivalis*（*P. g*）の経口投与によって歯周炎を誘導した結果，アテローム性動脈硬化症を促進したとの報告もある（Li *et al.*2002）。そのメカニズムとして，①局所の歯周病原細菌（*P. g*）が直接動脈に作用する経路②炎症メディエーターが直接または間接的に動脈に作用する経路が考えられている。本実験では，動脈硬化症モデルマウスであるApoE$^{-/-}$マウスに歯周炎を誘導することで，歯周炎－動脈硬化モデルマウスを作製することとした。

【材料と方法】6週齢のApoE$^{-/-}$マウスに高脂肪高コレステロール飼料を与え，8週齢時より歯周炎を誘導するため，*P. g*の経口投与を3週間行なった群（*P. g*群）と上顎第二臼歯に5-0絹糸で歯牙結紮を行なった群（Lig群），および非誘導群（Con群）を作製した。17週齢で屠殺し，歯周組織と大動脈について組織学的，形態学的評価を行った。

【結果および考察】Con群と比較して*P. g*群とLig群では，歯槽骨吸収量が有意に高く，また，Lig群は*P. g*群と比較して歯槽骨吸収量が有意に高い値であった。*P. g*群，Lig群のアテローム性プラークの表面積割合と断面積は，Con群と比較して有意に高い値を示した。ApoE$^{-/-}$マウスにおいて，歯周炎を誘発することで，アテローム性動脈硬化症が進行することが明らかとなった。

P-38 歯槽骨吸収と総頚動脈分岐部石灰化との関連について

出分　菜々衣

キーワード：歯槽骨吸収，頚動脈石灰化，動脈硬化，CT，パノラマX線

本研究ではCT画像から判定される総頚動脈分岐部石灰化の有無とパノラマX線画像による歯槽骨吸収の関連について横断的検討を行った。本調査は2014年から2018年に松本歯科大学病院を受診した295名に実施した。パノラマX線画像より，現在歯数および歯槽骨吸収を計測し，CT画像所見から頚動脈石灰化群（C群）と頚動脈非石灰化群（NC群）の2群に分け，統計解析を行った。まず，単変量の関係についてt検定およびカイ2乗検定を行い，頚動脈石灰化の有無と年齢，全身疾患，現在歯数および歯槽骨吸収率との関連を検討した。また，有意な関連が認められた因子について多変量解析（変数増加法）を行った。さらに，ROC解析にて，頚動脈石灰化の存在を予測する因子を検討した。対象者295名（男性：167名，女性：128名）の平均年齢は64.6 ± 11.8（年齢範囲：30～95歳）であった。C群は121名，NC群は174名であり，単変量の関係で総頚動脈分岐部石灰化有無と有意な関連が認められたのは，年齢，高血圧，骨粗鬆症，現在歯数および歯槽骨吸収率であった。また，多変量解析において，歯槽骨吸収率は総頚動脈分岐部石灰化有無と有意に関連していた（修正オッズ比：1.26，95％信頼区間1.19-1.34，P＜0.001）。さらにROC曲線下面積は，歯槽骨吸収率：0.93（95％信頼区間　0.90-0.96）であった。本結果より，歯周病による歯槽骨吸収と総頚動脈分岐部における石灰化の存在は関連する可能性が示唆された。

P-39 オーラルケアへの応用を目指した抗菌ペプチド合成とリポソーム封入

廣島　佑香

キーワード：抗菌ペプチド，リポソーム，オーラルケア

【目的】オーラルケアは全身の健康維持にとって重要であり，ブラッシングや歯磨剤に加えて，より簡易で，低侵襲な方法の開発が望まれる。口腔上皮細胞が産生する抗菌ペプチドは，静菌作用によりオーラルケアへの貢献が考えられる。一方，リポソームは新たなDrug delivery systemとして研究されている。本研究では，無細胞蛋白合成系で抗菌ペプチドを合成し，これをリポソーム内に封入することによりオーラルケアへの応用の可能性を検討した。

【材料と方法】Lipocalin 2（LCN2）とβ-defensin 2（BD2）の遺伝子から鋳型DNAをPCRで作製した。無細胞蛋白合成キットを用いて各鋳型DNAからLCN2とBD2を合成し，Western blotting（WB）により分析した。また，LCN2は質量分析を行った。リポソームは，dioleoyl-L-α-phosphatidylcholine（DOPC）とEgg-PCを用いて自発的転移法により調製し，蛍光顕微鏡にて観察を行った。His-tag付与したLCN2をリポソーム内に封入し，限外ろ過で回収後，WBにより分析を行った。

【結果および考察】合成したLCN2とBD2はWBでそれぞれ約20と10 kDaのバンドを示し，また，質量分析によりLCN2が同定された。DOPCとEgg-PCにより直径14～170μmの脂質二重層のリポソームが調製された。LCN2を封入したリポソームを回収し，WB分析した結果，LCN2に相当するバンドが認められた。合成された抗菌ペプチドとリポソームへの封入は，新たなオーラルケア法の開発に繋がる可能性がある。

P-40 歯周炎の診断と予後のためのバイオマーカー候補の検索 ―Gene Expression Omnibus（GEO）のプーリングデータを用いて―

鈴木　麻美

キーワード：バイオマーカー候補，データシェアリング，マイクロアレイ遺伝子発現データセット

【目的】歯周炎は，多因子性の炎症性疾患である。診断や予後の推測には，バイオマーカーや遺伝子パスウェイの解明が重要である。マイクロアレイによる遺伝子発現プロファイリング分析は多因子疾患の解明に有用であるが，非常に高価な研究となる。本研究では，スクリーニングとして，GEOデータベースにプーリングされている遺伝子発現データセットを用い，バイオインフォマティクスの手法により，歯周炎のバイオマーカー候補と遺伝子パスウェイを検索することを目的とした。

【材料と方法】GEOデータベースから，歯肉をサンプルとした歯周炎のデータセットを抽出し，発現変動遺伝子，タンパク質相互作用ネットワーク（PPI），ハブ遺伝子，診断および予後のためのバイオマーカー候補と調節因子，パスウェイの検索を行った。

【結果と考察】その結果，81の有意に発現が増加した遺伝子と42の有意に発現が減少した遺伝子が，発現変動遺伝子として抽出された。それらの遺伝子の機能としては，サイトカイン-サイトカイン受容体相互作用経路，細胞接着分子などに関連するものが含まれていた。PPIネットワークからは，CD19，IL8，CD79A，FCGR3B，SELL，CSF3，IL1B，FCGR2B，CXCL12，C3，CD53，IL10RAなどのハブ遺伝子が解明された。さらに，歯周炎の診断および予後についてのバイオマーカー候補として，CSF3，CXCL12，IL1B，MS4A1，PECAM1，TAGLNが抽出された。また，本研究は，歯周炎とCD53，CD79A，MS4A1，PECAM1，TAGLNとの関連の可能性について最初に報告した研究である。

P-41 真菌二次代謝産物terreinはマウス骨粗鬆症モデルにおいて大腿骨吸収を抑制する

坂井田　京佑

キーワード：骨粗鬆症，ビスホスホネート製剤

【目的】超高齢社会の我が国では，骨折予防目的にビスホスホネート（BP）製剤の投与を受ける患者数が激増している。一方，8020運動の成果に伴い，自身の歯を守る高齢者数も急増している。そのため，高齢者の歯周病罹患数は増加傾向にあり，BP製剤内服下での抜歯機会の増加が予測される。BP製剤の副作用の一つである顎骨壊死は患者のQOLを大きく低下させるため，BP製剤に代わる新たな骨粗鬆症治療薬の開発が望まれる。我々は真菌*Aspergillus terreus*が産生する二次代謝産物terrein（TER）に着目し，これまでに①抗IL-6効果，②破骨細胞分化抑制作用，③マウス歯周病モデルにおける歯槽骨吸収抑制作用を報告し，TERの骨破壊疾患への応用の可能性を提唱してきた。今回，より大きな骨組織における骨吸収抑制効果を検証するため，骨粗鬆症マウスモデル（OVXマウス）を用いてTERの有効性を検討した。

【方法】OVXマウス（C57BL/6J，雌性，10週齢で卵巣摘出して骨粗鬆症を誘導）に対して，TER（30mg/kg）を週2回腹腔内投与した（6週間継続）。対照群はPBSを投与した。卵巣摘出8週後（18週齢）に大腿骨を摘出し，エックス線学的評価（mCT）ならびに組織学的評価（H-E染色，TRAP染色）を行った。

【結果と考察】TERは骨密度および骨量を有意に維持した（$p < 0.01$）。また，大腿骨頭において破骨細胞分化抑制作用を示した。TERはマウス歯周病モデルと同様に破骨細胞の分化を抑制することで大腿骨吸収を抑制すると考える。

【結論】TERは新たな骨粗鬆症治療薬となりうる可能性が示唆された。

P-42 胎児脳システム発達に関わる母体免疫活性化の重要性について

安松　香奈江

キーワード：細菌感染，母体免疫活性化

【Ⅰ．目的】胎児の脳システム発達にとって，母体の感染症は極めて重要な環境因子であり，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が胎児脳システム発達に影響を与えることが報告された。細菌感染を模倣したモデルでも，その仔マウスにおいて行動異常を示すことが明らかにされているが，詳しい免疫学的機序はよく分かっていない。そこで本研究では，病原性細菌感染による母体の環境的な変動が，仔の脳システム発達に与える影響について解明することを目的とする。

【Ⅱ．材料と方法】妊娠した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E. coli LPS投与後の母体血清中のサイトカインをELISAにて測定し，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を起こした母マウスから産まれた仔マウスに対し，ultrasonic vocalizations（USV），social approach test，およびopen field testによる行動学的表現型の解析を行った。

【Ⅲ．結果，考察】E. coli LPSで引き起こされたMIAにより，母体血中に特定のサイトカインの上昇が認められた。また，MIAを起こした母マウスから産まれた仔マウスは，自閉症様の行動異常を示した。

【Ⅳ．結論】細菌感染を模倣したE. coli LPSの腹腔内投与による母体免疫活性化は，胎児脳システム発達に影響を与えることが示唆された。

P-43 障がい者における電動歯ブラシの効果～細菌数からみる口腔内環境の変化～

平野　恵実

キーワード：障がい者，音波歯ブラシ，細菌検査

【目的】障害を持っている患者の口腔内は口腔清掃が困難であり，歯科疾患を発症しやすい環境にある。開口患者が多く，口腔内乾燥からくるプラーク固着を認める場合が多いことも要因と思われる。セルフケアが困難であると同時に，仕上げのブラッシングを行う患者家族や施設職員の負担も大きいため，短時間でプラークの除去が可能であれば口腔内環境の安定が図れる可能性がある。そこで本研究に同意を得られた患者に対し，音波ブラシ（PHILIPS sonicare）によるブラッシングを行ってもらい，今までの歯ブラシで口腔清掃を行った状態と音波歯ブラシで口腔清掃を行った状態での口腔内細菌数や口腔内環境に変化があるのかを検討した。

【対象と方法】日本歯科大学新潟病院小児・矯正科または障害児歯科センターに通院中で本研究の同意が得られた患者。

【方法】来院時に正面観の口腔内写真の撮影を行う。その後PIIを測定後，頬粘膜，舌背部を滅菌綿棒で擦過し，細菌カウンタを用い，口腔内細菌数を確認した。検査後，音波歯ブラシ（PHILIPS sonicare）を使用し，歯頚部に音波歯ブラシを当て，数秒づつ動かすよう患者本人，または患者家族に指導を行い，今までの歯ブラシの代わりに音波歯ブラシを使用するよう説明した。次回来院時に再度，同様の検査を行った。

【結果と考察】歯ブラシと比較し音波歯ブラシを使用後，患者のPIIスコアの減少を認めた。音波ブラシの特徴である高速振動と幅広い振動により発生する音波水流により，固着プラークの除去に有効であると考えられた。

【結論】音波歯ブラシは障がい者にとって有効であると示唆された。

P-44 海上自衛官の海外派遣回数と歯周病の関連

髙瀬　雅大

キーワード：海上自衛隊，歯周病，PISA

【背景・目的】近年，海上自衛隊の艦艇行動による海外派遣は増加しており，隊員は多様な任務を担っているが，海上自衛官の勤務形態と歯周病との関連を調査した報告は少ない。今回，艦艇乗り組み経験のある隊員に対し，質問紙調査を実施し，歯科検診結果を参照することにより，海上自衛官の勤務形態と歯周病の関連を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】対象は，2018年1月～2019年3月の間，自衛隊横須賀病院で健康診断を受けた男性の海上自衛官215名（平均年齢39.9 ± 1.1歳）とした。歯周病検査を実施してPeriodontal inflamed surface area（PISA）を算出し，質問紙調査により過去の海外派遣回数，艦艇勤務経験年数，現在の勤務配置（艦艇部隊勤務，陸上部隊勤務）を調査した。

【結果と考察】被験者のPISAの中央値は76.7mm^{2}であった。海外派遣回数（平均2.7 ± 2.4回）とPISAの間には，有意な正の関連を認めた。一方，艦艇勤務年数5年未満の群と5年以上の群間，艦艇部隊勤務者群と陸上部隊勤務者群間では，PISAにおける有意差は認められなかった。このことから，一般に長期行動となり隊員の生活環境の変化が大きい海外派遣回数の増加は，歯周病のリスクを上昇させることが示唆された。

【結論】海上自衛官の海外派遣回数と歯周病の関連性が示され，海外派遣に関わる隊員の口腔衛生管理の必要性が認められた。

P-45 高萩市における症例定義に基づく歯周病の罹患状況

関野　愉

キーワード：歯周病，症例定義，疫学，有病率，断面調査

【目的】茨城県高萩市における歯周炎の罹患状況をCDC/AAP（Ekeら2012）による症例定義に基づいて調査すること。

【材料と方法】茨城県高萩市に在住する20歳から89歳の582名の一般市民を対象とし，対象者の年齢，性別，既往歴等に関するアンケート調査と，プロービングデプス，臨床的アタッチメントレベル，プロービング時の出血を含む智歯を除く全顎の歯周組織検査を6点法にて行った。その結果を，CDC/AAPに症例定義に基づき，非歯周炎，軽度歯周炎，中等度歯周炎，重度歯周炎に分類し，それぞれの罹患率を分析した。

【結果と考察】全体的には，非歯周炎が22.5%，軽度歯周炎が25.3%，中等度歯周炎が22.7%，重度歯周炎が29.6%に見られた。20-34歳の群では非歯周炎が最も多く50%，重度歯周炎が最も少なく1%であった。35-44歳および45-54歳の群では軽度歯周炎が最も多くそれぞれ43.1%，41%，重度歯周炎が最も少なくそれぞれ12.5%，16.4%であった。55-64歳および65-74歳では非歯周炎が最も少なく，それぞれ16.7%，14.1%で，重度歯周炎が最も多くそれぞれ31.8%，48.0%であった。75歳以上の群では，軽度歯周炎が最も少なく6.8%，重度歯周炎は最も多く56.8%であった。

【結論】年齢ごとに非歯周炎，軽度歯周炎，中等度歯周炎，重度歯周炎の分布状態が異なっていた。年齢に応じた症例定義の確立が必要と考えられた。

P-46 長期メインテナンス歯周病患者の受診行動の質的解析

村岡　宏祐

キーワード：メインテナンス，受診行動，質的解析

【緒言】メインテナンスは大変重要であるが，メインテナンスを受けない患者もいるのが実情である。しかしメインテナンスに応じる患者の本音や背景について検討されていない。そこで今回，メインテナンスに移行した歯周病患者の受診行動についてStep for Coding and Theorization（SCAT）を用いて解析した。

【材料および方法】被験者は，九州歯科大学附属病院を受診し，歯周炎と診断された1名（50歳の女性）である。全身疾患は有していない。歯周治療は，口腔衛生指導，SRP，歯周外科などを行い，現在メインテナンス中である。インタビューは患者と術者以外の1対1で行い，半構造化面接手法にて行った。インタビューの内容は，本学附属病院への受診理由，メインテナンスを継続している理由などである。インタビューの間に，アイスブレーキングを用いて患者の自由な意見を導き出すように，オープンエンドの質問に心掛けた。SCATによる質的解析は，インタビューから得られた語録をSCATに記入し，分析した。

【結果】このインタビューから，数軒の歯科医院に行っても治らない，歯科医院への不満，良好な患者関係，メインテナンスの重要性の理論記述を得た。

【考察】患者と歯科医療者の良好な関係などにより，長期メインテナンスを持続可能であることが解った。メインテナンス受診率の向上には，適切な歯周治療，歯科医療者と良好な関係を維持などであることが示唆された。しかし，質的研究はデータ解析を行わないため，結果の再現性に疑問が生じることである。今後様々なデータなどをアプローチし，患者の背景，行動などが明らかにしたいと考える。

P-47 福岡市の妊婦歯科健診受診者における口腔の健康状態の関連要因

鎮守　信弘

キーワード：妊婦，歯周病，う蝕

【目的】妊娠期は，悪阻などによって日常の口腔保健行動が維持されにくく，またホルモンバランスの変動により口腔の健康状態が悪化すると考えられる。福岡市の妊婦歯科健診は平成19年より実施されており，福岡市歯科医師会は福岡市より健診の委託を受けている。本研究では，福岡市の妊婦歯科健診の受診者における口腔の健康状態に関連する要因を調べた。

【方法】平成30年7月から10月に，福岡市内の協力歯科医療機関で妊婦歯科健診を受診した者1365人のデータを用いた。妊婦歯科健診では問診と口腔診査が行われ，口腔診査のデータより現在歯数，未処置歯数，歯周組織の状態を評価した。歯周組織の状態はCommunity Periodontal Indexを用いて評価した。ロジスティック回帰分析により，未処置歯の保有や歯周病に関連する要因を検討した。

【結果】受診者の口腔の状態として，未処置歯保有者が49.3%で，深い歯周ポケットがあった者は13.5%であった。ロジスティック回帰分析で，年齢，間食回数，歯磨き回数，歯間清掃器具の使用を調整した結果，妊娠前に歯科健診を定期的に受診していた者に比べ，定期受診していなかった者では未処置歯（オッズ比2.14，95%信頼区間1.69-2.73）や深い歯周ポケット（オッズ比1.75，95%信頼区間1.21-2.53）を保有している傾向があった。

【結論】本研究により，妊娠前に定期的に歯科健診を受診していない者は妊娠期に未処置歯を保有，または歯周状態が不良になっている可能性が示唆された。

P-48 歯周基本治療後のPPD改善状態に基づいたレスポンス診断法の開発

大林　京子

キーワード：レスポンス診断法，歯周基本治療，歯周病

近年飯島らは柏スタディによりオーラルフレイル予防を提唱し，高齢者がQOLの高い老年期をおくるためには「噛める口」であることが重要であると指摘している。「噛める」ためには健全な歯を生涯にわたって保存しなければならず，これは私達歯科医療従事者の重大な使命である。我々は基本治療に対する反応が将来の予後にも関係することを報告した。歯周病学の領域では基本治療により歯周病が著しく改善することが明らかになった。しかしながら，Hirschfeld（1978）は，歯周治療の長期予後では臼歯部において原因不明の歯の喪失が多数起こることを報告している。基本治療に対する反応とは，バイオフィルム治療に対する反応を意味する。バイオフィルム治療には抵抗型と反応型が存在し，バイオフィルム抵抗型が難治性になり易い。今回我々は，横田による歯周組織のレスポンス診断法とペリオテスターを用いた歯の動揺度検査を行い興味ある知見を得たので口演において報告する。本演題ではレスポンス診断法について詳述し，加えて簡便に使用できる有用なソフトを開発したので紹介する。

P-49 セメント質剥離を歯周組織再生療法で緩解した1症例

山口　竜亮

キーワード：セメント質剥離，歯周組織破壊，歯周組織再生療法

【症例の概要】患者：66歳，女性。初診：2016年3月。11，21および臼歯部に中等度から重度骨吸収および病的な歯周ポケットを認めた。PPD平均値，PPD≧4mmの割合，BOP，PCRは，それぞれ，2.8mm，13%，15%，66%，であった。

【診断】限局型中等度慢性歯周炎，21歯周-歯内病変（2016年3月），21確定診断：セメント質剥離（2016年10月）

【治療方針】①歯周基本治療②再評価③歯内治療④歯周外科治療⑤再評価⑥口腔機能回復治療⑦SPT

【治療経過・治療成績】歯周基本治療後，21は通常の改善反応を示さず，排膿を伴う8mmの病的ポケットが残存した。歯科用コーンビームCT（CB-CT）および歯内治療時の歯科用顕微鏡診断において，21に歯根破折や穿孔等の所見は認めず，口蓋側歯根部にエックス線不透過像を認めた。外科処置時に，21歯根歯質の剥離片と口蓋部の骨縁下欠損を確認した。以上のことから，21はセメント質剥離と診断した。同部には，エナメルマトリクスタンパクと異種骨を併用した歯周組織再生療法を行った。2017年10月からSPTへ移行した。現在，21には病的ポケットは認めず，全顎的にも，PPD平均値，PPD≧4mmの割合，BOP，PCRは，それぞれ，2.3mm，5%，6%，63%，とほぼ安定している。

【考察および結論】セメント質剥離に対する標準的診断・治療指針は確立していない。本症例は，通常の歯周組織検査に加え，CB-CTおよび歯科用顕微鏡を用いてセメント質剥離を診断できた。また，同病変に対して，エナメルマトリクスタンパクと異種骨を併用した歯周組織再生療法は効果的であった。

P-50 新しい歯周補綴法　クロスアーチ型Full-PSD装着によって咬合機能を回復した症例

横田　誠

キーワード：歯周病，歯周補綴，咬合機能の回復，PSD

【目的】近年，高齢者の寝たきりになる引き金として口腔機能の低下による咀嚼障害，それによる栄養不良などが指摘されている。また，臼歯部咬合支持や咬合力が健康長寿に関係することも明らかにされてきた。しかし，現状の歯周病学では天然歯と口腔機能の関係について調査した研究は非常に少ない。そこで我々はオーラルフレイル，サルコペニアなどを未病の段階で阻止するためにクロスアーチ型非侵襲性固定装置FPSDを開発したので一症例を報告する。

【症例および処置】年齢58歳，女性，主訴：右上奥歯が痛む。右上7番に咬合痛あり。上顎の歯列の動揺の抑制と咬合負担を緩衝するために新たに開発した非侵襲性クロスアーチ型固定装置FPSD（フルペリオスクラムスプリントデンチャー）を装着した。

【結果と考察】基本治療後，上顎歯列には多くの歯に動揺が残存した。装着前後でペリオテスト値は，平均13.6→4.1と動揺が抑制された。また，咬合機能はプレスケール値が468→792Nと増大し，さらに左右咬合バランスが改善された。クロスアーチ型FPSDは多くの歯の動揺の固定効果と咬合力の増大を図れた。本装置は高齢期の咀嚼筋の衰えを防ぐ機能的予防に貢献する。なお，本装置の使用はバイオフィルム型歯周病の予防の徹底が前提である。

P-51 脱分化脂肪細胞の歯周組織微小血管再生への応用

清水　豊

キーワード：脱分化脂肪細胞，共培養，歯周組織，微小血管

本研究は，ラット脱分化脂肪細胞（RDFATs）をラット歯肉由来血管内皮細胞（RGECs）と共培養し，細胞を歯周組織へ移植した際の血管再生について組織学的検討を行った。RDFATsは，GFPラットの皮下脂肪組織より成熟脂肪細胞を分離し獲得した。RGECsは，ラットの歯肉細胞より抗CD31抗体を結合したマグネットビーズを用いて獲得した。共培養は，5%FBS含有血管内皮細胞用培地で，0.4μm孔径のポリカーボネート膜を介して行った。移植実験は，ヌードラットの上顎第一臼歯口蓋側に骨欠損を作製した後，アテロコラーゲンスポンジを足場として，細胞の移植を行った。移植1週間後にrhodamine標識したゼラチン溶液にて灌流を行った。歯周組織を含む上顎骨を摘出し，10% EDTAにて脱灰後，厚さ200μmの凍結切片を作製した。血管構築は，共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。RGECsと共培養を行ったRDFATs（Cocultured RDFATs）の移植は，RDFATs単独の移植と比較し，多くの血管新生を認めた。また，Cocultured RDFATsは血管への分化も認めた。Cocultured RDFATsは，血管誘導能が高く，欠損部組織の血管新生を促進することから，歯周組織の創傷治癒や再生に有用であると考えられる。

P-52 Autotransplantation of teeth after long-term cryopreservation with PRP in Dogs

Young-Joon Kim

Keywords: Autotransplantation, Platelet-rich plasma

Objectives: Autotransplantation is widely used technique that transplantation of teeth from donor site to recipient site in the same individual. Occasionally, there are situations in which autotransplantation cannot be carried out immediately at clinic. At such case, cryopreservation of donor teeth could makes to overcome the limited indications. Cryopreservation media and nutrients are thought to play essential roles in preserving the activity of the periodontal ligament (PDL) cells of teeth. Several researches are focus on the cryopreservation media and nutrients. Platelet-rich plasma (PRP) has lots of growth factors and does not induce immunologic responses and pathologic complications. Therefore we considered various growth factors during the freezing, and self serum and PRP may be positive factor in cryopreservation process and in preserving the viability of PDLs. And this study done to compare with various cryopreservation media in vitro and in vivo.

Materials and methods: In the cell proliferation test (MTT assay) results using a mouse cell (MC3T3-E1 cell), there was significantly higher cell proliferation in α-MEM with 20% PRP, FBS media than α-MEM with 10% PRP, FBS media. In this study, beagle dog's incisors were cryopreserved for 3 months in the cryopreservation media with DMEM (containing DMSO), DMEM with 20% self serum, DMEM with 20% self serum +PRP, and DMEM with 20% FBS.

Results: As a histological result, DMEM with 20% self serum+PRP and DMEM with 20% FBS group showed significantly less root resorption and higher regeneration of periodontal ligament cells.

Conclusions: These results showed that PRP may be a positive factor in cryopreservation process and preserving the viability of PDLs, therefore cryopreservation media with PRP will be a good option for periodontal tissue regeneration while autotransplantation procedure after long-term cryopreservation.

P-53

Real-time PCR quantification of nine periodontal pathogens in saliva samples from periodontally healthy Korean young adults

Hee-young Choi

Keywords: Bacterial Load, Chronic Periodontitis, Real-Time Polymerase Chain Reaction, Saliva, Young Adult

Objectives: The purposes of this study were to determine the prevalence of periodontopathic bacteria and quantify periodontal pathogens in saliva samples using real-time PCR assays in periodontally healthy Korean young adults under 35 years of age.

Materials and methods: Nine major periodontal pathogens were analyzed by real-time PCR in saliva from 94 periodontally healthy young adults. Quantification of *A. actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia, Treponema denticola, Prevotella intermedia, Fusobacterium nucleatum, Campylobacter rectus, Peptostreptococcus anaerobius*, and *Eikenella corrodens* was performed by DNA copy number measurement.

Results: *F. nucleatum* and *E. corrodens* were detected in all subjects; the numbers of positive samples were 87 (92.6%), 91 (96.8%), and 90 (95.7%) for *P. gingivalis*, *P. anaerobius*, and *C. rectus*, respectively. Other pathogens were also detected in periodontally healthy subjects. Analysis of DNA copy numbers revealed that the most abundant periodontal pathogen was *F. nucleatum*, which was significantly more prevalent than all other bacteria ($P < 0.001$), followed by *P. anaerobius, P. gingivalis, E. corrodens, C. rectus*, and *T. denticola*. DNA copy number of total bacteria was significantly higher in men than in women.

Conclusions: Major periodontal pathogens were prevalent in the saliva of periodontally healthy Korean young adults. Therefore, we suggest that the development of periodontal disease should not be overlooked in periodontally healthy young people, which can arise due to periodontal pathogen imbalance and host susceptibility.

P-54

Effective management of acute necrotizing ulcerative gingivitis

Eun-Young Kwon

Keywords: Anti-bacterial agents, Chlorhexidine, Gingivitis, Therapeutics

Introduction: Although the prevalence rates of acute necrotizing ulcerative gingivitis (ANUG) are not high, it can affect the most severe periodontal condition. This report presents the case of ANUG patient, based on which a brief treatment protocol.

Therapy plan: A 22-year-old male was referred from a local dental clinic due to gingival bleeding and ulcerated papilla. He had no remarkable medical history and X-ray revealed no alveolar bone loss. The patient reported that due to stress, he could not sleep well and had skipped meals during the last two weeks. Based on the overall clinical and laboratory findings, the patient was diagnosed with ANUG and sequential-phase treatment was planned.

Process and results: The blood clot was carefully removed and the patient was prescribed systemic antibiotics with chlorhexidine as a mouth rinse. Two days later, the bleeding and pain were resolved, and the necrosis and ulceration of the papilla had disappeared. Supragingival scaling and root planing were performed, and the patient was instructed to resume oral hygiene care. After seven days, the appearance of the gingival outline was almost recovered. At the 1-month follow-up, the patient demonstrated good oral hygiene care.

Discussion: After diagnosis of ANUG, sequential treatment with cessation of mechanical brushing, along with a prescription of systemic antibiotics and chlorhexidine as a mouth rinse, scaling, root planing, and supportive periodontal therapy, could be utilized.

Conclusions: In this case, proper diagnosis was followed by marked improvement of their condition, which was achieved by simple sequential treatment.

P-55

The effects of aging and risk factors on changes in oral environment

Jae Mok Lee

Keywords: Aging, Risk factors, Hypertension, Diabetes, smoking

Purpose: The purpose of this study is to investigate the effects of aging and various risk factors on the oral environment and to analyze them.

Material and Methods: A total of 800 patients were enrolled in this study, and subjects were divided into 4 groups by age-under 55, 56-65, 66-75, and over 76. Based on their most recent visit, a number of crowns, bridges, implants, and the remaining natural teeth were recorded. Smoking habits, along with presence of diabetes and hypertension, were surveyed, as risk factors were also set as a variable. Comparisons among the groups or within the groups were performed by independent t-test, and one-way and two-way ANOVA. Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test were used for analysis. It was assumed to be statistically significant when P value is below .05.

Results: Changes in the number of crowns, bridges, implants, and the remaining natural teeth by age were statistically significant. When we examined the effect of risk factors on the change of variables with age, hypertension was found to affect the number of bridges. Diabetes and smoking were found to affect the number of the remaining natural teeth. The other variables were not statistically significant.

Conclusion: Aging is considered to be an important variable affecting the change of oral environment. Among the risk factors, the presence of smoking habit and diabetes is thought to have a great influence on the change of the number of the remaining natural teeth.

P-56

Effects of adenovirus expressing bone morphogenetic protein-4 on different cell types of osteoblastic differentiation

Ki-Tae Koo

Keywords: Bone morphogenetic proteins-4 (BMPs-4), cell proliferation, alkaline phosphatase (ALPase) activity, mineralization formation, regeneration of bone defects

Objectives: Bone morphogenetic proteins (BMPs) play a pivotal role in inducing undifferentiated cells into osteoblastic cells that induce bone formation. In the present study, we investigated the effect of gene delivery of adenovirus expressing BMP-4 on osteoblastic differentiation of different cell types.

Materials and methods: An adenovirus expressing BMP-4 was constructed by in vivo homologous recombination and transduced MC3T3-E1, C2C12, NHDF to induce cell transformation. We assessed BMP-4 expression by ELISA for evaluation of gene expression activity of Ad5BMP4. MTT assay was performed at 3, 7, 15days to assess proliferation of cells that transduced with Ad5BMP4 and alkaline phosphatase activity was measured at 3, 7, 15days to assess osteoblastic differentiation of cells. The effect of Ad5BMP4 on mineralization was determined using alizarin red S staining after 14days.

Results: At 3days, all three different cell types that transduced with Ad5BMP4 were observed BMP-4 expression and increased in proportion to the increase of concentration of Ad5BMP4. Up to 14days, level of BMP-4 was maintained on MC3T3-E1, but remarkably decreased on C2C12 and NHDF compared with 7days. When transduced with Ad5BMP4, the cell proliferation was not inhibited on MC3T3-E1, but significantly decreased on C2C12 compared with not transduced cells at 14days. Cell proliferation of NHDF that transduced with 6.2 pfu/cell concentration of Ad5BMP4 was similar to that of not transduced NHDF, but decreased above the concentration after 7days. To observe the osteogenic abilities of cells that transduced with Ad5BMP4, we investigated alkaline phosphatase (ALPase) activity and mineralization formation. ALPase activities were significantly increased after 7days on MC3T3-E1 and C2C12 and after 14days on NHDF. Mineralization formation was observed on MC3T3-E1, but the other were not observed at 14days.

Conclusions: Present study demonstrated that gene delivery using adenovirus expressing BMP-4 facilitated osteoblastic differentiation of MC3T3-E1, C2C12, NHDF cells. Also we confirmed the possibility of ex vivo BMP-4 gene delivery that be able to apply to effective technique for regeneration of bone defects.

P-57

Anti-inflammatory effects of non-thermal atmospheric pressure plasma on human gingival fibroblasts: *in vitro* study

Mun-young Lee

Keywords: Non-thermal atmospheric pressure plasma, Gingival fibroblast, Periodontal disease, *In vitro* study

Objectives: Although non-thermal atmospheric pressure plasma (NTAPP) has been known to be beneficial for wound healing, dental caries, root canal disinfection, tooth whitening and biofilms in dentistry, anti-inflammatory effects of NTAPP about inflamed periodontal tissue are poorly understood. The aim of this study was to examine the anti-inflammatory effects of NTAPP on human gingival fibroblasts (HGFs).

Materials and methods: HGFs from healthy periodontal tissue were cultured and stimulated with lipopolysaccharides (LPS) from *Porphyromonas gingivalis*. NTAPP was irradiated to HGFs and LPS stimulated-HGFs for 3minutes with 4 voltage and 4 flow. MTT assays were performed to determine the viability of the HGFs and then ELISA was performed to confirm the expression of inflammatory cytokines (IL-6, IL-1β, TNF-α, IL-8) in the HGFs.

Results: There was no significant difference in cell viability between plasma treated and untreated group. The LPS stimulated-HGFs showed a marked increase of IL-6, IL-8 production. When the NTAPP was treated, the LPS stimulated-HGFs showed significantly lower IL-6, IL-8 production. The IL-1β, TNF-α secretion were no significantly difference according to the treatment of NTAPP.

Conclusions: NTAPP doesn't have cytotoxic effect to HGFs and inhibited IL-6 and IL-8 production in LPS stimulated-HGFs. The findings suggest that NTAPP may be of therapeutic benefit against the gingivitis and periodontitis by bacterial infection.

P-58

The relationship between the levels of periodontal pathogens and severity of periodontitis.

Yoojin Hong

Keywords: Sampling method, Saliva, Gingival crevicular fluid, Polymerase chain reaction

Purpose: The aim of this study was to determine the relationship between the levels of periodontal pathogens by real-time polymerase chain reaction (PCR) and severity of clinical periodontal parameters.

Methods: Total 87 adults were enrolled in the study and clinical assessment and measurement. Periodontal probing depth (PPD), plaque index (PI), bleeding on probing (BOP), and gingival recession (GR) were recorded at every existing natural tooth. Clinical attachment level (CAL) was calculated using PPD and GR values. Total 69 adults were enrolled in the study and divided into 2 groups [Periodontally healthy group (n=34) and periodontitis group (n=39)]. Two 5ml of unstimulated whole saliva was collected at first and last visit *via* passive drooling into sterile plastic tubes from all participants. The samples were done the real-time PCR analysis for 11 species of oral pathogens *Aggregatibacter actinomycetemcomi-tans* (*Aa*), *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), *Treponema denticola* (*Td*), *Prevotella intermedia* (*Pi*), *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*), *Parvimonas micra* (*Pm*), *Campylobacter rectus* (*Cr*), *Eubacterium nodatum* (*En*), *Prevotella nigrescens* (*Pn*), *Eikenella corrodens* (*Ec*).

Results: In all pathogens, level of periodontitis group was significantly higher than periodontally healthy group. Pg, Tf, En, Pn was significantly correlated with clinical indices such as CAL and PD.

Conclusions: The search for periodontal pathogens using real-time PCR can be used clinically. Some of the oral pathogens are correlated with the clinical periodontal parameters, so it is possible to diagnose periodontal disease using this.

P-59

Minimally invasive soft tissue harvesting from hard palate

Yoonseob Lee

Keywords: Minimally invasive preparation, Gingival recession, Transplantation, Palatal

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the change of soft tissue volume on hard palate after minimally invasive harvesting with surgical template.

Methods: The present study consisted of 20 donor sites where 20 de-epithelized CTG were harvested in the safety zone excluding main branch of greater palatine artery. De-epithelized CTG was trimmed and used for root coverage of mandibular anterior teeth area. Patients wore the removable appliance to prevent bleeding for 1 week after the surgery until the time point of stitch out. Master casts of each patient were made with dental stone utilizing alginate impressions at baseline and 3 weeks after the surgery. An optical scanner and computer-aided design software and an optical scanner were used to scan and visualige the casts. The 3-week cast scans were superimposed with baseline cast scans. The average surface vector and volumetric measurements were performed. The volumetric change was divided by the area of the projection and quantified as the displacement between the surfaces. Average and standard deviation of the volumetric change of 20 donor sites were measured.

Results: There was not any severe complication on donor sites 1 week after the surgery; slightly swollen tissue and minor bleeding tendency during stitch out procedure were noticed. When compared volumetric change between baseline and 3-week after the surgery, about 80 percent of volume could be recovered 3 weeks after the surgery. Almost complete epithelization on the wound was noticed.

Conclusions: The minimally invasive harvesting technique on hard palate could be an effective method in supplying proper amount of connective tissue to recipient site and minimizing possible trauma and chance of bleeding.