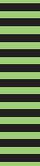


一般演題ポスター

P-01~44



P-01

歯周炎症面積と歯数および肥満の関連

青山 典生

キーワード：PISA, BMI, ペリオドンタルメディシン

【背景と目的】歯周炎と全身との関連が示されており、肥満の者では歯周病の状態が悪化していることが知られている。また、歯数の減少はその後の循環器疾患の発症率の増加につながるとされている。Periodontal inflamed surface area (PISA) は、歯周病と全身の関連を取り扱う際の口腔指標として有用性が示されてきている。本研究の目的は、PISAおよび歯数と、肥満をはじめとした全身状態との関係を明らかにすることである。

【方法】2018年から2020年まで、神奈川歯科大学附属病院医科歯科連携センターで被験者を募集した。本研究は神奈川歯科大学研究倫理審査委員会の承認（No.553）を受けて実施し、すべての被験者から書面による研究参加の同意を得た。臨床歯周病検査を実施し、PISAを算出した。体組成分析を行い、Body Mass Index (BMI)などを計測した。血液検査により、血中の炎症マーカーなどを測定した。PISAや歯数と全身指標の相関について評価した。

【結果と考察】女性155名、男性80名の合計235名の被験者を、本研究の対象とした。PISAと歯数およびPISAとBMIには正の相関が認められたが、PISAと年齢には相関を認めなかった。歯数は年齢と負の相関を示していたものの、歯数とBMIとの間に統計学的な関係は認めなかった。BMIは年齢との関連はなかったが、血中の高感度CRPやヘモグロビンA1cと正の相関を示した。本研究の結果から、年齢や歯数などの因子も重要ではあるものの、それらに関わらず歯周病と肥満には関連があることが示唆された。

P-02

歯髄細胞エクソソームは歯周炎の進行を抑制する

清水 雄太

キーワード：歯髄細胞, エクソソーム, 細胞外小胞, 歯周組織

【目的】様々な細胞からエクソソームと呼ばれる細胞外小胞が分泌され、細胞間コミュニケーション媒体としての役割を果たすことが知られている。我々は、ヒト智歯からHLAハプロタイプホモ（HHH）歯髄細胞（DPC）を樹立後、エクソソームを精製し、歯周疾患進行抑制効果について検討してきた。本研究では、HHH-DPCエクソソームのマウス骨芽細胞への細胞遊走、細胞分化に及ぼす影響、および歯周炎モデルマウスに注入した際の歯周組織に対する効果を評価した。

【材料および方法】MC3T3-E1細胞にHHH-DPCsより精製したエクソソームを 2.0×10^9 particles/well添加し、スクラッチアッセイにて細胞遊走能を評価した。また、網糸結紮で誘導した歯周炎モデルマウスに対して 1.0×10^8 particles/回のHHH-DPCエクソソームを注入し、歯槽骨吸収程度を μ CTで、歯周組織をヘマトキシリン・エオジン（HE）染色にて評価した。

【結果】HHH-DPCエクソソームは、骨芽細胞の遊走能を促進した。歯周炎マウスモデルの μ CT評価では、HHH-DPCエクソソーム添加群の歯槽骨は生理食塩水群と比べ、約30%骨吸収を抑制した。さらに、HE染色によりセメントエナメル境周縁において、エクソソーム処理群では対照群に比べ角化重層扁平上皮の上皮構造の保持および根分岐部の結合組織に血管が多く観察された。

【結論と考察】HHH-DPCエクソソームは、骨芽細胞の遊走能を増加させた。また、*in vivo*では歯周炎による骨量減少を抑制し、血管を誘導したことから、骨のリモデリングや歯周組織の再生に関与する可能性が示唆された。

P-03

ヒト骨髄間葉系幹細胞の硬組織形成と炎症性サイトカインの発現に対する高出力赤色LEDの影響

蔡 祐維

キーワード：赤色LED, ヒト骨髄間葉系幹細胞, 炎症性サイトカイン

【目的】我々は高出力の赤色LEDが歯根膜幹細胞や骨髄間葉系幹細胞（hBMSCs）の骨芽細胞分化を促進することを明らかにした。しかしながら、LEDは硬組織分化を促す一方、細胞への為害作用や炎症性サイトカインの産生を促進することが示唆されている。したがって、本研究では高出力赤色LEDがhBMSCsの細胞増殖、細胞毒性、硬組織分化能、および炎症性サイトカインの遺伝子発現に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】PromoCell社からhBMSCsを購入し、実験に供試した。光源としてLedEngin社製高出力赤色LEDを用いた。照射時間を変えることで照射エネルギー量を調節し、MTT変法による細胞増殖試験とLDH活性測定法による細胞毒性試験を行った。またアリザリンレッド染色による硬組織形成の評価と*IL-6*, *IL-8*の遺伝子発現をリアルタイムPCR法によって検討を行った。

【結果と考察】hBMSCsの細胞増殖はLED照射24, 48時間において、エネルギー量依存的に抑制された。LDH活性はLED照射48時間で、エネルギー量依存的に促進された。また硬組織形成は 6 J/cm^2 エネルギー量で最も促進された。*IL-6*の発現は48時間で促進され、*IL-8*の発現は24, 48時間ともにLED照射で促進された。

【結論】高出力赤色LEDによってhBMSCsの細胞毒性と炎症性サイトカインの発現が誘導されることが示唆される。

P-04

ヒト歯根膜幹細胞に対するアメリロジェニンペプチドの増殖と接着への影響

陳 怡潔

キーワード：Emdogain, 歯根膜

【目的】我々はEnamel matrix derivative (EMD) 用いた基礎研究から硬組織誘導能を有するアメリロジェニンペプチド（AP）を合成した。これまでの我々の研究成果から、このAPは骨髄間葉系細胞や骨芽細胞の細胞増殖や硬組織分化誘導を誘導することを報告してきた。しかし、歯周組織再生に重要なヒト歯根膜幹細胞（hPDLSCs）に対するAPの細胞増殖と細胞接着への影響は明らかでない。本研究ではAPがhPDLSCsの増殖や接着に及ぼす影響と、Extracellular Signal-regulated Kinase (ERK) 1/2のリン酸化について検討した。

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

【結果】APは100ng/mLの濃度でhPDLSCsの増殖と接着を最も促進し、ERK1/2のリン酸化を促進した。またAPによって促進された細胞増殖と細胞接着はPD98059によって阻害された。

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

P-05

高齢者の口腔衛生管理における幅広植毛歯ブラシの有用性について

武川 香織

キーワード：幅広植毛歯ブラシ，オーラルケア，高齢者

【目的】現在では8020達成率が5割を超え，前期高齢者の約4%がインプラント補綴を装着していることから，高齢期の残存歯列の状態も変容してきており，口腔衛生管理におけるセルフクリーニングも再考すべきかもしれない。これまでは歯垢除去効果に優れたスクラビング法に適した植毛部がコンパクトな歯ブラシが主流であったが，近年，セルフケア用に幅広植毛歯ブラシの有用性が注目されている。今回，本大学病院口腔インプラントセンターのメンテナンス受信者に対して，幅広植毛歯ブラシを用いた観察調査を行い，その有用性を評価したので報告する。

【対象および方法】被験者は，定期的に通院している60名（男性20名，女性40名），壮年期（65歳未満），前期高齢期（65歳以上75歳未満），後期高齢期（75歳以上）の各20名とした。歯ブラシは幅広植毛歯ブラシ（以下，W）と標準サイズの歯ブラシ（以下，R）を使用した。調査1日目に，提供した歯ブラシを用いて普段通りに歯磨きしてもらい，歯磨き時間と歯磨き前後のO'LearyのPlaque Control Record (PCR)を測定し，PCR減少率を算出した。併せてアンケート調査を行った。調査2日目は，もう一方の歯ブラシを使用し，同様に調査し，比較した。

【結果および考察】歯磨き時間は歯ブラシ間と各年齢層に有意差はなかった。全体におけるPCR減少率はWで50.5%，Rで49.2%であり，歯ブラシ間と各年齢層に有意差はなかった。使用感の満足度はWのほうが高い傾向であった。これらの結果から，幅広植毛歯ブラシは標準的なはぶらしと同等に有効であることが示唆された。

P-06

柿渋ジェルの口腔病原性微生物に対する抗菌活性

倉 知子

キーワード：柿渋，う蝕症，歯周病，口腔カンジタ症，抗菌活性

【目的】『柿渋』はカキノキ科カキの渋を用いる。柿の未熟な果実（青柿）を搗き碎き，水を加えて時々攪拌しながら3週間ほど放置して醗酵し，滓を除くと膠状の赤褐色で半透明の液体が得られる。これを柿漆，あるいは柿渋という。近年では，抗酸化性，抗変異原性（細胞が突然変異をするのを防ぐ性質），抗菌作用，抗ウイルス作用，抗腫瘍作用，抗アレルギー作用，血圧降下作用，消臭作用，香味改良効果，悪酔い防止作用など多くの機能が証明されている。しかし，口腔病原性微生物に対する報告は少ない。本研究は柿渋を含むジェルによる口腔病原性微生物に対する抗菌活性を検討することを目的とした。

【方法】柿から抽出し柿渋をジェル化した。米国CLSIによる標準法による薬剤感受性試験（ディスク拡散法）によりう蝕原因菌である *Streptococcus mutans*，歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis*，口腔カンジタ症の原因菌である *Candida albicans* の3種の微生物に対して解析を試みた。

【結果と考察】柿渋ジェルは3種の菌に対して，抗菌活性を示した。柿渋に含まれる可溶性タンニンは，エビカテキン，エビガロカテキン，エビカテキン-β-ガラクト，エビガロカテキン-β-ガラクトの4つの単量体のポリフェノールが構成要素となっている。これまでカテキンは抗菌作用を有することが知られている。カテキンの細菌に対する抗菌メカニズムは細菌の細胞壁や細胞膜の脂質二重層構造を破壊することによって引き起こされ，細胞室内が変性し，膨化することにより，菌体の破壊が生じ，抗菌作用を呈する可能性があると考えられている。柿渋ジェルはう蝕原因菌，歯周病関連細菌，口腔カンジタ症に対して抗菌活性が明らかにされ，柿渋ジェルが臨床応用の可能性がある。

P-07

塩基性線維芽細胞成長因子 (FGF-2) 製剤による歯周組織再生療法における影響因子，後ろ向き研究

中山 洋平

キーワード：歯周組織再生療法，塩基性線維芽細胞成長因子，自家骨移植術，改良型歯間乳頭保存術，骨壁数

【目的】日本大学松戸歯学部付属病院歯周科では，2017年2月から塩基性線維芽細胞成長因子 (FGF-2) 製剤 (リグロス®) による歯周組織再生療法が行われている。健康保険適応であり使用頻度は高い。しかし，リグロス®と併用する付加的術式および影響を与える因子に関する報告はされていない。今回，リグロス®の治療効果における，自家骨移植術 (AG)，改良型歯間乳頭保存術 (mPPT) および他の影響因子について検討を行った。

【材料と方法】一定調査期間の患者を対象とした後ろ向き研究をおこなった。リグロス®の治療効果は，エックス線画像における骨充填率を primary outcome として術者以外の者が，術後6および12か月で評価した。AGおよびmPPT施術の有無，骨壁数，臼歯部の状態 (Eichner の分類，臼歯残存歯数，臼歯非動揺歯割合) と臨床パラメーターとの相関を検索した。AGおよびmPPT施術の有無，骨壁数による治療効果の差は，2群間比較を行った。

【結果と考察】調査期間中YNが担当した患者を対象とし，術後6および12か月で骨充填率を評価できないものは除外した。術後6か月の評価では31部位，12か月では27部位が対象となった。術後6か月の評価では52.3%，12か月では62.1%の骨充填率を認めた。術後6および12か月後の骨充填率は，AGおよびmPPT施術と正の相関を認めた。術後6および12か月それぞれの2群間比較 (リグロス® VS リグロス®+AG) では，AGによる有意な骨充填率の増加を認めた。また，術後12か月での2群間比較 (リグロス® VS リグロス®+mPPT) で，mPPT施術による有意な骨充填率の増加を認めた。

【結論】リグロス®による歯周組織再生療法は，高い骨充填率を示した。研究デザインによる限界はあるが，AGおよびmPPTの併用療法により，付加的な治療効果を認めた。

P-08

実験的歯周炎モデルマウスにおける炎症および治療反応の経時的変化に関する研究 第2報

宮下 幸大

キーワード：実験的歯周炎，治療モデル，動物実験，サイトカイン，歯槽骨吸収

【目的】我々はこれまで，糸糸結紮による歯周炎モデルや糸糸除去による治療動物モデルの病態生理学的変化に関する研究を報告してきた。本報告では，3日間結紮および除去モデルでの炎症反応の変化を評価した。

【材料と方法】10週齢C57BL/6J雄性マウスを3群に分けて以下の処置を行い，実験開始後の各時点で左右の上顎を採取した：上顎第二臼歯に6-0糸糸を結紮し実験的歯周炎を惹起する群 (Periodontitis (P) 群：1, 3, 5, 7日)，結紮後3日目に結紮糸を除去し治療を誘導する群 (Healing (H) 群：5, 7日)，および結紮を行わない群 (Control (C) 群：0日)。上顎右側は病理組織学的評価に用い，また上顎左側の口蓋歯肉と硬組織に対してqRT-PCR法による遺伝子発現解析 (*IL-6*, *IL-1β*, *IL-10*) とμCTによる骨構造解析をそれぞれ行なった。

【結果と考察】HE染色像においてP群はC群と比較して付着の喪失，歯槽骨吸収，および炎症性細胞の増加が認められ，またH群はP群と比べ，結合組織の増加と軽度の付着の回復を認めた。遺伝子発現解析では結紮後 *IL-6* と *IL-1β* の遺伝子発現量が増加し *IL-6* では1日後，*IL-1β* では3日後にピークを示した。また糸糸除去後に有意な減少を認めた。対照的に，*IL-10* は結紮1日後で減少し，除去後に増加傾向を示した。骨構造解析においても結紮後に歯槽骨吸収は増加したが，除去により有意な吸収抑制が認められ，組織学的所見の変化と一致していた。

【結論】実験的歯周炎治療モデルにおいて糸糸結紮後に炎症が惹起され，除去後に顕著な炎症消退と治療反応の促進が認められた。

P-09

SPT患者と不定期受診患者における歯周組織の長期経過

加藤 智崇

キーワード：Supportive periodontal treatment (SPT), 不定期, 後ろ向き研究

【目的】2020年の診療報酬改定において長期管理加算が新設されるなど、継続的な口腔の管理が重要視されている。我々は、多くの長期SPT患者の臨床データを蓄積しており、今回、不定期患者と比較から長期管理の具体的なエビデンスを明らかにすることを目的とする。

【研究方法】対象者は、ある一般歯科医院において10年以上継続的に通院している20歳以上の患者（SPT群）と過去10年以上の間でSPT中断の経験がある患者（不定期群）の2群とした。智歯や予後不良の歯は除き、歯周組織検査について後ろ向きにカルテ調査（2001年から2019年）をおこなった。2群共に歯周治療をおこない、初診時と直近の検査値について比較した。

【結果】SPT群は297名、7307歯で初診時から平均通院歴は13.86年であった。不定期群は191名、4659歯で平均通院歴は13.55年であった。初診時と直近の歯周組織検査を比較するとSPT群のPPD改善が平均0.76mmに対して、不定期群は0.57mmにとどまった。また、BOPではSPT群の改善が13.5%であったのに対して、不定期群が9.7%であり、PPDとBOP共に有意な差を認めた。

【考察・結論】10年以上長期に管理された患者の歯周状態は不定期に来院する患者と比べて、PPDとBOP改善の改善に有意な差をみとめた。よって、歯周治療後の定期的な管理であるSPTが重要であり、長期管理の根拠が確認された。

P-10

炭酸アパタイト培養ディスクとbFGF併用によるイヌ歯根膜細胞の増殖培養

北村 和

キーワード：人工骨, 炭酸アパタイト, 歯根膜細胞, bFGF

【目的】骨アパタイトは炭酸基を48%含む炭酸アパタイト (CO₃Ap) である。我々はCO₃Apに着目し、人工骨サイトランスを開発・上市しており、同組成の培養ディスクを開発した。bFGFは歯周組織の再生に有用であり、歯周組織再生剤リグロスとして上市されている。本研究ではCO₃Ap製ディスクを用い、ディスクの培地浸漬による前処理とbFGF添加が歯根膜細胞の増殖に与える影響について検討を行ったので報告する。

【材料と方法】イヌ歯根膜細胞はビーグル抜去歯より採取し、10% FBS含有αMEM培地に初代培養を行った。ディスクは培地5mlに7日間浸漬した群と未処理群を比較した。各ディスクに各濃度のbFGF添加培地 (0.3ng/ml) に懸濁したイヌ歯根膜細胞を播種し、1, 4, 7日間後の細胞数を蛍光顕微鏡で計測の評価をした。

【結果と考察】ディスク未処理群ではbFGF添加による差は認めず、細胞増殖しなかった。ハイドロキシアパタイトやCO₃Apは培養液中のイオン等を吸着するとの報告がある。その影響で培養液中のイオン等の濃度が低下し、細胞増殖に必要な養分が供給されず、ネクロシスを起こしたと考えられる。ディスクを培地5mlに7日間浸漬した群では、bFGF添加の有無に関わらず、経時的に細胞が増殖した。増殖した細胞数の比較では、bFGF添加群が未添加群と比較して1.5倍高かった。これはbFGFによる細胞増殖促進効果によるものと考えられる。

【結論】骨アパタイトと同組成のCO₃Apディスクは適切な前処理を行うことで歯根膜細胞の培養が可能であった。また培地にbFGFの添加により、歯根膜細胞の増殖促進が示された。

P-11

三次元ヒト歯肉上皮モデルを用いたヒノキチオールの歯肉組織内における歯周病菌増殖抑制効果

稲垣 みずき

キーワード：ヒノキチオール, *Porphyromonas gingivalis*, 歯肉組織, 三次元ヒト歯肉上皮モデル, LPS

【目的】歯周炎患者の病変部歯肉組織からは歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) が検出されることが知られている。本研究では、歯肉組織のモデルとして三次元ヒト歯肉上皮モデルを用いて、ヒノキチオールの歯肉組織内に感染した歯周病菌に対する増殖抑制効果を検証した。

【材料と方法】三次元ヒト歯肉上皮モデルはSkinEthic HGE (HGE) を用いた。HGE下部にLPSを添加していないものを健常歯肉モデル、LPSを添加したものを歯周病歯肉モデルとした。HGE上部に *P.g.* を添加し、37℃で培養した。培養後、HGE上部をPBS (-) で洗浄後にヒノキチオールを添加し、再び培養した。HGEを回収後、凍結切片 (断面) を作製し、抗 *P.g.* 抗体を用いてHGE組織内の *P.g.* を免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。HGE組織内へのヒノキチオールの浸透は、HGE下部に透過した量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定することで評価した。ヒノキチオールを添加したHGEの生存率をアラマブルーアッセイ法にて評価した。

【結果と考察】LPSを添加した歯周病歯肉モデルでは、LPSを添加していない健常歯肉モデルよりもHGE組織内での *P.g.* の増殖が認められた。歯周病歯肉モデルにヒノキチオールを添加すると、HGE組織内での *P.g.* の増殖が抑制された。HPLCで測定したところ、HGE下部にヒノキチオールが検出された。ヒノキチオールはHGEの生存率に影響しなかった。

【結論】LPSの影響により、歯周病状態の歯肉組織は、健常状態の歯肉組織よりも *P.g.* が増殖しやすくなっている可能性が示唆された。ヒノキチオールは、歯肉組織内へ浸透することで、歯肉組織内に感染した歯周病菌の増殖を抑制することが示唆された。

P-12

Nifedipine誘発性歯肉増殖症 *in vitro* モデルの構築～α-SMAとの関連について～

山崎 桂

キーワード：薬物性歯肉増殖症, ニフェジピン, α-SMA, ヒト歯肉線維芽細胞

【目的】薬物性歯肉増殖症は、薬物の副作用として起こる歯肉の過形成であるが、そのメカニズムは未だ十分に解明されていない。線維症とはコラーゲンの増生を伴う病態であり、他臓器の線維性疾患における研究では炎症により傷害された線維芽細胞がα-SMAを持つ筋線維芽細胞に分化し、細胞外マトリックスを高発現することが分かっている。そこでnifedipine誘発性歯肉増殖症 *in vitro* モデルを構築し、α-SMAの関連性について検索を行った。

【材料と方法】樹立したヒト歯肉線維芽細胞を10%FBS添加DMEM/F-12にて培養し、0.1, 1, 10μg/ml nifedipine, 10ng/ml IL-1β+0.1, 1, 10 μg/ml nifedipine (N0.1, N1, N10, IL+N0.1, IL+N1, IL+N10) を作用させ、細胞数を測定した。また、コラーゲンI型とα-SMAのタンパク質量をELISA法にて測定した。

【結果と考察】N10群とIL+N10群で細胞増殖の有意な抑制が認められた。他群において、コラーゲンI型のタンパク質量は有意な増加が認められたことから、nifedipine誘発性歯肉増殖症 *in vitro* モデルとした。一方、α-SMAでは各群で差が認められなかった。このことから、今回構築したnifedipine誘発性歯肉増殖症 *in vitro* モデルにおけるコラーゲンI型の増生は細胞数およびα-SMAは関与していないことが示唆された。

【結論】Nifedipine誘発性歯肉増殖症には細胞の増加およびα-SMAは関与しない可能性が示唆された。今後、さらに検討していく予定である。

P-13

歯周基本治療前後における唾液中のエクソソーム内の成分の変化

山口 亜利彩

キーワード：エクソソーム，唾液，歯周基本治療，miRNA，CD81，HSP70，C6

【目的】エクソソームは細胞から分泌される膜小胞で，タンパク質や核酸などの生理活性物質を豊富に含む。また口腔内では唾液中に安定して存在することから，その解析は歯周炎の病態を知る手がかりとなる可能性がある。本研究は，中等度～重度歯周炎患者を対象に歯周基本治療前後に唾液を採取し，歯周病臨床パラメーターの変化と唾液中のエクソソーム内の成分を比較し，唾液中のエクソソーム内の成分の歯周病バイオマーカーとしての有用性について検討した。

【材料と方法】中等度～重度歯周炎患者の初診時に唾液を採取し，歯周基本治療を行った。基本治療終了後（3～6ヶ月後），再度唾液を採取し，エクソソームを精製した。エクソソームから抽出した全RNAおよびタンパク質を使用し，歯周炎患者の歯周基本治療前後の唾液エクソソーム中のmiRNAの発現量をリアルタイムPCRで，エクソソーム内のC6，CD81，TSG101およびHSP70の発現量の変化をWestern Blotでそれぞれ比較解析した。

【結果と考察】唾液エクソソーム中のmir-142-3p，mir-143-3p，mir-144-3p，mir-150，mir-200bおよびmir-223の発現量は，歯周基本治療前と比較し，治療後で減少傾向にあった。エクソソーム中のタンパク質のうち，C6，CD81のタンパク質量は歯周基本治療前と比較し，治療後に減少傾向にあった。また，HSP70のmRNA発現量は歯周基本治療により減少した。現在，歯周病患者の歯周基本治療後の唾液中のエクソソーム内の成分の発現量の変化についてさらに解析を進めている。

P-15

リボソームに封入したリポカリン2の口腔上皮細胞への送達

木戸 淳一

キーワード：リポカリン2，抗菌ペプチド，リボソーム，口腔上皮細胞，オーラルヘルスケア

【目的】リポカリン2（LCN2）は口腔上皮細胞に発現しており，抗菌ペプチドとしての作用を有している。リボソームはドラッグデリバリーシステムのツールとして研究開発が行われている。私たちは，これまでにオーラルケアの基盤研究として抗菌ペプチドの無細胞蛋白質合成系による合成リボソームの上皮細胞への接着について報告を行ってきた。本研究では，合成したLCN2をリボソーム中に封入し，口腔上皮細胞と培養することによりLCN2の口腔上皮細胞への送達について検討を行った。

【材料と方法】LCN2は，PCRにて作製したLCN2遺伝子由来鋳型DNAと無細胞蛋白質合成キット（PUREfrex）を用いて合成した。リボソームは，リン脂質としてDOPC，DOPE及びEgg-PCを用いて自発的転移法により調製した。LCN2を封入したリボソームを限外ろ過法にて回収し，口腔上皮細胞（TR146）と培養した後，細胞画分中のLCN2をウェスタンブロット（WB）法およびELISA法にて分析を行った。

【結果と考察】WB法により無細胞系で合成した蛋白質サンプル中および限外ろ過により回収したLCN2封入リボソーム中にLCN2のバンドが確認された。また，LCN2封入リボソームと共に培養した口腔上皮細胞から回収した細胞画分では，WBで対照のLCN2不含リボソームと比較して反応の強いLCN2バンドが同定され，ELISA法により有意に多量のLCN2の含有が認められた。

【結論】リボソームに封入した合成LCN2は，口腔上皮細胞へ有効に送達されることが示されたことから，抗菌ペプチド送達システムによるオーラルケアへの応用が考えられる。

P-14

Porphyromonas gingivalis由来LPS存在下でのメカニカルストレスを介した骨吸収におけるPiezo1の関与についての検討

内沼 真吹

キーワード：Piezo1，メカニカルストレス，MC3T3-E1

【目的】歯周炎の存在下で外傷性咬合が加わると，歯槽骨吸収が急速に進行することが知られているが，その分子メカニズムは不明な点が多い。我々はこれまで骨芽細胞に発現するカルシウムイオンチャネルTRPV4が，炎症とメカニカルストレスの共存下におけるRANKL発現に関与していることを明らかにした。今回，新たにカルシウムイオンチャネルPiezo1が骨吸収に関与するかどうかを調べるため，*Porphyromonas gingivalis*由来LPS（*P.g*-LPS）存在下で骨芽細胞株細胞MC3T3-E1を用いた*in vitro*実験系で検討した。

【材料と方法】MC3T3-E1細胞を*P.g*-LPSを加えた骨芽細胞分化培地で3日間培養した。次に小型卓上振とう機により流水せん断応力を間欠的に負荷した。さらに，培地にPiezo1アンタゴニストであるGsMTx4を添加した細胞に対して同様に負荷を行った。負荷後の細胞を回収し，total RNAを抽出，リアルタイムPCR法によりPiezo1およびRANKLのmRNA発現を定量的に評価した。

【結果と考察】*P.g*-LPS添加群において，Piezo1発現量の有意な変化は認められなかった。一方で，*P.g*-LPS添加群に流水せん断応力を負荷するとRANKLの発現上昇が生じ，GsMTx4を添加すると発現上昇が抑制された。*P.g*-LPSはPiezo1のmRNA発現量には影響しないが，その開孔機能を亢進し，RANKL発現を誘導する可能性が示唆された。

【結論】Piezo1はTRPV4と同様に*P.g*-LPS存在下でのメカニカルストレスを介したRANKL発現に関与することが示唆された。

P-16

PCRを用いたPorphyromonas gingivalis 2型線毛迅速検出システムの有効性の検討

生田 貴久

キーワード：歯周病，*Porphyromonas gingivalis*，線毛，PCR，検出

【研究目的】歯周病原菌の中で*Porphyromonas gingivalis*（*Pg*）は，生体等への付着・定着因子である線毛や数種の蛋白分解酵素を有しており，極めて病原性が高い。我々は，第153回日本歯科保存学会秋季学術大会において，口腔細菌検出装置（Orcoa OR-1000・株式会社オルコア）を用いた*Pg*計測値と歯周ポケット（PPD）やBleeding on Probing（BOP）等の歯周病の病態との関連性を報告した。本研究では，特に病原性の高い2型線毛の検出結果も踏まえて更なる検討を行った。

【材料および方法】本研究は，徳島大学病院医学系研究倫理審査委員会の承認（番号：3689）を得て実施した。徳島大学病院・歯周病科を受診し，同意の得られた患者（124名：2020年12月時点）を対象とし，PPD，BOPや動揺度を調べた。Orcoaによる細菌検査では，ブランクを採取後，Orcoa OR-1000での計測し，外部委託による細菌検査では，サンプル採取したペーパーポイントを送って検査（PCR Invader法：BML）に供した。臨床検査値とOrcoa計測値や外部委託による細菌検査結果について統計解析を行った。

【結果・考察】Orcoa計測値は軽度から中等度歯周炎では1000～2000台であったが，重度歯周炎では3000以上の高値を示し，PPDやBOPの歯周病の病態と関連していた。また，Orcoa 2型線毛計測値が高いほど，外部委託による線毛遺伝子2型の検出率も有意に高く，さらにPDDの深さと2型線毛検出率に相関が認められた。Orcoaによる*Pg*計測値は，PPDやBOP等の歯周病の病態に相関し，また簡易かつ迅速に病原性の高い2型線毛保有*Pg*の検出も可能となり，その有用性が示された。

P-17

慢性剥離性歯肉炎を伴う慢性歯周炎患者に歯周基本治療を行った一症例

飯島 孝典

キーワード：慢性剥離性歯肉炎，扁平苔癬，C型肝炎，歯周基本治療
【症例の概要】患者：64歳女性。初診：2018年3月。主訴：右下の歯茎が痛い。全身所見：C型肝炎（治療中）。口腔内所見：36および47部歯肉の発赤腫脹，接触痛，剥離性びらん，及び出血を認めた。また，47部相当の頬粘膜に白色病変を認めた。同部位のPPDは4～8mmであり，X線検査では，垂直性の骨吸収を認めた。血液検査：抗デスメグレイン1・3抗体（-），抗BP180抗体（-） 細胞診：軽度核肥大したケラトヒアリン顆粒を有する扁平上皮細胞を認めた。

【診断】扁平苔癬関連慢性剥離性歯肉炎を伴う慢性歯周炎

【治療方針】化学的ブラークコントロールを併用した口腔清掃指導を行い，接触痛が消失した後にスケーリング・ルートプレーニングを行う。

【治療経過】治療開始時は強い接触痛が認められたため，デキサメタゾン口腔用軟膏[®]を処方し，ルシエロ歯ブラシOP-10[®]（ジーシー）を用いて口腔清掃指導を行った。1か月後には接触痛の改善傾向が認められたため，ソニックア[®]（PHILIPS）に変更し，消炎のためハチアズレによる含嗽を指示した。2か月後には接触痛は認められなくなり，スケーリング・ルートプレーニングを行った。しかし出血傾向が認められたため，トラネキサム酸配合の含嗽剤（モンダミンハビットプロ，アース製薬）に変更した。その後，出血は認められなくなり，PPDおよびBOPも改善した。

【考察】肝機能障害を伴う扁平苔癬及び併発する慢性剥離性歯肉炎の症状は肝機能障害の改善と共に改善するとされている。本症例は肝機能検査結果に大きな変動はなかったが，歯周基本治療を行うことにより，口腔内症状を改善することができた。

P-19

福岡歯科大学医科歯科総合病院歯周病科における歯周組織再生療法の現状とFGF-2製剤を用いた歯周組織再生療法の臨床的評価

吉永 泰周

キーワード：歯周外科治療，歯周組織再生療法，FGF-2

【目的】FGF-2を有効成分とした歯周組織再生剤が2016年12月に発売・保険収載され，当院でも2017年1月より実施可能になった。そこで当院の歯周外科治療，特に歯周組織再生療法の実施状況の推移を調査するとともに，FGF-2製剤を用いた歯周組織再生療法の臨床的評価を行った。

【材料と方法】当院歯周病科における2012年度から2019年度における歯周外科治療症例数を集計し，解析を行った。さらにFGF-2製剤を用いた患者（2017年1月から2018年9月に実施）のうち，術前と術後6か月経過時の臨床パラメーター（PPD，CALおよびBOP）とデンタルX線画像の比較が可能であった症例を対象に評価を行った。

【結果と考察】当院の歯周外科治療症例数は，調査期間を通して年間約100件程度で推移していた。歯周組織再生療法症例数は，FGF-2製剤導入後の2017年度に2015年度比で3倍の年間51症例に増加した。その内訳を見ると2015年度までは，エナメルマトリックスタンパク質の応用が大部分であったが，2016年度の移行期を経て，2017年度からはFGF-2製剤が主に用いられていた。FGF-2製剤の臨床的評価を行った結果，術後6か月において術前と比較してPPD，CALおよび骨欠損深さの有意な改善が認められた。

【結論】FGF-2製剤を用いた歯周組織再生療法を導入した結果，保険収載による費用負担の軽減効果も手伝って，歯周組織再生療法を広く患者に提供することが可能になった。今後はさらに治療経過を追うとともに症例数を増やし，長期的な有効性を検討する予定である。

P-18

GRADEアプローチを用いた診療ガイドライン策定の試み④ -インプラント周囲炎の外科的処置に際して，クロルヘキシジン（CHX）で洗浄することは有効ですか？- 大塚 秀春

キーワード：インプラント，インプラント周囲炎，クロルヘキシジン
【目的】インプラント周囲炎の外科的処置にグルコン酸クロルヘキシジン（CHX）でインプラント体を洗浄する事で，インプラント周囲炎に罹患した周囲組織に対しても効果が得られるか否か文献を網羅的に検討し，GRADEアプローチに基づいて推奨決定を行った。

【方法】インプラント周囲炎患者を対象とした。関連するランダム化比較試験（RCT）とシステマティック・レビュー（SR）を網羅的に検索した。アウトカムは①インプラント周囲炎の再発およびインプラントの喪失，②エックス線写真における骨レベルの変化，③Probing Depth，④プロービング時の出血（BOP）の変化とし，GRADEを用いて評価を行った。

【結果】2017年11月までの検索結果から2件のRCTを採用した。本研究は介入群をCHXでインプラント体を洗浄した群とし，対照群をブラシボ溶液で洗浄した群とした。相対リスク [95% 信頼区間] は①において0.35 [0.02-6.70]，②において0.30 [-0.20-0.81]，③において-0.49 [-1.06-0.08]，および④において1.10 [-14.78-16.98]であった。各アウトカムのエビデンスの確実性は全て [中] であった。この結果を基にパネル会議を行い，推奨の方向と強さを決定した。

【結論】インプラント周囲炎に対する外科的処置にグルコン酸クロルヘキシジン（CHX）でインプラント体の洗浄を推奨するエビデンスの確実性は「中」であった。推奨に関しては，有意差はなかったもののCHX群では臨床的パラメーターの改善傾向が認められたこと，現時点での副作用や偶発症の報告が少ないことから，行うことを弱く推奨することとなった。なお，本報告は「歯周病患者における口腔インプラント治療指針およびエビデンス 2018」策定作業の結果報告である。本診療ガイドラインが歯科臨床現場において広く利用される事を期待する。

P-20

GRADEアプローチを用いた診療ガイドライン策定の試み③ -インプラント周囲炎に対する外科的処置に，エルビウムヤグ（Er:YAG）レーザーを併用するべきですか？- 林 鋼兵

キーワード：インプラント周囲炎，エルビウムヤグレーザー

【目的】インプラント周囲炎に対する，外科的処置におけるEr:YAGレーザー併用の有効性に関する文献を網羅的に検討し，GRADEアプローチに基づいて推奨決定を行った。

【方法】インプラント周囲炎患者を対象とした。関連するランダム化比較試験（RCT）とシステマティック・レビュー（SR）を網羅的に検索した。アウトカムは①インプラント周囲炎の再発およびインプラントの喪失，②CALの変化，③PDの変化とし，GRADEアプローチを用いて評価した。

【結果】2017年11月までの検索結果から4件のRCTが得られた。これらはすべて同一の臨床研究に関する報告であり，観察期間は6か月，2年，4年，7年であった。その中で，臨床的に有意な観察期間という観点から4年後の報告を採用した。本研究はプラスチックキュレット，滅菌生理食塩水に浸漬した綿球によるブラークの拭拭を行い，その後，腕タンバクウシ骨ミネラルとブタ由来の吸収性コーラーゲンメンブレンによる骨造成を対照群とし，相対リスク [95% 信頼区間] は①において1.0 [0.16-6.25]であった。それ以外の項目では論文中に標準偏差および分散の記載がなかったため，相対リスクを算出できなかった。各アウトカムのエビデンスの確実性は全て [低] であった。この結果を基にパネル会議を行い，推奨の方向と強さを決定した。

【結論】インプラント周囲炎へのEr:YAGレーザーの併用を積極的に否定する明確な理由は見当たらず，インプラント周囲炎に対する外科的処置にEr:YAGレーザーを併用することを弱く推奨する。なお，本報告は「歯周病患者における口腔インプラント治療指針およびエビデンス 2018」策定作業の結果報告である。本診療ガイドラインが歯科臨床現場において広く利用される事を期待する。

P-21

HUCPVCに間葉系幹細胞の代替となる細胞分化能があるかの検証

野々山 駿

キーワード：ヒト臍帯血管周囲細胞，間葉系幹細胞，再生医療，骨芽細胞

【目的】未分化間葉系細胞（MSC）の代替として臍帯のワルトンジェリー周囲領域にあるヒト臍帯血管周囲細胞（HUCPVC）に注目し，再生医療に対して使用可能かどうかを調べることを目的とした。HUCPVCがMSCの代替として使用可能であれば，MSCと同等以上の採取が可能であることと通常医療廃棄物として処理されてしまう臍帯から採取ができるために倫理上の制約がなく生来の細胞を用いるためリスクが低い可能性があるという利点がある。本研究では第一段階としてHUCPVCが骨芽細胞への分化能を有しているかの検証を行った。

【材料および方法】HUCPVCに骨誘導因子（BMP2），トランスフォーミング増殖因子（TGF- β ），BMP阻害剤（LDN），TGF- β 阻害剤（SB），活性型ビタミンDといった物質を様々な組み合わせで添加し，経時変化を追いながら石灰化誘導，アルカリホスファターゼ（ALP）活性，細胞増殖能，遺伝子発現を解析することで*in vitro*において骨芽細胞への分化能を有しているかの比較検討を行った。

【結果】HUCPVCに活性型ビタミンD，LDN，TGF- β を添加することにより，ALP活性の上昇とRUNX2，オステオポンチン（OPN），I型コラーゲンの発現が見られたため骨芽細胞に分化する可能性があることが示唆された。また，活性型ビタミンD，LDN，TGF- β を添加すると細胞増殖が抑制される結果となった。さらにはLDNの濃度は100nMで行った場合に一番反応がよく，培養日数は7日目に発現のピークを迎えた。

【結論】HUCPVC内にある内在性のBMPがLDN添加により阻害されることで骨芽細胞への分化を引き起こしている可能性があり，さらにはTGF- β を添加することにより作用増強を起こしていることが推察される。以上のことからHUCPVCにはMSCの代替として使用可能である可能性があることが示唆された。

P-23

Coccomyxa sp. KJ株の口腔内への塗布は歯周病モデルマウスの歯槽骨吸収を抑制する

田村 宗明

キーワード：*Coccomyxa* sp. KJ株，歯槽骨吸収，歯牙結紮歯周病モデルマウス

【目的】藻類の1種である*Coccomyxa* sp. KJ株の歯周組織への塗布が歯周病の進行による歯槽骨吸収を抑制するかどうか，歯牙結紮と*Porphyromonas gingivalis*接種を組み合わせた歯周病モデルマウスを用いて検討した。

【方法】7週齢のC57BL/6J雄性マウス31匹の左右上顎第二臼歯に絹糸を結紮した。7日後，これらのマウスを歯周病+プラセボ群（IC），歯周病+口腔内塗布群（IO），歯周病+胃内投与群（IG）へと分類した。また，結紮処置を行わない同週齢の無処置群（HC）8匹を設けた。0.15 g/mLの*Coccomyxa* sp. KJ株（株式会社デンソー製）懸濁液をIO群の左右上顎の結紮部位周辺に計0.1mL胃ゾンデで塗布し，IG群に対し同懸濁液0.1mLを胃ゾンデで胃内投与した。この処置を毎日1回実施しつつ，乾燥藻投与開始7日後から6日間， 1×10^{10} CFU/mLに調製した*Porphyromonas gingivalis* 381株細菌懸濁液をIC，IO，IG群のマウス左右上顎の結紮部位周辺に計0.1mL，1日1回塗布した。その後22日間，乾燥藻懸濁液の投与のみを1日1回行った。投与期間終了後，左上顎骨にメチレンブルー染色を施し，後臼歯のセメント質エナメル質境界-歯槽骨頂長を測定することで歯槽骨吸収を評価した。

【結果】IO群の第2および第3後臼歯のセメント質エナメル質境界-歯槽骨頂長はIC群に比べて有意な低値を示した。一方，IG群とIC群との間に有意差は認められなかった。さらに同測定長について，IC群およびIG群はHC群に比べて有意な高値を示したものの，IO群とHC群との間には有意差は認められなかった。

【結論】歯周病モデルマウスにおいて，*Coccomyxa* sp. KJ株は口腔内の患部に直接作用して歯槽骨吸収を抑制する可能性が示唆された。

P-22

イヌ歯肉退縮欠損における歯肉弁歯冠側移動術とヒアルロン酸ゲル併用による歯周組織再生

白方 良典

キーワード：歯肉弁歯冠側移動術，ヒアルロン酸，歯周組織再生，根面被覆

【目的】ヒアルロン酸（HA）は創傷治癒過程において血餅の安定化や，抗炎症作用に加え血管新生を強く促すことが知られている。さらに近年，架橋型HA（cHA）が歯肉線維芽細胞において様々な成長因子の発現を増強し，その増殖や遊走を有意に促進することが報告されている。そこで今回，歯肉退縮欠損におけるcHAゲルの歯周組織再生効果について検証を行った。

【材料と方法】ビーグル雄成犬8頭の両側上顎犬歯の頰側に裂開型軟/硬組織欠損を外科的に作製した。8週間ブラークを蓄積し感染を惹起させた。その後2週ブラークコントロールを行い，欠損の片側に歯肉弁歯冠側移動術（CAF）のみ（CAF群），対側にcHAゲルの局所応用後，CAF（CAF/cHA群）にて根面被覆を行った。臨床的パラメーターの評価に加え術後10週で動物の安楽死を行い，非脱灰研磨標本作製後，組織学的評価を行った。

【結果および考察】術後の歯肉腫脹，排膿，膿瘍形成等の合併症は全ての欠損において認められず治癒は良好であった。術前に比べ，CAF群，CAF/cHA群共に有意に歯肉退縮が改善した。アタッチメントレベルおよび歯肉退縮幅においてCAF群よりCAF/cHA群で有意に良好な結果が得られた。組織形態計測の結果，骨形成量はCAF/cHA群がCAF群に比べ有意に多かった。なおCAF/cHA群では血管を豊富に含有する歯根膜が認められ，CAF群よりセメント質形成量および結合組織性付着量が有意に多かった。これらのことからCAF/cHA群では欠損においてcHAゲルの安定性が保たれ，その多彩な生物学的機能が軟組織のみならず硬組織修復においても効果的に発現したものと考えられる。

【結論】歯肉退縮欠損において，CAFとcHAゲルの併用は良好な歯周組織再生を伴う新たな根面被覆アプローチになる可能性が示唆された。

P-24

*Porphyromonas gingivalis*を歯肉組織内に侵入させた*in vitro*歯周病様モデルの構築

阿部 真弓

キーワード：三次元ヒト歯肉上皮モデル，歯周病モデル，P.ジンジバリス，LPS

【目的】歯肉上皮細胞を気液界面培養することで構築した三次元ヒト歯肉上皮モデルに，歯周病原性細菌である*Porphyromonas gingivalis*（*P.g.*）を侵入させた歯周病様の状態を模したモデル試験系を構築することが今回の検討の目的である。本モデル系は，単層培養レベルの基礎研究や動物やヒト組織を使った試験の代替として活用されることが期待できる。

【材料と方法】馴化した三次元ヒト歯肉上皮モデルSkinEthic HGE（HGE）を，LPSを含有する維持培地，もしくはLPSを含有しない維持培地に設置した。設置後，HGE角質層側から*P.g.*を添加して，37℃の好気性条件下もしくは嫌気性条件下にて培養を開始した。培養後，HGEの角質層側をPBS（-）で洗浄して添加した*P.g.*を除去し，さらに後培養を続けた。培養終了後HGEの凍結切片（断面）を作製し，*P.g.*を免疫染色法により染色し，HGE組織内における*P.g.*の局在を共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。また，培養終了後の培地中に存在するIL-1 α の量をELISA法で定量した。

【結果と考察】嫌気性条件下でかつLPSを含有した培地で培養した場合において，*P.g.*がHGE組織内のより深部に侵入し増殖していることが確認された。また，同条件で培養した培地中にはより多くのIL-1 α が放出されていることが確認された。嫌気性菌である*P.g.*に有利な嫌気性環境と，LPSによる組織の脆弱化によって*P.g.*がHGE組織内に侵入しやすくなったことが示唆される。

【結論】今回の検討により，*P.g.*を侵入させた歯周病の病態に近いモデル系を構築することができたと考えられた。今回開発した*in vitro*歯周病様モデルは，薬剤や製剤の評価への活用が期待される。

P-25

インプラント用超音波チップの歯周ポケット内細菌に対する効果

深谷 芽史

キーワード：インプラント用超音波チップ、歯周ポケット内細菌、ポケットイリゲーション

【目的】超音波スケーラーによるポケットイリゲーションは、チップの振動と注水によりポケット内細菌を減少させるのに有効である。我々は、新たに開発されたインプラント用超音波チップを歯周病患者の歯周ポケット内に用いた場合の歯周ポケット内細菌に与える影響および使用時の疼痛について調べた。

【材料と方法】歯周治療が終了し、SPT中の患者で、前歯または小臼歯の全周に4mm以上の歯周ポケットが2歯以上存在する患者を選択した。イリゲーションにはインプラント用イリゲーションチップ(TS)と従来型のイリゲーションチップ(CS)を用いた。歯周ポケット内にチップを挿入し、1分間保持した。細菌検査はイリゲーションを行なった部位の対角の頬舌側に滅菌ペーパーポイント挿入細菌採取を行なった。これを術前、術直後、術後1週間後に検査を行なった。採取した細菌はPCR Invader puls細菌検査を用いて*P. g.*, *T. f.*, *T. d.*, *A. a.*, *P. i.*, *P. n.*について調べた。また、術中の痛みをVASにて評価した(鶴見大学歯学部倫理診査委員会承認：1731)。

【結果】総菌数および各歯周病原細菌数はTS、CSどちらにおいても術前>術直後<1週間後であり、統計的な有意差は認められなかった。一方、イリゲーション中の痛みはTSの方が痛くないまたは、変わらないという結果を得た。

【考察】インプラント用超音波チップは幅が従来のイリゲーションチップより広いことから水による洗浄効果が高いが、使用時の疼痛が生じると思われたが、実際には使用時の痛みが少なく、かつ従来のチップと同等の細菌除去効果を得ることが出来た。このことより、TSは臨床応用する上で、患者に疼痛を与えることが少なくイリゲーションできるチップであると考えられた。

P-27

ヒト歯肉上皮細胞における*Porphyromonas gingivalis*由来メンブレンベシクルの炎症性サイトカイン産生誘導機構の解明

廣島 佑香

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, Outer Membrane Vesicle, ヒト歯肉上皮細胞

【目的】*Porphyromonas gingivalis* (Pg) が産生するOuter Membrane Vesicle (OMV) は、様々な病原因子を含み、歯周組織構成細胞の増殖や分化を抑制することが報告されている。本研究では、Pg由来OMV (Pg-OMV) がヒト歯肉上皮細胞に及ぼす影響とその機構について検討した。

【材料と方法】Pg ATCC33277株およびgingipain欠失株(KDP136)の培養液を遠心分離した上清からPg-OMVおよびPgKDP-OMVを精製した。精製した各OMVでヒト歯肉上皮細胞(OBA-9)を刺激した後、RNAを抽出し、さらに培養上清を回収した。炎症性サイトカインの遺伝子発現はreal-time PCRにて、タンパク質産生はELISAにより定量した。また、MAPKやSTING細胞内シグナル伝達経路については、リン酸化抗体やsiRNAを用いて検討した。

【結果および考察】Pg-OMV刺激によりOBA-9細胞においてIL-6およびIL-8の遺伝子発現およびタンパク質産生が未刺激と比較して有意に増加した。また、Pg-OMV添加後の炎症性サイトカイン遺伝子発現はPg-LPSと比べて上昇し、PgKDP-OMVでも同等の発現を示した。さらに、Pg-OMVは、OBA-9細胞のERK、JNKおよびNF-κBのリン酸化を亢進したが、STINGのノックダウンによりIL-8の発現が抑制された。これらの結果より、Pg-OMVは多数の病原因子を含有しており、ヒト歯肉上皮細胞において複雑なシグナル伝達経路を介して炎症性サイトカインの発現誘導に関与していることが示唆された。

P-26

Shikoninがヒト歯肉組織の創傷治癒に及ぼす影響

今井 一貴

キーワード：シコニン、ヒト歯肉線維芽細胞、ヒト歯肉上皮細胞、創傷治癒

【目的】紫根の有効成分であるShikoninは、古来より抗炎症効果や抗歯菌作用を有し創傷治癒を促進すると報告されとくに皮膚や粘膜に有効とされている。本研究ではShikoninの歯周組織に対する創傷治癒を評価するために、ヒト歯肉線維芽細胞(hGF)や歯肉上皮細胞に対するShikoninの細胞増殖、細胞遊走および抗炎症作用について評価を行った。

【材料と方法】埋伏智歯抜歯を行う患者から採取した歯肉より分離して、hGFを樹立し実験に供した。hGFを各種濃度のShikonin(0.01, 0.1, 1, 10, および100μM)で培養し細胞増殖、遊走および細胞外マトリックスの産生を評価した。Shikoninの歯肉上皮細胞epi4(大阪大学村上伸也教授より御供与)に対する細胞増殖能および抗炎症作用を調べるために、ヒトリコンビナントIL-1bにて炎症状態を惹起しShikoninの抗炎症作用をELISA法を用い炎症性サイトカインの産生を調べた。

【結果】Shikonin(1μM)はhGFの増殖と遊走を有意に促進した。10および100μMのShikoninによって細胞毒性を誘導した。また、I型コラーゲン産生を促進しVEGFおよびFNの遺伝子発現を増加させた。また、Shikoninはepi4に対し細胞増殖能を示しepi4をIL-1bにて刺激後Shikonin(0.001μM)で処理するとIL-6およびIL-8の産生を抑制した。

【考察】ShikoninはhGFの細胞増殖、遊走、I型コラーゲン産生、VEGFおよびFNの遺伝子発現を促進しepi4の細胞増殖および抗炎症作用を有し、Shikoninは歯周組織の創傷治癒に有用であると示唆される。

P-28

不妊治療中患者に対する血清IgG抗体価検査を用いた歯周病原細菌の感染度調査

亀井 千晶

キーワード：不妊症、*Porphyromonas gingivalis*

【目的】不妊の原因として、年齢や男女の生殖機能異常等が挙げられる。一方、器質的な異常を確認できない原因不明不妊が不妊症全体の約1/3を占めると報告されている。近年、歯周病原細菌である*Porphyromonas gingivalis* (Pg)の感染が妊娠成立に悪影響を及ぼす可能性が示唆されている。しかし、実際に不妊治療を受けている患者における歯周病原細菌の感染度は不明である。本研究では、現在不妊治療中の患者を対象に、歯周病原細菌に対する血清IgG抗体価を測定して、感染度を調査した。

【材料と方法】対象患者は、2020年1月~2020年4月の間に、協力産婦人科医院を受診した30歳以上45歳未満の不妊治療中患者および自然妊娠妊婦、各30名とした(岡山大学倫理委員会承認番号：研1909-023)。採取した血液から血清を分離し、Pgを含む歯周病原細菌14菌株に対するIgG抗体価をELISA法にて測定した。統計解析は、Mann-WhitneyのU検定を用いた。

【結果と考察】平均年齢は、不妊治療患者群が34.1±3.3歳、自然妊娠妊婦群が33.1±3.0歳で同等であった(p=0.225)。不妊原因が不明な不妊治療患者は16名(53.3%)であった。不妊治療患者群では、Pg FDC 381およびW83に対する抗体価が上昇する傾向を示した。一方、他の菌株に対する抗体価には差がなかった。不妊治療患者群ではPgの抗体価が上昇していたことから、Pgの感染が不妊環境の構築に関与する可能性が示唆される。今後は、調査対象数を増やすとともに、抗体価の高い不妊治療中患者の歯周感染と炎症状況を調査する予定である。

P-29

歯肉上皮細胞のバリア機能に及ぼすスルフォラファンの効果

菅野 真莉加

キーワード：酸化ストレス、スルフォラファン、歯肉上皮

【背景】スルフォラファン (SFN) はブロッコリースプラウトに含まれるファイトケミカルの一種で、細胞の酸化ストレス耐性を制御する転写因子Nrf2 (NF-E2 related factor 2) を活性化することが報告されている。歯周病局所では、感染防御のための好中球由来の活性酸素が酸化ストレスとなり病態を増悪させている可能性があるが、これまでにSFNのようなNrf2誘導剤を歯周病に対して予防的に応用している研究はない。そこで我々は、SFNが歯肉上皮細胞のバリア機能に及ぼす影響を調べることにした。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮細胞株 (Ca9-22) に各種濃度のSFNを添加し、細胞障害性をLDH assayで、細胞生存率をCCK-8 assayで評価し、SFNの最適濃度を決定した。次に、酸化ストレスによるNrf2の活性化を確認するために、Ca9-22を各種濃度の過酸化水素 (H₂O₂) で刺激し、Nrf2の核内移行量の変化をSFNの前処置の有無と比較した。続いて、FITC-dextranを用いた透過性アッセイと、リアルタイムPCRによる*ITGB4*、*DSG3*、*CLDN1*の遺伝子発現量から細胞接着装置に及ぼすSFNの前処置の影響を評価した。

【結果と考察】Ca9-22におけるSFNの最適濃度は10μMであった。H₂O₂濃度によらずNrf2の核内移行量は変化しなかったが、SFN前処置後はH₂O₂濃度依存的に増加したことから、SFNは歯肉上皮細胞において酸化ストレスによるNrf2の核内移行を促進する可能性が示唆された。FITCの透過係数はH₂O₂濃度依存的に増加したが、SFNの前処置により減少した。また、H₂O₂濃度依存的に減少した*ITGB4*の発現量はSFNの前処置により回復したことから、SFNは歯肉上皮細胞の細胞接着装置の一部の発現に影響を及ぼすことで上皮のバリア機能を維持する可能性が示唆された。

P-31

相模原市の歯周疾患検診 (平成30年度：40~80歳) における市民の実態と事業評価について

上重 寛幸

キーワード：歯周疾患検診、CPI、アンケート調査

【目的】各地方自治体で実施されている歯周疾患検診は、健康増進法施行規則の「市町村による健康増進事業」に位置付けられており、健康増進事業実施要領では、対象者を「当該市町村の区域内に居住地を有する40歳、50歳、60歳及び70歳の者」の節目年齢としている。そのため、事業評価については、受診率を評価指標として用いている自治体が多く、事業の効果を客観的に評価している自治体は少ない。そこで相模原市において、平成30年度の歯周疾患検診受診者に対してアンケートによる事後調査を実施することで、受診者の行動変容について調査し、事業の効果について評価を行った。今回、相模原市民の口腔内の状況と生活習慣の実態及び事後調査の結果について報告する。

【材料および方法】平成30年度に、相模原市在住の3,483人 (40歳~80歳) に対して、歯周疾患検診 (市内226歯科医療機関) を実施した。検診内容は、生活習慣等 (ブラッシングの頻度と時間・補助的清掃器具の有無・かかりつけ歯科医院の有無・定期歯科健康診査の有無・喫煙歴等) の問診に加えて、現在歯の状況、CPI、口腔清掃状況等について診査を行った。歯周疾患検診を実施して概ね1年後に、アンケート用紙 (検診時の問診項目と同じ内容) を郵送し事後調査を行った。

【結果および考察】歯周疾患検診の結果より、受診者の8割以上が「かかりつけ歯科医がいる」と回答しているが、定期的に受診していたのは7割弱であった。また受診者の7割近くが、4mm以上の歯周ポケットを有していた。また、事後調査の結果より、生活習慣の改善が認められた項目があったが、各医療機関で実施する歯科保健指導の精度を高めていく必要があることが示唆された。

P-30

酸化膜形成純チタン金属表面上におけるII型糖尿病モデルラット骨髄由来間葉系細胞の硬組織分化制御に及ぼすグルコース濃度の影響

武 慶超

キーワード：II型糖尿病、間葉系細胞、硬組織分化、酸化膜

【目的】糖尿病は生活習慣病の一つで、歯周病の発症や進行において密接な関連があり、オッセオインテグレーションを低下させると従来より報告されている。本研究では、グルコース濃度が、酸化膜形成純チタン表面上での硬組織形成と、骨吸収リスクの指標の一つであるRANKL/OPG比に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】材料は市販JIS規格2級純チタンを#1500まで研磨し、600℃で1時間加熱し、表面上に酸化膜を形成したものを実験に使用した。生後8週齢Goto-Kakizaki雄性ラットの大腿骨骨髄から骨髄間葉系細胞を単離供試した。チタン表面上に播種後、空腹時血糖値を参考に、5.5mM (99mg/dL)、8.0mM (144mg/dL)、12mM (216mg/dL)、24mM (432mg/dL) の4群に濃度調整した培養液で硬組織分化誘導を行い、ALP活性、OCN産生、細胞外マトリックスへのCa析出量、RANKL/OPG比と炎症性サイトカインの発現について検討した。

【結果】硬組織分化誘導2週目のALP活性は、グルコース濃度の上昇とともに減少した。硬組織分化誘導4週目OCN産生量とCa析出量がグルコース濃度8.0mMで減少したが、8.0mMより高濃度になるとグルコース濃度上昇とともに増加し、Ca/P比も同様の傾向を示した。硬組織分化誘導3、4週目の炎症性サイトカインは、高グルコース濃度によって高い発現を認めた。RANKL/OPG比は高グルコース状態では高値を示した。

【結論】酸化膜形成純チタン金属表面上において、高グルコース環境では硬組織の形成が増加したが、形成された硬組織は通常グルコース状態のものとは異なり骨吸収しやす状態であることが示唆される。

P-32

アニメーション動画を用いたブラッシング指導に関する取り組み (第一報)

前田 祐貴

キーワード：歯周病、ブラッシング指導、アニメーション

【目的】プラークコントロールは歯周病の治療の基本であり、ブラッシングは患者自身が行う、治療の一つとして重要なファクターである。ブラッシング指導は良好なプラークコントロールを習得し、維持・継続していくため繰り返し患者に対して行う必要があるが、限られた診療時間内では患者が十分に理解しブラッシングを習得するまで指導することは難しい。そこで、患者が診療室だけではなく自宅などでも簡単に繰り返し、自らの歯列にあった最適なブラッシング方法を視聴し学習することで良好な口腔清掃状態を獲得できるシステムの構築を目指した。

【方法】近年スマートフォンやタブレット等が普及し、日常生活において欠かせないツールとなっていることから、このようなデバイスから視聴できることを目標とした。上顎前歯、下顎前歯など部位ごとに細かく分け、動画の作成を行った。これらの動画を専用アプリケーションにアップロードし、患者個人にアプリケーションをダウンロードして使用してもらうことを想定している。各動画には番号を振り分け、患者に対して診療室でのブラッシング指導の後、その日に指導した内容とリンクする動画の番号を伝え、自宅等で患者自身にその動画を視聴してもらうことで、ブラッシング指導内容の振り返りをしてもらう。

【結果・考察】本人が不得意とする部位を診療時に伝え、患者本人が気軽に視聴できるよう工夫を行った。1動画あたり1分前後であるため、スキマ時間などに視聴することが出来るのではないかと考えられる。親しみやすい映像とするためにアニメーションを用いたが、その性質上デフォルメされてしまう部分があり、リアリティとの兼ね合いをとっていく必要があると考えられる。今後はさらに動画の種類を増やし、また患者に実際に動画を視聴させ、アンケートなどで使用感などを調査することで、実際の臨床で活かせるようにアップデートをおこなってきたい。

P-33

SSEA-4陽性ヒト歯根膜線維芽細胞におけるアラントインの増殖性と遊走性の評価

野村 智

キーワード：アラントイン、歯根膜線維芽細胞、組織修復、stage-specific embryonic antigen (SSEA) -4

【緒言】アラントインは組織修復成分として一般用医薬品に用いられるが、口腔内での効果については十分に検討されていない。本研究では、ヒト歯根膜幹細胞マーカーとして報告されている stage-specific embryonic antigen (SSEA) -4陽性歯根膜線維芽細胞を単離し、アラントインが細胞の増殖と遊走に与える効果を評価した。

【方法】市販のヒト歯根膜線維芽細胞 (ScienCell社製) から、SSEA-4陽性細胞をフローサイトメトリーにより単離した。得られたSSEA-4陽性細胞をアラントイン含有DMEM培地で72時間培養し、Hoechst 33342を用いた核染色による細胞数計測を行った。また、ハイドロゲル除去後の細胞遊走を観察するRadius 96-Well Cell Migration Assay (Cell Biolabs) を用い創傷治癒作用に関する評価を行った。

【結果と考察】ヒト歯根膜線維芽細胞から単離したSSEA-4陽性細胞数において、アラントインは濃度依存的に細胞増殖を示し、アラントイン0.002mg/mLの添加においてネガティブコントロールに対し約1.9倍の細胞増殖を示した。また創傷治癒作用に関する評価において、アラントインは濃度依存的にSSEA-4陽性細胞の遊走を促進することを確認した。以上の結果は、歯周組織再生時に重要な役割を果たすと思われるSSEA-4陽性ヒト歯根膜線維芽細胞において、アラントインが組織修復に関わる効果を示す可能性を示唆する。

【結論】組織修復成分として知られるアラントインは、歯根膜線維芽細胞から単離したSSEA-4陽性細胞の増殖・遊走を促す効果があることが明らかとなった。

P-34

3色性歯垢染色材の色変化及び*S.mutans* バイオフィルムの染色性評価

有馬 恵美子

キーワード：デンタルブラーク、歯垢染色材、う蝕、歯周病

【目的】従来の2色性歯垢染色材はブラークの成熟度の違いを染め分けられるのに対し、我々はpHの違いまで識別可能な3色性歯垢染色材 (Tri Plaque Indicate Dye, TPID) を開発した。本研究では、TPIDのpHによる色変化及びpHの異なるバイオフィルムの染色性を評価したので報告する。

【材料および方法】0.1M乳酸緩衝液 (pH2, 3, 4, 5, 6, 7) を調整し、TPIDを1%となるよう添加して試験液とした。分光光度計にて吸収スペクトルを測定し、吸収ピークである550nm (赤色) 及び630nm (青色) の吸光度を算出した。バイオフィルムは*S.mutans* (ATCC25175) を2及び5日間嫌気培養して作製し、表面のpHを測定後、TPIDにて染色を行い画像撮影した。データは統計解析ソフトを用いて多重比較検定を行った。

【結果】TPIDはpHの低下に伴い550nmの吸光度が減少し、pH4以下で一定となり、pH4と7の間には有意な差を認めた ($p<0.01$)。バイオフィルムの染色性の比較では、2日目pH4.6で紫色、5日目ではpH3.9で青色を呈した。

【考察及び結論】TPIDはpHが低くなるにつれて550nmの吸光度が減少し、pH4以下でピークが確認できなくなることから、pH4以下の酸性域で赤色が消失して青色に見えると考えられる。また、pH4.6と3.9のバイオフィルムについて染め分けが可能であったことから、pHの異なるブラークを識別可能であることが示唆された。以上の結果より、TPIDはブラークの成熟度の染め分けに加え、pHに応じた染め分けが可能である臨床上有用な製品であることが示唆された。

P-35

アローマインジェクションによる連合印象採得後の撤去時の引き抜き力の評価

新関 尚史

キーワード：印象材、抜歯、アルジネート印象材、シリコン印象材

【目的】歯周病が進行した多数歯欠損の患者に対して補綴装置を製作する際に精密印象が必要となる場合がある。精密印象には寒天印象材及びシリコン印象材が使用されているが、歯周病が進行した患者に対して寒天印象材では熱刺激があり、シリコン印象材では硬化後の印象体が固すぎて撤去時に抜歯してしまうリスクが存在する。2020年11月に発売された「アローマインジェクション (ARI)」(連合印象用アルジネート印象材) は精密印象採得が可能でシリコン印象材よりも弾性がある。そこで本研究では、ARIによる連合印象後の印象体の引き抜き力について評価を行い、歯周病が進行した患者に対するARIの有用性を検証することを目的とした。

【材料と方法】材料にはボディマテリアルにアローマファインプラス (AFP) および他社製品A (シリコン印象材)、ウォッシュマテリアルにARIおよび他社製品B (シリコン印象材) を使用した。ユニファストIIに包埋した歯牙模型に対して連合印象し、オートグラフ (島津製作所, EZ-20) にてクロスヘッドスピード50mm/minで印象体を引っ張り、その引き抜き力を測定した。

【結果と考察】AFPとARI、他社製品Aと他社製品Bによる連合印象体の引き抜き力はそれぞれ13.5N、26.1Nであった。アルジネート印象材であるARIは高分子多糖類が主成分であり弾性があるのに対し、シリコン印象材はゴム質であるため弾性が非常に小さく硬い材料であることから、引き抜く際により力が必要になったと考えられる。

【結論】歯周病が進行した多数歯欠損の患者に対して、アルジネート印象材による連合印象はシリコン印象材による連合印象に比べ撤去が容易であり、抜歯のリスクを低減できることが示唆された。

P-36

FDC-SP 遺伝子発現に対するIL-6の影響

鶴屋 祐人

キーワード：FDC-SP、接合上皮、転写調節、IL-6

【緒言】Follicular dendritic cell secreted protein (FDC-SP) は、濾胞樹状細胞で発現する低分子の分泌タンパク質で、歯周組織では接合上皮および歯根膜で発現する。本研究では、炎症性サイトカインであるIL-6によるFDC-SP遺伝子の転写調節機構を解明するため、ヒト歯肉上皮細胞 (Ca9-22細胞) でのFDC-SP遺伝子発現に対するIL-6の影響を解析した。

【材料と方法】Ca9-22細胞をIL-6 (10ng/ml) で経時的 (3, 6, 12および24時間) に刺激し、FDC-SP mRNAおよびタンパク質の変化をリアルタイムPCRおよびウェスタンブロットで解析した。FDC-SP遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼ (LUC) コンストラクトをCa9-22細胞に導入し、IL-6で12時間刺激後、LUC活性を測定した。Ca9-22細胞をIL-6で経時的に刺激した核内タンパク質を抽出し、FDC-SP遺伝子プロモーターとの結合をゲルシフトアッセイで解析した。さらに、クロマチン免疫沈降法 (ChIPアッセイ) を行い、細胞内での遺伝子プロモーターと転写因子の相互作用を解析した。

【結果と考察】Ca9-22細胞をIL-6で刺激すると、FDC-SP mRNAおよびタンパク質量は6, 12および24時間後に増加した。-345塩基対上流までのFDC-SP遺伝子プロモーターを含むLUCコンストラクトの活性は、IL-6刺激で上昇したが、Aキナーゼ、チロシンキナーゼ、MEKおよびPI3キナーゼ阻害剤によりLUC活性の上昇が抑制された。ゲルシフトおよびChIPアッセイの結果、C/EBPおよびYY1配列への核内タンパク質の結合が6および12時間後に増加したことから、IL-6による転写調節はC/EBPおよびYY1が関与する事が示唆された。

P-37

歯肉炎モデルにおけるニコチン曝露下のヒト歯肉由来血管内皮細胞に及ぼす影響

佐藤 柚香里

キーワード：ヒト歯肉由来血管内皮細胞, ニコチン

【目的】近年、喫煙は、歯周病のリスクファクターとして注目されている。喫煙時に発生するたばこ煙に含まれるニコチンは、歯周組織の免疫応答に影響を及ぼし、歯周病罹患時においては、さらに歯周病の重症化を引き起こすことが知られている。しかし、現在、喫煙と歯周病に関する基礎研究は数多く報告されているが、歯周組織の免疫応答に関与するヒト歯肉由来血管内皮細胞 (HGEC) へのニコチンの影響について検討した報告は少ない。そこで本研究は、*P.g*由来LPS添加培地で培養したHGECを歯肉炎モデルと想定し、HGECにニコチンを曝露させ、HGECの生理活性に及ぼす影響について解明することを目的とした。

【材料および方法】HGECは、5%FBS含有血管内皮細胞用培養液にニコチン (10⁻⁸M)、*P.g*由来LPS (1μg/ml) を添加し、培養した。評価項目は、細胞増殖、アポトーシス陽性細胞の割合、血管内皮細胞の炎症マーカーであるIntercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) の測定とした。ICAM-1の発現は、Real-time PCR, ELISAを用いて解析した。controlは、ニコチン・LPSを添加していない培地のみのものでした。統計学的検定は、一元配置分散分析を行い、Tukey検定を用いた。(倫理番号：ECNG-R-391)。

【結果と考察】細胞増殖は、10⁻⁸M+LPSにおいてcontrolと比較して、細胞増殖の抑制を認めた。アポトーシス陽性細胞の割合は、有意差を認めなかった。ICAM-1の発現は、Real-time PCR, ELISAともにcontrolと比較して、10⁻⁸M+LPSにおいて増加を認めた。よって、歯周病罹患時におけるニコチン摂取は、歯肉組織の微小血管における生理活性を抑制し、炎症反応をより亢進させ、歯周病の病態悪化につながることを示唆された。

P-39

肺炎と歯周病との関連 -*P. gingivalis*はTLR2を介して気管支・咽頭上皮細胞から炎症性サイトカイン産生を誘導する -

渡辺 典久

キーワード：肺炎, 炎症性サイトカイン, 呼吸器上皮細胞

【目的】肺炎やCOPD等の患者の気管支肺胞洗浄液や痰等から歯周病原菌をはじめとする口腔細菌が検出される。下気道の炎症に口腔細菌が深く関与していると考えられるが、歯周病原菌がどのように肺炎の発症に関与しているのかは未解明のままである。我々は、これまで*F. nucleatum*や*P. gingivalis* (*P. g*) が肺炎の発症において中心的な役割を担う炎症性サイトカインの産生と肺炎起因菌のレセプター：PAFRの発現を誘導することを報告してきた。今回、種々の呼吸器上皮細胞において、*P. g*による詳細なサイトカイン誘導機構を検討したので報告する。

【方法と結果】*P.g*は、気管支・咽頭上皮細胞、及びマウスを用いた実験において、肺炎球菌と比較し数倍以上強くIL-8やIL-6の産生を誘導した。WBと阻害剤を用いた解析から、*P.g*による両サイトカインの産生には、主にNF-κBが、その他にp38とJNKが関与していた。次に、宿主側のレセプターを検討するためにTLR2とTLR4の中和抗体を前処理しIL-8、IL-6の定量を行なった。その結果、気管支・咽頭上皮細胞において*P. g*誘導性の炎症性サイトカイン産生は、TLR2の中和抗体によりほぼ完全に抑制された。さらに、293細胞にTLR2もしくはTLR4を安定的に発現させた細胞に、NF-κB luc.を導入しLuciferase assayを行った結果、*P. g*は293/TLR2細胞でのみ量依存的にNF-κBを活性化した。

【考察】特に口腔機能が低下している有病者や高齢者は慢性的に唾液と共に歯周病原菌を誤嚥している。本研究により*P. g*は、気管支上皮、及び咽頭上皮細胞においてTLR2に作用し、炎症性サイトカインの産生を誘導することにより肺炎の発症に深く関与していることが示唆された。

P-38

大豆ペプチドは*Fusobacterium nucleatum*のバイオフィーム形成を阻害する

松岸 葵

キーワード：*Fusobacterium nucleatum*, バイオフィーム, 大豆ペプチド

【目的】他菌種からなるバイオフィームの制御には、*Fusobacterium nucleatum*の抑制が重要となることが一般的に知られている。大豆由来ペプチドBCBS-11は強いカチオン性を有し、*Candida albicans*などの口腔内細菌に対して抗菌活性を示すことが報告されている。そこで本研究では、BCBS-11が*F. nucleatum*のバイオフィームに及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】*Fusobacterium nucleatum* ATCC25586株 (2×10⁸ CFU/ml)の培養液に、BCBS-11 (RIRLLQRFNKR) を添加し、バイオフィーム形成阻害作用および除去作用をクリスタルバイオレット染色にて解析した。その抗菌メカニズムを検討するため、最小発育阻止濃度 (MIC), 最小殺菌濃度 (MBC) を測定し、Live/Dead染色にてペプチドの膜傷害性を評価した。

【結果と考察】*F. nucleatum*に対しBCBS-11はバイオフィーム形成阻害作用を示したが、除去作用は認めなかった。*F. nucleatum*に対するBCBS-11のMICは50μM, MBCは100μMであり、殺菌的に作用することが示唆された。Live/Dead染色の結果から、BCBS-11は*F. nucleatum*に対する強い膜傷害性を有することが明らかとなった。

【結論】BCBS-11は、*F. nucleatum*に対してバイオフィーム形成阻害作用を示した。その抗菌活性メカニズムとして、強い膜傷害性を有し、殺菌的に作用することが示唆された。

P-40

歯周病とCOPD増悪との関連 -*Fusobacterium nucleatum*は気管支上皮細胞とマウス肺のバリア形成を阻害する -

横江 将

キーワード：歯周病, 慢性閉塞性肺疾患, 呼吸器上皮細胞

【背景及び目的】最近、歯周病が慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪因子であることが欧米のみならず我が国でも報告された。COPDは肺胞が破壊された肺気腫と慢性気管支炎の総称で世界の死因第3位である。しかし、歯周病がどのようにCOPDの増悪に関与しているのかは不明である。COPDが進行すると気管支や肺胞上皮のバリア機能が破壊されるため、細菌やウイルスの侵入による炎症が惹起される。また、COPD急性増悪患者の喀痰では歯周病原菌*F. nucleatum* (*F.n.*)の抗体価が増加することも報告されている。そこで今回、*F.n.*が呼吸器のバリア機能を破壊するのではないかと推察し実験を行った。

【材料及び方法】トランスウェルプレートで気管支上皮細胞を培養し*F.n.*を添加後、経上皮電気抵抗値 (TER) の測定と、蛍光標識デキストランを用いて細胞間隙径路の評価を行う事によりバリア機能を評価した。また、バリア形成に関わる17種の遺伝子発現を検討するとともに、マウスに*F.n.*を誤嚥させた後、肺におけるバリア破壊も調べた。

【結果及び考察】*F.n.*は時間及び濃度依存的に気管支上皮細胞におけるTER値を低下させたことから、*F.n.*によりバリア形成が阻害されていることが推察された。実際に、*F.n.*の添加によりデキストランの透過性が促進したため、上皮細胞のバリア破壊が起こっていることが解った。また、*F.n.*誤嚥マウスにおいても血清中にデキストランが検知された事から、肺胞のバリア破壊が起こっていることが示唆された。バリア破壊のメカニズムを検討した結果、*F.n.*によりClaudin1やZO2等のバリア形成に係る遺伝子の発現が低下することが認められた。以上の結果から、歯周病原菌は呼吸器上皮のバリア形成の破壊を引き起こし、細菌やウイルスなどの感染を惹起することによりCOPDの増悪に関与していることが示唆された。

P-41

*Porphyromonas gingivalis*由来のLPSによる心疾患発症におけるレニン-アンジオテンシン系の役割
清本 賢一

キーワード: *Porphyromonas gingivalis*, リポポリサッカライド, 心疾患

【目的】 歯周病は心疾患のリスクファクターであることが疫学調査から明らかにされている。我々は*Porphyromonas gingivalis* (PG)由来リポポリサッカライド (PG-LPS) をマウスに少量持続投与 (0.8mg/kg/day ip) を行うことで心臓リモデリング (アポトーシスと線維化) と心機能障害が誘導されることを報告した (第64回日本歯周病学会学術大会)。レニン-アンジオテンシン系 (RAS) は心臓リモデリング発症に重要な役割をはたすことが報告され、その抑制剤カプトプリル (Cap) は心不全治療薬として広く臨床で用いられている。本研究の目的は、PG-LPSの慢性持続投与で誘導される心機能障害におけるRASの活性化が重要であるという仮説の検証を行うことである。

【方法】 雄性マウス (C57BL6/J, 12週齢) を用いてPBS投与群 (Control群), PG-LPS投与群 (0.8mg/kg/day, ip), Cap投与群 (0.1mg/ml飲水投与), PG-LPS + Cap投与群を作成した。Cap投与1週後の心機能 (心拍出量) を心エコーで測定したところ、PG-LPS投与群ではControl群に比較して有意に低下した (Control (n=6) vs. PG-LPS (n=7): 66 ± 1.8 vs. $59 \pm 2.5\%$, $P < 0.001$)。しかしCapの併用投与はその効果は有意に抑制した ($63 \pm 1.1\%$ vs. PG-LPS, $P < 0.05$, n=6)。

【結論】 歯周病による心疾患の発症におけるRASの重要性が示唆された。

P-42

歯周病原細菌と肺炎球菌を用いた肺炎モデルマウスにおける免疫応答の解析
岡部 徹平

キーワード: 肺炎, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus pneumoniae*

【目的】 超高齢者社会となった我が国で問題になっている高齢者における肺炎の多くは誤嚥性肺炎であり、肺炎球菌や歯周病原細菌が起因菌になると考えられている。しかし、その病態形成や免疫応答の動態は不明な点が多い。そこで、歯周病患者における誤嚥性肺炎を想定した歯周病原細菌と肺炎球菌の混合感染による実験的肺炎モデルマウスを確立し、サイトカイン・ネットワークによる免疫応答及び感染増悪機構を解明することを目的とした。

【材料と方法】 C57BL/6マウスに*Streptococcus pneumoniae*菌液、*Porphyromonas gingivalis*の培養上清の混合懸濁液を気管内投与し、肺感染を惹起させた。屠殺後、肺の摘出を行い、右肺から好中球集積に関与するサイトカイン (KC, Mip-2, IL-17), IL-17の誘導に関するサイトカイン (TNF- α) 産生をqPCR法, ELISAにて解析した。また、回収した左肺からパラフィン包埋切片を作製後、H・E染色を施し、炎症性細胞浸潤の程度を解析した。

【結果と考察】 C57BL/6マウスへの*S.pneumoniae*菌液、*P.gingivalis*の培養上清の混合懸濁液による感染は*S.pneumoniae*単独感染と比較し、肺炎局所における上記サイトカイン産生を有意に増加させた。また、同混合懸濁液による感染は単独感染と比較し、肺組織内への炎症性細胞浸潤を有意に増加させた。

【結論】 *P.gingivalis*の培養上清は、*S.pneumoniae*感染による肺炎局所における炎症性サイトカイン産生、炎症性細胞浸潤をより促進し、過剰な免疫応答を誘導することで肺炎を増悪させることが示唆された。

P-43

ラット頭頂骨GBRモデルにおけるマイクロ穿通孔が骨増生に及ぼす影響
妹尾 一輝

キーワード: Tiハニカムメンブレン, ラットGBRモデル, 骨再生

【目的】 歯周病患者に歯科インプラント治療をおこなう際、垂直方向における骨再生誘導法 (GBR: guided bone regeneration) が必要となる症例は少なくない。ラット頭頂骨GBRモデルを用いた過去の研究において、遮断膜における穿通孔の大きさが垂直的骨増生に影響することが示された。本研究では、ラット動物モデルを用いて、チタンメンブレンのマイクロサイズ穿通孔が骨増生に及ぼす影響を検討した。

【材料及び方法】 マイクロサイズ穿通孔を有するチタンメンブレンとしてTiハニカムメンブレン (MORITA) が、対照群には既存のチタンメッシュ (ProSeed) を用いた。ラット頭頂骨にトレフィンバーを用いて、左右対称に5mmの外周溝を作製し、その内側にラウンドバーで骨髄穿通を行い、実験母地を作製した。骨補填材Bio-Oss (Geistlich) を装填した筒状のプラスチックを実験母地に設置し、筒天井部をメンブレンにて塞いだ後、骨膜および皮膚を縫合した。動物実験用マイクロCTによる観察を12週間行った後、組織切片を作製し、組織学的に観察をおこなった。

【結果及び考察】 動物実験用マイクロCT観察ではプラスチック内部の不透過性充進はTiハニカムメンブレン群で顕著であったものの、群間に統計学的有意差は認められなかった。組織学的評価では、両群ともに骨補填材周囲を取り囲むように骨様組織新生像が認められた。チタンメッシュ群では、メンブレン直下に軟組織侵入が認められたが、Tiハニカムメンブレン群では認められなかった。また、Tiハニカムメンブレン群では口径の小さな血管が数多く散在しているのが確認された。

【結論】 チタンメンブレンにおけるマイクロサイズ穿通孔は軟組織侵入を阻害するとともに微小血循環獲得を促進することが示唆された。

P-44

歯周病評価における最適検査部位の選定 一項目反応理論Graded response modelの応用—
両角 俊哉

キーワード: 歯周炎, 疫学的指標, 項目反応理論, 口腔内検査, 診断, 部分診査法

【目的】 疫学調査や集団検診などの公衆衛生における歯周組織検査の実施においては、実際の口腔内歯周状態を反映する簡潔な指標が必要である。従来の部分診査法では、指標により代表歯が異なり、その選択の正当性も示されていなかった。そこで本研究において、項目反応理論に基づくgraded response modelを応用し、歯周疾患の罹患状態を表す最適代表歯と部位を選定することとした。

【材料と方法】 17の日本歯周病学会認定研修施設において歯周基本治療もしくは歯周外科治療を終えた40~70歳の慢性歯周炎患者254名を被験者とした。初回フォローアップ時の全顎歯周組織検査データ (臨床的アタッチメントレベル, プロービングデプス, プロービング時の出血) について、項目反応理論に基づくgraded response modelにて解析し、公衆衛生学的指標に最適代表歯および部位を選定した。

【結果と考察】 左右の上顎第2小臼歯 (口蓋側近心), 第1小臼歯 (口蓋側遠心), 犬歯 (口蓋側近心), 側切歯 (口蓋側中央), 中切歯 (口蓋側遠心) および下顎第1小臼歯 (舌側近心) の計12部位が選定された。これら部位の臨床的パラメーターを測定することで、全顎歯周組織検査値を高い精度で予測することができる。

【結論】 本研究において我々は、エビデンスに基づいた部分診査法とそのモデル化を提示した。