

一般演題口演

(B会場・C会場)

B 会 場

O-11~16

C 会 場

O-01~10

9月2日 (金) C会場 8:50~ 9:30, 9:40~10:40

9月3日 (土) B会場 9:00~10:00

O-01

*Porphyromonas gingivalis*由来ジンジバイン抗体の
歯周組織破壊への影響についての検討

田村 哲也

キーワード：歯周病, ジンジバイン, IL-6, TNF- α

【目的】歯周炎は慢性的な感染症であり, 原因細菌の1つとして *Porphyromonas gingivalis* (以下Pg) が知られている。病原因子として 莢膜, 線毛, ジンジバインが知られており, 特にジンジバインはプロテアーゼ活性を持ち, 強い細胞障害性があることが知られている。これまでの先行研究から歯周炎患者の血清抗体価検査でPgに対する抗体価が上昇するが, ジンジバインがその対応抗原として反応している。本研究では, ジンジバインの歯周組織破壊への影響を明らかにするために, 抗ジンジバイン抗体に着目して検討した。

【材料と方法】ジンジバインはHis-tag RGPを使用した(長崎大学 庄子幹郎先生から供与)。RGPの作用を検討するため, ヒト歯肉上皮細胞(HGEC), ヒト線維芽細胞(HGF), マウス骨髄由来単球細胞(moBMC)にRGPを作用させた。培養上清中のIL-6量をELISAで, IL-6 mRNA発現をreal time PCRで検討した。歯周組織破壊におけるRGPの影響を検討するため, C57BL/6マウスにRGPを腹腔内投与し, 2週間後からPg 10^8 CFU/ml, 2%CMC (Carboxy methylcellulose)を3日毎, 6週間口腔内に感染させた。屠殺後歯槽骨, 血清, 歯周組織から骨吸収, 及びIL-6量を測定した。

【結果と考察】RGP添加によって, HGEC, HGF, moBMCのIL-6産生量が増加した。IL-6 mRNA発現量もRGP添加によって誘導を認めた。マウスモデルにおいて, RGP投与群は非投与群と比較して, 抗RGP抗体価は上昇した。また, 歯槽骨吸収も増加した。さらに血清, 歯周組織におけるIL-6の産生量も増加していた。以上からRGPが免疫応答を惹起し, 歯周組織の破壊が増悪されることが示唆された。

O-03

リンパ管新生誘導による歯周組織修復促進

松本 修治

キーワード：歯周組織, リンパ管新生, リンパ管内皮細胞, アポトーシス

【目的】損傷を受けた組織の修復過程において, リンパ管ネットワークの再構築が正常な治癒を促進することが明らかとなっている。我々はこれまでに歯周組織のリンパ管ネットワークを三次元的に解析し, 歯周組織の創傷治癒時に同ネットワークの密度が増加することを示してきた。本研究では, リンパ管新生誘導因子の局所投与が歯周組織修復に与える影響を検討するとともに, 培養リンパ管内皮細胞(LEC)を用いて同メカニズムを解明することを目的とした。

【材料と方法】C57BL/6Jマウス上顎第二臼歯周囲に絹糸を1週間結紮することで歯周組織損傷を引き起こした。結紮除去後の修復歯周組織過程において, PBSもしくはリンパ管新生に特異的に作用する血管内皮細胞増殖因子-C156S(C156S)をマイクロインジェクションにて歯周組織に局所投与し, 歯周組織修復過程について解析を行った。また, Prox1-tdTomatoマウスより樹立した歯肉LEC培養中に, PBSもしくはC156Sを添加し, その遺伝子発現をRNAシークエンスにより解析した。

【結果と考察】マイクロCT解析より, C156S投与群においてPBS投与群と比べて統計学的に有意な修復歯槽骨の増加を認めた。また, C156Sを添加した培養歯肉LECの網羅的遺伝子解析の結果, 統計学的に有意に発現変動した遺伝子を同定した。さらに同遺伝子群のGene Ontology解析により, C156S添加がアポトーシスに関与する遺伝子の発現を変動させることが明らかとなった。

【結論】リンパ管誘導因子はLECのアポトーシス制御を介して損傷歯周組織の修復を促進していることが示唆された。

O-02

メカノレスポンス受容機構活性化による歯周組織再生

佐藤 暁子

キーワード：歯周組織再生, 実験的歯周炎, LATS1/2, YAP/TAZ, MAP4K4

【目的】歯周組織はメカニカルストレスに曝され, 歯根膜組織/細胞をメカノバイオロジーから捉える研究がなされている。メカノシグナリングはLATS1/2やMAP4K4など細胞内抑制因子による調節機構を受け, YAP/TAZ依存の転写イベントに収束し, 骨形成分化, 骨の石灰化などを制御することが明らかとなっている。本研究では, YAP/TAZ活性化による歯周組織再生について, マウス実験的歯周炎モデルを用いた*in vivo*, ならびに歯根膜細胞を用いた*in vitro*の実験系で解析した。

【材料と方法】1, マウス上顎臼歯周囲を絹糸にて結紮し, 歯周組織の喪失が14日間の絹糸結紮と, それに続く最長42日間の治癒過程により形成される実験的歯周組織再生モデルを作製した。歯周組織再生に対するYAP/TAZ活性化効果の評価のため, 抜糸後14日間にLATS阻害剤である16:0PA(PA)を静脈内投与した。2, 歯根膜細胞はPAと, LATSよりさらに上流に存在するMAP4K4の阻害剤にて刺激し, 硬組織形成細胞分化におよぼす影響をアルカリホスファターゼ活性測定およびアリザリンレッドS染色より解析し, YAP/TAZの転写標的であるCCN1の発現を確認した。さらにMAP4K4特異的siRNAを歯根膜細胞に遺伝子導入し, 上記同様の細胞機能評価を行った。

【結果】1, PA投与群の歯槽骨レベルはDMSO投与対照群よりも有意に高かった。2, 歯根膜細胞では, YAP/TAZ活性が, LATSおよびMAP4K4阻害剤によって促進された場合, アルカリホスファターゼ活性の明らかな増加が検出された。

【結論】LATSおよびMAP4K4阻害によるYAP/TAZ活性化は, 歯根膜細胞分化促進により歯周組織再生を増強する魅力的な方法であることが示唆された。

O-04

Sparcl1陽性セメント芽細胞の解析

岩下 瑞穂

キーワード：セメント芽細胞, Sparcl1, *in situ* hybridization, フローサイトメトリー

【目的】歯周組織の理想的な治癒形態として, 歯槽骨とセメント質の新生を伴う新付着の獲得が挙げられる。しかしながら骨芽細胞とセメント芽細胞の差異については明らかとなっていない。我々はこれまでに歯根膜一細胞アトラスを作成し, セメント芽細胞に高発現する分子としてSparcl1を同定した。そこで, 同分子を組織学的に検証するとともに, 同分子を用いたセメント芽細胞の性状解析を行った。

【材料と方法】蛍光*in situ* hybridizationおよび蛍光免疫染色により, 野生型マウス歯周組織中のSparcl1発現を組織学的に検討した。さらにマウス歯根膜から細胞を単離し, フローサイトメーターによる表面抗原解析およびセルソーターによる細胞分取を行った。

【結果と考察】蛍光*in situ* hybridizationの結果, *Sparcl1* mRNAは歯根膜中のセメント質表面に点在するセメント芽細胞および血管内皮細胞に発現を認め, 歯槽骨表面に存在する骨芽細胞には発現を認めなかった。この結果に一致して, Sparcl1抗体を用いた蛍光免疫染色において, セメント質表面に点在するセメント芽細胞の表面にSparcl1発現を認めた。歯根膜由来細胞懸濁液にはSparcl1強陽性CD31陰性のセメント芽細胞集団が分画されることを見出した。さらに同分画をセルソーターにて分取し, 初代培養を行った。

【結論】シングルセル解析および組織学的検証により見出したセメント芽細胞特異的分子Sparcl1を用いて初代培養セメント芽細胞の樹立に成功した。今後同細胞の解析によりセメント芽細胞の分化機構が明らかになると期待される。

O-05

Modified VISTA Technique

猪子 光晴

キーワード：根面被覆術, VISTA Technique, 内側懸垂縫合, 上皮下結合組織

【VISTA】Techniqueにより根面被覆術の成功率が高くなった。演者はこの術式に改良を加えた臨床を実践している。この度、UMSTによる減張切開および内側懸垂縫合 (inner sling suture) を併用したModified VISTA Techniqueの詳細を報告する。

【材料と方法】VISTA Techniqueのように根尖側の口腔前庭部にPin holeのような切開を行う。Pin poleよりpouch状に全層弁剥離する。その後UMSTをPin holeから行いCoronally AdvanceさせるのにTension Freeになるように減張切開を行う。上皮下結合組織をPin holeから挿入し、Modified Coronally Advanced Tunnel Techniqueの逆になるようなinner sling sutureを行う。

【結果】今までの根面被覆術において露出根面が広いケースはCoronally Advanceさせるには限界がある。そこでUMSTをPin holeから確実に減張切開することTension freeが得られ、十分な血液供給が得られる。そしてInner sling sutureを併用することで縫合部における貧血帯を最小限にそして縫合部における炎症性反応による壊死を根面ではなく血液供給が確保できる骨面に設置するため薄い辺縁歯肉も壊死することなく根面被覆術の成功率が高まった。

【考察】各種根面被覆術において、血液供給量が成功率に大きく影響する。様々な術式を血液供給の観点から考えるとModified VISTA Techniqueが最良であるため、根面被覆量および成功率が高かったと考えられる。

【結論】Modified VISTA TechniqueはCTGにおける血液供給に優れ、高い成功率、治癒の促進および優れた審美性を獲得できる新しい術式である。

O-06

PCR法による口腔内局所の*Porphyromonas gingivalis* 検出の有無と基礎疾患の関係

相村 豊彦

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, PCR法, 地域住民, 基礎疾患

【目的】歯周病は様々な全身疾患と関係があることが報告されている。本研究は、口腔内局所におけるPCR法を用いた*Porphyromonas gingivalis* (以下Pg)の有無と、様々な基礎疾患の既往との関係を知ることが目的とした。

【対象および方法】愛知県知多郡東浦町の40~87歳の地域住民273名を対象に、基礎疾患の既往の間診票調査を行うとともに、PCR法による口腔細菌検出装置orcoaを使用した歯間部のPgの検出検査を行った。このうち、これらの結果のデータ欠損がない270名 (男性112名, 女性158名) について集計, 分析を行った。

【結果および考察】諸疾患の既往者の割合はがん11.1%, 脳卒中1.9%, 心臓病4.2%, 糖尿病7.6%, 精神疾患3.4%, 高血圧51.7%, 肝臓病2.7%, 肺疾患5.5%骨粗しょう症8.0%であった。一方、PCR法によるPg陽性率は36.7%であった。既往の有無でPgの陽性率を比較すると、糖尿病既往者の陽性率は68.4%, 既往がない者の陽性率が34.3%で有意な差が認められた ($p=0.003$) が、その他の疾患では有意な差は認められなかった。年齢と性差の調整のため、Pgの有無を目的変数、年齢、男性、糖尿病既往の有無を説明変数としたロジスティック回帰分析を行ったところ、オッズ比は年齢1.06 ($p<0.001$), 男性1.14 ($p=0.639$), 糖尿病2.54 ($p=0.083$) であった。Pg陽性率は年齢とともに有意に上昇し、糖尿病既往を有する者ほど高いPg保有率を示す傾向が認められた。Pg検出にPCR法を用いても、先行研究を支持する結果が確認された。

O-07

PCR法による口腔内局所の*Porphyromonas gingivalis* 検出の有無と認知機能の関係

外山 敦史

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, PCR法, 地域住民, 認知機能

【目的】近年*Porphyromonas gingivalis* (以下Pg)がアルツハイマー型認知症と関係している可能性が報告されている。本研究はPCR法を用いた口腔内局所におけるPgの有無と認知機能の関係をj知ることが目的とした。

【対象および方法】愛知県知多郡東浦町の40~87歳の地域住民273名を対象に、改訂長谷川式簡易知能評価スケール (HDS-R) を用いた認知機能検査およびPCR法による口腔細菌検出装置orcoaを用いた歯間部Pgの検出検査を行った。このうち、これらの検査結果に欠損がない270名 (男性112名, 女性158名) のデータの集計, 分析を行った。

【結果および考察】Pgの検出状況は、全体の35.9%の者が陽性で、年代が上がるほど陽性率は高くなる傾向を示した。認知機能を見ると、HDS-Rの平均点数は28.8点で、年齢が上がるほど点数は低くなる ($r=-0.44$, $p<0.001$) 傾向を示した。Pgの有無別にHDS-Rの平均点数をみると、Pgが検出されなかった群は28.8点であったのに対し、検出された群は27.7点で有意に低かった ($p<0.001$)。年齢、性別の影響の調整のため、HDS-R点数を目的変数、年齢およびダミー変数として男性とorcoaの判定結果を説明変数とした重回帰分析を行ったところ、偏回帰係数は年齢が-0.056 ($p<0.001$), 男性が-0.670 ($p=0.0039$), Pg陽性が-0.498 ($p=0.0452$) であった。横断的研究のため因果関係は不明かつ本研究の対象者は軽度認知障害までの範囲であるが、Pg検出の有無とHDS-Rの間には有意な関連が認められた。

O-08

歯周病患者20年経過症例における抜歯原因の分析
アイヒナー分類からの考察

金子 智

キーワード：歯周病, メンテナンス, 抜歯原因, アイヒナー分類

【目的】永久歯抜歯の最大の原因は歯周病であると言われていたが、継続したメンテナンスと抜歯との関連性については不明であった。過去の学術大会で演者らは、長期間メンテナンスを継続している患者を対象に永久歯の抜歯原因とその本数を調べ、メンテナンスを継続することで歯周病による抜歯を予防できることを報告した。今回、咬合支持に焦点を当て、アイヒナー分類と抜歯との関連について考察したので報告する。

【方法】2018年12月20日時点で、当院にて20年以上メンテナンスを継続している歯周病患者229名のうち、初診時年齢20歳以上、口腔内写真、歯周ポケット (PPD)、根分岐部病変、動揺度の検査データが全て保存されており、20年間で6ヶ月以上の来院期間の空白がない患者を対象とした。初診時、メンテナンス時のアイヒナー分類と抜歯原因、抜歯歯種の関連性について診療録より後ろ向きに検討を行った。

【結果】メンテナンス開始時のアイヒナー分類別に経過を追った結果、抜歯原因別の本数は歯根破折、根尖性歯周炎、歯周病、う蝕、外部吸収、転位歯の順に多かった。メンテナンス開始時のアイヒナー分類別に抜歯となった失活歯はAでは大白歯が61.4%で最も多かった。B1~B3では小臼歯が53.2%で最も多かった。B4では前歯が53.6%と最も多かった。歯根破折による抜歯の平均年数はA1~B4で平均10~15年の間に歯根破折が起きていた。

【結論・考察】本研究より、抜歯の最大の要因は失活歯の歯根破折であった。歯を失わないためには、歯を削らない、失活させない、ブリッジや鉤歯などで過重な負担をかけないことが重要と考えられた。

O-09

歯周炎患者におけるグルコース分析装置を用いた客観的咀嚼能力の評価

脇田 有貴

キーワード：歯周疾患、咀嚼能力、歯槽骨吸収

【背景と目的】歯周病は、歯周組織の崩壊に伴い、歯の動揺や病的移動、さらには歯の喪失が生じる炎症性疾患である。歯周病の重症化や、その結果生じる咀嚼機能障害は、全身の健康に影響を及ぼすとされている。しかし、咀嚼能力と歯周病の関連性については未だ不明な点が多く、咀嚼能力の低下に影響する歯周病学的要因は明らかとなっていない。そこで本研究は、歯周病重症度と咀嚼能力を客観的に評価し、咀嚼能力に影響を及ぼす要因を明らかにすることとした。

【材料と方法】総被験者数は95人で、2019年4月から2020年12月に明海大学歯学部附属明海大学病院歯周病科に来院した慢性歯周炎患者68人を患者群、歯周組織が健全な者27人を対照群とした。さらに患者群は、歯周病重症度別にステージI群からステージIV群に分類した。咀嚼能力の測定には、グルコース分析装置であるグルコセンサーGS-II®（株式会社ジーシー、東京）を用いた。本装置により算出されたグルコース溶出量を、咀嚼能力値として換算した。本研究は明海大学歯学部倫理委員会の承認のもと（承認番号：A1816）実施した。

【結果と考察】患者群の咀嚼能力値は対照群と比較して有意に低く、歯周病が重度であるほど、咀嚼能力が低下する傾向を示した。さらに、歯周病学的パラメータの中でも歯槽骨吸収が咀嚼能力に強い影響を及ぼすことが示された。歯槽骨吸収により歯根膜に存在する感覚受容器が減少し、咀嚼による機械的刺激を伝達することが困難となることが推察された。本研究により、歯周炎患者における咀嚼能力の低下には、歯周病重症度および歯槽骨吸収率が影響していることが示唆された。

O-10

全身性疾患への影響を考慮した新たな歯周病重症度検査項目の策定～学会主導型多施設臨床研究～

松田 真司

キーワード：PISA、多施設臨床研究、IL6

【目的】歯周病は糖尿病を始めとした多くの全身疾患の増悪リスクを高めることが明らかになっている。そこで、本研究では、歯周炎患者の治療前の全身状態、歯周疾患検査、それらの治療後の値を解析し、歯周病および歯周治療効果の全身への影響を客観的に評価することを目的とした。

【方法】研究対象者は、20歳以上の慢性歯周炎または侵襲性歯周炎患者で20本以上残存歯が残存している者を選定した。初診時および基本治療後のPISA値、咀嚼能率値、血清IL6値および高感度CRP (HsCRP) 値で評価した。また、調整が必要な交絡または関連因子の有無は問診により採取した。

【結果】解析に使用した研究対象者は130名であった(2022年5月時点)。初診時のPISA値と血清IL6値の関係を多変量解析で評価した結果、有意な関係性が認められた。HsCRP値には有意な関係は認められなかった。咀嚼能率値とそれぞれの血清マーカーに有意な関連はなかった。また、歯周基本治療前と比較し治療後のPISA値は有意に減少し、咀嚼能率値は有意に増加した。またIL6値は有意に減少し、HsCRP値は減少傾向を示した。

【考察】本研究で、PISA値が血清IL6と正の関係にあることが見出され、歯周基本治療でIL6値が減少することが確認された。一方で咀嚼能率は歯周基本治療で改善するものの、全身の炎症マーカーとの関連はなかった。以上の点から、PISA値が口腔の炎症が全身に与える影響の程度を評価できる、独立した客観的な指標である可能性が示された。現在、血清抗体価を評価し、細菌学的な影響も検討中であり、今後、細かな分析をする価値がある。

O-11

Role of the NLRP3 inflammasome in osteoclastogenesis in the presence and absence of LPS

Alam Mohammad Ibtehad

Keywords: NLRP3, osteoclast, pyroptosis, LPS

Objective: NLRP3 inflammasome promotes IL-1 β production and accelerates bone resorption in periodontitis. However, the role of NLRP3 inflammasome in physiological bone remodeling remains unknown. We investigated the role of NLRP3 inflammasomes in osteoclastogenesis in the presence and absence of lipopolysaccharide (LPS).

Materials and methods: Bone marrow macrophages (BMMs) were treated with receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) with or without LPS in the presence of the NLRP3 inflammasome inhibitors, and subjected to the TRAP staining. The production of IL-1 β was detected by enzyme linked immunosorbent assay. Reactive oxygen species (ROS) was detected using a fluorogenic probe. The cytotoxicity was measured via lactate dehydrogenase release.

Results: The NLRP3 inflammasome inhibitors promoted osteoclastogenesis of RANKL-treated BMMs in the absence of LPS, but inhibited it in the presence of LPS. RANKL-treated BMMs produced IL-1 β in the presence of LPS, but not in the absence of LPS. RANKL induced the ROS production. ROS inhibitors suppressed the NLRP3 inflammasome assembly. The NLRP3 inflammasome inhibitors abrogated the cell death of RANKL-treated BMMs, suggesting that RANKL induced pyroptosis in BMMs via ROS-mediated activation of the NLRP3 inflammasome.

Conclusion: The NLRP3 inflammasome promotes osteoclastogenesis via IL-1 β production in the infectious bone resorption, but inhibits osteoclastogenesis by inducing pyroptosis of osteoclast precursors in the physiological bone remodeling.

O-12

SPOCK1はシクロスポリンによる薬物性歯肉増殖症において歯周炎を介した歯肉肥厚と歯槽骨吸収を増大する

今川 滯

キーワード：歯周病、薬物性歯肉増殖症、SPOCK1、シクロスポリン

【背景】薬物性歯肉増殖症 (DIGO) は、降圧薬や免疫抑制剤の副作用の一つとして知られている。DIGOのprimaryな病因は薬剤であるが、歯周炎を併発すると疾患が難治性となることが多い。演者らは、SPOCK1は上皮間葉移行を促進しDIGOに関わる新たなタンパク質であることを報告した (Alshargabi *et al.*, Sci Rep, 2020)。一方でSPOCK1が、歯周炎を併発したDIGOにおける歯槽骨吸収やそれに伴う歯肉増殖を増大するか否かは不明である。

【方法】10週齢の雄性野生型 (WT)・*Spock1* 過剰発現マウス (Tg) に、6-0絹糸を上顎第2臼歯周囲に結紮後10日間維持して実験的歯周炎モデルとした。実体顕微鏡下で歯肉の肥厚を評価したのちに、臼歯部歯肉からRNA・タンパクを抽出し、残余軟組織を除去して歯槽骨吸収を実体顕微鏡下で評価した。また、マウスにシクロスポリン (CsA) 50mg/kgと6-0絹糸結紮を組み合わせた歯周炎併発DIGOモデルを作成し、実験的歯周炎を惹起した際の歯槽骨吸収や歯肉増殖の変化について検討を行った。

【結果】TgはWTと比較して、結紮による歯肉肥厚と歯槽骨吸収が有意に増悪した。歯周炎併発DIGOモデルでも、TgはWTよりも歯肉肥厚と歯槽骨吸収が顕著に見られ、歯冠を覆うほどの肥厚が観察された。CsA非投与・投与条件下ともに、Tgでは結紮によるRANKL/OPG発現比がWTよりも有意に高かった。

【考察】SPOCK1は歯周炎に応答した歯肉肥厚を増強し、CsA投与下では歯周炎に伴う歯肉肥厚と歯槽骨吸収をさらに増大することが示唆された。

O-13

歯周炎において誘導される ANGPTL4はMMP13の発現を増加させる

近藤 駿

キーワード：ANGPTL4, ヒト歯肉線維芽細胞, 歯周炎, MMP13
【目的】 Angiopoietin-like protein (ANGPTL) 4は、炎症時に産生される分泌タンパク質であることが知られているが、その働きについては、未だ一定の見解がない。今回、結合組織破壊・再生の一端を担っているMatrix metalloproteinase (MMP)の発現変化に着目し、歯周炎におけるANGPTL4とMMPの関係について検討した。
【方法】 6週齢雄性SDラットの顎第二臼歯歯頸部全周に縫合用ナイロン糸を留置し、実験的歯周炎を惹起した。歯周炎惹起2週間後における、ANGPTL4およびMMP発現について免疫組織染色を行った。次にヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) に対し、歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* LPSにて刺激し、ANGPTLs, ANGPTL4認識に関与するレセプター、炎症性サイトカイン等の遺伝子発現の変化を確認した。またヒトANGPTL4刺激による、MMPの遺伝子発現変化を確認した。さらにsi-RNA ANGPTL4をHGF細胞に導入し、*P.gingivalis* LPS刺激によるMMP産生の影響を検討した。
【結果】 ラットでの歯周炎惹起は歯肉におけるANGPTL4とMMP13の発現を有意に増加させた。HGF細胞に対する *P.gingivalis* LPS刺激によりANGPTL4, MMP13, 炎症性サイトカインの遺伝子発現量が有意に増加した。またヒトANGPTL4刺激でHGF細胞におけるMMP13遺伝子の有意な発現増加を認めた。ANGPTL4 knock downは *P.gingivalis* LPS刺激によるMMP13発現を有意に減少させた。
【結論】 歯周炎により、歯周組織におけるANGPTL4の発現が増加し、更にANGPTL4はMMP13発現増強に関与する因子である可能性を示唆した。

O-15

AnnexinA1-FPR2シグナルが歯周病の病態形成に及ぼす影響

村田 真里

キーワード：N-ホルミルペプチド受容体, アネキシンA1, 絹糸結紮マウス歯周病モデル
【目的】 歯周病の病態形成過程における歯根膜の炎症反応制御機構を解明するために、我々の研究室ではこれまでに絹糸結紮マウス歯周病モデルの歯根膜に発現する分子を網羅的に解析した。その結果、非結紮側に比べ結紮側においてAnnexin A1の発現が有意に上昇することが明らかとなった。Annexin A1はFPR2を活性化することで炎症反応制御に関与していることが報告されている。そこで本研究では、Annexin A1-FPR2シグナルが歯周病の病態形成に及ぼす影響について明らかとすることを目的とした。
【材料と方法】 8週齢雄C57BL/6マウスの顎第二臼歯に5-0絹糸を結紮し、7日後の歯周組織におけるAnnexin A1およびFPR2発現を免疫組織学的に解析した。また、FPR2選択的阻害薬であるWRW₄を連日皮下投与し、歯槽骨吸収に及ぼす影響について μ CTを用いて定量解析した。一方で、ヒト歯根膜細胞 (HPDL) をWRW₄存在・非存在下でIL-1 β 刺激し、IL-8の遺伝子発現をreal-time PCR法にて、培養上清中のIL-8濃度をELISA法にて解析した。
【結果と考察】 絹糸結紮7日後の歯根膜においてAnnexin A1およびFPR2の発現上昇を認めた。また、WRW₄を投与したマウスの結紮側において、結紮5日後の歯槽骨吸収が有意に亢進することが明らかとなった。このことからAnnexin A1-FPR2シグナルが歯周病の病態形成に関与していることが示唆された。また、HPDLにおけるIL-1 β 誘導性IL-8の産生はWRW₄存在下で有意に亢進した。このことは、歯根膜細胞においてAnnexin A1-FPR2シグナルが内因性の炎症制御機構として機能していることを示唆している。
【結論】 Annexin A1-FPR2シグナルは歯根膜の炎症反応制御を介して、歯周病の病態形成を負に制御する役割を担うことが示唆された。

O-14

新規PPAR γ アゴニストprocyanidin B2による歯周炎発症抑制とPPAR γ 遺伝子座転写産物の関与

山本 真豊

キーワード：抗炎症, 実験的歯周炎, PPAR γ , 歯周組織構成細胞
【目的】 PPAR γ は抗炎症作用を持ち、歯根膜線維芽細胞の分化能を促進することが知られている。PPAR γ 遺伝子座からは全長RNAのみならずlong non-coding RNAなど多様なisoformが転写される。本研究ではPPAR γ アゴニストprocyanidin B2が*in vivo*実験的歯周炎に及ぼす影響並びに各PPAR γ 遺伝子座転写産物の歯周組織における機能解析を行うことを目的とした。
【材料と方法】 1. 絹糸にてマウス顎第二臼歯周囲を結紮し歯周炎を誘導し、procyanidin B2を局所投与した。2. ヒト歯根膜細胞およびヒト歯周組織におけるPPAR γ isoformの検出 (東北大学病院臨床研究: 2020-3-045): 各isoform特異的プライマーによるPCR増幅と、シーケンス深度を解析しlncRNAを同定した。3. 各isoformの細胞増殖効果および分化能への影響を評価した。
【結果と考察】 1. 試験群では歯槽骨吸収が抑制されていた。2. および3. ヒト歯根膜線維芽細胞およびヒト歯周組織において、DNA結合領域を持つもののリガンド結合領域を欠失する核内受容体型PPAR γ をコードするisoformを同定した。そのうち一つは如何なる組織においても発現の報告がない新規isoformであった。これらisoformは抗炎症効果を示すがPPAR γ 依存性の硬組織形成分化促進効果は示さなかった。同遺伝子座から転写されるlncRNAは歯根膜線維芽細胞の増殖能維持に必須であることが示された。
【結論】 PPAR γ は歯周炎の増悪化を抑制するのみならず各々PPAR γ isoformが作用することで歯周組織構成細胞の炎症性反応や硬組織形成分化能を制御することから、PPAR γ 遺伝子座は歯周炎制御の転写ハブであり、その統合的理解により新たな歯周炎制御機構の樹立が期待できる。

O-16

Macrolides promote Del-1 dependent effects on bone metabolisms in the periodontitis-induced mouse model

Kridtapat Sirisreephap

Keywords: Periodontitis, DEL-1, Inflammation, Bone regeneration, Osteoclastogenesis
 Macrolides have been used in treating infectious diseases, including periodontitis. Erythromycin (ERM) demonstrated an immunoregulatory function by upregulating DEL-1, a local immunoregulatory protein, leading to bone regeneration. This study aimed to study the bone metabolisms regarding the immunomodulation from macrolides (using ERM, CLR, and AZM) and examined whether the effects on bone metabolism from other macrolides are mediated via DEL-1 like Erythromycin. We performed ligature-induced periodontitis in C57BL/6Ncr1 wild-type male mice and intraperitoneally injected macrolides daily for nine days. Maxillae and gingiva were collected for analysis after sacrificing on day 9 of ligation. Macrolides were observed for their effects on bone metabolism using the RAW264.7 cells, primary mouse bone marrow-derived macrophages, and MC3T3-E1 cells. All macrolides inhibited alveolar bone loss in the periodontitis site by increasing *Del1*. Macrolides reduced the osteoclasts in the PDL space in tissue sections from mice after macrolides administration for nine days, consistent with the inhibitory effects on osteoclast differentiation using the RAW264.7 cells and primary bone marrow-derived macrophages. Macrolides could also induce osteogenic differentiation in the MC3T3-E1 cells. ERM, CLR and AZM induce DEL-1 expression in the gingiva, which might reduce inflammation, inhibit osteoclastogenesis and promote bone formation. Previous results indicate that these macrolides may exert DEL-1-dependent immunomodulatory effects and could be a promising therapeutic approach to treating periodontitis.