

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

P-01~52

9月2日(金)	ポスター掲示	8:30~10:00
	ポスター展示・閲覧	10:00~17:20
	ポスター討論	17:20~18:10
	ポスター撤去	18:10~18:40

P-01

骨補填材の使用により獲得した新生骨中の骨関連転写因子の発現

北澤 伊

キーワード：骨関連転写因子、骨補填材

【目的】骨吸収を起こした歯槽堤では、インプラント埋入が困難になるため、埋入前に骨移植が行われる。骨移植した部位からインプラント埋入時に歯槽骨を採取して遺伝子発現の変化を解析すると、人工骨移植部位と比べて、脱タンパク質ウシ骨ミネラル移植部位では、骨芽細胞の分化や骨形成に関与する転写因子であるRunx2の発現量が増加した。本研究では、炭酸アパタイト (CO₃Ap) の使用により獲得した新生骨中の骨関連転写因子の発現について検索した。

【材料と方法】インプラント患者28名から、トレフィンバーによる窩洞形成時に既存骨およびCO₃Ap移植部位から歯槽骨を採取し、RNA抽出後、Real-time PCRにてRunx2およびOsterixの発現量を検索した。また、一部の骨組織は切片作製後、HE染色および免疫染色(抗Runx2抗体および抗Osterix抗体)を行った。

【結果と考察】Real-time PCRの結果、既存骨と比較してCO₃Ap移植部位でRunx2およびOsterixの発現量が増加し、Osterixに関しては有意な増加を認めた。また、骨組織のHE染色にて、CO₃Apの類骨への置換が認められることから、既存骨とは異なりCO₃Ap移植部位で、骨芽細胞の分化・誘導が生じている可能性が示唆された。免疫染色の結果、類骨周囲は抗Runx2抗体および抗Osterix抗体にて染色され、抗Runx2抗体に比較して抗Osterix抗体にて強く染色された。以上の結果は、分化・誘導にはRunx2およびOsterixの2つの転写因子が関与し、Osterixが最も重要な因子であることが示された。

P-02

SPT期慢性歯周炎患者臨床パラメーターに反映する栄養因子の検討

田部 進市

キーワード：SPT、環境因子、栄養因子

【目的】近年、歯周病の病状安定後の再発リスク評価が重要視されてきている。しかし、その評価方法の中で栄養因子を含む環境因子を指標としたものは喫煙状況のみである。今回、SPT期慢性歯周炎患者に対して生活習慣調査を行い、栄養因子の臨床パラメーターへの影響を検討した。

【材料と方法】日本大学松戸歯学部歯周科に通院する患者を対象に、問診、歯周組織検査および生活習慣調査を行った。歯周組織検査データから、歯周上皮表面積 (PESA)、歯周炎症表面積 (PISA)、PISA/PESAを算出した。生活習慣調査は、生活習慣に関するアンケート(平成29年国民健康・栄養調査 身体状況調査票)に準じて行い、自己申告を得た。

【結果と考察】106名の患者が対象となった。臨床パラメーターと環境因子および栄養因子との相関係数を算出した結果、相関係数が高い項目は、臨床パラメーター8項目、環境因子4項目および栄養因子8項目であった。4~5mmのPD割合、6mm以上のPD割合、BOP率およびPISAと各種栄養因子において、負の相関が高い傾向にあった。これらの変数に対して決定係数の算出および重回帰分析を行った結果、環境因子において決定係数が高いものは、残存歯数、4~5mmのPD割合およびPESAであった。また、それらはBMI、Br Indexおよび年齢に有意に関連した。栄養因子において決定係数が高い臨床パラメーターは、平均PD、4~5mmのPD割合、BOP率、PISAおよびPISA/PESAであった。

【結論】今回の結果は、残存歯数を代表とする長期の病態を示す臨床パラメーターには環境因子が反映し、BOP率、PISAおよびPISA/PESAといった炎症の活動度を指標とした臨床パラメーターには栄養因子がより反映することを示唆していた。

P-03

歯周基本治療が唾液中のエクソソーム内の成分に及ぼす影響

山口 亜利彩

キーワード：エクソソーム、唾液、歯周基本治療

【目的】エクソソームは、タンパク質や核酸等の生理活性物質を含み、細胞間コミュニケーションにおいて重要な役割を果たす。唾液中のエクソソーム内の成分は、疾患によって変化し、診断マーカーとしての有用性が高い。本研究は、中等度~重度歯周炎患者(ステージⅢ~Ⅳ)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の変化を比較し、歯周病バイオマーカーとしての有用性を解析した。

【材料と方法】中等度~重度歯周炎患者の初診時に唾液を採取し、6~8か月間の基本治療終了後に再度唾液を採取した。細胞残渣を除去した唾液に、エクソソーム精製用試薬を添加し、4℃で12時間インキュベート後遠心しエクソソームを精製した。エクソソームから全RNA、総タンパク質を抽出後、miRNAの発現量をリアルタイムPCRで、C6、CD81、TSG101およびHSP70の発現量の変化をWestern Blotで解析した。

【結果と考察】唾液中のエクソソーム内のmir-142、mir-143およびmir-223の発現量は、歯周基本治療前と比較して治療後に有意に減少したが、mir-144、mir-150およびmir-200bの発現量に有意な変化は無かった。エクソソーム中のC6のタンパク質の変化は、患者によって結果が異なり、歯周基本治療後にC6の発現量が増加した患者群は、C6の発現量が減少した患者群と比較し、歯周基本治療前のPISAが大きい傾向にあり、歯周基本治療後のPISAは有意に高値であった。今後は唾液中のエクソソーム内の成分の変化のメカニズムについて解析を進める予定である。

P-04

IL-6によるヒトODAM遺伝子の転写調節機構の解析

金 振宇

キーワード：ODAM、接合上皮、転写調節、IL-6

【目的】Odontogenic ameloblast-associated protein (ODAM)は成熟期エナメル芽細胞と接合上皮で発現する。IL-6によるODAMの転写調節機構について、Ca9-22ヒト歯肉上皮細胞を使用して解析を行った。

【材料と方法】Ca9-22細胞をIL-6 (10ng/ml)で経時的(3, 6, 12, 24h)に刺激し、ODAM mRNAとタンパク質の変化をリアルタイムPCRとウエスタンブロットで解析した。ODAM遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼ(LUC)コンストラクトをCa9-22細胞に導入し、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、ODAM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。

【結果と考察】Ca9-22細胞をIL-6で刺激すると、ODAM mRNA量は6, 12および24時間後に増加した。480塩基対上流までのODAM遺伝子プロモーターを含むLUCコンストラクトの活性は、IL-6刺激で上昇し、Aキナーゼ、チロシinkinナーゼ、MEK1/2、PI3キナーゼ、NF-κB阻害剤によりLUC活性の上昇が抑制された。ゲルシフトアッセイの結果、CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP2)、Yin Yang1 (YY1)、GATA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による転写調節にはC/EBP2、YY1およびGATA配列が関与する事が示唆された。

P-05

*Porphyromonas gingivalis*由来LPSが不死化接合上皮細胞の細胞機能に及ぼす影響

相澤 怜

キーワード：接合上皮, 不死化細胞, LPS

【背景および目的】接合上皮 (JE) は細菌の侵入に対し歯周組織の最前線に感染防御の役割を果たし, 他の歯肉上皮と異なる構造, 機能を有している。しかし, JE細胞の単離は困難であり, その性質には未だ不明な部分がある。本研究では, 樹立したマウス由来不死化JE細胞 (JE-1) を用いて, *Porphyromonas gingivalis*由来LPSがJE細胞に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】LPS存在・非存在下にて培養したJE-1細胞を用いて, スクラッチアッセイによる細胞増殖能の評価を行った。炎症および細胞接着関連遺伝子の発現について, real-time PCR法を用いて解析した。また, FITC標識デキストランを用いて細胞間透過性の評価を行い, LPSがJE-1細胞の細胞間隙のバリア機能に与える影響について検討した。

【結果】JE-1細胞の遊走, 増殖はLPS刺激により減少した。LPS存在下で培養したJE-1細胞において, *Tnf*, *Slpi*, *Cxcl2*の発現の増加, および免疫細胞の誘導に関与する *Cxcl10*の発現の減少が認められた。また, 低濃度のLPSで刺激したJE-1細胞において, *Cdh1*, *Itgb4*の発現の減少が認められ, 細胞間透過性の亢進が認められた。

【考察および結論】JEの上皮バリア機能には細胞間接着が重要な役割を果たしており, 細胞間透過性が亢進することで, 歯周病原細菌に対するバリア機能が低下すると考えられる。一方で, 細胞間透過性の亢進により, 補体や抗菌ペプチドである defensinなどの歯肉溝滲出液への誘導が増加することも考えられ, 歯周病原細菌に対する防御機能の亢進にも関与する可能性が考えられる。

P-07

C/EBPおよびYY1を介した炎症性サイトカインによるODAM遺伝子発現の転写調節

鶴屋 祐人

キーワード：ODAM, 接合上皮, 転写調節, TNF- α , IL-1 β

【緒言】Odontogenic ameloblast-associated protein (ODAM) は成熟期エナメル芽細胞と接合上皮で発現し, 接合上皮と歯面の接着に関与すると考えられる。歯周組織の炎症状態を想定し, TNF- α とIL-1 β によるODAM遺伝子の転写調節機構を解析した。

【材料と方法】ヒト歯肉上皮Ca9-22細胞をTNF- α (10ng/ml) またはIL-1 β (1ng/ml) で経時的に刺激し, ODA mRNAおよびタンパク質の変化をreal-time PCRとWestern blotで, プロモーター遺伝子と転写因子の結合をGel shiftとクロマチン免疫沈降 (ChIP) アッセイで解析した。ODAM遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼ (LUC) コンストラクトをCa9-22細胞に導入後, TNF- α またはIL-1 β で12時間刺激し, LUC活性を測定した。

【結果と考察】ODAM mRNA, タンパク質および480~+600ODAMのLUC活性はTNF- α またはIL-1 β 刺激12時間後に増加した。アキナーゼ, チロシン, MEK1/2およびPI3キナーゼ阻害剤でLUC活性の増加は抑制された。Gel shiftとChIPアッセイの結果, ODA遺伝子の転写開始点から-480塩基対上流までのプロモーター配列中に存在するC/EBPおよびYY1配列と核内タンパク質との結合がTNF- α またはIL-1 β 刺激により増加した。以上の結果から, TNF- α またはIL-1 β 刺激により誘導された転写因子がC/EBPおよびYY1配列に結合し, ODAの転写を調節していることが示唆された。

P-06

加熱式たばこ抽出物の長期刺激が歯肉上皮細胞に与える影響

中本 規裕

キーワード：加熱式たばこ, 歯肉上皮細胞, RNA シーケンス, メチル化解析

【目的】近年, 加熱式たばこが製造・販売されている。加熱式たばこは, 燃焼式たばこ同様にエアロゾルが発生するため, 種々の疾病の発症リスクは燃焼式たばこと同じかそれ以上になる可能性がある。本研究では, 加熱式たばこ抽出物 (HTP) が, 歯肉上皮細胞に及ぼす影響を生じさせるかを明らかにするため, 遺伝子発現およびDNAメチル化を網羅的に解析した。

【材料と方法】タバコ葉1gあたりに3mlの水を添加混合して, 加熱後の上澄みを回収したものをHTPとした。正常歯肉上皮細胞 (HGEP) に, HTPを添加したものを (HTP群) と添加しなかったものを (CONT群) を3日間ずつ交互に交換し, 1ヶ月間培養を行った。RNAとDNAを抽出した後, RNA-seqとRRBSを用いて網羅的にゲノム解析を行った。

【結果と考察】RNA-seqによる2倍以上の遺伝子発現増加は284遺伝子, 1/2以下の発現低下は145遺伝子であった ($p<0.05$)。ヒートマップは, CONT群とHTP群間で遺伝子の違いを示した。PCoAプロットからCONT群とHTP群間の明確な遺伝的分布が明らかになった。Gene Ontology解析では, HTPの長期刺激によりCornification, Keratinizationなど4つのGOが上昇した。一方, 低下したGOは認めなかった。RRBSからCpG-islandのメチル化が2倍以上に上昇したものは158遺伝子, 1/2以下に低下したものは171遺伝子認められた ($p<0.05$)。これらのCpG-islandのメチル化と遺伝子発現レベルの変化に相関性は認められなかった。

【結論】HTPの長期刺激が歯肉上皮細胞の角化に影響し, 細胞の角化亢進に関与することが示唆された。その結果, 加熱式たばこの使用は過角化を伴った口腔粘膜疾患の原因となりうるということが示された。

P-08

スギナエキスはLPS誘発歯周炎モデルラットの歯槽骨破壊を抑制する

芝 典江

キーワード：歯周病, 歯槽骨, 破骨細胞, RANKL, OPG

【目的】スギナエキス (*Equisetum arvense* extract: 以下EA) は, 抗炎症作用をはじめとする様々な薬理作用を有する。しかし, 歯周炎の重要な病的変化である歯槽骨破壊に対するEAの作用は明らかにされていない。そこで, LPS刺激により生じる破骨細胞性骨吸収に対するEAの作用について, ラットを用いて検討した。

【材料と方法】1) LPSまたはLPS/EA混合物をラットの上顎歯肉溝に局所的に投与し3日後の臼歯部の歯周組織を採取した。Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) およびOsteoprotegerin (OPG) の発現と, 2) 歯槽骨縁に沿って形成されるCathepsin K陽性の破骨細胞数を免疫組織化学的に解析した。また, 3) マウス骨髄間質細胞 (ST2細胞) をLPSで刺激した際に生じる, 破骨細胞形成抑制因子の発現に対するEAの作用をReal time PCR法で解析した。

【結果と考察】1) LPS投与群では歯周靱帯のRANKL発現が上昇し, OPG発現が減少した一方, LPS/EA投与群ではRANKLの発現上昇が抑制され, LPS刺激で低下したOPGの発現が回復した。2) Cathepsin K陽性破骨細胞数はLPS群で有意に増加し, EA投与によって, Control群と同程度まで有意に減少した。また, 3) ST2細胞をLPSで刺激すると, RANKLなどの破骨細胞形成促進因子の遺伝子発現は上昇した。一方, LPSとEAを同時に添加するとそれらの上昇が抑制された。さらに, LPS刺激により発現が低下したOPGなどの破骨細胞形成抑制因子は, LPSとEAの同時添加において回復することを確認した。

【結論】以上の結果より, EAの歯肉溝への局所的投与は, RANKL/OPG比のバランスを維持することで, LPS誘発歯周炎モデルラットの歯槽骨吸収を抑制することが明らかとなった。

P-09

Ferulic acid inhibits the biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis*

Hnin Yulwin

Keywords: Ferulic acid, Biofilm, *Porphyromonas gingivalis*
Objective: Periodontopathic bacteria form biofilms resistant to antimicrobial agents. Ferulic acid has been reported to inhibit biofilm formation in *Escherichia Coli*. The purpose of this study is to clarify antibiofilm effect of ferulic acid against periodontopathic bacteria.
Materials and Methods: The synthetic ferulic acid (Sigma-Aldrich) and ferulic acid extracted from rice bran (Tsunno Rice Fine Chemicals Co., Ltd) were used in this study. *P. gingivalis* ATCC 33277, *F. nucleatum* ATCC 25586, *P. intermedia* ATCC 25611, *A. actinomycetemcomitans* JP2 and *S. mitis* ATCC 903 were subjected to the ferulic acids; then antibiofilm effects of ferulic acids were determined evaluating MIC (minimal inhibitory concentration), MBC (minimal bactericidal concentration) and growth curve inhibition. The membrane permeability assay was performed by PI (Propidium Iodide) stain. The biofilm inhibition was evaluated by crystal violet stain.
Results: The synthetic ferulic acid and extracted from rice bran inhibited growth of *P. gingivalis* in concentrations of 500 or 1000 μ g/mL. The PI staining revealed that ferulic acid disrupted bacterial membrane integrity. Both types of ferulic acid significantly inhibited biofilm formation of *P. gingivalis*, but the established biofilm was not eradicated. Ferulic acid showed bactericidal action, indicating that membrane disruption was caused by the change of bacterial membrane hydrophobicity and negative charge.
Conclusion: Both synthetic and extracted ferulic acid inhibited biofilm formation of *P. gingivalis* and showed its bactericidal activity via membrane disruption.

P-11

実験的歯周炎モデルマウスの腓腹筋に及ぼす影響

安田 忠司

キーワード: マウス実験的歯周炎, 筋萎縮, 腓腹筋
【目的】 近年の研究から身体活動の低下や加齢ホルモンの変化による持続的な慢性炎症が生じると筋タンパク質分解が促進し炎症性サイトカインが筋萎縮の起点となり, 筋衛星細胞の減少, 機能低下につながる事が知られている。しかしながら, 歯周炎が骨格筋に及ぼす影響を調べた研究報告は少ない。そこで今回我々は, 絹糸をマウスの歯に結紮させることにより実験的歯周炎を惹起させ骨格筋である腓腹筋におよぼす影響について解析した。
【材料と方法】 歯周炎を惹起させるために, 実験開始時に12週齢C57BL/6マウス雄性マウス(日本クレア)の上顎右側第二臼歯を絹糸で結紮した結紮実験群, 対照群(非結紮)の2群とした。結紮開始から4週間後に各群の上顎骨を採取し, マイクロCTを用いて上顎骨の3次元の画像を構築し, 第二臼歯部歯槽骨の歯槽骨高径を定量的に分析した。また腓腹筋を採取し筋萎縮関連分子であるAtrogin-1の抗体を用いたウエスタンブロッティングとH-E染色により組織学的評価を行った。
【結果】 1) マイクロCT解析: 対照群と比較して実験群では上顎第二臼歯周囲の歯槽骨吸収が惹起されている像が観察された。2) ウエスタンブロッティング: 対照群と比較し実験群ではAtrogin-1の発現が亢進した。3) 腓腹筋の組織学的解析: 対照群と比較して実験群では筋肉の萎縮が亢進した。
【結論】 今回, 実験的歯周炎モデルマウスの腓腹筋に及ぼす影響を調べた結果, 筋萎縮関連分子であるAtrogin-1の発現が亢進し, 組織学的評価から筋肉の萎縮を示した。マウス実験的歯周炎モデルにおいて歯周炎は腓腹筋が萎縮するリスク因子である可能性が示唆された。

P-10

日本の地域在住一般住民におけるデンタルフロスの使用習慣と歯周ポケット深さ・現在歯数との縦断的関連性

青山 薫英

キーワード: デンタルフロス, オーラルケア習慣, 歯周病, 歯喪失, 現在歯数
【目的】 口腔清掃習慣がその後の口腔状態に及ぼす影響を検証すべく, 地域住民を対象に毎年実施される健康診断のデータを用い, 口腔清掃習慣と歯周ポケット深さ・現在歯数との縦断的関連性を検証した。
【方法】 弘前大学COIが毎年実施する岩木健康増進プロジェクト/プロジェクト健診において, 2016年から2019年までの期間に毎年参加した受診者を解析対象とした。このうち2016年時点で現在歯数が1本以上だった431名(男性177名, 女性254名)を対象に, 2017年から2019年にかけて現在歯数の減少が一度でも検出された場合を「歯喪失」と定義した。同じく, 2016年度時点で6mm以上の歯周ポケットを保有していなかった378名(男性152名, 女性227名)を対象に, 2017年から2019年にかけて6mm以上の歯周ポケットが一度でも検出された場合を「歯周ポケット形成」と定義した。2016年時点の口腔清掃習慣と, 2017年から2019年にかけての「歯喪失」及び「歯周ポケット形成」との関連性を多重ロジスティック回帰分析により解析した。その際, 2016年時点の年齢, 性別, 口腔状態, 生活習慣, 教育年数, 服薬習慣などを調整変数に用いた。
【結果】 歯喪失は431名中258名で, 歯周ポケット形成は378名中74名で検出された。各々を目的変数とした多重ロジスティック回帰分析の結果, いずれにおいても, 口腔清掃習慣のうち週1回未満のデンタルフロスの使用が有意に関連しており ($p < 0.05$), 週1回以上のデンタルフロスの使用を基準とした場合のオッズ比はそれぞれ1.82(信頼区間1.04-3.19), 2.65(信頼区間1.12-7.36)であった。
【結論】 デンタルフロスの使用頻度が週1回未満であることが, その後の6mm以上の歯周ポケット形成や現在歯数の減少と関連していることが示唆された。

P-12

*Treponema denticola*の病原性発現における新規転写調節因子の役割の解明

久永 理央

キーワード: 歯周病原細菌, 病原性, dentilisin
【目的】 歯周病原細菌 *Treponema denticola* の dentilisin と dentipain は主要な病原因子であるが, これらの発現調節機構は明らかにされていない。これまでに我々は, dentilisin と dentipain の欠損株において, HxlR family transcriptional regulator 様遺伝子 (HxlR 様遺伝子) の発現が変化していることを確認した。本研究では, HxlR 様遺伝子の機能について本菌の病原性発現における役割に焦点を当て解析を行った。
【材料および方法】 *T. denticola* ATCC 35405株(野生株)を供試し HxlR 様遺伝子欠損株を作出した。作出した欠損株と野生株を用い, 遺伝子発現および表現型の比較検討を行った。増殖は吸光度を測定し評価し, 遺伝子発現はDNAマイクロアレイおよびqRT-PCRを用い解析した。Dentilisin活性, トリプシン様酵素活性は合成基質を用いて測定した。
【結果および考察】 欠損株は野生株と比較し, 対数増殖期以降の増殖が有意に低かった。DNAマイクロアレイでは, 欠損株において病原性に関わる遺伝子の発現に変動を認め, qRT-PCRでは, 欠損株において dentilisin と dentipain をコードする遺伝子の発現が, 野生株と比較し有意に低かった。また, 欠損株の dentilisin およびトリプシン様酵素活性は, 野生株と比較し有意に低かった。
【結論】 HxlR 様遺伝子は本菌の増殖に関与し, さらに dentilisin と dentipain の転写調節により本菌の病原性に関与することが示唆された。

P-13

歯周病原細菌により誘発される好中球細胞外トラップ (NETs) 発現に関する研究

酒寄 智央

キーワード：歯周病, 好中球細胞外トラップ, フローサイトメーター, LPS

【目的】好中球細胞外トラップ (NETs) は好中球機能の一つで, 核内クロマチンを細胞外に放出することで細菌の捕食を行う感染防御機構である。現在まで, 慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中の好中球が NETs 発現を示すことが報告されているが, その機能的役割については不明な点が多い。そこで本研究では, 歯周組織における NETs 発現とその機能を詳細に検索するため, 第一段階として歯周病原細菌の主要なビルレンス因子である lipopolysaccharide (以下 LPS) 刺激による NETs の発現誘導に関する検討を行った。

【材料と方法】健康者から分離したヒト末梢血好中球に, PBS, 刺激物質として phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS, *Escherichia coli* 由来 LPS を作用させ, NETs の主要構造である DNA を特異的に染色する SYTOX Green を用いて発現状態を観察した。SYTOX Green を用いた NETs 発現の観察および測定には, レーザー走査型共焦点顕微鏡とフローサイトメーターを用いた。

【結果と考察】レーザー走査型共焦点顕微鏡による観察では, PMA 刺激群では NETs 様 DNA 構造が明瞭に確認された。またフローサイトメーターによる測定では, 他の刺激群と比較して PMA 群において有意な SYTOX Green 陽性細胞の増加が認められ, NETs 発現誘導が示唆された。今後は, SYTOX Green を基盤とした多重染色と新たな刺激物質による NETs 発現の解析について検討する予定である。

【倫理的配慮および資金源】本研究は, 日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認のもと行われた (承認番号: NDU-T 2021-67)。また, 文部省科学研究費助成金: 基盤 C (課題番号: 20K09981) の一部を資金源とした。

P-15

抗糖化効果を有する歯周病予防薬用歯磨剤成分の検討

山口 雛乃

キーワード：抗糖化, 最終糖化産物, オーラルケア製品, 歯磨剤, 抗炎症

【目的】歯周病の病因として細菌因子 (デンタルプラーク), 遺伝などの宿主因子と年齢や全身健康などのリスク因子の3つが報告されている。歯周病リスク因子の一つである最終糖化産物 (AGEs) は, 生体内で糖とタンパク質の結合で形成される分子であり, 炎症や細胞外マトリクスの物性変化を誘発する。歯周病において AGEs は, 歯周病患者歯肉での蓄積, 並びにヒト歯肉線維芽細胞 (hGF) に対する起炎の報告などから, 発症・進行への寄与が示されている。このことから抗糖化, すなわち AGEs の形成抑制は歯周病の予防に有効と考えられ, 本研究は抗糖化効果を有する成分の探索を目的とした。

【材料と方法】抗糖化効果は歯周病予防有効成分のうち抗炎症効果を有する成分を対象に, コラーゲンの糖化に伴う蛍光発生の抑制を指標に検討した。抗糖化効果のメカニズム解明を目的に抗酸化効果などを評価した。さらに, BSA とグリセルアルデヒドに各種有効成分またはコントロールとして PBS を添加し, 7日間反応させることで形成させた AGEs を hGF に添加し, 産生された IL-6 を定量した。

【結果と考察】歯周病予防効果を有する抗炎症性成分のうちグリチルリチン二カリウム (GK2), アラントイン, アズレンスルホン酸ナトリウム (アズレン) はコラーゲンの糖化を抑制し, そのメカニズムの一端が, 抗酸化効果であることが示唆された。上記3成分は, 糖化物の生成を抑制し, 歯肉線維芽細胞の炎症を抑制した。

【結論】歯周病予防効果を有する有効成分のうち GK2, アラントイン, アズレンに有意な抗糖化効果, ならびに糖化抑制による炎症抑制効果を見出した。

P-14

Porphyromonas gingivalis 由来 Mfa1 線毛の破骨細胞分化に与える影響の検討

鈴木 祐希

キーワード：破骨細胞, ポルフィロモナス・ジンジバリス, 線毛, Mfa1

【目的】*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) は FimA および Mfa1 の2種類の線毛をもつ。*P.g.* の *mfa1* 欠損株を用いた歯周炎モデルマウスで歯槽骨吸収をほとんど起こさないことや Mfa1 線毛は歯肉線維芽細胞上の細胞遊走, 細胞接着関連因子の発現調節に関与していることが報告されている。以上のことから, 歯周組織破壊において一定の役割を担うと考えられているが, FimA 線毛と比べ, その作用機序には不明な点が多い。今回, 精製 Mfa1 線毛を用いて, RANKL 誘導性の破骨細胞分化に与える影響を調べることにした。

【方法】Mfa1 あるいは FimA 線毛を J1-1 株 (*fimA* 欠損株) あるいは SMF-1 株 (*mfa1* 欠損株) から精製した。RANKL で 24h 刺激を行った RAW264 細胞を, Mfa1 あるいは FimA 線毛の存在下で培養し, 各実験に用いた。

【結果・考察】Mfa1 線毛刺激では, TRAP 陽性多核破骨細胞数が増加し, RANKL 誘導性破骨細胞分化が亢進した。また, Mfa1 線毛刺激群では破骨細胞の分化マーカーである TRAP, MMP9 および Ctsk の遺伝子発現が有意に増加した。破骨細胞分化過程において Mfa1 線毛が TLRs によって認識されるかどうかを調べる目的で, TLR2 および TLR4 の発現抑制された細胞における破骨細胞分化誘導能を検討したところ, TLR2 の発現抑制された細胞では, Mfa1 線毛による破骨細胞分化が有意に抑制されていた。これらの結果から, 破骨細胞分化に Mfa1 線毛が関与している可能性が示唆された。

P-16

インプラント周囲組織と歯根膜組織の血管内皮細胞の分析

八板 直道

キーワード：インプラント周囲組織, 歯根膜, 血管内皮細胞

【目的】インプラント周囲組織と歯周組織の大きな違いは, 歯根膜が存在しないことである。そのためインプラント周囲組織の微小血管の特徴は, 歯周組織と異なると考えられる。しかし, インプラント周囲組織と歯周組織の微小血管の特徴を比較した報告はない。本研究は, インプラント周囲組織の血管内皮細胞 (ARGEC) と歯根膜組織の血管内皮細胞 (PDEC) を比較し, その違いを明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】血管内皮細胞は, インプラント治療の二次手術時に切除される歯肉組織 (ARGEC), 治療上の理由により抜去された歯の周囲に付着している歯根膜組織 (PDEC) から獲得した。獲得した ARGEC と PDEC の, 細胞増殖, 細胞間接着因子 (ZO-1, Occludin) の発現および細胞間電気抵抗値を測定した。統計学的分析には, 一元配置分散分析を行い, その後 Tukey 検定を用いた。なお本研究は, 日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った (許可番号: ECNC-R-390)。

【結果および考察】細胞増殖は培養6日目, ARGEC と PDEC に有意差を認めなかった。細胞間接着因子の発現は, ZO-1, Occludin とともに, 培養6日目 PDEC と比較し, ARGEC の発現量が有意に増加した。細胞間電気抵抗値は, 培養6日目 PDEC と比較し, ARGEC の有意な増加を認めた。このことにより, インプラント周囲組織の血管内皮細胞は, 歯根膜周囲組織の血管内皮細胞と比較し, 細胞間の接着力が強く, 物質透過性が低い可能性が示された。したがって, インプラント周囲組織の微小血管は, 歯根膜周囲組織の微小血管と比較し, 免疫応答に関する機能が低いと考えられる。今後は, ARGEC と PDEC の免疫応答に関する検討を行う予定である。

P-17

イヌ1壁性インプラント周囲骨欠損モデルにおける
炭酸アパタイトとFGF-2の併用による軟組織の治癒
北村 和

キーワード：骨補填材，炭酸アパタイト，歯周組織再生，塩基性線維芽細胞増殖因子，インプラント

【目的】歯科領域全般（口腔外科，歯周外科等）で業事承認を得ている炭酸アパタイト製骨補填材（サイトランス®グラニュール，以下CO₃Ap）は，成長因子と併用することにより骨形成の促進が期待される。我々は歯周組織再生剤（リグロス®歯科用液キット，以下FGF-2）に着目し，イヌ1壁性インプラント周囲骨欠損モデルにおいて，CO₃ApとFGF-2の併用により，CO₃Apの骨置換が促進され，高い新生骨形成効果を認めることを確認した。本研究では軟組織に着目し，CO₃ApとFGF-2の併用効果について評価した。

【材料と方法】6頭のイヌ下顎両側P3，P4を抜歯し，8週後にインプラント体を埋入し，その近心部に1壁性骨欠損（近遠心7mm×深さ6mm）を作製した。スプリットマウスデザインにより，片側にCO₃ApとFGF-2混和物を埋植し（併用群），反対側に比較対照としてCO₃Ap単独群（単独群）を設定した。埋植8週後の組織学的解析にて軟組織の状態，歯肉の厚さを評価した。

【結果と考察】両群において埋植8週後の骨形成を認め，その上部の軟組織に異常な肥厚及び炎症所見を認めなかった。埋植8週後の歯肉の厚さは，単独群は既存歯肉と同等であり，歯肉はCO₃Apで正常に治癒したと考える。さらに全個体において併用群が単独群と比較して有意に高い値を示した。以前FGF-2によりCO₃Apの骨置換が促進することを報告しており，さらにFGF-2併用効果によって骨欠損部直上の歯肉の厚みが増すことが示唆された。

【結論】CO₃ApとFGF-2を併用することで，骨形成が促進するだけでなく，軟組織の状態も向上することが確認された。

P-18

前駆体利用バイオミメティックプロセスによる低結晶性アパタイト成膜足場材 —骨・歯周組織形成能の評価—

金本 佑生実

キーワード：低結晶性アパタイト，前駆体利用バイオミメティックプロセス，イヌII級分岐部骨欠損モデル，骨分化，歯周組織再生療法

【目的】重度歯周病の再生療法のために，足場材の高機能化が求められている。近年我々は，生体内の骨アパタイト形成反応を模倣したプロセス（前駆体利用バイオミメティックプロセス）を開発し，真皮欠損用グラフトとして市販されているコラーゲンスポンジ（CS）の全表面を，生体親和性・吸収性に優れた低結晶性アパタイトにて迅速かつ簡便にコーティングすることに成功した。本法により作製されたアパタイト成膜足場材（Ap-CS）は，ラット皮下組織において優れた生体親和性を示した（1）。本研究では，Ap-CSの特性評価を行い，骨・歯周組織形成能を検討した。

【材料と方法】CS（テルダグミス）のプラズマ処理および非晶質CaPプレコーティング処理後，CaP過飽和溶液に浸漬して低結晶性アパタイトを成膜しAp-CSとした。Ap-CSの特性（表面形態，吸水性，Ca放出性，タンパク質吸着性，酵素分解耐性），MC3T3-E1細胞に対する細胞適合性，骨芽細胞分化誘導を評価した。さらにAp-CSおよびCSをラット頭蓋骨欠損およびイヌ2級分岐部骨欠損へ埋植し，骨および歯周組織形成を定性・定量評価した。

【結果と考察】Ap-CSにはナノポーラス構造を有する低結晶性アパタイトがスポンジ内部を含む全面に認められた。Ap-CSはCSに比較して高い吸水性，Ca放出性，タンパク質吸着性およびコラーゲナーゼ耐性を示し，MC3T3-E1の骨芽細胞分化マーカー（Ibsp, Bglap1）発現を有意に促進した。Ap-CSは生体内でM2マクロファージ，およびRUNX2, OCN陽性骨芽細胞を強く誘導し，ラット頭蓋の骨増生と，イヌ分岐部骨欠損の歯槽骨形成を有意に促進し，生体吸収性も良好であった。

【結論】Ap-CSはCSに比較して優れた骨・歯周組織形成能を有することが示唆された。

(1) ACS Appl Mater Interfaces 22185-22194 2017

P-19

妊婦の口腔内状況と女性ホルモンとの関連性について

杉山 のどか

キーワード：妊婦，女性ホルモン，口腔細菌叢解析

【目的】歯周病に罹患した妊婦では，早産・低体重児出産のリスクが高まることが知られている。しかし，健康妊婦と早産・低体重児出産妊婦における口腔内の状態と唾液中の女性ホルモン濃度との関連については十分に明らかになっていない。本研究では，健康妊婦と切迫早産妊婦のホルモン濃度，歯周組織状況および口腔細菌叢を比較検討することを目的とした。

【材料と方法】切迫早産妊婦30人（PB群）および，そうでない妊婦30人（H群）を被験者とした。被験者の唾液採取後に，プロービング深さ（PD）とBOPの有無を検査し，PISA・PESAを算出した。唾液と頬粘膜スワブから細菌DNAを抽出した。16S rRNAアンプリコンシーケンス後，QIIME2を用い多様性およびTaxonomyを解析し，PICRUSt2による予測メタゲノム解析を行った。また，唾液プロゲステロン濃度とエストロゲン濃度をEIA法で測定した。

【結果と考察】PB群では，H群と比較して平均PD・BOP率・PISA・PESAが高値となり，唾液プロゲステロン・エストロゲン濃度は低値を示した（ $p < 0.05$ ）。唾液の細菌叢解析においてANCOM解析は，H群で *Streptococcus* 属が高値を示した。頬粘膜細菌叢解析において α -diversity は，shannon 解析で差を認め（ $p = 0.047$ ）， β -diversity は，PCoA プロットからH群とPB群との間に明確な細菌叢分布が存在した（ $p = 0.001$ ）。ANCOM解析は，H群で *Veillonella* 属が高値を，*Actinobacillus* 属が低値を示した。唾液ではPWY0-1296，スワブではPWY-5838などの多くのパスウェイに変化が認められた。

【結論】H群と比較してPB群では歯肉の炎症が強く，唾液プロゲステロン・エストロゲン濃度が低かった。また，口腔細菌叢およびその機能に差異を認めた。

P-20

喫煙を介した *GPR141* 遺伝子と歯周炎の関連

岡田 裕吉

キーワード：歯周炎，GPR141，喫煙

【目的】*GPR141* 遺伝子は歯周炎における日本人を対象としたゲノムワイド関連解析において疾患関連遺伝子として示唆されている。*GPR141* 遺伝子（SNP：rs2392510）は喫煙との間に相互作用が認められているが，*GPR141* 遺伝子が歯周炎と喫煙との相関に与える影響は明らかにされていない。本研究は *GPR141* 遺伝子が歯周炎や歯周炎と喫煙との相関に与える影響を明らかにする事を目的として *GPR141* のSNPと歯周炎の臨床症状との関連および喫煙による影響を解析し，さらに *in vitro* での当該遺伝子発現を検討した。

【材料および方法】北海道医療病院内科に通院中の歯周炎患者115人を対象とした。喫煙者34人と非喫煙者81人に被験者を分類し，rs2392510のSNPと臨床パラメータおよび血清コチニン濃度との相関を解析した。THP-1細胞に対し *P. g* LPS及びニコチン刺激を行い，*GPR141* 遺伝子の発現量を測定した。

【結果と考察】rs2392510は喫煙者で血清コチニン濃度と残存歯数とに有意に相関していた。喫煙者でrs2392510のリスクアレルAAを有する患者は，GG及びAGを有する患者と比較して4mm以上の歯周ポケットを有する割合が有意に高い値を示し，残存歯数が有意に低い値を示した。THP-1細胞の *GPR141* 遺伝子は *P. g* LPS及びニコチン刺激により発現量が低下した。以上から，*GPR141* 遺伝子は血清コチニン濃度の上昇や歯周炎の悪化に伴う歯の喪失に関連する可能性が示唆された。また *in vitro* で *GPR141* 遺伝子は炎症時または喫煙時に発現量が低下する可能性が示唆された。

【結論】*GPR141* 遺伝子は喫煙者における歯周炎の感受性に関連する可能性があり，喫煙に伴う歯周炎患者の臨床症状の悪化に影響を及ぼす可能性が示唆された。

P-21

HUCPVCの石灰化に及ぼす塩基性線維芽細胞増殖因子の影響

矢部 正浩

キーワード：ヒト臍帯血管周囲細胞、塩基性線維芽細胞増殖因子、骨髄間葉系幹細胞

医療廃棄物として処理される臍帯は間葉系細胞の豊富な供給源であり、非侵襲的に得ることが可能である。特にヒト臍帯血管周囲細胞(HUCPVC)は骨髄間葉系幹細胞の代替細胞として再生医療への応用が期待されている。一方、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)は歯周組織再生手術に適用されており、歯周組織再生が誘導されることが明らかになっている。

【目的】本研究ではHUCPVCにbFGF、活性型ビタミンD、LDN-193189(LDN)、TGF-βを併用し添加することにより硬組織への分化を誘導するかの検証を行った。

【材料と方法】本研究ではHUCPVCにbFGF、活性型ビタミンD、LDN、TGF-βを併用し添加後、アルカリホスファターゼ(ALP)活性の測定およびリアルタイムPCRにより硬組織関連遺伝子発現の測定を行った。また、石灰化誘導培地においてbFGF、活性型ビタミンD、LDN、TGF-βを併用することにより、硬組織への分化の影響についての比較検討も行った。

【結果と考察】HUCPVCにbFGF、活性型ビタミンD、LDN、TGF-βを添加することでALP活性の上昇とオステオカルシン、オステオポンチン、リン酸トランスポーターPiTiの遺伝子発現上昇が見られ、一方α平滑筋アクチンの発現は低下した。特にbFGF、活性型ビタミンD、LDN、TGF-βにおいて最も反応が強く、また、アリザリンレッド染色にて石灰化沈着物観察された。

【結論】本研究では、活性型ビタミンD、LDN、TGF-β及びbFGFの共存下でHUCPVCを培養すると、石灰化誘導能を有する細胞に分化させることのできる可能性を見出した。

P-23

コラーゲン結合型塩基性線維芽細胞成長因子は局所滞留性によって水平性骨欠損における歯周組織再生を促進する

岡本 憲太郎

キーワード：歯周組織再生療法、水平性骨欠損、局所滞留性、成長因子

【目的】歯周組織再生剤として塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)製剤が使用されているが、局所滞留性の制限から適応症が限定される。そこで局所滞留性の向上を目的に細菌性コラーゲナーゼ由来コラーゲン結合ドメインとbFGFの融合タンパク質(CB-bFGF)をコラーゲン基剤(CP)にアンカリングさせたCB-bFGF/CPを開発し、ラットの水平性骨欠損モデルで歯槽骨再生が促進された(Nakamuraら, 2019)。本研究では、本剤の*in vitro*徐放性と*in vivo*滞留性を評価し(承認番号OKU-2019600)、イスモデルにて歯周組織再生能を検証した(承認番号OKU-2016297)。

【材料と方法】1. 徐放性の評価CB-bFGF/CPまたはbFGF/CPをPBS中に浸漬し、1日毎に上清を交換した。回収した7日分の上清中のbFGF濃度をELISA法で測定した。

2. 滞留性の評価ラット歯槽骨の水平性骨欠損モデルで、CB-bFGF/CPとbFGF/CPを適用した。1~7日後の歯周組織内に残存したCB-bFGFまたはbFGFを、bFGF抗体を用いた免疫組織化学染色法で検出した。

3. 歯周組織再生能の評価イスの1壁性及び水平性骨欠損モデルに対し、CB-bFGF/CPとbFGF/CPを適用した。8週後の歯槽骨再生量を単純CTで定量比較し、新生セメント質形成を組織学的に比較した。

【結果】1. bFGFは、bFGF/CPから7日間で全て放出されたが、CB-bFGF/CPからは緩徐に放出されて40%に留まった。

2. bFGF/CPのbFGFは3日後には歯周組織中で消失したが、CB-bFGF/CPでは5日後でも検出された。

3. CB-bFGF/CP群では、8週後に歯槽骨量・新生セメント質量を有意に増加させた。

【結論】CB-bFGFは、その徐放性と滞留性によって歯周組織中で長期的に作用し、歯周組織再生を促進する。

P-22

破骨細胞の骨吸収における酸分泌調節因子の検討

大城 希美子

キーワード：破骨細胞、Whole-cell patch clamp法、ostm1、ATP6i

【目的】歯周病は歯槽骨吸収を伴う疾患である。破骨細胞はTCIRG1(V-ATPase)によるH⁺分泌とClC7型Cl⁻チャネル(Clc7)によるCl⁻分泌により骨を吸収する。今回、TCIRG1のサブユニットATP6iの点変異を持つoc/ocマウス及びClc7の細胞膜への移行・安定化調節タンパクOstm1(osteoclast transmembrane protein1)の点変異を持つgl/glマウスから破骨細胞をそれぞれ誘導し、酸分泌能を検討した。

【材料と方法】oc/ocマウス及びgl/glマウスの脾臓細胞をそれぞれMCSFとRANKLで刺激し破骨細胞へと分化誘導した。骨吸収時におけるHCl分泌能をWhole-cell patch clamp法、蛍光測定法、吸収ピット測定法により野生型の破骨細胞と比較検討した。Western blotting法により、破骨細胞、脳、肝臓、脾臓におけるATP6iとOstm1の発現を比較検討した。

【結果と考察】gl/glマウス由来の破骨細胞は骨吸収能、細胞形態及びClc7の特徴である酸誘発性Cl⁻電流において野生型と有意差がなかった。一方、oc/ocマウス由来の破骨細胞は骨吸収能、細胞形態及び酸誘発性Cl⁻電流において野生型と比較して有意に抑制された。

【結論】破骨細胞のCl⁻分泌は、Ostm1によって調整されるのではなく、ATP6iによって調節される可能性が示唆された。

P-24

塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)と炭酸アパタイト(CO₃Ap)の併用が骨芽細胞分化に及ぼす影響

宮田 直樹

キーワード：塩基性線維芽細胞増殖因子、炭酸アパタイト、歯周組織再生療法

【目的】シグナル分子である塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)は、歯周組織治癒の促進効果が報告されており、歯周組織再生療法に使用されている。炭酸アパタイト(CO₃Ap)は、骨と類似した組成を持ち、生体適合性が高いことが報告されており、わが国で新規骨補填材として臨床応用されている。近年、シグナル分子と足場材を併用した歯周組織再生療法が注目を集めている。しかし、FGF-2とCO₃Apの併用による歯周組織治癒のメカニズムはいまだ不明な点が多い。本研究では骨の再生に着目し、FGF-2とCO₃Apの併用が骨芽細胞分化に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】CO₃ApおよびFGF-2添加CO₃Ap上におけるマウス前骨芽細胞(MC3T3-E1細胞)の生存/増殖率をWST-8にて計測し、走査型電子顕微鏡(SEM)と共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)を用いて付着細胞の形態観察を行った。また、骨芽細胞分化および基質石灰化の評価をPCR arrayにて行った。

【結果と考察】FGF-2添加CO₃Ap上でのMC3T3-E1細胞の細胞生存/増殖率は、CO₃Ap上と比較し、有意な差を認めなかったが、SEMおよびCLSМにおいて伸長した細胞の付着が多く観察された。また、PCR arrayでは、FGF-2添加CO₃Ap上でのMC3T3-E1細胞において、CO₃Ap上と比較し細胞接着や細胞増殖、基質石灰化に関与する26種類の遺伝子発現量が多い傾向を認めた。

【結論】CO₃ApへのFGF-2の添加は、CO₃ApへのMC3T3-E1細胞の接着を促進し、骨芽細胞分化を促すことが示唆された。

P-25

マウス糸糸結紮歯周炎モデルを用いた歯周感染が妊娠成績や子宮組織に及ぼす影響の検討

永田 千晶

キーワード：歯周感染、不妊、子宮

【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、歯周病原細菌の感染が妊娠成績や子宮組織に及ぼす影響は不明である。本研究では、マウス歯周炎モデルを用いて、歯周感染が妊娠成績や子宮組織に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】マウス歯周炎モデル (C57BL/6J, 雌性, 9週齢) は、上顎両側第二臼歯に5-0糸糸を結紮し、Pg W83株 (1×10^8 CFU/mL, 0.2mL) を週3回糸糸に浸透させて歯周感染を惹起した (岡山大学動物実験委員会: OKU-2021680)。歯周炎誘導から4週間後に雄マウス (C57BL/6J, 9-15週齢) と交配させ、出産数、死産数、新生児マウス体重、妊娠期間を調べた。また、歯周炎を4週間誘導した雌マウスから子宮を摘出し、子宮組織横断面積を計測した。統計解析は、Studentのt検定を用いた。

【結果と考察】歯周炎群では、対照群 (無処置) と比較して、出産数が有意に低下し、死産数が有意に増加した ($p < 0.001$)。また、歯周炎群での新生児マウス体重は有意に低下した ($p < 0.05$)。歯周炎マウスの子宮横断面の面積は、対照群と比較して、有意に肥大していた ($p < 0.05$)。以上の結果から、歯周感染を起こしたマウスでは妊娠成績が低下し、子宮の肥大化がその一因となっている可能性が示唆された。

P-27

高周波電流の周波数が骨形成に及ぼす影響

山田 慧太

キーワード：高周波電流、周波数、正弦波、高速フーリエ変換、骨形成

【目的】我々は、ラット頭蓋骨に作製した骨欠損に高周波電流刺激を行うことにより、骨形成が促進されることを報告してきたが、これまで使用してきた高周波電流は多くの周波数が混合するものであった。本研究の目的は、骨再生に有効な周波数を明らかにして、単一周波数で通電することにより骨再生効果が向上するかを明らかにすることである。

【材料と方法】まず、10週齢 Wister系ラットの頭蓋骨に、外径4.8mmトレフィンバーで骨欠損を作製し、周波数が混在した従来の高周波電流を用い、オシロスコープで電流波形を記録、高速フーリエ変換して各周波数の実効電流値を解析、各周波数の実効電流値の割合と8週後のμCTによる骨形成量を比較した。

次に、骨形成量が多かった時に実効電流値の割合が多かった周波数2つと、小さかった周波数で、ラット頭蓋骨の骨欠損に通電、8週後にμCT画像と脱灰薄切標本からそれぞれ硬組織形成率を算出した。本実験は国立大学法人北海道大学動物実験委員会の承認を受け、同指針に従って行った (承認番号17-004)。

【結果と考察】骨形成量が多く多かつた例では、549kHzと7.751kHzの2つの周波数で実効電流値が高くなっていた。骨形成率は、通電しなかった対照群と比較すると、通電したすべての群で有意に高い値となり、いずれの周波数も骨形成効果が認められた。さらに7.751kHzは11.710kHzおよび多数の周波数が混在した場合に比べて有意に高い骨形成率を示した。

【結論】多数の周波数が混在する高周波電流より、単一周波数の方が骨形成効果は高く、とくに7.751kHzの周波数が骨形成促進に最も有効であることが明らかとなった。

P-26

低侵襲性歯周組織再生療法を行った侵襲性歯周炎症例

松本 俊樹

キーワード：侵襲性歯周炎、低侵襲性歯周組織再生療法、歯周組織再生療法、リグロス®

【緒言】侵襲性歯周炎による歯周組織破壊に対しては、患者が比較的若年であることを考慮して、長期間にわたり審美性と口腔機能を維持したい。今回、低侵襲性歯周組織再生療法 (Minimally Invasive Periodontal Regenerative Surgery: MIPRS) を適応した侵襲性歯周炎患者の症例を報告する。

【初診】2019年3月; 33歳, 男性

【主訴】全顎的な歯肉からの出血と歯の動揺による違和感

【検査所見】全顎的に辺縁歯肉は発赤し、局所的に排膿があった。歯周組織検査では、PCR 20%、PPD 4mm以上の部位率 61%、BOP陽性率 71%、PISA 2.575mm²で、動揺度は17, 11-22, 24, 37, 32-45がI度であった。デンタルX線検査では、全顎的な水平的歯槽骨吸収像と、多数歯に垂直的骨吸収像があった。歯周病原細菌検査では *Porphyromonas gingivalis* の割合が高かった。頬粘膜と舌には歯の圧痕があった。BMIと血圧は正常範囲内で、約10年間の喫煙後に5年前から禁煙し、全身的に健康である。

【診断】広汎型侵襲性歯周炎 (Stage IV, Grade C; 慢性期へ移行)、二次性咬合性外傷

【治療の計画・経過】①歯周基本治療、②全顎の歯肉剥離搔爬術、③局所のMIPRS (リグロス®併用)、④SPT

【結果・考察】感染除去を剥離搔爬術で確実にを行い、組織再生を創傷治癒が早いMIPRSにて、2段階の歯周外科治療を行った。歯槽骨形態を的確に把握して骨欠損部の乳頭のみに剥離することで、歯周組織が早期に回復した。外科的侵襲度を抑制して、侵襲性歯周炎患者に望ましい治療を得た。

P-28

高出力赤色LED照射はヒト歯根膜幹細胞の炎症反応を抑制する

山内 伸浩

キーワード：赤色LED、ヒト歯根膜幹細胞、Photobiomodulation

【目的】慢性歯周炎は歯周組織の炎症性病変であり、歯周組織再生時に重要な役割を担うヒト歯根膜幹細胞 (hPDLSCs) の挙動は、炎症性メディエーターの影響により制限される。また、Photobiomodulation (PBM) therapyの新たな光源としてLEDが目目されている。過去に各種細胞でPBMによる抗炎症作用が報告されているが、hPDLSCsに対する報告は少ない。本研究では、hPDLSCsの炎症反応に対する赤色LED照射の影響について検討した。

【材料および方法】hPDLSCsは、ヒト抜去歯より採取した。光源は (株)モリタより供与されたLedEngin社製赤色LED (中心波長: 650nm) を用い、400mW/cm²で照射した。エネルギー量は照射時間を変えることにより調整した。慢性歯周炎における主な炎症性サイトカインの一つであるTNF-αによりhPDLSCsの炎症反応を誘導した。LED照射24時間後のATP levelsとインターロイキン (IL) -6とIL-8産生量を測定し、さらにATP合成阻害剤のpotassium cyanide (KCN) を用い、ATP合成と炎症抑制の影響を検討した。

【結果および考察】6 J/cm²でのLED照射はATP levelsを有意に増加させ、TNF-α誘発のIL-6とIL-8産生を有意に減少させた。さらにLED照射による炎症性サイトカイン産生抑制効果はKCNにより阻害された。

【結論】高出力赤色LED照射は、hPDLSCsのATP合成を促進させることにより炎症性サイトカイン産生量を抑制させ、歯周病治療における抗炎症作用に応用できる可能性が示唆される。

P-29

Backpack結合M2マクロファージの局所投与による
歯周炎抑制効果の検証

中島 麻由佳

キーワード：M2マクロファージ、細胞免疫療法、微粒子 (backpack : BP)

【目的】近年、抗炎症性M2マクロファージ誘導による歯周炎抑制効果が着目されている。今回、歯肉へ直接投与されたM2マクロファージがM1へ極性変化するのを防ぐ目的でIL-4含有微粒子 (backpack : BP) を開発し、BP結合M2マクロファージの実験的歯周炎における治療効果について検証を行った。

【材料と方法】C57BL/6マウスより採取した骨髄由来マクロファージ (BMDMs) をIL-4 (200fg/BP) 含有BPと静置培養してBP結合BMDMsを準備し、その細胞極性がM2へと変化するのをフローサイトメトリーにて確認した。続いてBP結合M2マクロファージ (BP-M2) 又はBP、M2マクロファージのみを歯牙結核及び*Porphyromonas gingivalis* W83株口腔投与にて誘導した歯周炎へ注射し、歯槽骨吸収量を測定した。また、歯周病変部におけるマクロファージの局在と表現型を免疫組織学的に評価した。

【結果】BP結合によりBMDMsがM2細胞へと極性変化した。投与されたBP-M2は5日間に渡って歯周病変部の歯肉中に局在し、またBP-M2投与群のみにおいて総マクロファージに対するM2の割合が高く維持された。さらに、BP-M2投与群において他の群と比較して優位な歯槽骨吸収の抑制が観察された。

【結論】以上より、投与されたBP結合マクロファージは歯周病変部へ局在し続けると共にそのM2極性を維持することで、歯周病の進行を抑制する可能性が示唆された。BP-M2細胞投与による細胞免疫療法の新しい歯周病治療法としての有用性が示唆された。

P-30

*Porphyromonas gingivalis*由来OMVs (Outer Membrane Vesicles) は破骨細胞の分化に関する

植村 勇太

キーワード：破骨細胞、メンブレンベシクル、*Porphyromonas gingivalis*

【目的】主要な歯周病原細菌である*Porphyromonas gingivalis* (Pg) は、脂質二重膜から構成されるメンブレンベシクル (Outer Membrane Vesicles : OMVs) を産生し、歯周組織を構成する様々な細胞に影響を与えることが知られている。我々の研究室ではPg-OMVsがヒト歯肉上皮細胞株の炎症性サイトカイン発現を誘導することを報告したが、炎症性骨吸収への関与、特に破骨細胞に対する影響は不明点が多い。本研究ではRAW2647細胞を用いて、Pg-OMVsの破骨細胞分化への影響を検討した。

【材料と方法】Pg-OMVsはPgATCC33277株の培養液を遠心分離した上清から市販のキットを用いて精製した。マウスマクロファージ様細胞株RAW2647細胞は 1.0×10^4 cells/cm²で播種し、sRANKL 50ng/mLにより破骨細胞に分化誘導した。そしてPg-OMVs (10~150ng/mL) を培地に添加してTRAP染色を行い、形成された多核細胞の数を計測した。また細胞を回収して、破骨細胞の分化マーカーの発現をウェスタンブロットング法で確認した。

【結果と考察】RAW2647細胞では、10ng/mL以上のPg-OMVsの添加によりRANKL誘導性の破骨細胞分化が有意に増加した ($P < 0.01$)。またPg-OMVsの添加によりNFATc-1, Cathepsin KおよびDC-STAMPの発現が上昇した。以上の結果より、Pg-OMVsは破骨細胞の分化マーカーの発現制御を介して歯周組織で破骨細胞の分化を促進することが示唆された。

P-31

マウス口腔内実験に用いる新規立体可動型開口器の
開発

倉治 竜太郎

キーワード：開口器、動物実験器具、実験的歯周炎、口腔内実験、実用新案

【目的】歯周病学をはじめ齧歯類の口腔内で処置を行う場合、開口状態の保持や視野確保が実験手技を安定させる上で極めて重要であり、我々はこれまでマウス・ラット専用開口器の開発に注力してきた。しかし、従来の開口器 (旧型開口器, U3194403) では、マウス頬粘膜を圧排する粘膜牽引フックが非可動式であること、開口調節ダイヤルが開口器片側のみに設置されているためマウスの軽い体重では支えにくいなど、様々な問題点が指摘されていた。そこで我々は実験をより円滑に遂行するための新たな開口器を考案したので、ここに報告する。

【材料と方法】本考案は、1.5mmステンレス線を用いた長方形の切歯開口フレーム (1) と、フレーム上に設置された可動式頬粘膜牽引フック (2)、フレーム基端部に取り付けられた左右一対の開口調節ダイヤル (3) から構成される立体可動型のマウス開口器 (新型開口器) である。異なる週齢の口腔形態に応じた本器の適合性を評価するため、5, 10, 15週齢のC57BL/6jマウスを対象に、開口器装着時の垂直・水平開口量、開口部表面積および口腔内容積を計測した。対照として旧型開口器を用いて同様の計測を行った。また口腔内実験の適応例として、基本的な歯周炎モデルである上顎臼歯への絹糸結紮を行った。

【結果と考察】新型開口器の装着時には、旧型開口器と比べて、開口時の各計測値は有意に大きな値を示した。可動式頬粘膜牽引フックの設置により頬粘膜を水平および前後方向に自由に牽引できるようになり、操作性の向上が認められた。さらに、両側に取り付けた開口調節ダイヤルにより、全週齢マウスで左右バランスのとれた開口状態が保持され、口腔内実験を良好に実施できた。

【結論】新型開口器は、マウスの口腔内実験において優れた操作性と開口保持効果を有した。本器は実用新案登録済みである (U3236532)。

P-32

The establishment of matrix-assisted differentiation into neural crest cells from human induced pluripotent stem cells

Jiacheng Wang

Keywords: periodontal ligament-derived MSCs, neural crest cell, differentiation, fibronectin, induced pluripotent stem cell, periodontal regeneration

Background: Periodontal ligament-derived mesenchymal stromal cells (PDLMSCs), a promising cell source for periodontal regeneration, still hold some problems with clinical application, such as individual differences and the limitation of proliferation. To solve that, induced pluripotent stem cells (iPSCs) are taken into consideration as an unlimited supply for PDLMSCs. Embryonically, neural crest cells (NCCs) take an intermediate part in PDLMSCs-derivation, which act as a vital role in the craniofacial formation including periodontium. Therefore, increasing the efficiency of NCCs induction from iPSCs becomes the key point for PDLMSC generation.

Materials & Methods: Human iPSCs (hiPSCs) were cultured for 4 days on the various concentrations of fibronectin (FN) or laminin (LM) -covered plates, respectively. StemFit® AK02N media with two small-molecule inhibitors (SB431542, CHIR99021) was used to induce human NCCs (hNCCs) for different cultivation periods, then CD271-positive cells were sorted by fluorescence-activated cell sorting. NCC-specific genes were examined by qPCR.

Results: FN-coated condition induced the highest CD271-strongly-positive cells after 8 days of induction. qPCR confirmed the NCC-specific gene expressions.

Conclusion: We successfully optimized the inductive condition of NCCs from hiPSCs with FN. Further investigation must be needed to induce PDLMSCs from hNCCs for the cytotrapy of periodontal regeneration.

P-33

Shikoninがヒト歯肉上皮細胞の創傷治癒に及ぼす影響

中村 百合香

キーワード：シコニン、歯肉上皮細胞、創傷治癒、IL-1 β

【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、ヒト歯肉上皮細胞 (epi4) 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】 歯肉上皮細胞epi4 (大阪大学村上伸也教授より御供与) を各種濃度のShikonin (0.001, 0.01, 0.1, 1, および10 μ M) で培養し細胞増殖、遊走を評価した。抗炎症作用を調べるために、ヒトリコピンナントIL-1 β にて炎症状態を惹起しShikoninの抗炎症作用をELISA法とリアルタイムPCR法を用い炎症性サイトカインIL-6およびIL-8の発現を調べた。Shikoninの炎症抑制効果を確認するために、ERKのリン酸化についてWestern Blotting法を用いて評価した。

【結果と考察】 0.01 μ MのShikoninはepi4の増殖と遊走を有意に促進し、10 μ MのShikoninによって細胞毒性を誘導した。また、Shikoninはepi4に対し細胞増殖能と遊走能を示しepi4をIL-1 β にて刺激後Shikoninで処理するとIL-6およびIL-8の発現を抑制し、ERKのリン酸化を確認した。

【結論】 Shikoninはepi4の細胞増殖、遊走、抗炎症作用を有し、ヒト歯肉上皮組織の創傷治癒に有用であると示唆される。

P-34

歯周病新分類とPISA、PESAに関する調査研究

忌部 広

キーワード：PISA

【目的】 PISA (Nesse, 2008) は炎症状態を表す指数として浸透しつつある。しかし、2017年に提唱された歯周病新分類においては、ステージ分類、グレード分類ともにPISAについての項目は含まれていない。本研究では、歯周病新分類における各ステージとPISAの関連性について調べることを目的とした。

【材料と方法】 朝日大学倫理委員会 (承認番号32020) の承認のもと朝日大学医科歯科医療センター歯周病科に来院した患者 (90名) に対し、初診時のエックス線写真と歯周組織検査のデータをもとにステージ分類し、PISAを算出した。PISAの数値のみでは残存歯数の影響を受けるため、今回は患者1口腔単位ごとに全顎的なPISA/PESA (%) と、1口腔を上下顎の左右臼歯部ならびに前歯部の6つのブロックに分けたPISA/PESA (%) を算出し、その中で最も数値が高いブロックを対象に新分類のステージと比較、分類した。(1) ステージII~IVの3群間の全顎的なPISA/PESA (%) をKruskal-Wallis検定にて分析。(2) (1)の条件である全顎的なPISA/PESA (%) をブロックごとのPISA/PESA (%) に変更し同様に分析。(3) (1)(2)で使用した各データをさらに年齢別に分けて解析した。

【結果】 本研究の結果、ステージII~IVと進行していくにつれて初診時のPISA/PESA (%) の値は上昇するという傾向がみられた。

【考察】 本研究ではPISA/PESA (%) を用いることで、年齢に関係なく新分類における各ステージに対応することが示唆できた。しかし、(3)で行った年代別の分析では有意差は認められなかったが、今後さらにn数を増やして検討していく必要があると考えている。

P-35

Surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) ナノファイラー分散液を注水に用いた超音波スケーラーによる歯周炎改善効果

宮治 裕史

キーワード：Actinomyces naeslundii, Surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) ナノファイラー、次世代シーケンサー、実験的歯周炎、歯肉縁下細菌叢

【目的】 Surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) ナノファイラーは、マルチオンを放出し、抗菌性及び歯質強化作用を有するバイオアクティブガラスである。本研究では、S-PRG ナノファイラー分散液を超音波スケーラーの注水に用いてスケーリングを行い、ナノファイラーの歯根への付着残留とスケーリング後の歯根の抗菌性を評価した。また、ビーグル犬の実験的歯周炎において、S-PRG ナノファイラー分散液を用いたスケーリングによる歯周炎の改善効果を検討した。

【材料と方法】 S-PRG ナノファイラー分散液 (粒径480nm, 濃度1%) を注水に用いて、ヒト抜歯歯根を超音波スケーラー (ピエゾン250, PSチップ) で10秒間スケーリングした。水洗後に歯根表面のSEM-EDX分析を行い、さらにA. naeslundii (An) を播種して抗菌性を評価した。次にビーグル犬の実験的歯周炎 (II級根分岐部病変) において、S-PRG ナノファイラー分散液 (実験群)、あるいは水 (対照群) を注水に用いて1歯30秒間スケーリングを行った。ベースライン (0週) および術後12週までの臨床パラメータ (GI, BOP, PPD, CAL) の評価、ベースラインと12週の歯周ポケット内細菌の採取分析、および12週のCTによる歯槽骨治癒評価を行った (臨床研究17-222, 動物実験17-93)。

【結果と考察】 S-PRG ナノファイラー分散液を注水に用いたスケーリングによって、歯根面にナノファイラーが付着残留し、Anの増殖を抑制した。ビーグル犬の臨床パラメータは実験群で有意に改善し、歯周ポケット内細菌のNGS解析の結果、実験群でRed complexの比率減少と常在菌の増加が認められた。また、実験群の歯槽骨治癒が促進された。

【結論】 S-PRG ナノファイラー分散液を注水に用いたスケーリングは、歯根に抗菌性を付与し、歯周炎の改善効果を示唆された。

P-36

Porphyromonas gingivalis LPSによる非定型NLRP3インフラマソーム活性化に関する研究

金子 高士

キーワード：リポ多糖, NLRP3, カスパーゼ4

【目的】 細胞質内に存在するカスパーゼ4およびカスパーゼ5は細胞内に侵入したグラム陰性細菌のLPSに結合することで活性化され、NLRP3とカスパーゼ1を介したピロトローシスと呼ばれる細胞死を誘導することが報告されている (非定型NLRP3活性化経路)。そこで、本研究では*Porphyromonas gingivalis* LPSのカスパーゼ4, 5の活性化に関して検討した。

【材料と方法】 電気穿孔法にて*P. gingivalis* LPSをヒト単球・マクロファージ細胞株のTHP-1細胞に配送した。*Echerichia coli* LPSを対照として使用した。細胞死は乳酸脱水素酵素 (LDH) の放出を指標として計測し、NLRP3とカスパーゼ4, 5のmRNA発現はRT-PCRにて、そしてタンパク発現は免疫ブロッティング法にて解析した。

【結果と考察】 RT-PCRによる解析ではTHP-1細胞にはカスパーゼ5の発現は認められなかったため、カスパーゼ4に関して実験を行った。*P. gingivalis* LPSはカスパーゼ4とカスパーゼ1の分解を誘導し、濃度依存的に細胞死を引き起こし、この細胞死はカスパーゼ4、カスパーゼ1、NLRP3のインヒビターにより抑制された。このことから*P. gingivalis* LPSによる細胞死にはカスパーゼ4、カスパーゼ1そしてNLRP3が関与することが明らかになった。

【結論】 *P. gingivalis* LPSはカスパーゼ4を介した非定型NLRP3活性化を誘導することが明らかになった。

P-37

歯周病の病態を形成する免疫制御機構の解明

永尾 潤一

キーワード：歯周病原細菌, Th17細胞

【目的】歯周病は口腔内に常在する歯周病原細菌による感染症であり、その病態形成にはサイトカインIL-17A産生を特徴とするTh17細胞による宿主の免疫応答が関与する。口腔内の歯周病原細菌が抗原となり、Th17細胞が分化すると考えられるが、歯周病の病態形成に関わるTh17細胞の制御機構はよく分かっていない。本研究では、歯周病原細菌に対する口腔と全身におけるTh17細胞を介した免疫応答に着目し、歯周病の病態形成機構を解明することを目的とする。

【材料と方法】歯周病との関連性が高い歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis*をマウスに感染することで、マウス歯周病モデルを構築した。構築したマウス歯周病モデルを用いて、*P. gingivalis*に反応するTh17細胞の生体内での動態をフローサイトメトリーによりモニターした。また、全身性のTh17細胞応答に関与する宿主因子として腸内細菌叢に着目し、全身性のTh17細胞応答と歯周病の病態形成への影響を解析した。

【結果と考察】*P. gingivalis*感染によるマウス歯周病モデルを構築することができた。構築したモデルを用いることで、*P. gingivalis*応答性のTh17細胞は腸管を介して全身性に反応することが認められた。また、宿主因子としての腸内細菌叢は、全身性のTh17細胞応答と歯周病の病態形成に関与することが示唆された。

P-38

歯周炎に対するヘスベリジンの抗炎症作用の*In vitro*解析

鈴木 亮太郎

キーワード：歯周炎, LPS, ヘスベリジン

【緒言】歯周病は、細菌因子とそれに対する宿主因子により疾患が成立し、環境因子が加わることで病態を進行することが知られている。また、歯周病原細菌は歯周組織に慢性的に刺激を加え、様々なサイトカインや酵素の産出を促し、組織破壊を引き起こすことが知られている。一方、柑橘系ポリフェノールの一種であるヘスベリジン (Hesp) は、抗炎症作用、抗酸化作用などの作用を有していることが報告されている。そこで本研究は、歯周炎に対するHespの抗炎症作用を明らかにすることを目的とし、ヒト歯肉線維芽細胞 (GF) にLipopolysaccharide (LPS) を添加したものを歯周炎モデルと想定し、歯周炎に対するHespの作用を解析した。

【材料と方法】細胞は株化されたGFを用いた。実験群は、LPS (1.0μg/mL) + Hesp (30μM) を曝露した群、LPSのみ曝露した群、Hespのみ曝露した群とした。対照群は、培地のみとした。測定項目は、a) 細胞増殖：細胞を96wellに播種し、経目的に測定を行った。b) 炎症性サイトカイン：細胞を各条件で培養し、6時間後に測定を行った。炎症性サイトカインInterleukin-6 (IL-6)、Interleukin-8 (IL-8) の測定はReal-time PCR法にて行った。

【結果】細胞増殖では、7日目にLPS + Hespを曝露した群、Hespのみ曝露した群では、対照群との間に有意差を認めた。炎症性サイトカインでは、LPS + Hespを曝露した群とLPSのみ曝露した群のIL-6、IL-8の発現に、有意な抑制を認めた。

【考察】本研究は、Hesp曝露時において、細胞増殖には影響を与えず、また炎症性サイトカインの有意な抑制を認めた。このことから、Hespの歯周炎時に対する、抗炎症作用に効果が示唆された。今後は、Hesp曝露時の抗炎症作用の発現経路の解明を行っていく予定である。

P-39

歯肉組織に対するヒノキチオールの浸透性評価

宅見 信哉

キーワード：ヒノキチオール, ブタ歯肉, 組織浸透性

【目的】これまで、我々は歯磨剤の薬用成分であるヒノキチオールの生理活性作用について、歯肉細胞に対する評価を行ってきた。本研究では、歯肉細胞に対する抗酸化作用などの様々な生理活性を有するヒノキチオールの薬剤浸透性について、ブタの歯肉組織を用いて評価を行った。

【材料と方法】試料は、ヒノキチオールを添加率0, 0.04, 0.1, 0.5 wt%となるように調製した歯磨剤を用いた。ブタ下顎歯肉を生理食塩水にて洗浄し、所定の濃度に希釈した歯磨剤を歯茎組織に塗布し15分静置後、歯肉組織の凍結切片を共焦点レーザーラマン顕微鏡にて観察した。各切片のスペクトルを検出し、イメージングすることでヒノキチオールの薬剤浸透性を評価した。

【結果と考察】ブタ歯肉組織中の角層及び顆粒層へのヒノキチオールの浸透を確認することができた。ヒノキチオールの浸透量は、歯磨剤中のヒノキチオール添加率依存的に増加していた。これまで、我々は歯肉細胞におけるヒノキチオールの生理活性を確認してきたが、本研究により歯肉組織において角層以下に存在する歯肉細胞へヒノキチオールが到達することで、生理活性作用を発揮している可能性が示唆された。

【結論】歯磨剤中に配合されたヒノキチオールが歯肉組織中の顆粒層まで浸透していることを確認した。

P-40

母体免疫活性化による精神疾患発症モデルマウスの解析

根来 (安松) 香奈江

キーワード：細菌感染, 母体免疫活性化, 自閉スペクトラム症

【目的】母体の感染が胎児期の脳神経系発達に影響を及ぼすことが明らかにされ、母体免疫活性化 (MIA) が注目されている。近年、ウイルス感染においてMIAが胎児脳システム発達に影響を与え、母体のIL-17Aが原因であることが報告された。細菌感染でも同様にIL-17Aが重要な役割を果たしASDを引き起こすことを我々は動物実験で明らかにした。本研究では、これまでに作成したモデル動物を用いて新たなMIAモデルを構築し、そのメカニズムを解明することを目的とする。

【材料と方法】妊娠C57BL/6マウスに大腸菌由来またはその他のLPSを腹腔内投与し、MIAマウスモデルを構築した。そのモデルマウスを用いて胎児を取り巻く母体免疫環境の解析、胎児脳神経系の発達の解析を行った。MIAマウスから生まれた仔マウスを対象に、行動学的表現型の解析を行った。母体マウスへのIL-17A中和抗体の投与により、MIAによる仔マウスの自閉症様行動の改善を検証した。

【結果・考察】母体血中IL-17Aの上昇を認め、IL-17A産生細胞の動態を明らかにした。また、母体の子宮においてIL-17Aの発現上昇、および仔の脳においてIL-17A受容体の発現上昇を認めた。MIAマウスから生まれた仔マウスは、全ての行動試験で自閉症様の行動異常を示し、IL-17A中和抗体の投与により行動異常が改善された。以上のことから、細菌感染によるMIAモデルでは母体のIL-17Aによって仔マウスの自閉症様行動異常を誘導することが示された。

【結論】細菌感染によるMIAで応答する母体のIL-17A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-41

新型コロナウイルス感染拡大前後における福岡市の
妊婦歯科健診の受診者の特徴

鎮守 信弘

キーワード：妊婦，歯周病，う蝕，新型コロナウイルス感染症

【目的】新型コロナウイルス感染症の拡大時に，緊急事態宣言やまん延防止等重点措置が発令された際には様々な行動の自粛が要請され，患者の歯科受診行動にも影響があったと考えられる。本研究では，福岡市が実施している妊婦歯科健診において，新型コロナウイルス感染症の拡大前後での受診者数とその特徴を調べた。

【方法】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を対象とした。新型コロナウイルス感染症の拡大前は2018年7月～2019年6月，拡大後は2020年4月～2021年3月に妊婦歯科健診を受診した者の特徴を比較した。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。

【結果】妊婦歯科健診の受診者数は，新型コロナウイルス感染症の拡大前の2018年度は4,648人，拡大後の2020年度は4,789人であった。未処置歯保有率は，2018年度が49.4%，2020年度が47.2%であった（カイ二乗検定 $p=0.034$ ）。歯周ポケット6mm以上保有していた者は，2018年度は13.0%，2020年度は13.6%であった（カイ二乗検定 $p=0.389$ ）。妊娠前に歯科健診を定期的に受診していた者は，2018年度は38.8%，2020年度は41.4%であった（カイ二乗検定 $p=0.011$ ）。

【考察】福岡市の妊婦歯科健診では，新型コロナウイルス感染症拡大後に受診者は減ることはなく，歯科健診を控える妊婦は少なかったことが伺える。また，新型コロナウイルス感染症拡大後の受診者のほうが，う蝕の保有状態は少なく定期受診者が多かったことから，新型コロナウイルス感染症拡大時には口腔の健康に対して意識が高い者が妊婦歯科健診を受診していたと考えられる。

P-42

ニコチン刺激を除去するとヒト歯肉線維芽細胞およびヒト肺線維芽細胞は回復傾向を示す

五十嵐（武内）寛子

キーワード：ニコチン，喫煙，禁煙，歯肉線維芽細胞，肺線維芽細胞

【目的】タバコ煙はニコチンをはじめとする有害物質を含み，長期に吸入曝露することで身体に影響を与える。我々は，喫煙の影響を見るためにニコチンを用いて，ヒト歯肉線維芽細胞およびヒト肺線維芽細胞に対しどのような影響を及ぼすのか第64回秋季日本歯周病学会学術大会にて報告している。今回は，ニコチン刺激を中断した後にどのような効果が認められるか形態学的観察を中心に検討を行った。

【材料と方法】健康ヒトより単離した歯肉線維芽細胞（以下，HGF）と健康ヒト肺線維芽細胞株（以下，HFL1）を実験に用いた。最終濃度1 $\mu\text{g/ml}$ ニコチンを24時間作用した後，継続してニコチン刺激を行ったものを喫煙群，ニコチンを含まない新鮮培地に交換したものを禁煙群とし，細胞毒性試験，細胞遊走能の測定，SEMおよびTEMによる評価を行った。

【結果と考察】1 $\mu\text{g/ml}$ ニコチンを作用させることにより，喫煙群および禁煙群ともに時間依存的に優位な細胞毒性および細胞遊走能の低下が認められたが，培養上清交換後，禁煙群は有意に増加した（ $p<0.001$ ）。ニコチン作用後，空胞変性が認められたが，慢性閉塞性肺疾患肺線維芽細胞株においても同様の所見が認められた。禁煙群では時間依存的に空胞変性は消滅したが，デブリス様構造物が残存していたことから，ダメージの残存が考えられる。また，禁煙群では，TEMによる観察においてエキソサイトーシス様所見が観察された。

【結論】ニコチンによる障害は，ニコチン刺激を排除することにより回復傾向を示すが，ダメージの残存が示唆された。本研究は，学術研究助成基金助成金 基盤研究（C）（一般），課題番号20K10280の助成を受けて行われた。

P-43

グルコース代謝由来の乳酸がヒト歯根膜幹細胞の硬
組織分化に及ぼす影響

鄧 信

キーワード：ヒト歯根膜幹細胞，グルコース代謝，乳酸

【目的】歯根膜幹細胞（PDLSCs）は，歯根膜由来の未分化間葉系幹細胞のひとつであり，歯周組織再生に重要な役割を果たす細胞である。しかし，歯周外科手術直後に起こりうる局所的なグルコース欠乏が歯周組織再生に及ぼす影響は明らかでない。本研究では，低グルコース環境がPDLSCsの細胞増殖，遊走および硬組織分化に及ぼす影響について検討することを目的とした。

【材料と方法】本研究では，5つのグルコース濃度（100, 75, 50, 25, 0 mg/dL）の培地を使用し，グルコース環境の変化がPDLSCsの乳酸産生に与える影響を検討した。また細胞内への乳酸取り込みを制御するモノカルボン酸トランスポーター-1の特異的阻害剤であるAZD3965を用いてPDLSCsの細胞増殖，遊走および硬組織分化に及ぼす影響を検討した。さらに，乳酸代謝と硬組織分化に関与するシグナル経路のタンパクであるextracellular signal-regulated kinase（ERK）1/2, protein kinase B（AKT）およびHypoxia Inducible Factor 1 α （HIF1 α ）の発現についても検討を行った。

【結果】低グルコース環境によってPDLSCsの乳酸産生は減少した。またAZD3965はPDLSCsの細胞増殖，遊走，および硬組織分化を抑制した。さらに，低グルコース環境とAZD3965によって，ERK1/2, AKTおよびHIF1 α の発現が抑制された。

【結論】PDLSCsの細胞増殖，遊走，および硬組織分化はグルコース代謝由来の乳酸を介して制御される可能性が示唆される。

P-44

低出力超音波パルスはBMP9により誘導された脱分
化脂肪細胞の骨芽細胞様分化を増強する

瀬戸口 史晃

キーワード：脱分化脂肪細胞，低出力超音波パルス，BMP9

【目的】歯周病により喪失した歯周組織の再生療法として，様々な方法が臨床応用されているが，適応症の制限や再生組織量の限界などの問題から新たな再生療法が求められる。成熟脂肪組織から比較的容易かつ安全に得られる脱分化脂肪細胞（DFATs）は，間葉系幹細胞と同様の性質を有する。以前我々はDFATsがbone morphogenetic protein 9（BMP9）により骨芽細胞様分化誘導されることを示した。本研究では，整形外科領域にて骨折の治療に臨床応用されている低出力超音波パルス（LIPUS）のBMP9によるDFATsの骨芽細胞様分化への影響を*in vitro*にて検討した。

【材料と方法】Wistar系ラット（9週齢・雄）から成熟脂肪組織を採取し，通法に従いDFATsを分離した。BMP9刺激およびLIPUS照射を行い，アルカリフォスファターゼ（ALP）活性，石灰化結節形成能（アリザリン染色），骨分化マーカーの遺伝子発現を解析した。

【結果と考察】DFATsのALP活性の上昇は，BMP9とLIPUSとの併用によりBMP9単独よりも有意に亢進していた。石灰化結節形成能ではBMP9添加によるアリザリン染色の増加を認め，LIPUS併用により有意に増強した。骨分化マーカー遺伝子の発現解析ではBMP9単独よりもLIPUS併用群において遺伝子発現の増強を認めた。DFATsに対し，LIPUSの単独刺激では骨芽細胞様分化への誘導は認められなかった。また，BMP9によって誘導されたDFATsの骨芽細胞様分化のLIPUS刺激による増強はシクロオキシゲナーゼ-2（COX2）の選択的阻害剤（NS398）により抑制された。

【結論】本研究により，*in vitro*にてLIPUSはBMP9により誘導されたDFATsの骨芽細胞用分化を増強し，このメカニズムにCOX2の関与が示唆された。

P-45

非アルコール性脂肪性肝炎由来肝細胞がんにおける
歯周病の関与

琢磨 遼

キーワード：肝細胞がん, NASH, 歯周病

【背景】非アルコール性脂肪性肝炎患者は非アルコール性脂肪肝、そして非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) へと2段階で移行し、それらの過程には *Porphyromonas gingivalis* をはじめとする歯周病細菌が関与していることが明らかにされている。また、軽度のNASHであれば歯周治療により肝機能が改善することが報告されている。肝細胞がんは予後不良の疾患であり、我が国ではNASHなど脂肪性肝炎に起因する割合が増加し、社会問題となっている。しかしながら、歯周病との関わりについての報告はほとんどない。

【目的】本研究では肝細胞がん予防を目標として、NASHとNASH由来肝細胞がん患者における歯周病の病態と腸内および口腔内細菌叢に関するデータ分析を行い、NASH由来肝細胞がんにおける歯周病の関与について検討する。

【材料と方法】横浜市立大学附属病院消化器内科に通院または入院しており、インフォームドコンセントが得られた20歳以上のNASH患者41名およびNASH由来肝細胞がん患者20名を被験者とした。解析項目として、1) 生活習慣についての問診 2) 歯周病検査 3) 唾液や糞便の細菌検査 4) 内科的検査を行った。

【結果と考察】2群間の比較において、肝細胞がん群の唾液中IgA濃度および分泌速度が有意に低かった。これは免疫力低下によるものと考えられる。現在、他項目においても解析中である。

P-46

セメント芽細胞由来エクソソームによる破骨細胞分化
制御 ~RANKL誘導性破骨細胞形成に対する増強
作用~

佐藤 令

キーワード：セメント芽細胞, エクソソーム, 破骨細胞分化, RANKL
セメント質吸収は、骨吸収と異なり、外傷、矯正力、大きな根尖性歯周炎など限られた病理学的刺激において、引き起こされることが臨床的に知られている。しかし、セメント質の吸収に関する分子メカニズムについては不明な点が多い。本研究は、セメント芽細胞の分泌する膜小胞であるエクソソームに着目し、破骨細胞の分化に与える影響について解析した。マウスセメント芽細胞株OCCM-30の培養上清からエクソソームを抽出した。透過電子顕微鏡解析を行ったところ、直径約50~200nmの細胞外小胞が存在することが確認された。マウス破骨細胞前駆細胞株RAW264.7細胞を、リコンビナント receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (rRANKL) 刺激により破骨細胞へ分化させる実験系を用いて、エクソソームの影響を調べたところ、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 活性陽性細胞の形成を増強した。また、リアルタイムPCR法およびWestern blot法による解析から、エクソソームは、破骨細胞関連遺伝子およびタンパクの発現誘導に対しても増強することが明らかとなった。一方、rRANKL非存在下では、エクソソームによる破骨細胞分化増強作用は認められなかった。一方、セメント芽細胞の細胞培養上清は、破骨細胞分化を部分的に抑制するとともに、エクソソームによるその増強作用を、ほぼ完全に抑制することが明らかとなった。以上のことから、セメント芽細胞から分泌されるエクソソームは、rRANKL誘導性破骨細胞分化に対して増強作用を有していることが明らかとなった。しかしその一方で、セメント芽細胞は、エクソソームによる増強作用を中和する可溶性因子を同時に産生しており、それらのバランスがセメント質吸収の制御に関与していることが示唆された。

P-47

地域在住高齢者におけるCDC・AAP歯周病質問票日
本語版の妥当性の検討：お達者健診研究

岩崎 正則

キーワード：高齢者, セルフレポート, 疫学, マスククリーニング

【目的】プロービングによる歯周組織検査は、歯周病の有病状況を把握・監視するためのゴールドスタンダードであるが、その実施には費用、労力等から課題が多く、大規模に実施することが難しい。2013年、Center for Disease Control and Prevention (CDC) と American Association of Periodontology (AAP) は共同で歯周病の質問票 (CDC・AAP歯周病質問票) を開発した。我々はCDC・AAP歯周病質問票開発者と共同で日本語版を作成し、中年期男女における妥当性を示した。本研究では地域在住高齢者におけるCDC・AAP歯周病質問票日本語版の妥当性を確認することを目的とした。

【方法】2021年に地域在住高齢者を対象に実施した来場型健診：お達者健診研究において歯周組織検査とCDC・AAP歯周病質問票日本語版による調査を行った。歯周組織検査に基づく歯周病の重症度を目的変数とし、9つの質問からなるCDC・AAP歯周病質問票日本語版の回答状況を主要な説明変数とするロジスティック回帰分析を実施し、妥当性を評価した。

【結果と考察】研究には465名 (平均年齢73.1歳) が参加した。ロジスティック回帰分析の結果、CDC・AAP歯周病質問票日本語版は重度歯周病 (有病率20%) を感度70%, 特異度58%, C統計量0.70で検出できることが分かった。一方、中等度以下の歯周病の検出能は不十分 (C統計量0.70未満) であった。

【結論】地域在住高齢者において、CDC・AAP歯周病質問票日本語版は重度歯周病に対して中等度の妥当性を有することが示された。

P-48

歯間ブラシ未使用者を対象とした刷清部の異なる歯
間ブラシ (ブラシタイプとゴムタイプ) の使用による
ケア意識や使用状況に与える影響

岡本 浩明

キーワード：歯間清掃具, 歯間ブラシ, ケア意識, 使用状況

【目的】歯周病を予防するには歯間部の清掃が重要であるが、歯間部清掃を行っている者は低水準に留まっており、歯間清掃具の使用の普及と習慣化が課題とされる。今回、歯間清掃具のうち歯間ブラシの仕様の違い (ブラシタイプとゴムタイプ) が、使用状況に与える影響を明らかにすることを目的に、歯間ブラシの未使用者に各種歯間ブラシを使用した際の使用感やケア意識、使用状況を調査した。

【材料と方法】本試験の同意が得られた40~69歳の歯間ブラシ未使用者54名を対象とした。歯科衛生士が歯間清掃の重要性と使用方法を説明後、被験品の歯間ブラシ (ブラシタイプとゴムタイプ) を使用順で2群に分けた交差試験にて、各2週間の使用後にアンケート調査を実施した。また、被験品を回収の上、試用期間終了1ヶ月後に使用状況を調査した。本研究は、芝バレスクリニック倫理審査委員会の承認 (149291_rn-32316) を得て実施した。

【結果と考察】アンケート調査結果より、清掃性においてブラシタイプの支持者の比率が高い一方で、使いやすさではゴムタイプが優勢であった。期間内における使用回数の平均値は、ブラシタイプで19.2回、ゴムタイプで23.8回であった。ブラシタイプとゴムタイプのそれぞれに対して、歯間ブラシによる歯間清掃を必要と感じた者の割合は67%と81%、今後の使用意向のある者の割合は55%と70%であった。また、試用期間1ヶ月後の継続使用状況を確認すると、54名中24名が歯間ブラシを使用しており、そのうちブラシタイプは9名 (37.5%)、ゴムタイプは15名 (62.5%) が使用しており、歯間ブラシ未使用者への習慣化に際して、ゴムタイプの歯間ブラシの有用性が示唆された。

P-49

AIを用いた歯周病の診断と進行予測に向けて
一口腔内細菌叢の次世代シーケンズデータを用いた
多変量解析—

山城 圭介

キーワード：歯周病，細菌検査，次世代シーケンズ，AI
【目的】歯周病の診断において画像検査を用いたAIの活用が応用されているが，細菌検査を利用したものは未だない。本研究の位置づけは，歯周病の診断および進行予測に，既存の検査に加えて口腔内細菌叢のデータを用いることで，将来AIを用いた大規模な解析を行うためのpilot studyとする。

【材料と方法】歯周病専門医・認定医が所属する歯科医院を受診する歯周病患者を研究対象とした。対象患者において，歯周組織検査，エックス線検査，細菌検査を，初診時と歯周基本治療終了時に行うこととした。細菌DNA抽出後，次世代シーケンズおよびQiime2を用いた16S rRNA 菌叢解析を行った。

【結果と考察】現在までに同意取得に至った歯周病患者は，6施設，25名（そのうち基本治療終了10名）であった。初診時（25名）と基本治療終了後（10名）での細菌叢を比較すると，多変量解析であるANCOM解析では著明な変化はなかった。α多様性においては，有意差は見られなかったが，基本治療終了後で菌の多様性が減少した。β多様性においては著明な差は見られなかった。個々の菌に着目すると，細菌叢に占めるPg菌の割合は個体差はあるものの，概ね減少傾向が見られた。著明な細菌叢の変化が見られなかった理由としては，歯周治療時に抗菌薬などを使用していないことが原因と考えられる。歯周病の程度と菌叢の種類など多変量解析およびAIを用いた機械学習モデルを作成する際にも，サンプル数が多いほうが効果が高いと考えられるため，こちらに関してもサンプル数を増加した後に新たに解析を行う予定である。

【結論】歯周治療により菌叢の多様性は減少する傾向にあり，診断に用いるためには今後多くのデータを集積する必要があると考えられる。本研究は令和2-4（2020-2022）年度日本歯周病学会企画調査研究助成を受けて行われた。

P-51

エアークリーニングとラバー・カップのブラーク
除去効率と患者中心のアウトカムに関する比較研究
関野 倫

キーワード：エアークリーニング，ラバーカップ，ブラーク除去，患者中心のアウトカム

【目的】エアークリーニングとラバーカップによるブラークのブラーク除去効率および痛みや不快症状などの患者中心のアウトカムへの影響を比較検討することを目的とした。

【方法】本研究はクロスオーバーデザイン，非盲検，ランダム化比較試験として行われた。26歳から60歳までの歯周組織が健康な21名を対象とした。これらの被験者を，最初にラバーカップを用いる群とエアークリーニングを用いる群にランダムに割り付けた。1度目のトライアルと2度目のトライアルの間は2週間以上間隔をあげた。対象者には染め出しを行い，ブラースコアを採取し，その後それぞれの方法による歯面清掃でブラークが除去されるまでの時間を計測した。さらに処置後に痛み，不快症状，爽快感，味覚，有害事象，どちらを好むかに関するアンケート調査を行った。

【結果】ブラーク除去時間はエアークリーニングで平均7分17秒，ラバーカップで平均12分59秒となり統計学的有意差が見られた。VAS，不快症状，爽快感，味覚，有害事象に関しては2つの方法に有意差が見られなかった。21名中11名がラバーカップを好み，10名がエアークリーニングを好んだ。

【考察】今回の限られた範囲の観察では，ブラーク除去効率はエアークリーニングが有意に高かった。他方，患者中心のアウトカムに関しては2つの方法の間に差異は見られなかった。より大規模な研究でこの結果を確認していく必要がある。

P-50

歯周炎は心房細動患者の心房線維化に関与している
—ヒト左心耳組織を用いた組織学的評価—
宮内 陸美

キーワード：心房線維化，心房細動，歯周炎，歯周炎表面積（PISA），左心耳

心房線維化は，心房細動の発症，持続や心房細動に関連した脳卒中に関与している。歯周炎は一般的な感染・炎症性疾患であり，様々な全身疾患の発症や悪化に関わる。非アルコール性脂肪性肝炎では，歯周病原細菌が肝線維化に関与することが報告されているが，歯周炎と心房線維化や心房細動との関連は，未だ明らかにされていない。本研究では，心房細動を有する患者の左心耳摘出標本を用いて，歯周炎と心房線維化の関係を明らかにすることを目的とした。

【方法】心臓手術時に左心耳切除を予定していた継続性心房細動患者76例（非発作性心房細動55例，僧帽弁閉鎖不全症25例，左心耳血栓18例）を前向きに登録した。全例に口腔内検査を実施し，歯周炎のパラメータとして残存歯数，プロービング時出血（BOP），歯周ポケットの深さ（PPD），歯周炎表面積（PISA）を評価した。また，左心耳組織の線維化の程度は，Azan-Mallory染色を用い定量化した。【結果】BOP（%）（ $R=0.48$ ， $P<0.0001$ ），PPD >4 mm（%）（ $R=0.26$ ， $P=0.02$ ），PISA（ $R=0.46$ ， $P<0.0001$ ）は心房線維化と正の相関があった。残存歯数10本以上の患者では，PISAはより強い相関係数（ $R=0.57$ ， $P<0.0001$ ）で心房細動と正の相関があった。年齢，心房細動期間，BMI，僧帽弁閉鎖不全症，CHADS₂スコア（心房細動患者における脳梗塞発症リスクの指標）で調整した結果，PISA（ $\beta=0.016$ ， $P=0.0002$ ）は心房線維化と有意に関連していた。

【結論】歯周炎と心房線維化の関連性を組織的に明らかにした。歯周炎は心房線維化の促進を介して心房細動を悪化させる修正可能な危険因子である可能性がある。歯科治療は心房細動の発症や進行抑制に有効であると考えられる。

P-52

うま味の感受性と口腔機能との関連

矢田 朋美

キーワード：うま味，味覚感受性，口腔機能，オーラルフレイル，歯周病

【背景・目的】口腔は全身の健康とも密接に関連していることが確認されてきている。おいしく食べることは，人々のQOLに繋がる欠かすことのできない機能である。味覚感受性が低下する原因として口腔乾燥などが知られているが，味覚異常と口腔機能の関係についてはあまり知られていない。本研究の目的は，味覚のひとつであるうま味の感受性と口腔機能との関連を調査することである。

【方法】2018年から2021年まで，神奈川県川崎大学附属病院医科歯科連携センターにて被験者を募集した。味覚検査は，水道水・1%甘味水・0.3%塩味水・0.03%うま味水・0.1%うま味水の5種各1mlを全口腔法にて実施し，味を感じたか・味を感じなかったか，どの味を最も強く感じたかを評価した。咀嚼能力検査，滑舌評価，咬合面積の測定，口腔水分量などの口腔機能検査，歯周病原細菌簡易検査によるRed-complexの評価を行い，味覚感受性との関連を分析した。本研究は神奈川県川崎大学研究倫理審査委員会の承認（No.801）を受けて実施した。

【結果・考察】マン・ホイットニーのU検定の結果，0.03%うま味水を正しく認識できなかった群では認識できた群と比べ，咬合面積や咀嚼能力，滑舌が低下していた（ $p<0.05$ ）。また，カイ二乗検定の結果，0.03%うま味を正しく認識できた群では歯周病原細菌が少ないことが確認された（ $p<0.05$ ）。一方で，味覚感受性と口腔水分量との関連は確認されなかった。今後，味覚の感受性と全身や口腔の状態との関連について，さらに詳しく調査を進めていきたい。

【結論】味覚感受性が低下している者では，口腔機能が低下していることが示された。