

一般演題口演

(B会場・C会場)

B 会 場

O-01～06

O-11～16

O-23～28

C 会 場

O-07～10

O-17～22

10月13日（金） B会場 9：00～10：00, 15：30～16：30
C会場 9：00～ 9：40, 15：30～16：30

10月14日（土） B会場 12：40～13：40

O-01

人工歯石によるラット実験的歯周炎の骨吸収促進について

尾崎 幸生

キーワード：実験的歯周炎、歯石、ラット、歯槽骨破壊、破骨細胞
我々はこれまでに、歯石で好中球やマクロファージを刺激すると、NLRP3インフラマソームが活性化されIL-1 β 産生が誘導されることにより、破骨細胞形成が促進されることを報告した。本研究は、絹糸結紮歯周炎モデルラットの歯肉溝に人工歯石を投与することによって、歯槽骨吸収が促進されるか検討することを目的とした。ルイス系雄性ラットの上顎右側第二臼歯に絹糸を結紮し、人工歯石として粒径5 μ m以下のハイドロキシアパタイト結晶を、500 μ g/mlの濃度で3%ヒドロキシメチルセルロースに懸濁して口蓋側歯肉溝に投与した。コントロールとして上顎左側第二臼歯に絹糸を結紮し、溶媒のみを投与した。これを7, 14日後まで毎日行い、翌日屠殺した。屠殺後に、 μ CTで近心根部、分岐部、遠心根部の口蓋側歯槽骨レベルを計測し、脱灰後に連続切片を作製した。切片はH.E.染色及びTRAP染色を行い、炎症性細胞浸潤と破骨細胞数を観察した。7回投与群の μ CT像では、コントロール群に比べて実験群の骨吸収が進んでいた。また、コントロール群ではTRAP陽性細胞がほとんど認められなかったのに対し、実験群においてはTRAP陽性細胞の出現が観察された。14回投与群の μ CT像では、コントロール群に対して実験群に著しい垂直性の骨吸収がみられた。また、コントロール群では歯槽骨表面のTRAP陽性細胞はほとんど認められなかったのに対し、実験群では多くのTRAP陽性細胞が認められた。本実験において、実験群において14日間人工歯石を投与し続けると垂直性に骨吸収が促進されたことから、歯石が骨吸収を促進させることが示唆された。

O-03

マウス実験的歯周炎におけるMMP9とMMP13の発現に関する検討

菅野 千春

キーワード：実験的歯周炎モデル、MMP9、MMP13

【目的】MMPは細胞外マトリックス分解の中心的役割を果たす酵素である。MMP9は破骨細胞のマーカー分子であり、破骨細胞性骨吸収で分泌される。MMP13は骨や歯の主成分であるI型コラーゲンの主たる分解酵素である。従って、歯槽骨吸収を伴う歯周炎においてMMP9と13の発現増加が予想される。そこで本研究は、実験的歯周炎モデルを用いて、歯周組織におけるMMP9と13の発現を調べることが目的とした。

【方法】生後10週齢のマウスの左側上顎第二臼歯の歯頸部に絹糸を結紮し、実験的に歯周炎を誘導した。右側上顎第二臼歯はコントロールとした。結紮後10日目に上顎を摘出し、PFA固定・脱灰後、パラフィン切片を作製した。歯周組織におけるMMP9と13の発現を免疫組織化学的に検討した。

【結果】MMP9は破骨細胞に発現しており、結紮群においてMMP9陽性の破骨細胞数が増加した。MMP13は骨形成系細胞に加えて歯肉と歯根膜に発現していたが、結紮群とコントロール群とで免疫反応の強度や発現部位に違いは認められなかった。一方、コントロール群と比較して結紮群において、根尖部のセメント質とセメント芽細胞にMMP13の強い免疫反応がみられた。

【結論】破骨細胞が分泌するMMP9が歯周炎による歯槽骨吸収に関与することが示された。また、歯肉におけるMMP9の発現は歯周炎により歯肉深部に拡大することがわかった。本研究において、骨形成系細胞が分泌するMMP13の歯槽骨吸収への関与は確認されなかった。しかし、セメント芽細胞により分泌されるMMP13が歯周炎に伴う根尖部セメント質の改造に寄与する可能性が示唆された。

O-02

実験的歯周炎モデルマウスにおける好中球誘導性エフェロサイトーシスの検討

佐藤 理恵

キーワード：歯周病、実験的歯周炎、エフェロサイトーシス、好中球、マクロファージ

【背景と目的】歯周病は細菌によって誘導される歯周組織の炎症性疾患である。免疫応答が炎症反応制御において中心的な役割を担うが、我々はこれまでに特にTh17細胞とそれを誘導する好中球に着目し研究を行ってきた。好中球は生体内で毎日大量に生成されるものの生存期間が非常に短く、寿命を終えた好中球はプログラム細胞死の一つであるアポトーシスを生じる。アポトーシスを起こした細胞はマクロファージなどの食細胞により貪食されるが、この過程をエフェロサイトーシスと呼び、炎症反応制御において重要な働きを担うと考えられている。しかしながら歯周組織におけるエフェロサイトーシスに関しては、いまだ不明な点が多い。そこで本研究では実験的歯周炎モデルを使用し、歯周組織で生じるエフェロサイトーシスについて詳細な検証を行った。

【材料と方法】C57BL/6Jマウスの上顎臼歯周囲に5-0絹糸を片側に結紮し、実験的歯周炎モデルを作製した。結紮10日後に歯周組織を回収し、フローサイトメトリー・免疫蛍光染色を用いて、好中球誘導性エフェロサイトーシスの解析を行った。さらにエフェロサイトーシス関連遺伝子の発現をリアルタイムPCR法を用いて測定した。

【結果】炎症歯周組織中には好中球・マクロファージが数多く存在し、アポトーシスを生じた好中球とマクロファージが近接して局在していた。さらに炎症歯周組織においてエフェロサイトーシス関連遺伝子の発現上昇を認めた。

【結論】歯周組織において好中球はエフェロサイトーシスを介して積極的にマクロファージに取り込まれ、炎症反応を調節する上で重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

O-04

結紮誘導歯周炎モデルマウスを用いた口腔-脳-腸関連の解明

大杉 勇人

キーワード：歯周病、脳、行動異常、細菌叢

【目的】これまでに疫学研究、モデル動物の研究から、口腔システム不全が脳機能の低下を引き起こすことが示されている。本研究では口腔-腸-脳関連に着目し、結紮誘導歯周炎モデルマウスを用いて、口腔内細菌叢の破綻が脳機能に影響するメカニズムを明らかにする。

【材料および方法】9週齢のC57BL/6J雄マウスの上顎右側第二臼歯に対して、6週間絹糸を結紮した。行動解析実験および大脳皮質左側前頭前野よりRNAを抽出し、RNA-seqによる遺伝子発現の網羅解析を行った。結紮糸および便を回収し、16S rDNAに基づく細菌叢解析を行った。免疫染色により、前頭前野におけるミクログリアの細胞密度を定量した。ELISA法により、血漿中の炎症性サイトカインおよび脳機能へ影響する分子を測定した。

【結果】歯周炎や大腸炎に関連する*Klebsiella*が口腔内と腸内でもともに存在比率が上昇していた。また、腸内では、大腸炎やうつ病に関連する*Enterococcus*の存在比率が上昇していた。これらの結果より、口腔内および腸内で細菌叢破綻が生じていることが確認できた。結紮誘導歯周炎モデルマウスの行動を解析したところ、オープンフィールド試験において、運動活動性は変わらないが、不安傾向が高いこと、またロータロッド試験では、運動機能が低下していることが明らかになった。前頭前野において、ミクログリアの減少が観察され、遺伝子発現パターンも異なっていた。さらに、脳機能への影響が報告されている、コルチコステロンおよびコルチゾールが血漿中に上昇していた。

【結論】口腔内および腸内細菌叢の変化が脳機能へ影響する可能性が示された。

O-05

マウス実験的歯周炎モデルを用いた加齢と炎症が及ぼす歯槽骨吸収への影響

中村 恵

キーワード：実験的歯周炎モデル、網羅的遺伝子解析、加齢、歯槽骨吸収

【目的】歯周炎は歯槽骨吸収を特徴とする炎症性疾患である。その有病率と重症度は加齢とともに増加するが、歯周炎に伴う歯槽骨吸収に対する加齢の影響に関しては知見が乏しい。そこで本研究では、実験的に歯周炎を誘導するマウスモデルを用いて歯槽骨吸収に対する炎症と加齢の影響について検討した。

【方法】生後10週齢と78週齢の雄性マウスを使用し、左側上顎第二臼歯の歯頸部に絹糸を結紮することでプラークの付着を促し、実験的に歯周炎を誘導した。対側には健常群とし、若齢の歯周炎群・若齢の健常群・高齢の歯周炎群・高齢の健常群を作製した。結紮後10日で上顎を摘出し、各種解析を行った。まず、網羅的遺伝子解析法の一つであるCAGE解析を行い、発現変動解析とGO解析を行った。次に、X線マイクロCTを用いて骨吸収量を三次元的に解析し、統計学的に評価した。さらに、組織切片を作製して酒石酸耐性酸性ホスファターゼ染色を行い、破骨細胞数を統計学的に解析した。

【結果・考察】網羅的遺伝子解析により、歯周炎群においては炎症関連遺伝子が、高齢群においては免疫関連遺伝子が増加することが示された。マイクロCT解析からは、健常群より歯周炎群で、若齢群より高齢群で骨吸収量が有意に増加することがわかった。歯槽骨吸収に対する加齢と炎症の交互作用はなく、二つの因子は独立して作用することが示された。破骨細胞数に関しては、炎症は有意に影響したが、加齢は影響を及ぼさず、加齢と炎症に交互作用は認められなかった。

【結論】歯周炎により起こる歯槽骨吸収に加齢は影響するが、炎症との相乗効果はなく、加齢は破骨細胞数の増加に影響を及ぼさない可能性が示唆された。

O-07

高出力赤色LEDを用いた光増感反応は活性酸素種の誘導により歯肉の創傷治癒を促進する

皆川 咲佳

キーワード：創傷治癒、LED、活性酸素種

【目的】LEDは光増感剤に照射することで活性酸素種（ROS）を生成し、歯周病原細菌を殺菌することが知られ臨床応用されている。しかし、創傷治癒に重要な役割を果たすヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）への影響についての報告は少ない。本研究では、メチレンブルー（MB）添加後のHGFsに高出力赤色LEDを照射し、創傷治癒に及ぼす影響と光増感反応により産生されたROSの関与について検討した。

【材料と方法】光源に（株）モリタより供与されたLed Engin社製高出力赤色LED（中心波長：650nm）を使用し、MB（1μg/mL）に照射時間を調整したエネルギー量で照射した。細胞増殖能、遊走能、LDH産生量を評価し、至適エネルギー量を策定した。また創傷治癒に関与するI型コラーゲン、Fibronectin、VEGF-Aの発現の変化を評価した。ウェスタンブロット法にて創傷治癒に関与する細胞内シグナルであるERK1/2とJNK、さらにRTKに結合することで細胞質へのシグナル伝達の足場となるGab-1を検討した。また照射後のROSの産生量を測定し、阻害剤にてROSの産生を阻害することでHGFsに及ぼす影響について検討を行った。

【結果と考察】MBに4J/cm²で照射すると、細胞増殖、遊走および創傷治癒因子の産生が促進された。さらに光増感反応によるROSの産生は、ERK1/2、JNKおよびGab-1を活性化させた。

【結論】HGFsに対し光増感反応によって産生するROSを調整したエネルギー量により制御することで、創傷治癒を促進する可能性が示唆される。

O-06

改良型マウス歯周炎モデルによる歯周炎発病過程の高解像度解析

劉 安豪

キーワード：歯周炎、リガチャーモデル、発病過程

歯周組織は歯肉、歯根膜、歯槽骨、セメント質からなる複合組織であり、歯周炎の病理過程においては運動的に破壊される。近年その病態を研究するために、マウス第2臼歯を対象とした結紮歯周炎モデルが多用されているが、量的制限があるため他組織および組織別比較は困難であった。そこで本研究ではC57BL/6Jマウスの片側上顎全臼歯に連続結紮を施すことにより、回収可能な組織量が倍増した改良型マウス歯周炎モデルを作製した。結紮後の異なる時点においてマイクロCT及び組織学的解析を行ったところ、5から8日目にかけて顕著な骨破壊を認めた。同時に、歯肉、歯根膜周囲組織、歯槽骨の3組織に分離したサンプルを用い、各時点での遺伝子発現変化をqPCR法により確認したところ、結紮後5日目の歯根膜周囲組織において*Il6*と*Tnfsf11*の高発現を認めた。結紮後5日目が骨破壊の始動に重要であることから、この時点で各組織のRNA-Seq解析を行ったところ、歯根膜周囲組織にて高発現する遺伝子Aを見出し、そのリガンドをコードする遺伝子Bの高発現を歯肉にて確認した。その機能を解析するため、両遺伝子のノックアウトマウスをそれぞれ使用し歯周炎モデルを誘導した所、結紮後8日目における骨破壊の亢進が観察され、*Il6*の遺伝子発現が上昇していたことから、タンパク質A・Bは急性炎症を抑制し組織を保護する可能性が示唆された。本研究は歯周組織中の異なる組織の炎症反応を比較することで、より詳細な歯周炎発病過程の解析を実現し、同時に細胞レベルにてその過程に関わる新たな病態機序の一端を解明した。

O-08

様々な処理を行なったPolyetheretherketone表面上でのヒト歯肉上皮細胞の挙動

尾松 系樹

キーワード：上皮細胞、インプラント周囲炎、PEEK

【目的】チタン金属の代替材料として近年注目されているPolyetheretherketone（PEEK）は優れた生体適合性と物理的特性を有する一方、生物学的に不活性であるため効果的な表面処理が必要である。本研究では、PEEKに対して様々な表面処理を検討し、歯肉上皮細胞の挙動に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】直径15mmのPEEKディスクに、Ultraviolet（UV）照射（15W/m²、30cm、12分）、アルゴンプラズマ照射（0.1MPa、15mm、1分）およびバフ研磨を行い、PEEK表面をSEM、SPM、XPSおよび接触角計にて評価した。大阪大学 村上伸也教授よりご提供頂いた不死化ヒト歯肉上皮細胞（epi4）を、各表面処理で行なったPEEK表面上に播種し、細胞接着、細胞増殖、細胞の接着形態、Integrin β4およびLaminin 5の発現を評価した。

【結果と考察】UV処理およびプラズマ処理では表面構造に変化は認められないが、バフ研磨では表面粗さが減少した。全ての処理方法で親水性は向上し、酸素元素率の増加と炭素元素率の減少が認められ、epi4の細胞接着や細胞増殖は有意に向上した。PEEK表面上の細胞の糸状偽足は、表面処理を行うことで太く長い傾向を示し、Integrin β4 mRNAおよびLaminin 5 mRNAの発現量も増加の傾向を示した。

【結論】PEEK表面へのUV処理、プラズマ処理およびバフ研磨はソフトティッシュシーリングの獲得を促進させ、インプラント周囲疾患の感染予防に寄与する可能性が示唆される。

O-09

分泌型白血球プロテアーゼ阻害因子による歯周組織破壊抑制作用の解析

笹川 花梨

キーワード：分泌型白血球プロテアーゼ阻害因子、好中球エラスターゼ、歯周炎

【背景と目的】好中球エラスターゼはタンパク質分解酵素であり、好中球から漏出すると宿主組織を傷害する。そのため、生体内では、エラスターゼの阻害因子として、分泌型白血球プロテアーゼ阻害因子 (SLPI) が準備されている。歯周炎罹患組織ではエラスターゼと SLPI のバランスが崩壊し、歯周組織が破壊されると考えられる。そこで、歯周炎罹患組織に SLPI を投与することで、歯周組織破壊が抑制されるとの仮説を立て、歯周炎モデルマウスを用いて検証を行った。

【方法と結果】8週齢 BALB/c マウスの上顎第二臼歯を結紮し、歯周炎を誘発させた。次に、同マウスの口蓋歯肉にハミルトンシリンジを用いて1日1回、計7日間作製した組換え (r) SLPI (500ng/5μL) を局所投与した。8日目に組織サンプルを回収し、歯肉中のエラスターゼ活性を測定した。その結果、rSLPI 投与群では、PBS 投与群と比較して、歯肉中のエラスターゼ活性が有意に低かった。また、実体顕微鏡を用いて、マウス上顎骨第二臼歯周囲の歯槽骨吸収量を測定したところ、rSLPI 投与群では、PBS 添加群と比較して歯槽骨吸収量が有意に低値を示した。続いて、マウス上顎骨の凍結切片を作製し、第二臼歯周囲の酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 陽性細胞数を算定した。その結果、rSLPI 投与群における TRAP 陽性細胞数は、PBS 投与群と比べて有意に少なかった。次に、マウス骨髓細胞を分離し、破骨細胞分化誘導因子および rSLPI (1~10μg/mL) の存在下で培養したところ、rSLPI 添加群では、非添加群と比較して、TRAP 陽性細胞数が有意に少なかった。

【考察】rSLPI はエラスターゼ活性を阻害し、破骨細胞分化を抑制することで、歯周炎による歯周組織破壊を抑制する可能性が示唆された。

O-11

歯周組織由来破骨前駆細胞の解析

阪下 裕美

キーワード：歯周炎、破骨前駆細胞、歯根膜、CX3CR1

【目的】歯周炎が進行すると骨髄もしくは歯周組織に常在する破骨前駆細胞の増殖や破骨細胞への分化が促進され、歯槽骨が破壊される。しかしながら歯槽骨破壊の詳細なメカニズムは不明な点が多く残されている。そこで本研究では歯周組織における破骨前駆細胞や破骨細胞の局在および組織損傷時の動態を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】破骨前駆細胞を EGFP 標識する CX3CR1-EGFP マウスと破骨細胞を tdTomato 標識する TRAP-tdTomato マウスをかけ合わせ、CX3CR1-EGFP/TRAP-tdTomato マウスを作製した。同マウスの上顎第二臼歯に5-0糸を7日間結紮して歯槽骨破壊を誘導し、組織切片及び組織透明化した顎骨を用いて破骨前駆細胞および破骨細胞の局在を検討した。さらに歯槽骨破壊を誘導した CX3CR1-EGFP マウスの歯肉および歯根膜より細胞を単離し、FACS 解析を行った。

【結果と考察】正常歯周組織においては tdTomato 陽性破骨細胞が歯槽骨表面に散在し、EGFP 陽性破骨前駆細胞は歯肉および歯根膜に多数存在していた。損傷歯周組織においては歯槽骨吸収部位に tdTomato 陽性破骨細胞の集積が確認され、隣接した歯根膜においては EGFP 陽性破骨前駆細胞が減少していた。また、歯肉および歯根膜より単離した CD45⁺CX3CR1⁺ 細胞の FACS 解析により、関節炎関連破骨細胞前駆マクロファージとして同定されている CX3CR1^{int}Ly6C^{int} 細胞が歯根膜により多く存在していた。以上の結果より、歯槽骨破壊を引き起こす破骨細胞は歯根膜に局在する破骨前駆細胞由来であることが示唆された。

O-10

低反応レベルレーザー照射によるヒト歯肉上皮細胞の遺伝子発現解析 — ‘cellular response to stress’ の経時的な解析 —

齊藤 仁志

キーワード：低反応レベルレーザー治療、歯肉上皮細胞、発現変動遺伝子、生物学的プロセス、タンパク質間相互作用

【目的】近年、歯周治療への応用として低反応レベルレーザー治療 (LLLT) が注目されているが、その分子生物学的な報告は少ない。本研究では、生体組織を活性化化する低反応 Nd:YAG レーザー照射によるヒト歯肉上皮細胞 (HGK) の分子生物学的効果を、関連する遺伝子発現とその経時的相互作用を解析し明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】HGK に 100mJ、30pps で 10 秒間 Nd:YAG レーザー照射し、マイクロアレイを用いて照射6時間後の発現変動遺伝子 (DEGs) の抽出、‘cellular response to stress’ に関連する生物学的プロセス (BPs) を抽出した。さらに、タンパク質間相互作用 (PPI) から、多くの DEGs と関連する遺伝子 (key genes) を抽出し、照射後 1, 3, 6, 12, 24 時間の経時的な発現の相関を分析した。

【結果と考察】レーザー照射から創傷治癒を促進する BP である ‘cellular response to stress’ において、CDKN2A, FAS, IL6, IRF3, MDM2, RFC3, RPA1, SIRT6, SIRT7 および XIAP を key genes とした。key genes の相関をまとめると、MDM2 と IL6 は他の key genes の多くに影響し、MDM2 は 3~24 時間において経時的に影響していた。

【結論】HGK に対する低反応レベルレーザー照射の効果は、照射直後 IL6 など炎症に関連する遺伝子が発現し、その後は経時的に MDM2 など細胞修復に関連する遺伝子の発現が増加した。MDM2 と IL6 は他の遺伝子と関連し、重要な役割を果たすと考えられた。

O-12

NF-κB 非古典経路の阻害は歯周組織の炎症と骨吸収を抑制する

青木 司

キーワード：歯周病、破骨細胞、炎症、骨、NIK

歯周病は感染性炎症疾患であり進行すると歯槽骨を炎症性に破壊する。先行研究で NF-κB の非古典経路において p100 サブユニットから p52 サブユニットへと分解する役割を持つ map3k14 遺伝子の機能欠失変異によるリンパ節欠損マウス (aly/aly マウス) は破骨細胞の減少によって軽度の大理石骨病を呈することが明らかとなったことから、NF-κB の非古典経路が骨疾患の潜在的な治療標的になり得ることが示唆された。本研究では野生型のマウス (WT マウス) と aly/aly マウスそれぞれの上顎右側第二大臼歯を糸で結紮することにより歯周炎を誘発する歯周炎モデルマウスを用いて検証を行った。歯周炎を誘発した WT マウスと比較して歯周炎を起こしている aly/aly マウスでは歯槽骨中の破骨細胞が減少することで骨吸収が抑制されることを確認した。また、結紮周囲歯肉を採取し遺伝子発現を確認したところ、receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) と TNFα の発現が aly/aly マウスでは低下していた。WT マウスと aly/aly マウス由来の初代骨芽細胞 (POB) と骨髓細胞 (BMC) を共培養すると、POB の由来に関わらず WT マウスから調整した BMC では破骨細胞ができたが、aly/aly マウス由来の BMC からは破骨細胞がほとんど形成されなかった。加え、NF-κB の非古典経路において p100 サブユニットと RelB のヘテロダイマーを p52 サブユニットと RelB へ限定分解するうえで必須である NF-κB inducing kinase (NIK) の阻害薬である Cpd33 を WT 歯周炎モデルマウスの結紮周囲に局所投与することで破骨細胞の形成が阻害され歯槽骨の吸収が抑制された。以上より、NIK によって仲介される NF-κB 非古典経路は歯周病の治療標的となり得ることが示唆された。

O-13

バイオ3Dプリンターを用いた歯肉幹細胞由来骨様立体構造物の作製方法の確立と骨分化能、石灰化度に関する解析

豊田 真顕

キーワード：バイオ3Dプリンター、スフェロイド、歯肉幹細胞

【背景】歯周炎による歯槽骨吸収の自然治癒は困難であり、治療として歯周組織再生療法である骨造成法が施行されている。現状で骨造成法の最適な移植材は自家骨と言われているが、口腔内からの採取量が限られるうえに、適応となる症例は少ない。演者らはこれまで歯肉由来幹細胞とバイオ3Dプリンターを用いて、自家骨の代替材料を作製することを試み報告した（第65回春季歯周病学会）。今回は、その安定的な作製法確立と、作製した立体構造物の骨分化能、石灰化度について更なる解析を加えたので報告する。

【材料及び方法】歯肉幹細胞（hGMSCs）より、細胞塊を作製。その後、4週間骨分化誘導を行いμCT撮影、Von kossa染色にて石灰化能を検証。次に細胞塊より細胞構造物を作製できる剣山メソッドを用いたバイオ3Dプリンタにて骨様立体構造物を作製。4週間の骨分化誘導後、μCT撮影、Alizarin Red染色、Von Kossa染色、及び、後期骨分化マーカーの発現を確認し、石灰化度、骨分化能の評価を行った。

【結果】骨分化誘導後のμCT撮影及び、Von Kossa染色において細胞塊で均一な石灰化が認められた。バイオ3Dプリンターにて細胞構造物を作製後、骨分化誘導を行い作製した骨様立体構造物では、μCT撮影で601 HUを記録した。これは海綿骨と同様の反応強度であり、Von Kossa染色、Alizarin Red染色では均一な石灰化を確認し、免疫蛍光組織染色では後期骨分化マーカーであるOsteocalcinの発現を確認した。以上より、歯肉幹細胞から、海綿骨と同程度の反応強度を持つ、骨芽細胞を含む骨様立体構造物の作製に成功した。

O-15

ビーグル犬インプラント周囲炎モデルを用いた脳由来神経栄養因子（BDNF）のオッセオインテグレーション再獲得促進効果の検討

河野 祥子

キーワード：実験的インプラント周囲炎、BDNF、オッセオインテグレーション再獲得

【目的】インプラント周囲炎で喪失したオッセオインテグレーションを再獲得する治療法は未だ確立されていない。本研究では歯周組織再生を促進する作用が明らかになっている脳由来神経栄養因子（BDNF）を応用したオッセオインテグレーション再獲得について、ビーグル犬インプラント周囲炎モデルを用いて検討した。

【材料及び方法】ビーグル犬10頭の下顎両側第2～4前臼歯を抜歯し、抜歯高治癒後にインプラント体（φ3セティオ®Plus, GC）を片側に3本ずつ埋入し、ヒーリングアパットメントを装着した。12週間後にアパットメント周囲に糸を結紮し、それを12週間維持することで細菌感染を惹起してインプラント周囲炎モデルを作製した。作製したモデルを次の3群に分けてそれぞれ処置を行った：①処置を実施しない群（無処置群）、②超音波スケリングによる非外科的デブリッドメントを行う群（デブリッドメント群）、③②と同様の非外科的デブリッドメント後にBDNFと高分子ヒアルロン酸の複合体ゲルをポケット内に注入する群（BDNF群）。処置直前と処置から12週間後に評価（プロービングによるポケット深さ（PPD）、アタッチメントレベル（AL）、BOPの測定および口内法X線規格撮影）を実施して比較検討を行った。さらに非脱灰研磨標本を作製して組織学的に評価した。X線写真はImageJで解析した。

【結果と考察】無処置群に対しBDNF群とデブリッドメント群ではいずれも有意差は認めないもののPPD、ALおよびBOPは減少していた。組織標本ではBDNF群でのみ明らかな骨新生を認めた。X線写真を測定すると、BDNF群でのみ有意に骨レベルの上昇を認めた。

【結論】インプラント周囲炎に対し非外科的デブリッドメントとBDNFを併用することでオッセオインテグレーションを再獲得できる可能性が示唆された。

O-14

ボーンカラーを持った軟骨原基様構造物は早期に軟骨内骨化を介した骨再生を引き起こす

森本 慎

キーワード：組織再生、骨再生、間葉系幹細胞、軟骨内骨化、ボーンカラー

【目的】不可逆的な大規模組織欠損に対して、生体外から機能的な細胞を補充する細胞治療が有効となる。その細胞移植体として、我々は間葉系幹細胞（MSC）と細胞外基質（ECM）からなる直径1mmほどの立体的細胞集塊（C-MSC）作成方法を樹立した。さらにC-MSCは*in vitro*培養条件によって、細胞性質を調節可能であることを見出した。骨の発達また治癒過程は、MSC由来の軟骨がボーンカラー（骨殻）によって囲まれた後の軟骨内骨化によって生じる。そこで本研究では、迅速かつ信頼性の高い骨再生細胞療法を開発するために、軟骨誘導と骨誘導を組み合わせ、ヒトC-MSCから骨殻様構造を持つ軟骨組織を作製し、その移植による骨再生効果を示すことを目的とした。

【方法】ヒト骨髄由来MSCを増殖培地で培養し、ECMを十分に産生させた後に、マイクロビペットの先で鈍的に剥離し細胞シートを得た。細胞シートを浮遊培養し、球形の細胞塊C-MSCとした。C-MSCを軟骨誘導培地（CIM）さらに骨誘導培地（OIM）で培養し、作製された細胞塊の生物学的性質および骨再生能を*in vitro*および*in vivo*で評価した。

【結果】C-MSCをCIMのみで培養したところ、軟骨様組織が得られた。一方、CIMとOIMを併用すると、ミネラルの沈着した骨殻様構造に包まれた軟骨組織が得られ、VEGF mRNA発現が上昇した。この骨殻様構造を有する軟骨組織をSCIDマウス頭蓋冠欠損モデルに直接移植したところ、C-MSC由来軟骨様組織移植と比較して早期に、毛細血管の浸潤、軟骨基質の吸収、骨組織形成が観察された。

【結論】以上の結果から、C-MSCを、CIMとOIMを組み合わせで培養することで、軟骨内骨化の過程を模倣する、骨殻付き軟骨様組織が作製出来ることが示された。これは、迅速かつ効果的な新規骨再生細胞治療法となりえる。

O-16

歯槽骨再生治療を対象とした同種iPS細胞由来巨核球製剤の開発

魚返 拓利

キーワード：iPS由来巨核球、同種iPS細胞由来巨核球の細胞抽出成分、歯槽骨再生

【目的】歯槽骨再生に応用されるPRPは、手術中の用事調整により作業が煩雑である。また、PRPは専用遠心機による調整となるため、実際の血小板数が計測できず、濃縮率が不明なまま使用せざるを得ない。そのため、効能が不明確である。そこで、PRPの骨誘導性と汎用性向上を目的に、同種iPS細胞由来巨核球の細胞抽出成分（iPS cell-derived Megakaryocyte-derived factor; iMDF）による骨再生製剤の開発を試みることにした。本研究では、iMDFに含有される成長因子群を調査の上、その骨誘導性について検討を行った。

【方法】ヒトiPS細胞由来巨核球を成熟させ、血小板放出後の残渣から細胞構成成分を抽出・精製し、iMDFを作製した。iMDFに含有される成長因子群の濃度については、抗体アレイにより、不死化巨核球や血小板と比較解析を行った。次に、間葉系幹細胞（MSC）の増殖と骨芽細胞分化、活性化リンパ球に対する抗炎症性への作用について*in vitro*で評価し、生体での骨誘導能について頭蓋骨欠損モデルにて評価を行った。

【結果】iMDFは多様な成長因子、特にbFGFやGDF15など骨や血管形成に機能する成長因子を、血小板と比較して高濃度に含有する。*in vitro*での解析では、iMDFはMSCに対して、細胞増殖やアスコルビン酸存在下での骨芽細胞分化に濃度依存的に機能することが示された。また、T細胞活性化未梢血単核球に対して、炎症関連遺伝子の発現を有意に抑制した。iMDFを吸着させた人工骨をラット頭蓋骨欠損モデルに移植した場合、PRPの5倍の血小板濃縮率に調製した高濃度iMDFの移植では、強い骨誘導を認めた。

【結論】血小板因子ばかりか、巨核球で機能する成長因子も豊富に含有するiMDFは、高濃度に濃縮することで、骨再生製剤として高い骨誘導性と汎用性を発揮し得ることが示唆された。

O-17

歯周病原細菌による好中球細胞外トラップ (NETs) 発現の解明

酒 寄 智 央

キーワード：歯周病，好中球細胞外トラップ，LPS，TLR，*Porphyrromonas gingivalis*

【目的】慢性歯周炎患者の歯周ポケットにおける好中球細胞外トラップ (NETs) の発現機構については不明な点が多い。また TLR を介して NETs を発現することが報告されている。本研究では，NETs 発現が歯周病の病態形成に関わる影響を検索することを目的とし，歯周病原細菌である *P. gingivalis* (PG) によって発現される NETs の組織学的，生化学的評価と，歯肉溝滲出液 (GCF) 中の好中球の NETs 発現の解析を行なった。

【材料と方法】全身的に健康で歯周病のない被験者から採取した末梢血好中球を，PMA，PG，PG-LPS，*E. coli* 由来 LPS (EC-LPS) で作用した。また，好中球に発現する TLR を阻害した後，上記刺激物質で作用した。同一被験者から GCF 好中球を採取し，PG-LPS で作用した。NETs 構成成分である DNA，ヒストン，好中球エラスターゼ (NE) を蛍光免疫染色，ELISA で評価した。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 (NDU-T 2021-67)。

【結果】蛍光免疫染色より，PMA 群，PG 群，PG-LPS 群，EC-LPS 群では網目状構造物が確認され，細胞外 DNA 量と NE も増加した。また TLR-2 および TLR-4 を阻害した場合は PG-LPS 群において NETs 発現の低下が観察された。GCF 好中球は末梢血好中球と比較して細胞外 DNA 量が高かった。

【考察と結論】*P. gingivalis* は，LPS による好中球 TLR-2 および TLR-4 の刺激を介して NETs 発現を誘導する可能性があり，また GCF 好中球は末梢血好中球と比較して高い NETs 発現が見られることから，NETs 発現が歯周病の病態形成に関与することが示唆された。本研究は，JSPS 科研費基盤研究 (C) JP20K09981・JP23K09189 の一部を資金源とした。

O-19

Poryphyromonas gingivalis 由来 LPS は *in vivo* および *in vitro* においてケモカイン CCL 4 ならびに CCL 7 を誘導する

山 根 佑 介

キーワード：CCL4，CCL7，実験的歯周炎モデル

【目的】歯周炎は多因子疾患であるが，約 50% に遺伝的要因が関与していることが報告されている。*Poryphyromonas gingivalis* 由来 lipopolysaccharide (*P.g.* LPS) 投与による実験的歯周炎モデルにおけるゲノムワイド関連研究では，ケモカイン (CCL/CXCL) ファミリーメンバーである CCL 4 および CCL 7 が歯周炎の進行に関連することが報告されている。そこで本研究の目的は，*in vivo* および *in vitro* において，*P.g.* LPS 存在下における CCL 4 ならびに CCL 7 の発現について検討することである。

【材料と方法】6 週齢の雄性マウス (C57BL/6J) の上顎両側第一・第二臼歯間に *P.g.* LPS 2 μ g (10mg/mL) を週 2 回投与した。6 週間後に上顎を採取し，組織学的検討として HE 染色を行い，炎症性細胞の浸潤程度を評価した。また歯肉から RNA を抽出後，リアルタイム PCR 法にて数種のケモカイン発現を検討した。さらに，*in vitro* においてヒト単球系細胞 (THP-1)，ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPLF)，ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) およびヒト扁平上皮細胞 (HSC-2) に対して *P.g.* LPS を 5 μ g/mL 添加し，ケモカインの発現を確認した。

【結果と考察】*in vivo* では，Ccl 4 および Ccl 7 の発現上昇が確認され，炎症性細胞浸潤が認められた。*in vitro* では，THP-1 ならびに HSC-2 において CCL 4 および CCL 7 の発現上昇が認められた。一方，HPLF および HGF では発現上昇は認められなかった。以上の結果から，歯周組織中で単球系細胞および上皮細胞が *P.g.* LPS に対して上記ケモカインを誘導し，歯周炎の病態に影響を及ぼすことが示唆された。

O-18

細菌性代謝産物の酪酸が歯肉線維芽細胞の機能に与える影響

大 谷 栄 毅

キーワード：歯周病，酪酸，歯肉線維芽細胞

【目的】細菌性代謝産物である酪酸は，歯肉組織構成細胞の細胞死誘導を介して歯周病の発症や進行に関与すると考えられてきた。酪酸は，歯周病の有無に関わらず口腔から検出され，歯肉組織構成細胞は恒常的に酪酸と共存しているものと想定されるが，酪酸との長時間共存による影響，さらに共存時間による影響の違いについては報告がない。そこで本研究では，酪酸と長時間共存させた歯肉線維芽細胞機能を経時的に検討し，その影響を解析した。

【方法】正常ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) を用い，5-10mM 酪酸ナトリウム (SB) との長時間共存培養 (24-120 時間) を行った。さらに，各時点における細胞の増殖能，遊走能，細胞形態，及び糖代謝能への影響を，生化学的手法を用いて解析した。

【結果】増殖能は，5-10mM SB との共存培養直後に一時的な低下を示したが，経時的に回復した。遊走能は，10mM SB と 72 時間以上の共存培養群で低下傾向を認めた。また，SB と共存培養した HGF では，時間依存的に細胞の形態変化と拡大を認めた。さらに HGF の糖代謝能は 12-24 時間共存培養で増加したが，72 時間共存培養ではコントロール群と同程度に戻るという特徴的な変化を示した。

【考察】恒常的な酪酸と歯肉組織の共存を想定した本研究結果は，HGF が酪酸により遊走能低下や形態変化等の影響を受ける一方で，酪酸共存下でも時間と共に増殖能や糖代謝能を回復し，酪酸に適応できる可能性が示された。今後，本研究で観察された細胞形態の変化や拡大が，細胞機能変化とどのような関連性を持つのかなど，酪酸が歯肉組織に与える影響をさらに解明していきたい。

O-20

P. gingivalis Mfal 線毛は TLR-2 を介して呼吸器上皮細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する

中 島 由 梨 佳

キーワード：*P. gingivalis*，Mfal，気管支上皮細胞

高齢者や要介護者は口腔機能が低下するため，口腔細菌を含んだ唾液や食物残渣を誤嚥する機会が多くなり肺炎の発症リスクが高まる。しかし，なぜ口腔細菌は誤嚥性肺炎の原因となるのかその機序は未だよく解っていない。*P. gingivalis* (*P.g.*) は，FimA (長線毛) と Mfal (短線毛) の二種類の線毛を有している。菌体の最外層に存在するため，細菌を誤嚥した場合，宿主細胞に最初に作用する病原因子の 1 つと考えられる。FimA に関しては様々な生物活性が知られているが，Mfal に関してはいまだ不明な点が多く現在その生物活性に注目が集まっている。演者らは，歯周病原菌が様々な呼吸器細胞において肺炎の中心的役割をなす炎症性サイトカインを誘導することを報告してきた。今回，歯周病原菌のどの病原因子が本作用を担うかを検討するため，Mfal とその受容体に注目し検討を行った。気管支上皮細胞を用いた実験の結果，精製 Mfal の添加により IL-8 と IL-6 の遺伝子発現が強く誘導された。Mfal は濃度依存的に IL-8 と IL-6 の産生を誘導したが，FimA と LPS に関しては高濃度添加してもその産生量に変化が認められなかった。PC を用いた蛋白質相互作用解析から，Mfal は TLR2 と 4 の両方とそれぞれ異なる方向で結合する可能性があることが推察された。そこで，TLR2/4 を強制発現させた 293 細胞を用いて実験をおこなったところ，Mfal は 293/TLR2 細胞において NF- κ B を活性化したが，さらに，TLR2 の中和抗体処理においてのみ，Mfal 誘導性の IL-8 と IL-6 の産生が抑制された。今回新たに，*P.g.* の Mfal が IL-8 と IL-6 を誘導すること，その作用に TLR2 が深く関与することが明らかとなり，肺炎の発症において Mfal が重要な役割を担っていることが示唆された。

O-21

気管支上皮細胞とマウス肺のバリア形成に対する
Fusobacterium nucleatum の阻害効果

唐橋 幸宏

キーワード：歯周病

【背景】近年、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は肺泡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経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ことから、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、細胞とマウス肺においてClaudin1やZO2等のバリア形成に係る遺伝子の発現が *F.n.* により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。

O-23

脂肪組織由来多系統前駆細胞の同種移植による歯周
組織再生効果と移植細胞の動態解析

河上 和馬

キーワード：歯周組織再生療法、脂肪組織由来多系統前駆細胞、同種移植、エフェロサイトーシス

【目的】ラット歯周組織欠損モデルを用いて脂肪組織由来多系統前駆細胞（ADMPC）の同種移植による歯周組織再生効果について明らかにするとともに、同種移植したADMPCの歯周組織における動態解明を目的とした。

【材料と方法】SD-Tg（CAG-EGFP）ラットの皮下脂肪組織からADMPCを単離・培養し、幹細胞マーカーの発現および多分化能を確認した。一方で、SDラットの上顎に歯周組織欠損を作製し、フィブリンゲルを足場材としてADMPCを同種移植した。移植4週間における歯周組織再生をマイクロCT解析および組織学的解析により評価した。さらに、TUNNEL染色によりアポトーシス細胞を検出するとともに、Cubic技術により透明化した顎骨をライトシート顕微鏡にて観察し、ADMPC移植部位のGFPシグナルを検出した。SDラットの骨髄由来マクロファージを、アポトーシス誘導あるいは非誘導ADMPCと共培養し、タイムラプス観察およびflow cytometry解析にてefferocytosisを検出した。

【結果】ADMPC同種移植4週間後のマイクロCT解析から有意な歯槽骨再生が認められるとともに、組織学的解析から新附着の獲得が観察された。一方で、移植2日後以降に被移植部位においてTUNNEL陽性細胞が認められ、GFP陽性細胞は移植後2週間で検出されなかった。アポトーシスを誘導したADMPCは、マクロファージとの共培養直後から24時間以内にefferocytosisされることが明らかとなった。

【結論と考察】ADMPCの同種移植は歯周組織再生を誘導する一方で、移植されたADMPCは2週間以内にアポトーシスし、宿主由来のマクロファージにefferocytosisされることが示唆された。ADMPCのアポトーシス後に組織再生が継続することから、efferocytosisが組織再生に関与する可能性が示唆された。

O-22

歯周炎は耐糖能異常非依存的に非アルコール性脂肪
肝疾患（NAFLD）の増悪因子となりうる

田利 美沙子

キーワード：歯周炎、非アルコール性脂肪肝疾患、耐糖能異常

【目的】非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）は本邦で高い有病率を示し、その一部は肝硬変・肝癌まで進行する。近年、歯周炎がNAFLDを増悪させることが報告されて以来、その増悪メカニズムを調べる基礎研究が行われているが、決定的な見解は得られていない。本研究では耐糖能異常を伴わないNAFLDマウスモデルの樹立を行い、糖尿病の非影響下で歯周炎がNAFLD増悪に寄与する可能性について調べた。

【材料と方法】耐糖能異常を発症しにくいとされるBALB/cAJclマウスに普通食・高脂肪食・高炭水化物食を与え、体重測定により肥満の評価を、IPTT・IPGTTにより耐糖能の評価を行った。屠殺後肝臓を回収し、脂肪変性を組織学的観察により評価した。樹立した耐糖能異常未発症・NAFLDモデルマウスの上顎第二大臼歯に5-0絹糸を結紮することによって歯周炎を惹起し、組織学的観察によって肝臓の脂肪変性・線維化、炎症性変化の評価を行った。

【結果】実験開始6週後、普通食群と比較して高脂肪食群では肝臓の大滴性脂肪変性に加えて耐糖能異常、体重増加をみとめたが、高炭水化物食群では大滴性脂肪変性をみとめた一方、耐糖能異常・体重の増加はみとめなかった。以上の結果から高炭水化物食群を耐糖能異常未発症・NAFLDモデルとして歯周炎を惹起させたところ、耐糖能・体重に変化は生じなかったが、脂肪変性の増悪、線維化、肝細胞の風船化を認めた。また、普通食・歯周炎モデルマウスにおいても軽度の小滴性の脂肪変性をみとめた。以上の結果は、歯周炎が耐糖能異常を介さずにNAFLD増悪に寄与する可能性を示している。

O-24

YAP/TAZメカノシグナルは間葉系幹細胞の細胞保護
因子産生能を制御する

吉井 寛毅

キーワード：間葉系幹細胞、炎症、免疫調整能

【目的】間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cells（MSCs））は自己複製能と多分化能を有する細胞であるため、生体から分離・培養し、移植する再生医療に大きな期待を集めてきた。一方、多分化能のみならず、細胞保護因子を放出することで自己免疫疾患、炎症性疾患に対する細胞治療薬として注目を集めている。MSCsの細胞分化は場の硬さ等の細胞外微小環境の刺激を生化学的な信号に変換して感知するYAP/TAZメカノシグナルにより制御されているが、細胞保護因子産生との関係は明らかにされていない。そこで、本研究では、YAP/TAZメカノシグナルのMSCsの細胞保護因子産生への影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】YAP/TAZメカノシグナル活性が減弱する微小環境、F-actin重合阻害、YAP/TAZ siRNAを導入し培養した。さらにTNF- α 刺激を加え、細胞保護分泌因子TSG-6 mRNA発現をqPCRで定量した。次にYAP/TAZ siRNA導入MSCsとT細胞の共培養を行い、T細胞の活性化抑制をELISAにて評価した。

【結果】YAP/TAZメカノシグナルを阻害されたMSCsでは、細胞保護因子のTSG-6 mRNA発現が亢進し、TNF- α 刺激に対するTSG-6 mRNA発現は相乗的に上昇した。また、YAP/TAZ活性を減弱させたMSCsは、T細胞の活性化抑制を示した。

【結論】YAP/TAZメカノシグナルがMSCsの細胞保護因子産生能を負に制御している可能性が示唆された。今後、この知見を利用した、より効果的なMSCs細胞治療法の開発につながると期待できる。

O-25

3次元培養間葉系幹細胞集塊を用いた骨髄脂肪組織様 *in vitro* モデルの開発

吉野 舞

キーワード：間葉系幹細胞、骨髄脂肪組織、*in vitro* モデル、脂肪誘導、3D培養

【目的】全身性の過剰脂肪蓄積を引き起こす肥満は、歯周炎の増悪因子となる。特に、慢性炎症を惹起する皮下脂肪組織がその一因として知られているが、骨髄脂肪組織 Marrow adipose tissue (MAT) の関与は不明である。近年、マウスを用いた研究から MAT は骨代謝や免疫系制御に関与することが示唆されつつある。そこで、ヒト MAT の機能検証が可能な *in vitro* 培養系を樹立できれば、ヒト骨髄代謝の理解を深めることに加えて、肥満による新規歯周炎増悪機序が示される可能性がある。以上の事実に基づき、本研究では、骨髄脂肪の起源となる骨髄間葉系幹細胞 (MSCs) と細胞自身が産生する ECM からなる 3 次元間葉系幹細胞集塊 Clumps of MSCs/ECM complexes (C-MSCs) に脂肪誘導を施すことで、MAT 様 *in vitro* モデルの樹立を目指した。

【材料と方法】ヒト骨髄 MSCs から作製する 3 次元 C-MSCs を脂肪誘導培地で培養し、RNA-seq によって遺伝子発現を網羅的に解析した。また、得られた細胞塊について、HE 染色・脂肪滴染色・Adipoq 免疫染色を行い、MAT としての組織学的同一性を観察した。

【結果と考察】脂肪誘導培地で培養された C-MSCs は、骨髄脂肪関連マーカーの遺伝子発現が上昇した。組織学的解析では、脂肪滴の沈着した脂肪細胞に加え骨髄脂肪の基質であるコラーゲンが豊富に含まれていた。さらに、免疫染色の結果、脂肪細胞のみならず、MSCs から脂肪細胞への分化段階と考えられている、Adipoq (+) / 脂肪滴 (-) の Marrow adipogenic lineage precursor cells 様細胞が多数観察された。

【結論】C-MSCs に脂肪誘導を施すことで、立体的 MAT 様構造体が得られた。これは、ヒト骨髄脂肪組織研究のための有効な *in vitro* モデルとなりえる。

O-27

歯科用咬合力測定システムを用いた歯周炎重症度と咬合力に関する臨床研究

上田 隼也

キーワード：咬合力、歯周炎重症度、ステージ分類、PISA、咬合力測定システム

【背景】歯周炎は、咀嚼障害を惹起し患者の QOL を低下させることが報告されている。歯周炎により咀嚼障害が生じる背景には、咬合力の低下が関与することが示唆されているがその詳細は明らかではない。そこで本研究の目的は、歯周炎重症度と咬合力低下の関連性、および咬合力低下に影響を与える因子について検討することとした。

【材料と方法】被験者は、患者群として 2019 年 4 月から 2021 年 4 月までに明海大学歯学部付属明海大学病院歯周病科に来院した歯周炎患者 68 名、対照群として歯周炎に罹患していないボランティア 27 名とした。臨床パラメータとして、年齢、現在歯数、ブローピングポケット深さ、ブローピング時の出血 (BOP)、歯槽骨吸収率、歯の動揺度を測定した。歯周炎重症度については、歯周炎のステージ分類および歯周炎症表面積 (PISA) を用いて評価し、咬合力については、咬合力測定システム用フィルムであるデンタルプレスケール II および咬合力分析ソフトであるバイトフォースアナライザ (ジーシー、東京) を用いて測定した。結果に対して統計分析を行い、有意水準は $P < 0.05$ とした。

【結果と考察】歯周炎のステージ分類別に咬合力を比較した結果、対照群に対しステージ II、III、IV の患者群は咬合力が有意に低下していることが示された。相関分析においては、咬合力は PISA および測定した全臨床パラメータと相関を認めた。さらに、重回帰分析を行ったところ、咬合力は現在歯数および BOP と有意に相関することが示された。これらの結果より、歯周炎の重症化に伴い咬合力は低下し、歯の喪失だけではなく炎症の存在が咬合力の低下に影響を与えることが示唆された。

O-26

口腔内画像データを用いた AI による BOP の予想モデルの構築

佐藤 匠

キーワード：BOP、深層学習、口腔内画像

【目的】歯科診療で撮影される口腔内写真は、診断、治療計画の立案や、治療の記録等に用いられている。この口腔内写真の更なる活用法として画像データから直接、疾患活動性を知ることはいかなるかと考えた。ブローピング前の画像を人工知能 (AI) に学習させ、歯周病の疾患活動性を AI 評価できるかどうか検討した。

【材料および方法】朝日大学医科歯科医療センター歯周病科に来院した歯周病患者の上顎前歯部口腔内写真 254 症例を用い、Bleeding on Probing (BOP) の有無の結果と併せ Neural Network Console (NNC, SONY) を用いディープラーニングさせた。学習・識別機は NNC にテンプレートとして用意されている AlexNet プロジェクトと、自動で構造の最適化を行ったネットワークを用いた。この学習の精度として正解率を評価した。歯周病の進行によって歯肉退縮している患者では歯間鼓形空隙を画像データ上で事前に処理した。

【結果と考察】AlexNet では正解率が 95.7%、自動最適化を行ったネットワークを用いた場合は 99.6% であった。

【結論】口腔内写真を用いたブローピング時出血の判定精度は高く、喫煙の有無に影響されず実用性が高いことが示された。今後、特定の部位だけでなく全顎的に応用可能なフォーマットを構築していくことが次の課題であると考ええる。また、出血の有無だけでなく AI により PISA 値が推定できる状態にまで今後検討していきたい。

O-28

早老症 Werner 症候群患者の歯周病治療

池上 久仁子

キーワード：歯周病、老化、Werner 症候群

【背景】Werner 症候群は、5 万人に 1 人が発生すると推定される常染色体劣性遺伝の早老症である。WRN 遺伝子の機能欠失変異を原因とし、皮膚の難治性潰瘍や糖尿病などの合併を特徴とする。しかし口腔領域に関する情報は少なく、歯周病や他の粘膜疾患との関連性についても十分に明らかとなっていない。今回我々は、大阪大学歯学部附属病院口腔治療・歯周科を受診した Werner 症候群患者について報告する。

【症例の概要】46 歳男性、口腔粘膜の疼痛を主訴とし来院され、初診時の PCR 値は 47.8%、4mm 以上の歯周ポケットは全体の 26%、BOP 陽性部位率は 23.9% であった。X 線所見にて #26、#46 に垂直性骨吸収が存在し、骨吸収%/年齢は 1.5 であった。診断名は限局型慢性歯周炎、Stage III Grade C であり、頬粘膜の口腔扁平苔癬を合併した。

【治療方針】1) 歯周基本治療、2) 再評価、3) SPT

【治療経過・治療成績】大阪大学医学部老年内科における全身管理を継続するとともに、歯周基本治療として口腔清掃指導、スクーリング、ルートプレーニングを行なった。その結果、4mm 以上の歯周ポケットは全体の 4.3%、BOP 陽性部位率は 8.0% に改善し、頬粘膜から歯肉境界部の疼痛や発赤は改善した。その後 SPT に移行し、現在も歯周組織の状態は安定している。

【考察】遺伝性の早老症である Werner 症候群は歯周病の病態進行に影響を及ぼす可能性が示唆された。発症機序は不明で根治療法は確立されていないが、歯周病の病態改善には Werner 症候群の診療ガイドラインにもとづく全身疾患の管理下での歯周病の治療が有効であると考ええる。