

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

P-01～79

10月13日（金）	ポスター掲示	8：30～10：00
	ポスター展示・閲覧	10：00～16：50
	ポスター討論	16：50～17：30
	ポスター撤去	17：30～18：00

P-01

妊婦における正常歯肉部位と妊娠関連歯肉炎部位における細菌叢の違いについて

鈴木 麻美

キーワード：妊娠関連歯肉炎、細菌叢

【目的】妊娠関連歯肉炎は、妊娠期のホルモン変化とプラークコントロール不良が大きく影響して発症する歯肉炎と考えられている。妊娠中にブラッシング時に出血が認められる程度の軽度なものを含めると、妊婦さんのほとんどで歯肉の炎症が認められる。妊娠中の歯周病により、妊婦だけでなく胎児へも悪い影響があることから、その原因を明らかにし、予防や治療につなげる必要があると考えられる。本研究では、妊娠関連歯肉炎の関連菌に注目、妊娠関連歯肉炎と診断された部位と炎症が認められない部位の歯周ポケットもしくは歯肉溝の細菌を比較し、妊娠関連歯肉炎に関連する細菌を明らかにすることを目的とする。

【材料と方法】妊娠関連歯肉炎部位と炎症が認められない部位の歯周ポケットもしくは歯肉溝にペーパーポイントを挿入し、検体採取を行った。ペーパーポイントに付着した細菌の16SrRNA遺伝子の一部領域をPCRで増幅し、次世代シーケンサで読み取り、どのような細菌が検体の中に存在しているのか、それらの細菌の存在比率などについて解析を行った。口腔内細菌の種類は、もともと個人差があることから、同一人物において、妊娠関連歯肉炎部位と炎症が認められない部位を比較し、妊娠関連歯肉炎部位で増加が認められる細菌を検索した。

【結果】多くの妊婦で、*Fusobacterium canifelinum*, *F. nucleatum*, *Lautropia mirabilis*, *Neisseria cinerea*等の増加は認められたが、本研究では、妊娠関連歯肉炎の原因細菌の1つといわれている*Prevotella intermedia*の明らかな増加は確認できなかった。今後、さらに検体数を増やし、妊娠関連歯肉炎部位で増加・減少した細菌のクラスタリングを行い、関連細菌叢を明らかにしたいと考えている。

P-03

骨細胞Toll様受容体2-MyD88シグナルの阻害は、歯周炎における骨吸収と炎症を分離する

吉本 哲也

キーワード：骨細胞、歯周炎、TLR2-MyD88シグナル

【目的】口腔内細菌は、歯周炎における骨吸収の強力な要因である。骨細胞はRANKLを発現して破骨細胞を活性化するため、細菌感染と破骨細胞形成の間のメディエーターであると考えられる。骨細胞が免疫細胞と同様にTLR2とそのシグナル伝達因子であるMyD88を発現することから、本研究では、骨細胞TLR2-MyD88シグナルの活性が歯周炎の病態形成に与える影響を検討することを目的とした。

【材料と方法】骨細胞選択的にMyD88を欠失する*Dmp1-Cre;Myd88^{fl/fl}*マウスを作製し、*Pg* (ATCC33277, 2×10^8 CFU) を1日おきに5回口腔内に播種することで*Pg*誘発性歯周炎モデルを構築した。最後の播種から7日目にq-PCRおよび組織形態学的測定、42日目にマイクロCTにて解析を行った。

【結果と考察】*Pg*感染*Dmp1-Cre;Myd88^{fl/fl}*マウスでは、*Myd88^{fl/fl}*マウスと比較し顎骨*Rankl*発現の減少、歯槽骨喪失の有意な抑制を示した一方で、歯肉の炎症レベルには優位な差は認めなかった。また、この歯槽骨喪失は骨細胞RANKLが重要であることを*Dmp1-Cre;Rankl^{fl/fl}*マウスを用いて明らかにした。さらに、MyD88阻害剤を腹腔内投与すると、*Pg*感染野生型マウスの歯槽骨喪失は抑制されたが、炎症のレベルには影響されなかった。

【結論】*Pg*誘発性歯周炎モデルにおいて、骨細胞MyD88シグナルの阻害によって骨吸収と炎症が分離された。これまで歯周炎における骨破壊は炎症に密接に関連していると考えられてきたが、本研究は歯周炎の病態形成に新たな視点を提供する。

P-02

歯菌菌湯によるSaos-2細胞へのAggregatibacter actinomycetemcomitans LPS刺激における抗炎症作用と骨分化能の基礎研究

河谷 和彦

キーワード：歯菌菌湯、漢方薬、ヒト骨芽細胞様骨肉腫細胞株、Aggregatibacter actinomycetemcomitans LPS、抗炎症作用、骨分化能

【目的】歯菌菌湯（いんちんこうとう）は医療用漢方製剤で歯科医療では口内炎や歯周炎にも処方される場合がある。本研究ではヒト骨芽細胞様骨肉腫細胞株（Saos-2）を用いて骨分化能と抗炎症作用を基礎医学的に薬理作用検討することを目的とする。

【材料および方法】歯菌菌湯は原末エキスをを用いた。細胞はSaos-2を用いた。細胞増殖能はMTT assayとBrdU Cell Proliferation Assay Kit, Collagen産生能はELISAで解析した。ALP産生能はLabAssay ALP kitを用いた。またAggregatibacter actinomycetemcomitans LPS (A.a LPS) 刺激による炎症サイトカインはELISAで解析した。

【結果と考察】歯菌菌湯によるSaos-2への増殖能、コラーゲン産生能、ALP分泌能、A. a. LPSによる抗炎症作用を確認できた。これらの初期骨基質マーカーの促進機序や抗炎症作用のメカニズムについての解明には踏み込めていない。しかし歯菌菌湯の生薬成分の歯菌菌、山梔子、大黃はいずれも解熱・消炎作用を有することから強い解熱消炎薬剤と考えられている。そのため、歯菌菌湯によるIL-6抑制結果から細胞内で抗炎症作用関連因子によりALPやCollagen産生を促し、骨芽細胞の分化成熟に関与している可能性がある。

P-04

*Porphyromonas gingivalis*由来LPSによる心機能低下におけるレニン-アンジオテンシン系の役割

清本 賢一

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*、心疾患、レニン-アンジオテンシン系

【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なっている。一方、レニン-アンジオテンシン系（RAS）の慢性的な活性化は心筋線維化やそれに伴う心機能低下を誘発することが報告されており、RAS活性化を抑制するACE（Angiotensin Converting Enzyme）阻害薬であるカプトプリル（Cap）は心不全治療薬として広く臨床で用いられている。これらの背景から、本研究では「*Porphyromonas gingivalis*由来のLPS（PG-LPS）の慢性持続投与によって誘導される心機能低下において、RASの活性化が重要である」という仮説の検証を行った。

【材料と方法】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, i.p.）、Cap投与群（0.1mg/ml 飲水投与）、PG-LPS + Cap投与群を作成した。実験開始1週間後に心機能（左室駆出率、左室内径短縮率）を心エコーにて測定した。その後、心筋線維化領域をMasson-Trichrome染色を用いて定量的に評価、アポトーシス陽性細胞率をTUNEL染色を用いて定量的に評価した。さらに、関連するタンパク質の発現量をウェスタンブロッティング法により評価した。

【結果と考察】左室駆出率、左室内径短縮率を測定したところ、PG-LPS投与群ではControl群と比較して有意に低下した。しかし、Cap併用投与群ではその傾向は有意に抑制された。心筋線維化の程度やアポトーシスの評価およびタンパク質の発現量の評価を行ったところ、PG-LPS投与群ではControl群に比較して有意に増加していた。しかし、Cap併用投与群ではその傾向は有意に減少した。

【結論】歯周病による心疾患の発症においてRASの重要性が示唆された。

P-05

歯肉炎症に対する天然生薬配合ペースト使用効果

音琴 淳一

キーワード：歯肉炎，SPT患者，ハーブ系生薬配合ペースト，抗炎症作用

【緒言】今回はブラッシング時に使用していた天然生薬配合歯磨剤ペーストを，SPT患者の来院時に歯肉炎症が発症していた場合に，直接炎症部分に塗布し，効果を検討したので報告する。

【対象】松本歯科大学病院に来院しているSPT患者のうち，来院時に歯肉炎症を発症している患者17名とした。歯肉炎症を増悪する可能性が高いとされている患者は除外した。

対象歯肉は，Gingival Index = 1あるいは2の頬側歯肉とした。SPT来院時に患者に対して診査により上記歯肉炎症が1歯以上あった場合に，本研究の説明を行い，同意を得た。

【使用ペーストと使用方法】2%グレープフルーツシード（GFS）含有で基材にグリセリンを用いた歯磨剤ペーストとした（GFS群）。コントロールはGFSが含有していないもの（非GFS群）とした。

歯肉炎症がある対象部位を含めたPMTCを行い，ペーストを滅菌脱脂綿に1g程度載せ，歯肉部位に載せ，1日2回行った。

使用期間中は，通常のブラッシング方法と使用器具は継続したが，他の歯磨剤・洗口剤は使用しないこととした。

【分析方法】来院時（実験開始時），使用開始1週間後，4週間後のGI，PII，歯肉溝浸出液量（GCF）を採取して，使用前後と生薬の含有有無による差を検討した。

【結果および考察】GFS含有群においては使用開始から1週後からGI，GCFは有意に減少した。PIIは大きな変化を認めなかった。GFS非含有群はGFS含有群と比較してGCF量は有意に高い値を示した。

【結論】生薬配合ペーストを使用することによる炎症消退が期待できることが示された。

P-07

塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）と炭酸アパタイト（CO₃Ap）の併用が歯周組織治癒に及ぼす影響：*in vitro*および*in vivo*研究

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】近年，歯周組織再生療法においてシグナル分子と足場材の併用療法が注目されているが，歯周組織治癒への影響については未だ不明な点が多い。本研究は，塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）と炭酸アパタイト（CO₃Ap）の併用が歯周組織治癒に及ぼす影響を基礎的に検討することを目的とした。

【材料および方法】FGF-2添加/非添加のCO₃Apまたは脱タンパクウシ骨ミネラル（DBBM）上でMC3T3-E1細胞を培養し，培養1日で接着細胞の観察，培養1，3，5日で細胞生存/増殖率の測定および培養7日で骨芽細胞分化を評価した。また，Wistarラットに外科的歯周組織欠損を作製した後，欠損内に生理食塩水（Unfilled），FGF-2，CO₃Ap，FGF-2+CO₃Apを応用し，術後2，4週で標本作製し組織学的評価，マイクロCTによる解析を行った。

【結果】FGF-2+CO₃Ap群のMC3T3-E1細胞の生存/増殖率は培養1，3，5日でFGF-2+DBBM群と比較し有意に高かった。また，FGF-2応用群は非応用群と比較し骨補填材に接着した細胞をより多く認め，*Runx2*と*Sp7*の発現量は有意に少なかった。組織学的評価および骨梁構造解析において術後2，4週でFGF-2，CO₃Ap，FGF-2+CO₃Ap群はUnfilled群と比較し，新生骨様構造物が多い傾向を認め，骨体積率がUnfilled群と比較し有意に高かった。

【結論】本欠損モデルの治癒においてFGF-2群とFGF-2+CO₃Ap群の新生骨形成は同等であった。FGF-2の細胞増殖促進効果が治癒に大きく影響していることが示唆された。

P-06

miR-200aによる歯肉線維細胞の骨芽細胞への分化誘導

高井 英樹

キーワード：骨関連転写因子，miR-200a，歯肉線維芽細胞

【目的】幹細胞を異なる性質の細胞に分化するには，特異的な転写因子（TFs）の発現誘導が重要である。miRNAは，複数の標的mRNAの3'UTRに部分相補的に結合し，翻訳抑制を引き起こす短鎖・一本鎖ノンコーディングRNAである。以前の研究で，miR200aはSOX5およびSOX6の発現を促進し，歯根膜線維芽細胞（HPDL）を軟骨様細胞に分化誘導することを報告した。そこで今回，歯肉および歯根膜で発現量が多いTFsをmiRNAで抑制することで，歯肉線維芽細胞（HGF）が，どのような性質をもつ細胞に分化誘導されるかを解析した。

【材料と方法】骨芽細胞様細胞（Saos2）をαMEM培地，HGFをDMEM培地で培養し，間葉細胞関連TFsのmRNAおよびタンパク質発現量を解析した。次にHGFで発現量が多いTFsの3'UTRに結合するmiRNAを検索し，上記の細胞でのmiRNAの発現量を解析した。さらにHGF細胞で高発現するTFsをmiRNAで抑制後，TFsのmRNAとタンパク質量の変化を解析した。

【結果と考察】Saos2と比較し，HGFではTWIST2およびKLF12 mRNAおよびタンパク質の発現量が多く，miRNAを検索した結果，miR200aは両転写因子の3'UTRに結合し，HGFと比較しSaos2で高発現していた。HGFにmiR200aを作用させた結果，TWIST2およびKLF12の3'UTRに結合し，TWIST2とKLF12 mRNAおよびタンパク質発現を抑制し，DLX5およびRUNX2 mRNAおよびタンパク質量を増加させ，HGFを骨芽細胞様細胞に分化誘導する可能性が示唆された。

P-08

高齢患者の定期的歯科受診に関する研究

濱崎 朋子

キーワード：定期的歯科受診，高齢者，コミュニケーション

【目的】近年，急速な高齢社会の進行に伴い，患者全体に占める高齢者の割合が増加している。我々はこれまでに，予防を目的とした定期的な歯科受診が，歯科医師の説明に対する患者満足度と関連することを報告した。これらをふまえ，本研究の目的を，高齢患者を対象として，定期的な歯科受診に関連する歯科医師，患者およびコミュニケーション因子について明らかにすることとした。

【材料と方法】対象は福岡県内の歯科医師と高齢患者の146組である。歯科医師と患者をペアとして，質問紙票調査を行った。調査期間は2021年6月から2022年4月である。調査項目は，歯科医師の属性，患者の属性，患者の満足度，健康状態，栄養状態，ヘルスリテラシーおよび歯科医師－患者コミュニケーション評価等である。患者の歯科医院へのかかり方と，歯科医師，患者およびコミュニケーション因子との関連について比較検討を行った。

【結果と考察】定期的な歯科受診をしている患者は102名（69.9%）であった。歯科医師の性別や年齢と有意な関連はみられなかった。患者関連因子では“世帯収入”，“認知・生活機能”と有意な関連がみられた。また，“歯科医師の説明”への患者評価と有意な関連がみられた。特に，説明内容で“検査方法や結果”および“予後の見通し”について強い関連がみられた。また，コミュニケーション因子では“親近感を覚える”，“話をよく聞いてくれる”と有意な関連がみられた。

【結論】高齢患者の定期的な歯科受診を阻害している因子として，収入，生活機能およびコミュニケーション因子が関連していることが示唆された。

P-09

自立高齢者における認知機能と歯周炎、口腔細菌叢
およびオーラルディアドコキネシスとの関連
出分 葉々衣

キーワード：MMSE、口腔細菌叢、歯周炎、オーラルディアドコキネシス

【目的】自立高齢者における認知機能と歯周病、口腔細菌叢およびオーラルフレイルの関連について横断的に明らかにする。

【方法】対象は、千葉県の歯科診療所および松本歯科大学病院に通院する60歳以上23名で、除外基準は現在歯数20未満の者、日常生活に介助が必要な者、認知症および歯周病に関連する全身疾患の既往がある者とした。調査項目は、認知機能検査はMMSEを使用し、口腔の検査では、現在歯数、義歯の有無、歯周組織検査6点法（PD、CAL、BOP）、PISA、歯周炎ステージ分類、舌圧、オーラルディアドコキネシスを用いた。唾液の菌叢解析は16SrRNA遺伝子部分塩基配列を標的としたMiSeq（Illumina, USA）により、検体の微生物群集構造を分析した。統計解析はSPSS Statistics ver.27を用いた。なお、本研究は松本歯科大学の倫理委員会より承認を得て実施した（No.0301）。

【結果と考察】認知症＋認知症疑い群（N＝11）では、正常群（N＝12）と比較し、現在歯数が少なく、歯周炎ステージが高く、BOPの割合が高く、オーラルディアドコキネシスのバ音およびカ音の発音回数が少なかったことと有意に関連していた。また、菌叢解析の結果、認知症＋認知症疑い群、PISA高群、BOP割合高群、バ音発音少群において口腔細菌叢中でSimpson indexが有意に高く、マイナーな菌種が均等に存在する確率が高いことがわかった。また、4群に共通して有意に多い菌種は、*Tannerella*属であった。

【結論】以上より、認知機能が低下した者においては、歯周炎罹患と発音機能の低下を認め、一部の歯周病関連細菌が共通して存在する可能性が示唆された。

P-11

ロビニロールは歯周炎における好中球性炎症と歯槽骨吸収を抑制する

佐藤 毅

キーワード：歯周炎、ロビニロール、好中球性炎症、カラジナン誘導性歯周炎ラットモデル

【目的】歯周病は歯周病原性細菌が引き起こす好中球性の炎症性疾患である。現在、歯周病の治療法は外科治療が主体であり、歯周組織再生治療の開発はすすんでいるが、炎症自体を軽減させる治療法の実現は皆無である。これまでに、D2様受容体アゴニストであるロビニロールは好中球性炎症を抑制することが報告されている。われわれはロビニロールが歯周炎における好中球性炎症と歯槽骨吸収を抑制するかどうかを検討した。

【材料・方法】歯肉上皮細胞（GE1細胞）をカラジナン、IL-17Aおよびロビニロールで刺激し、定量RT-PCRおよびELISA法を用いて、ロビニロールの抗炎症作用の解析を行った。また、カラジナン誘導性歯周炎モデルを作製し、HE染色およびマイクロCTを用いて、ロビニロールの歯肉組織に対する抗炎症作用と歯槽骨吸収の抑制作用を評価した。

【結果】GE1細胞において、カラジナン刺激によりCXCL1およびIL-17RAの発現が上昇し、IL-17A刺激によりCXCL1の発現が上昇した。ロビニロールはカラジナン刺激によるCXCL1とIL-17RAの発現上昇ならびにIL-17A刺激によるCXCL1発現上昇を抑制した。また、歯周炎モデルにおいて上顎臼歯の歯槽骨吸収はロビニロール処理により抑制された。

【結論】ロビニロールは歯周炎における好中球性炎症と歯槽骨吸収を抑制した。

P-10

Choline Geranate イオン液体の抗菌・抗バイオフィルム効果の検証

関 春陽

キーワード：イオン液体、抗バイオフィルム、歯周炎、ドラッグデリバリーシステム

Objective: In the previous study, Choline Geranate-Ionic Liquid (CAGE) showed promising effects as a topical ointment against periodontitis with self-penetration into the deep periodontal pockets and gingiva. However, limited efficacy against pathobiont has been studied. In this study, the details of the antibacterial and anti-biofilm activities were assessed.

Methods: Two strains of *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277/W83), *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586, *Prevotella intermedia* ATCC25611 and *Streptococcus mitis* ATCC903 were used. Antibacterial efficacy was tested by measuring minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Mature *P. gingivalis* single and multi-species biofilms were built by 3 days of incubation under anaerobic conditions. The bactericidal effect against the pathobiont in biofilm was assessed by live/dead BacLight viability staining and confocal laser scanning microscopy (CLSM). The destruction of biofilm was studied by crystal violet (CV) staining and scanning electron microscopy (SEM) imaging.

Results: CAGE showed complete killing activity against all the pathobiont. CAGE penetrated into the mature biofilm and killed the pathobiont in the biofilm. In addition, single and multi-species biofilms were destroyed by the short-term CAGE treatment.

Conclusions: CAGE exhibited quick and significant antibacterial and anti-biofilm activities against the periodontal pathogen. Combined with its self-permeability into the periodontal pockets and gingiva, CAGE-ointment has excellent potential as a new topical periodontal agent.

P-12

メタゲノム解析による唾液中の口腔内細菌と生活習慣の関係性の検討

岡 岳彦

キーワード：メタゲノム解析、唾液、口腔環境

【目的】高速シーケンサの実用化に伴い、口腔内の細菌と疾患の関係を網羅的に明らかにする研究が進展している。一方で健康な口腔状態における生活習慣と口腔菌叢の関係は明確ではない。

本研究では、唾液の口腔菌叢を16s rRNAによるメタゲノム解析により100名を超える規模で調査し、同時に実施したアンケートと組み合わせることで、様々な生活習慣や口腔疾患の有無と相関する口腔内菌叢が存在するかを検討した。

【方法】起床後直ぐに採取した唾液サンプルよりDNAを抽出し、Ion S5シーケンサを使用して16s rRNAシーケンスデータを取得した。菌叢解析はMetagenome@KINを用い、SpeciesおよびGenus rankにおける菌叢プロファイルを取得した。

【結果と考察】*Porphyromonas gingivalis* (Pg) と *Tannerella forsythia* は唾液検体においても歯周炎の履歴のある被験者で占有率が高く、Pgは歯周ポケットが深いと診断された者でも高占有率を示したが、インプラントや虫歯の有無、歯間ブラシの使用、喫煙、飲酒等の生活習慣とは関連が認められなかった。一方で、糖分を好む被験者ではレンサ球菌の占有率が高くなっており、食品に対する嗜好が特定の菌の占有率に関連していることが示唆された。PERMANOVAによる群集解析では、歯磨きの回数、乳製品の摂取頻度、虫歯の有無、喫煙、飲酒等では菌叢に差が認められない一方で、口臭の有無では統計上有意な菌叢の変化が認められ、*Prevotella*属や *Veillonella*属が口臭のある被験者で高い占有率を示した。

P-13

塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) の局所応用が
骨粗鬆状態の歯周組織の治癒に及ぼす影響

森 心汰

キーワード：塩基性線維芽細胞増殖因子，骨粗鬆症，歯周組織再生療法

【目的】骨粗鬆症患者は健康者と比較して，全顎的なアタッチメントレベルの平均値が有意に大きいことが報告されている。塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) には，歯周組織治癒の促進効果があり，歯周組織再生剤として使用されている。しかし，骨粗鬆症患者の歯周炎に対する FGF-2 の効果は未だ明らかではない。そこで本研究の目的は，FGF-2 の局所応用が卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの歯周組織治癒に及ぼす影響を解明することとした。

【材料および方法】Wistar ラットを用いて，卵巣摘出 (OVX) により骨粗鬆状態の誘発を行った。対照群には偽手術を施した。術後8週で大腿骨の骨梁構造解析を行い，骨粗鬆状態の確認を行った。その後，ラット上顎に外科的歯周組織欠損を作製し，欠損内へ FGF-2 を局所応用した FGF-2 群と非応用群を設定した。術後2週に標本を作製し，組織学的観察 (H-E 染色)，micro-CT による骨梁構造解析を行い，治癒を評価した。

【結果と考察】大腿骨遠位の骨梁構造解析により，OVX 後8週において骨粗鬆状態を確認した。術後2週における組織学的観察では，OVX 群，対照群ともに，FGF-2 群は非応用群と比較して，新生骨様構造物の歯冠側方向における位置が高い傾向にあった。骨梁構造解析では，OVX 群および対照群において，FGF-2 群の欠損内における骨体積率は，非応用群と比較して有意に高かった。

【結論】骨粗鬆症誘発ラットの歯周組織の治癒において，FGF-2 応用は術後2週までの新生骨形成を促進したが，その効果は健康ラットと比較して限定的であることが示唆された。

P-15

HUCPVC を骨芽細胞様細胞に分化させる TGF- β 1 と
FGF-2 の相乗効果について

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

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。

【目的】HUCPVC の石灰化に対する線維芽細胞成長因子2 (FGF-2) とトランスフォーミング成長因子 β 1 (TGF- β 1) の相乗効果について研究を行った。

【材料と方法】活性型ビタミンD₃，LDN-193189 (LDN)，およびTGF- β 1 の存在下で，FGF-2 を含むHUCPVC (FGF (+) HUCPVC) と含まないHUCPVC (FGF (-) HUCPVC) を作成し，細胞増殖能力，各種硬組織形成細胞遺伝子マーカーの発現，石灰化誘導能，石灰化結節の結晶相の同定を細胞生物学，形態学，遺伝学，結晶工学レベルで調べた。

【結果と考察】FGF (+) HUCPVC は，ALP 遺伝子発現およびALP 活性が高く，細胞増殖速度がFGF (-) HUCPVC よりも速かった。骨芽細胞マーカーおよび基質小胞性石灰化関連遺伝子の発現レベルはFGF (+) HUCPVC で増加し，弾性線維および筋細胞マーカーの遺伝子発現はFGF (-) HUCPVC で増加した。また，FGF (-) HUCPVC と比較してFGF (+) HUCPVC では明らかに石灰化結節が観察された。この石灰化結節は，繊維状ヒドロキシアパタイト・ナノロッドと多結晶シートで構成される骨ヒドロキシアパタイトの形態学的特徴を示した。

【結論】FGF-2 がTGF- β 1 と相乗作用し，HUCPVC の硬組織形成細胞への分化における重要な因子であることを発見し，HUCPVC が将来の骨再生療法や歯科治療のための新しい幹細胞の供給源として機能する可能性がある。

P-14

シングルセル遺伝子発現解析によるヒト培養骨膜細胞
シートの骨形成評価

都野 隆博

キーワード：ヒト培養骨膜細胞，シングルセルRNA-seq 解析，網羅的遺伝子発現解析，骨形成

【背景・目的】申請者らは自家培養骨膜細胞を用いた歯槽骨・顎骨再生治療を実臨床化し，優れた臨床成績を確認している。ヒト培養骨膜細胞シートは骨芽細胞系や線維芽細胞を含むヘテロな細胞集団と考えられるが，細胞種の詳細と，細胞集団の違いによる骨形成能への影響は不明である。そこで本研究の目的は，シングルセル遺伝子発現 (scRNA-seq) 解析を中心とした *in vitro* および *in vivo* 研究により，シート部位別における構成細胞種および骨形成能を明らかにすることである。

【材料と方法】組織片培養を行ったヒト培養骨膜細胞シートを用い，scRNA-seq 解析からシート部位別 (中心部 vs 周辺部) における細胞の遺伝子発現プロファイルを明らかにした。さらにシート部位別における骨形成能の違いを，real-time PCR 法およびラット背部皮下移植モデルにより比較検討した。

【結果】遺伝子発現プロファイルによるクラスタリング結果から，シート内には複数の細胞集団を認めた。中心部において骨芽細胞前駆細胞，周辺部において線維芽細胞が多く認められ，シート部位別に細胞種の割合に違いが観察された。またreal-time PCR 法において，シート周辺部と比較し，中心部において各種骨形成関連遺伝子の有意な発現増加を認めた。さらにラット背部皮下移植モデルにおいても同様に，シート中心部の細胞移植においてより顕著な骨誘導能が観察された。

【考察と結論】本研究から，ヒト培養骨膜細胞シートにおける細胞種が明らかになり，シート中心部における骨芽細胞前駆細胞の存在と高い骨誘導能が示された。今後，シート中心部を用いた細胞移植による骨再生治療の更なる高効率化が期待される。

P-16

加熱式タバコ煙抽出液が歯周炎誘発マウスの歯槽骨吸
収および線維芽細胞の増殖能と遊走能に及ぼす影響

銅冶 賢吾

キーワード：加熱式タバコ，歯周炎誘発マウス，歯槽骨吸収，線維芽細胞，細胞遊走能

【目的】喫煙は歯周疾患の発症・進展に関与する環境面での最大のリスクファクターである。近年，加熱式タバコ (Heat-not-burn-products: HTPs) の使用が増加している。しかし，HTPs が歯周組織に及ぼす影響については未だ不明な点が多い。そこで本研究は，HTPs のタバコ煙抽出液 (CSE) が歯周炎誘発マウスの歯槽骨吸収，そして線維芽細胞の増殖能と遊走能に及ぼす影響について検討する事を目的とした。

【材料と方法】従来タバコ (CC) およびHTPs のCSE を先行研究のパフプロトコルに準拠して作製した。C57BL/6 マウス (7-9 週齢) をHTPs 群，CC 群とコントロール (PBS) 群に分け，1回/日，3日間，0.3ml/20g の溶液を腹腔内投与した。上顎左側第2臼歯への絹糸結紮により歯周炎を誘発した。結紮後7日における歯槽骨吸収量を μ CTにて評価した。*In vitro* では，各種濃度のCSE を添加してヒト歯肉線維芽細胞を培養し，増殖能をWST-8，遊走能をwound healing assayにて評価した。

【結果と考察】HTPs 群の歯槽骨吸収量は，PBS 群より有意に多く，CC 群との間には有意差は認められなかった。*In vitro* では，HTPs とCC のCSE は濃度依存的に細胞増殖能と遊走能を抑制した。CC はHTPs と比較してより低濃度で増殖能と遊走能を抑制した。以上の結果から，HTPs は，CC と比較して程度は低いものの，歯槽骨吸収を促進し，治癒に影響を及ぼすことが示唆された。

P-17

β-グリチルレチン酸がヒト歯肉縁上バイオフィルムに与える影響の解析

加藤 慎也

キーワード：β-グリチルレチン酸、歯肉縁上バイオフィルム

【目的】β-グリチルレチン酸（BGA）は甘草由来の抗炎症・抗菌成分である。我々はBGAのヒト歯肉縁上歯垢から採取した細菌（口腔細菌）によるバイオフィルム（縁上歯垢BF）への影響を解析した。

【方法】BGAおよび塩化セチルピリジニウム（CPC）の口腔細菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）を測定し、BFへの影響を解析する濃度とした。チャンバースライドシステムに形成した縁上歯垢BFに、BGAとCPCを6時間作用させ、生菌死菌の割合をLive/Dead染色と蛍光顕微鏡を用いて解析した。BGAとCPCのBFの剥離効果について、ポリスチレンプレート上の縁上歯垢BFにBGA、CPCを6時間曝露後、浮遊細菌量を指標に解析した。縁上歯垢BFの脆弱性については、BGA、CPCを6時間曝露した縁上歯垢BFに超音波照射を行い、剥離BF量を解析した。

【結果と考察】口腔細菌に対するBGAおよびCPCのMICは、それぞれ128μg/mlおよび40μg/mlであった。この濃度を縁上歯垢BFに作用させLive/Dead染色を行ったところ、抗菌物質を含まない対照群の全細菌に対する死菌の割合は40.0%であったが、CPCは85.7%、BGAは60.0%であった。6時間曝露後に得られた浮遊細菌の量は、対照群とCPCについては差が見られなかったが、BGAは有意に多かった。脆弱性についてはBGA、CPCおよび対照群について差は見られなかった。これらの結果から、BGAは縁上歯垢BFを殺菌し、化学的作用により剥離する効果はあるものの、BFの脆弱性に影響を与えるものでないことが示唆された。

P-18

クロロゲン酸による歯周組織由来線維芽細胞への影響

鈴木 優矢

キーワード：クロロゲン酸、歯肉線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞

【目的】歯周病は、歯周組織を破壊する慢性炎症疾患である。歯周疾患の初発症状である歯肉の炎症のコントロールは、日々のブラークコントロールにおいても効果的である。一方、クロロゲン酸（CGA）は、コーヒー豆などに含まれるポリフェノールの一つであり、抗炎症作用を有することが報告されている。しかし、CGAが歯周組織に与える影響についての報告は少ない。そこで本研究は、CGAが歯周組織に与える影響とその機序を解明することを目的とし、CGAの濃度別による歯周組織由来線維芽細胞への影響を検討した。

【材料と方法】細胞は、歯肉線維芽細胞（GF）と歯根膜線維芽細胞（PDL）を使用した。細胞は、CGAを0, 50, 100, 200, 500μMに調整し添加した15%FBS含有DMEMにて培養した。各細胞は、ミトコンドリア還元染色した後に、蛍光測定を行い、細胞増殖の検討を行った。測定日は、培養1, 2, 4, 6, 8日とした。また、*Porphyromonas gingivalis*由来のLipopolysaccharide（LPS）を1μg/mLにて調整し、CGAを添加したDMEMにさらに添加した。各細胞を、LPSを添加したDMEMにて培養し、細胞増殖の検討を行った。

【結果】細胞増殖は、GF、PDL共にCGA 0μMと比べて、500μMで有意な増殖の抑制を認めた。また、LPSを添加した培養では、すべての濃度を比較して有意な差を認めなかった。

【考察】本研究では、CGA各濃度の歯周組織由来線維芽細胞に対する影響の検討を行った。本研究結果から、CGA 500μMで細胞増殖の抑制を認めたため、500μM未満での添加が望ましいと考えられる。今後、CGAとLPSを暴露した歯周組織由来線維芽細胞を培養し、炎症性サイトカインの検討を行う予定である。

P-19

銀イオンコーティングによる抗菌性を付与したインプラント周囲炎抵抗性デンタルインプラントの開発

那須 真奈

キーワード：インプラント周囲炎、歯科インプラント、生体材料

【目的】インプラント周囲炎は口腔バイオフィルムに関連し、インプラント周囲支持骨の進行的な喪失を生じる疾患である。有病率は高く、インプラント治療を受けた患者さんの5人に1人がインプラント周囲炎に罹患しているとも報告されており、この疾患に対する新たな対策が求められている。今回われわれはインプラント表面性状を改良することにより抗菌活性を獲得し、インプラント周囲炎による骨吸収の予防あるいは進行の抑制に関して検証した。

【方法】抗菌活性を付与するためにインプラント体のチタンに銀イオンコーティングを施し、抗菌性を検証した。慢性歯周炎の原因菌である*Porphyromonas gingivalis*を用いて、銀イオンコーティングインプラントの抗菌効果を阻止円形成の有無による細菌培養実験にて評価した。実験的インプラント周囲炎モデルを用いて組織学的評価とマイクロCTを用いた画像評価を行い、インプラント周囲炎の骨吸収に対する抑制効果を検証した。

【結果】銀イオンコーティングインプラントの*P. gingivalis*に対する阻止円形成実験にて、明らかな阻止円形成を認めた。実験的インプラント周囲炎モデルによるマイクロCT解析においては、銀イオンコーティングインプラントがコントロールのチタンインプラントと比較し、有意な骨吸収抑制効果を確認した。

【結論】本研究は、チタン製インプラントに銀イオンコーティングを施すことにより、実験的インプラント周囲炎モデルによる骨吸収を抑制することを示した。インプラント周囲炎のリスク因子には細菌やオーバーロードなど複数存在するが、インプラントへの銀イオンコーティングは、細菌関連因子に対する有効な治療および予防効果を発揮できるオプションとなることが示唆された。

P-20

職域成人における電子たばこ、加熱式たばこ、紙たばこの喫煙状況と歯周状態及び現在歯数との関連

橋本 周子

キーワード：電子たばこ、加熱式たばこ、歯周状態、現在歯数

【目的】電子たばこや加熱式たばこは、従来の紙たばこの喫煙と同様に歯周炎の危険因子となる可能性がある。本研究では、職域成人における喫煙状況と歯周状態及び現在歯数との関連について検討した。

【材料および方法】2019年12月から2020年3月にかけて、全国健康保険協会愛知支部に加入している事業所の従業員を対象として、歯科健診及び質問紙調査を行った。口腔状態として、歯の状況および歯周状態を評価した。質問紙により、年齢、性別、喫煙状況、かかりつけ歯科医の有無、口腔の健康への関心、歯磨き回数、歯間清掃用具の使用状況、定期歯科受診状況、歯磨き指導の有無について、特定健康診査の結果からBMIの情報を得た。分析に用いるデータが全て揃っている473名を分析対象とした。喫煙状況を、非喫煙者、紙たばこ使用者、電子たばこ/加熱式たばこ使用者、紙たばこと電子たばこ/加熱式たばこ併用使用者の4群に分類し、群間の口腔保健行動、口腔状態を比較した。また、歯周状態（歯周ポケット4mm以上の歯数の割合）及び現在歯数を目的変数とした重回帰分析を行った。

【結果および考察】現在歯数を目的変数とした重回帰分析の結果、紙たばこ使用者は、非喫煙者に比べて現在歯数が有意に少なかった。また、歯周状態を目的変数とした重回帰分析では、紙たばこ使用者、電子たばこ/加熱式たばこ使用者、紙たばこと電子たばこ/加熱式たばこ併用使用者は、非喫煙者に比べて有意に歯周ポケット4mm以上の歯数の割合が高かった。本研究より、紙たばこだけでなく、電子たばこや加熱式たばこの喫煙も歯周炎の危険因子となる可能性が示唆された。

P-21

酸化ストレス阻害薬（アロプリノール）の *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS (PG-LPS) による心機能障害に対する効果

森井 彰伸

キーワード：歯周病，酸化ストレス，炎症，ポルフィロモナス ジンジバリス，キサンチンオキシダーゼ

【目的】申請者らは *Porphyromonas gingivalis* 由来リポポリサッカライド (PG-LPS) を投与して作成した歯周病マウスモデルの解析を行ったところ，PG-LPS 投与マウスでは心機能障害がみられた。以上の研究成果をもとに本研究では，高尿酸血症の治療薬として長年利用され安全性が確認されているキサンチンオキシダーゼ阻害薬であるアロプリノール (ALLO) の歯周病に起因する心疾患に対するアロプリノールの予防効果について検証する。

【方法】C57BL/6J マウス（オス 12 週齢）を用いて，1) PBS 投与群 (Control 群)，2) PG-LPS (0.8mg/kg/day: ip) 投与群 (LPS 群)，3) ALLO 投与群 (50mg/kg/day: 飲水投与)，4) LPS とアロプリノールの併用投与群 (LPS + ALLO 群) を作成した。LPS 投与を 7 日間連続投与後，心エコーにて心機能測定した。心機能測定後に心臓を摘出し各臓器重量の測定と組織学的解析及び分子生物学的評価を行った。

【結果】Control 群と比較して LPS 投与群での心機能（左室駆出率 (LVEF)，左室内径短縮率 (FS)）は有意に低値を示した。ALLO 併用投与群における心機能の低下は有意に抑制されていた。まお心重量は各群間で有意差はなかった。Masson-trichrome 染色による心筋線維化は LPS 群では有意に増加したが，LPS + ALLO 群ではそれらの増加は有意に抑制された。心筋細胞内の評価のため TUNEL 染色および 8-OHdG 染色を行い，LPS 群では有意に増加したが，LPS + ALLO 群ではそれらの増加は有意に抑制された。

【結論】PG-LPS の投与による心機能低下ならびに心臓線維化は ALLO の併用投与により抑制された。以上の結果よりアロプリノールは歯周病に起因する心疾患発症に対する予防効果が示唆された。

P-23

ヒト歯肉線維芽細胞のエクソソームにおけるマイクロ RNA 発現プロファイル

山口 亜利彩

キーワード：エクソソーム，マイクロ RNA，マイクロアレイ

【目的】エクソソームは，細胞から分泌される直径約 50-150nm の細胞外小胞で，血液や唾液などの生体液中に存在する。エクソソームは内部にタンパク質，mRNA や miRNA などを含み，輸送することで，細胞間コミュニケーションに関与する。miRNA は 21~25 塩基長の 1 本鎖 RNA で，翻訳抑制することで，タンパク質発現を制御する。ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) を TNF- α または IL-1 β で刺激し，培地中に分泌されたエクソソーム中の miRNA の発現プロファイルを解析した。

【材料と方法】HGF を TNF- α (10ng/ml) または IL-1 β (1ng/ml) で 24 時間刺激後，培養液から Exo-Quick TC を使用してエクソソームを精製した。エクソソームから全 RNA を抽出し，miRNA の発現プロファイルを miRNA マイクロアレイによって解析した。HGF のエクソソーム中の miRNA の発現量はリアルタイム PCR で解析した。miRNA マイクロアレイから得られたデータは，GeneSpring GX および TargetScan で分析した。

【結果と考察】miRNA マイクロアレイの結果，TNF- α または IL-1 β で刺激した HGF のエクソソーム中に，26 個の miRNA の発現増加と 4 個の miRNA の発現減少が認められた。最も発現増加した 3 つの miRNA は hsa-let-7c-5p，hsa-miR-23a-3p および hsa-miR-24-3p で，リアルタイム PCR の結果，上記 3 つの miRNA の発現量は，TNF- α および IL-1 β 刺激により有意に増加した。エクソソーム中の miRNA と歯周病の関係について現在解析中である。

P-22

β -グリチルレチン酸 (BGA) 配合歯磨剤の使用による，歯垢形成に関する効果検証試験

山下 恭徳

キーワード：歯磨剤，予防， β -グリチルレチン酸 (BGA)

【目的】歯周病・う蝕予防の一般的手段は，ブラッシングによるプラークコントロールであるが，歯磨剤等に配合されている殺菌剤もその補助的手段となる。抗炎症作用を有する β -グリチルレチン酸 (BGA) は，抗菌作用もまた *in vitro* で知られているが，ヒト使用試験での効果は報告されていない。そこで健康な成人を対象に BGA 配合歯磨剤の効果調べた。

【材料および方法】本試験は長崎大学病院臨床研究審査委員会 (20032315)，および花王ヒト試験研究倫理委員会 (S265-2211b) による審査・承認を受けて実施した。長崎大学病院歯科保存治療室にてメンテナンス中の 20 歳以上 65 歳未満の健康男女 25 名を対象とした。試験期間は，準備期間，評価期間 1，ウォッシュアウト期間，評価期間 2 で構成し，各 1 週間とした。試験デザインは，評価期間 1, 2 で試験製剤を入れ替えるクロスオーバーであり，試験製剤は 0.1% BGA 配合歯磨剤と BGA 未配合歯磨剤であった。評価項目は以下 3 項目であり，(1) 緑上歯垢付着量を M-QHI 法でスコア化，(2) 6 点法による歯肉炎症指数 (GI) 測定，(3) 緑上歯垢中の菌数を定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により測定し，対応のある t 検定を行い比較した。

【結果】BGA 未配合歯磨剤群と比較すると BGA 配合群では，有意に歯垢形成量が減少し，歯肉の炎症が抑制された。また，緑上歯垢中の総菌数および *F. nucleatum* が減少した。

【考察および結論】BGA 配合歯磨剤は緑上の歯垢形成を抑制し，歯肉の炎症を防ぎ，歯周病を予防することが示された

P-24

演者からの取り下げにより
発表が取り消しとなりました

P-25

口腔細菌検出装置 orcoa を用いた歯周病スクリーニング評価の有効性

田中 そら

キーワード：orcoa, 歯周病検査, PISA, *Porphyromonas gingivalis*, 医科歯科連携

【目的】近年、全身疾患と歯周病の関連が明らかになり、歯周病のスクリーニングに用いることのできる簡便な検査が必要となってきた。そこで口腔内細菌数を簡易的に評価することのできる装置 orcoa (株式会社オルコア, 大阪) を用いて、PISA 値と唾液中 *Porphyromonas gingivalis* (以下 P.g) 菌数の関連を明らかにし、orcoa による細菌数測定が歯周病のスクリーニング検査として有用であるか検討することとした。

【材料と方法】軽度または中等度慢性歯周炎の患者および歯周炎に罹患していない健康者を研究対象者とし、研究への同意が得られた女性 26 名、男性 10 名の計 36 名を選定した。被験者がリン酸緩衝生理食塩水 9ml で 30 秒間含嗽した唾液検体を遠心分離機にかけ、沈殿物を採取することで orcoa 測定を行った。本研究は広島大学疫学研究倫理委員会の承認 (E-1685 号) を受け、実施した。統計処理にはノンパラメトリック検定を用いた。

【結果と考察】口腔内 P.g 菌量と PISA 値との間で相関係数 0.40 の有意な相関が得られた ($p=0.018$)。さらに、口腔内 P.g 菌量と BOP 値の間においても相関係数 0.40 の有意な相関を認めた ($p=0.02$)。また、PISA 値は残存菌数に依存するため PISA 値を残存菌数で割った値で検討したところ、相関係数 0.46 の有意な相関が得られた ($p<0.01$)。

【結論】口腔細菌検出装置 orcoa を用いた細菌数測定は PISA 値を反映する歯周病のスクリーニング検査として有効である可能性が示された。さらに、唾液を用いた簡易的な検体採取方法であることから、医科のチェアサイドで歯科への紹介の要否を判断する目安として用いることができ、医科歯科連携のツールとして活用できる可能性が示唆された。

P-27

評価ガイドを使用した改良型歯間乳頭保存術 (mPPT) の創傷治癒評価

伊藤 正一

キーワード：歯周組織再生療法, 創傷治癒, 改良型歯間乳頭保存術

【目的】歯周組織再生療法の創傷治癒の評価方法に early wound healing index (EHI) があるが、炎症の評価は含まれていない。今回、炎症状態の評価を加えた改良型 EHI (mEHI) の評価ガイドを作成し、歯周組織再生療法後の創傷治癒評価を行い、評価者間信頼性を検証した。

【材料と方法】後ろ向き患者データを対象とした。歯周組織再生療法後、改良型歯間乳頭保存術 (mPPT) 後の創傷治癒を評価した。創傷治癒の評価項目は、発赤、腫脹、段差、裂開、フィブリン塊および残存切開線の 6 項目とした。これらの項目の評価ガイドを作成し、8 名の日本歯周病学会専門医・認定医と 12 名の非認定医が、対象患者の抜糸時口腔内写真を用いて創傷治癒を評価した。対象の抜糸期間は、術後 13~15 日とした。項目別に級内相関係数 (ICC) を算出し、評価者間信頼性を評価した。専門医・認定医および非認定医群間で、評価項目別に有意差と評価の特徴を統計解析した。

【結果と考察】79 部位が対象となった。フィブリン塊、段差、裂開の評価において、専門医・認定医群と非認定医群間で ICC 0.30 以上の差が生じた。フィブリン塊と裂開の評価において、非認定医群の方が有意に高値であった。各グループにおける偏相関係数を算出した結果、非認定医群では残存切開線とフィブリン塊、腫脹と裂開にそれぞれ負の相関を認めた。

【結論】mPPT を用いた歯周組織再生療法において、評価ガイドを使用した創傷治癒評価の評価者間信頼度は中程度であった。フィブリン塊の評価において、歯科医キャリアによって認識が異なる可能性があった。

P-26

ショ糖脂肪酸エステルによる *Streptococcus mutans* バイオフィーム分散効果

大村 幸平

キーワード：ショ糖脂肪酸エステル, バイオフィーム, *Streptococcus mutans*

【目的】歯垢は細菌や不溶性グルカン等の代謝物からなる口腔内バイオフィーム (BF) であり、う蝕や歯周病の原因となることから、高い歯垢除去効果を有するオーラルケア製品が望まれている。一方、ショ糖脂肪酸エステル (SE) はスクロースと脂肪酸がエステル結合したノニオン性界面活性剤であり、脂肪酸の種類や数により HLB 値 (水と油への親和性の程度) やミセル構造等の性質が変化する。本研究では、SE による *Streptococcus mutans* (S.m.) BF 分散効果について検証した。

【方法】S.m. をスクロース含有液体培地にて嫌気培養し、BF を作製した。試料を添加し、超音波処理後、残存した BF をクリスタルバイオレット染色し、BF 分散効果を評価した。

【結果と考察】SE の脂肪酸の種類 (C14, C16, C18) について検討したところ、脂肪酸の炭素数が多いほど BF 分散効果は高く、特に C18 飽和脂肪酸であるショ糖ステアリン酸エステル (S-SE) に高い BF 分散効果が認められた。S-SE の HLB 値について検討したところ、HLB 値が 11 及び 16 である親水性の S-SE に特に高い BF 分散効果が認められた。また、S-SE の構成成分であるスクロース、ステアリン酸塩及び S-SE と同じステアリン酸エステルを有するモノステアリン酸ポリグリセリルについて、BF 分散試験を実施したところ、それらよりも S-SE の方が分散効果は高かった。従って、S-SE はスクロース部位、ステアリン酸構造及び高い親水性により、BF に対する相互作用や水への分散性に影響を与えたと考えられる。さらに、S-SE を配合した歯磨剤は高い BF 分散効果を示した。

【結論】SE は BF 分散効果を示したことから、SE をオーラルケア製品に配合することで、高い歯垢除去効果が期待できる。

P-28

コラーゲン様リコンビナントペプチドがヒト培養骨膜細胞に与える影響の解析

Diep Thi Thuy Tran

キーワード：ヒト培養骨膜細胞, コラーゲン様リコンビナントペプチド, 骨再生

Objectives: Recombinant human collagen peptide (RCP), a collagen mimicking peptide based on human collagen type I, enriched with Arginine-Glycine-Aspartic acid sequences is expected to be used for bone tissue engineering clinically. In this study, we evaluated the compatibility of cultured human periosteal cells (hPCs) and RCP *in vitro*.

Methods: MTT assay was performed to evaluate cytotoxicity of RCP towards hPCs. The effect of RCP on promotion of cellular adhesion and wound healing of hPCs was investigated by cell adhesion assay and migration assay. The effects of RCP in stem cell makers and cell cycles were analyzed with cytometry. In addition, gene expression profiles were assessed by using RNA-seq and qPCR analysis.

Results: MTT assay showed that RCP had no cytotoxicity to hPCs. RCP treatment significantly promoted cell adhesion after 30 and 60 minutes. No effects of RCP on cell cycle, stem cell markers expressions, or cell migration were observed. RNA-seq and qPCR analysis demonstrated the alterations of various gene expressions such as Extracellular matrix-related genes and Osteogenic-related genes by RCP treatment.

Conclusions: RCP has beneficial functions on human periosteal cells by enhancing cellular adhesion and promoting various gene expressions such as Extracellular matrix-related genes and Osteogenic-related genes.

P-29

犬から分離された歯周病菌 *Porphyromonas gulae* がマクロファージに及ぼす影響の基礎的検討

豊岡 恵

キーワード：歯周病, *Porphyromonas gulae*, マクロファージ, 獣医

【目的】 獣医領域における歯周病の蔓延は社会問題であり、6歳以上の飼育犬の8割以上が歯周病に罹患していると報告されている。近年の疫学研究では、歯周病菌の中でも *Porphyromonas gulae* (*P. gulae*) が犬の歯周病悪化に重要な役割を示すことが分かっているが、病原性については不明点が多い。本研究では、細菌貪食、炎症そして骨融解等の歯周病における免疫反応の中心的な役割を示すマクロファージに着目し、*P. gulae* がマクロファージに及ぼす影響調査を行った。

【材料と方法】 *P. gulae* (ATCC 51700) は、羊血液寒天培地を用いて嫌気条件下で37℃、4日間培養し、菌液(波長595nmにて吸光度が1.0)をマウスマクロファージ(RAW264.7)に曝露した。*P. gulae* 曝露開始4時間後の細胞を回収し、RNA sequenceおよびマクロファージ分化に関わる遺伝子発現(*IRF4*)を確認した。さらに *P. gulae* 曝露開始24時間後の細胞上清液中のIL-10量をELISA法にて測定した。

【結果と考察】 RNA sequenceでは、*P. gulae* 曝露によりマクロファージ分化に関連する遺伝子発現の有意な増強が認められた。中でもM2マクロファージへの誘導が、*P. gulae* 曝露群における *IRF4* 発現の有意な増強や、M2マクロファージから産生されるIL-10の上清中濃度の有意な増加により示唆された。M2マクロファージは過剰な免疫反応を制御する役割を担うことから、*P. gulae* が免疫寛容を誘導することで口腔内への定着を容易にしている可能性が示唆された。

P-31

粘土鉱物であるベントナイトは犬の歯周病菌 *Porphyromonas gulae* と結合することでバイオフィーム形成を阻害する

金木 真央

キーワード：歯周病, ベントナイト, *Porphyromonas gulae*, 獣医, バイオフィーム

【目的】 世界小動物獣医師会によると、2歳齢までの犬の8割が歯周病に罹患していると報告されている。犬の歯周病予防や治療では、全身麻酔下での歯石除去が第一選択となるが、麻酔のリスクや金銭的な問題から、定期的な実施は難しい。歯磨きやサプリメントを用いたホームケアが重要となるが、既存の商品には歯垢の形成やそれに伴う口臭や炎症の悪化に対応した商品はほとんどない。本研究で着目したベントナイト(以下Bt)とは、粘土鉱物であり、カビ毒や生体毒素への結合作用を利用し、家畜飼料などに利用されている。本研究では、Btの新しい利用方法として犬の歯周病に対する効果を検討した。

【方法】 犬の歯周病菌の進行に大きく関与する *Porphyromonas gulae* に着目し、Bt共培養下の培養液中の生菌数を測定し、増殖抑制効果を調べた。また、Btとの結合力を確認するために、Bt共培養下での培養液を遠心分離し、上清中の生菌数の測定および電子顕微鏡を用いた観察を行った。さらに、共培養下におけるバイオフィーム形成量を測定した。

【結果】 Btには殺菌効果はなく、濃度依存的な生菌数の増加が認められた。一方で、Btの *P. gulae* に対する結合作用が上清中の生菌数の有意な減少および電子顕微鏡による観察によって確認された。また、Btとの共培養によって有意なバイオフィーム形成阻害効果が認められた。

【結論・考察】 Btは *P. gulae* と結合することにより、細菌の排出を促し、細菌数の減少およびバイオフィーム形成阻害効果を示した。歯周病菌の定着を防ぐことで口臭抑制も期待できることから、Btは犬の歯周病ケアに有用であると考えられる。

P-30

β-グリチルレチン酸及びEDTA含有歯磨剤の歯周炎に及ぼす効果についての臨床研究

浦川 李花

キーワード：β-グリチルレチン酸, EDTA, マトリックスメタロプロテアーゼ, 臨床研究, 歯磨剤

【背景と目的】 歯周病の進行に伴う歯周組織破壊において、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-8の関与が報告されている。MMP-8は好中球より分泌される酵素で、活性中心に亜鉛をもち、キレート剤により活性が阻害されることが知られている。我々は、このMMP-8に対して高い阻害効果を示す物質としてβ-グリチルレチン酸(β-GR)を見出した。本研究では、このβ-GRおよびEDTAを配合した歯磨剤を開発し、4週間使用の臨床試験を実施して、開発歯磨剤の性能を評価した。

【方法】 白歯にPPD4mm以上を有する18名(平均年齢47.9±10.4歳)を被験者とし、ランダム化二重盲検並行群間比較試験として行った。被験者は、β-GRおよびEDTA配合歯磨剤(試験群)もしくは市販フッ素配合歯磨剤(対照群)を用いてブラッシングを1日3回、4週間実施し、試験開始時、開始2, 4週間後に臨床指標の測定および肉内溝滲出液(GCF)の採取を行った。GCF中のMMP-8をELISAにて測定した。

【結果】 2, 4週間後の時点で、試験群は対照群と比較し有意に低い活性型MMP-8値を示した(p<0.05)。活性型MMP-8値の2週間の改善度と群間に有意な関連があり、試験群で改善が認められた(p<0.05, φ=0.242)。試験開始時にBOP陽性であった部位においては、試験群のみ2週間後に改善傾向を示した(p<0.1)。

【結論と考察】 試験群で活性型MMP-8が抑制されたことから、β-GRおよびEDTA配合歯磨剤の使用により歯周組織破壊の予防につながることが期待できる。

P-32

唾液に含まれる金属塩によるCPCのジンジバイン阻害効果の低下と、その制御

森川 拓磨

キーワード：歯周病, ボルフィロモナス ジンジバリス, ジンジバイン, 塩化セチルピリジニウム, キレート剤

【背景・目的】 タンパク質分解酵素ジンジバインは *Porphyromonas gingivalis* の病原性因子である。我々は殺菌剤CPCにジンジバイン阻害効果があることと、その効果が唾液に含まれる金属塩によって低下することを報告した。そこでCPCのジンジバイン阻害効果が金属塩存在下でも発揮されることを期待し、CPCとキレート剤の組合せを検討した。

【方法・結果】 CPCのジンジバイン阻害効果を金属塩非存在・存在下で評価した。金属塩がない場合、CPCにはジンジバイン阻害効果が認められた。しかしながら、金属塩存在下ではCPCにはジンジバイン阻害効果が認められなかった。このとき、キレート剤であるクエン酸やEDTAを組合せると、CPCのジンジバイン阻害効果が認められた。

【結論・考察】 金属塩存在下ではCPCのジンジバイン阻害効果が低下したが、クエン酸やEDTAを組合せることでCPCの効果の低下を防ぐことができた。このことから、金属塩がクエン酸やEDTAによりキレートされたことで、CPCのジンジバイン阻害効果は発揮されたと考える。CPCを配合した口腔ケア製剤にキレート剤を配合することで、金属塩を含む唾液中でもジンジバイン阻害効果が発揮されることが期待できる。

P-33

ストレプトゾトシン投与糖尿病モデルマウスの実験的歯周炎症起組織における免疫応答および骨構造変化に関する研究 第2報

早乙女 雅美

キーワード：糖尿病，動物実験，実験的歯周炎，歯槽骨吸収，炎症反応

【目的】我々はこれまで，ストレプトゾトシン（STZ）投与糖尿病モデルマウスを作成し，臼歯への結紮糸留置によって歯周炎を惹起させ，歯周組織の炎症反応と骨構造変化に関する研究を報告してきた。本報告では，歯肉組織における免疫学的解析を行った。

【材料・方法】11週齢C57BL/6J雄性マウスを4群に分けて以下の処置を行った：未処置の群（対照群：C群），上顎第二臼歯に6-0絹糸を結紮する群（歯周病群：P群），STZを投与する群（糖尿病群：D群），STZを投与し，P群と同様に結紮する群（糖尿病-歯周病群：PD群）。糖尿病の診断を行い，結紮後1週間で安楽死を行った。上顎右側は病理組織学的評価を行い，また上顎左側の口蓋歯肉に対してqRT-PCR法による遺伝子解析およびμCTによる歯槽骨の骨構造解析を行った。さらに，歯肉組織と末梢血のリンパ球を採取し，フローサイトメトリ解析を行った。

【結果】歯肉組織中において，C群と比較してPD群でIL-6，IL-10およびIL-17の遺伝子発現量が増加していた。IL-17では，P群と比較してPD群でも有意に上昇していた。これらの結果は，組織学的所見とも一致しており，PD群およびP群で付着の喪失，歯槽骨吸収が認められた。また，骨構造解析の結果，PD群の歯槽骨高さ，BV/TVおよびBMDがP群より有意に低下していた。さらに，フローサイトメトリ解析では，歯肉組織と末梢血においてCD4陽性細胞数に有意差は認められなかった。

【考察・結論】STZ投与により誘導した高血糖状態は，実験的歯周炎モデルマウスにおいて歯周組織の炎症と骨破壊を増悪させていた。今後は，歯肉組織におけるフローサイトメトリを用いた免疫機能のさらなる解析を行う予定である。

P-35

歯周病スクリーニング検査に用いる唾液潜血検査剤の開発

野村 文子

キーワード：歯周病，スクリーニング検査，唾液，潜血，ヘモグロビン

【目的】唾液中の遊離ヘモグロビン（Hb）量の測定は，歯肉の炎症の評価に有効であり，一定濃度以上の出血の有無は簡易な歯周炎のスクリーニング検査に有用と考えられている。しかし，現在市場にある唾液潜血検査用の製品は検体の希釈や専用の測定装置を必要とするため，操作が煩雑で使用場面で限定される。また，既存製品は中等度以上の強い炎症に伴う高濃度の出血の検出には有用だが，軽度な炎症での検出力は不十分であった。そこで，近年行われた歯周炎と唾液中Hb濃度の研究結果をもとに，唾液中Hb量のカットオフ値を2μg/mLに設定することで，炎症の初期段階を検出し歯周病のスクリーニングを可能とする試験紙の開発を行った。また，潜血の検出方法をより安価で医科分野でも用いられる化学法を応用することで，検体となる唾液を直接使用し短時間で判定結果が得られるようにした。

【材料と方法】テトラメチルベンジジン及びクメンヒドロペルオキシドを主成分とし，増感剤，界面活性剤，pH調整剤を含む調製液に濾紙を浸漬後，乾燥させて試験紙を作製した。試験紙にHb含ままたはHb含有唾液を滴下し，30秒後の発色を評価した。

【結果と考察】Hb不含唾液では白色，Hb 2μg/mL含有唾液では青色，Hb 10μg/mL含有唾液では濃青色に発色する試験紙の作製に成功した。また，この試験紙は常温保存で少なくとも2年半は安定であることを確認した。

【結論】簡単に迅速にヒト唾液中のHbを検出する試験紙を開発した。このような試験紙が体外診断用医薬品として開発されることは，簡易な歯周病スクリーニング検査を集団検診や保健指導に提案・供給することに繋がり，国民の口腔に対する意識の向上や歯科受診のきっかけになると期待している。

P-34

GCFにおける aspartate aminotransferase 測定の有効性について

竹谷 俊祐

キーワード：歯肉溝滲出液（GCF），アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），歯周病検査，SPT

【目的】SPT期における歯周病の病状安定には，プローブを用いたポケット深さ（PD）とBOP検査結果が有力となるが，プローブ操作は繊細な手技が強く要求される検査でもある。このような背景のもと，プロービング検査を補完し検査精度向上に寄与できるマーカーの確立が望まれている。我々は，無痛の採取が可能で採取部位の病態を反映できるGCF成分解析の有効性を報告し提言してきた。今回は，従来の歯周病検査と代表的なGCF組織損傷マーカーであるASTとの関連を検索し，その有用性について検討した。

【材料・方法】日本歯科大学附属病院にてSPTを受診している，12歳以上残存している全身疾患のない非喫煙者を対象とした。歯周病検査項目はPII，PD，CAL，GI，BOPとし，検査遂行は日本歯周病学会専門医1名（HI）とした。GCFにおけるAST量は，PTM kit（株式会社松風）を用い，IBM SPSS statistics software（version 25.0）にて解析した。

【結果および考察】歯周組織破壊の状況とAST量は，相関関係を示し，特に病状進行の著しい部位での傾向は強かった。すなわち，従来の歯周組織破壊の状況を反映するAST量の測定は，歯周病検査精度の向上とその補完に有効であることが示唆された。

【倫理的配慮・資金源】本研究は，日本歯科大学倫理委員会承認（承認番号：NDU-T 2021-11）のもと遂行された。また，JSPS科研費基盤研究（C）JP20K09964・JP20K09981・JP23K09189の一部を資金源とした。

P-36

歯根膜線維芽細胞における sodium-dependent vitamin C transporter2 の役割について

神田 智子

キーワード：歯根膜細胞，アスכולビン酸，SVCT2

【目的】sodium-dependent vitamin C transporter（SVCT）はアスכולビン酸トランスポーターであり，1型，2型が存在し，組織・細胞種によって発現様式が異なることが知られている。ヒト歯根膜線維芽細胞（hPDLF）はアスכולビン酸刺激に反応しさまざまな挙動を変化させることが知られているがSVCTの関与については不明である。本研究の目的はhPDLFにおけるSVCTの発現およびSVCTの役割について検討することである。

【材料と方法】hPDLFはLonza株式会社より入手し使用した。SVCTの発現についてRT-PCR法，Flow cytometry解析，免疫染色法を用いて検討した。SVCT2の機能解析はsiRNAによるSVCT2のノックダウンと，その際の遺伝子発現の変化を定量的RT-PCR法を用いて検討した。

【結果】hPDLFにおいてSVCT1の遺伝子発現は確認せず，SVCT2のみの発現が認められた。Flow cytometry解析，免疫染色法によってSVCT2のタンパク発現が観察された。またSVCT2をノックダウンすると，アスכולビン酸刺激によって増強されるcollagen 1A1（Col1A1）およびalkaline phosphatase（ALP）遺伝子発現が減少した。さらに，アスכולビン酸はhPDLFにおけるSVCT2発現自体を増強した。

【結論】hPDLFはSVCT2を発現しアスכולビン酸刺激によるCol1A1，ALP遺伝子発現増強を制御していることが明らかとなった。SVCT2は歯根膜におけるアスכולビン酸の細胞内取り込みを制御し，歯根膜の生理的機能に重要な役割を担っている可能性が考えられる。

P-37

間葉系幹細胞由来タンパク抽出物による新規歯周組織再生治療

岩崎 剣吾

キーワード：歯周組織再生、間葉系幹細胞、創傷治癒

【目的】間葉系幹細胞（MSC）の移植による歯周組織再生が広く報告されている。我々はMSCによる組織再生において液性因子が重要な役割を果たすことを報告してきた。液性因子は一時的に細胞内に保存されるため、細胞抽出物として回収可能である。本研究の目的はMSC細胞抽出物の歯周組織再生への影響について検討することである。

【材料と方法】不死化骨髄MSC、歯根膜（PDL）細胞をJCRB細胞バンク、Lonza株式会社より入手した。凍結溶解とアセトン沈殿によって細胞抽出物（MSC-extract）、タンパク抽出物（MSC-protein）を得た。タンパク成分の解析にはELISA、LC-MS/MS、Protein arrayを用い、遺伝子発現解析にはRNA-seq、qRT-PCR、細胞増殖・遊走の解析にはWST-8、Ki67免疫染色、Boyden Chamber法を用いた。マウス皮膚欠損、ラット歯周組織欠損モデルを用いて組織再生への影響を検討した。

【結果と考察】MSC-extractを皮膚欠損へ投与すると治癒期間が有意に減少した。またMSC-extractはPDL細胞の増殖、遊走を増強し、この作用はタンパク成分を介することが明らかとなった。MSC-extractには4388のタンパク質が確認され、PDL細胞に作用させると細胞分裂、増殖に関連する遺伝子群が著しく増強された。Protein arrayの結果からMSC-proteinにはbFGFおよびHGFが多く含まれることが明らかとなった。さらにMSC-proteinをラット歯周組織欠損へ投与すると、有意な歯周組織の再生が観察された。

【結論】MSC-proteinはPDL細胞の増殖・遊走を促進し、歯周組織欠損モデルへ投与すると歯周組織再生を誘導した。MSCタンパク抽出物は新たな歯周組織再生のためのcell free treatmentとなる可能性がある。

P-39

職域における糖尿病要注意者の歯周状態に関連する要因の検討

北村 匠

キーワード：糖尿病

【目的】糖尿と歯周病は相互に関連していることが報告されている。職域成人の口腔保健状況を改善するために糖尿病要注意者に対するアプローチを行ううえで、糖尿病要注意者の歯周状態に関連する要因について検討した。

【材料および方法】健康保険組合連合会三重連合会に所属している健康保険組合の被保険者、被扶養者のうち、2018年度の特定健診の結果から、糖尿病、糖尿病予備群および糖尿病要注意群の者を抽出し、調査の協力を依頼した。三重県歯科医師会会員の歯科診療所で歯科健診を受診し、同年のHbA1c値を把握できた869名対象とした。質問紙より、年齢、性別、歯磨き回数、定期歯科受診状況、喫煙状況を把握した。歯科健診結果から、現在歯数および歯周状態（CPI）を確認した。データが全て揃っている836名を分析対象とした。歯周状態を歯周ポケットにより3群（0-3mm、4-5mm、≥6mm）に分類した後、歯周状態を目的変数とした多変量多項ロジスティック回帰分析を行った。

【結果および考察】分析の結果、糖尿病要注意者の歯周状態には、喫煙習慣、歯磨き回数、および定期歯科受診が有意に関連していた。そのため、職域における糖尿病要注意者に対して、これらの改善可能な要因についての保健指導を行うことで行動変容を促すことは、歯周状態を改善していく上で重要であることが示唆された。

P-38

ヒト歯肉上皮培養細胞におけるSARS-CoV-2感染促進因子のサイトカインによる影響についての研究

清水 智子

キーワード：SARS-Cov-2、ヒト歯肉上皮細胞、ACE2、TMPRSS、サイトカイン

【目的】演者の研究チームでは、電子顕微鏡観察においてヒト舌上皮細胞に、SARS-CoV-2のウイルス粒子の発現を確認し報告した。また、COVID-19患者において免疫組織化学的にSARS-CoV-2の感染に必要な生体側のレセプター（ACE2）やプロテアーゼ（TMPRSS2）の発現増加を認めている。一方、COVID-19では、様々なサイトカインが病態の進展に関与しており、歯周炎の病態とCOVID-19で共通するサイトカインが認められる。そこで、ヒト歯肉上皮培養細胞を用いて、サイトカインを添加することでSARS-CoV-2の感染関連因子がどう変化するか検討した。

【材料および方法】ヒト歯肉上皮培養細胞を指定の方法で培養後、IL-1β、TNF-α、IL-17Aリコンビナントを培養細胞に添加後2時間培養しPCRでmRNAを解析した。

【結果・考察】その結果、IL-1βは100μg/mLでACE2は2倍、TMPRSS2は4.4倍に増加した。FurinとNRP1にはほとんど変化がなかった。TNF-αは1μg/mLでACE2およびTMPRSS2は2倍に増加した。FurinとNRP1はほとんど変化がなかった。IL-17Aは5μg/mLでACE2は2倍、TMPRSS2は7.3倍、Furinは1.9倍に増加した。NRP1にはほとんど変化がなかった。以上の結果により、サイトカイン添加によりヒト歯肉上皮培養細胞は、ACE2およびTMPRSS2で明らかな増加が認められた。過去の疫学報告においてCOVID-19の重症化に歯周炎がリスク因子であることが示されているので、感染局所でのサイトカインの産生増加による環境変化が上皮細胞の感染リスクを増加させ重症化に関与するかもしれない。

P-40

歯ブラシ・歯磨剤・洗口剤の理解を深め定着させるための体感型授業 第二報

田中 佐織

キーワード：体感型授業、歯ブラシ、歯磨剤、洗口剤

【目的】歯ブラシ・歯磨剤・洗口剤に関する理解を深めるとともに、臨床での口腔清掃指導において実践可能な具体的知識へと発展させるために、体感型授業を行っている。その教育効果を報告する。

【対象】外来実習直前の2022年度5年次学生39名、2023年度北海道大病院歯科研修医40名（回答は24名）

【方法】学生には、歯ブラシ・歯磨剤・洗口剤に関する座学と実習を対面で行った。各製品の特長や適応症、効果などを講義した後、それらを体験する実習を行った。一方、研修医は、授業前に学生と同様の製品を配布し、Webで講義した後、体験実習は各自で行った。学生、研修医ともに、全製品をその後1か月間使用させ、授業内容と製品に対する理解度などについてアンケート調査を行った。

【結果】学生の74%、研修医の79%が講義をよく理解したと回答し、実習は学生の95%、研修医の79%がよく理解したと回答した。とくに歯ブラシの違いに関して理解度が高く、毛の硬さの違いは学生100%、研修医86%が理解できたと回答し、また学生92%、研修医91%がそれらを使い分ける必要性があると回答した。今後の口腔清掃指導に活かせる・やや活かせると回答した学生は100%、研修医は95%であった。以上より、セルフケア製品の体感型授業は学生、研修医からの評価は高く、理解を深めるとともに、それぞれの患者に適した繊細な口腔清掃指導の実践に結びつくと考えられた。また、研修医より学生の理解度が高かったことから、授業を対面で行うほうが効果は高いと思われる。

【結論】多種類の歯ブラシ・歯磨剤・洗口剤を一度に体感する授業は、口腔清掃指導の理解度を高めることに効果的であった。

P-41

モロッコ王国の大学生における歯周炎罹患者の唾液細菌叢の解析

池田 岳史

キーワード：唾液細菌叢, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, メタゲノム解析

【目的】従来、若年者に多く発症し、急速かつ限局的な進行を特徴とする歯周炎は侵襲性歯周炎 (AgP) と診断され、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a) の AgP との関連性が報告されているが、新分類においてはその存在が否定されている。今回、大学生における歯周炎罹患者の唾液細菌叢の解析を行うことにより若年者に発症した歯周炎の特性を解析した。

【方法】高頻度に AgP に罹患していると報告されているモロッコ王国のモハメド5世大学の学生130名 (歯周炎罹患者: 65名, 健常者: 65名) の唾液微生物叢を解析した。歯周炎罹患者の有無は、歯周組織検査で3mm未満の臨床的アタッチメントロスをカットオフ値とした。安静時唾液サンプルを採取後、細菌DNAを抽出。日本へ空輸後、16S rRNA メタゲノム解析を行い、細菌種、属の同定を行った。

【結果と考察】門レベルでは歯周炎罹患者の唾液から *Firmicutes*, *Bacillales*, *Streptococceae*, *Staphyrococcaceae* が、健常者の唾液からは *Proteobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* が有意に多く検出された。属レベルでは、*Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* 属が歯周炎罹患者で有意に多く検出され、*Lactobacillus*, *Porphyromonas* 属らが健常者で優位に多く検出された。群間で微生物の多様性に有意差は認められなかったが、それぞれに特徴的に多く検出される細菌属、細菌種が同定できた。

【結論】これまで AgP 患者の歯周ポケットから高頻度で検出された A.a が歯周炎罹患者の唾液で有意に高く検出されなかったことは、本細菌のニッチとして唾液は含まれないことが示唆された。

P-43

糖尿病神経障害に伴う咀嚼能率の低下に関する研究

濱本 結太

キーワード：咀嚼能率, 糖尿病神経障害

【目的】歯周炎は持続する慢性炎症の結果糖尿病に悪影響を与える。一方、糖尿病食事療法ではバランスの取れた食事をするためによく噛めることが重要となる。歯周炎による疼痛や歯の動揺及び喪失は咀嚼機能障害を引き起こし、効果的な食事療法を行えない結果血糖値の上昇に関与する可能性がある。更に長期的な高血糖状態は、糖尿病の主要な合併症であり糖尿病患者の主な死因となる微小血管合併症を引き起こす。本研究の目的は、咀嚼障害が糖尿病性微小血管合併症に関連するかどうかを調査することである。

【方法】本研究は、2016年4月から2020年3月までに広島大学病院内分泌・糖尿病内科で教育入院を行った2型糖尿病患者172名を対象とした横断的研究である。咀嚼能率は GLUCO SENSOR GS-II を用いて定量的に測定した。多変量線形回帰モデルを構築し、どのような因子が咀嚼効率と関連しているかを検討した。統計的有意性は、両側 p 値 < 0.05 とした。

【結果】二変量解析によると、咀嚼能率は糖尿病罹病期間 ($p = 0.049$)、残存歯数 ($p < 0.0001$)、動揺歯数 ($p = 0.007$)、糖尿病神経障害の罹患 ($p < 0.0001$) と有意に相関した。更に多変量解析では、残存歯数 ($p < 0.0001$) と糖尿病性神経障害の罹患 ($p = 0.007$) において咀嚼能率との有意な相関を保ち、残存歯数の関連を排除してもこの相関は維持された。

【結論】糖尿病性神経障害を発症した2型糖尿病患者は、咀嚼効率が著しく低下していることを初めて明らかにした。効果的な咀嚼できることは、糖尿病食事療法を成功させるための重要な要素である。特に糖尿病性神経障害を有する患者においては、低下した咀嚼機能を考慮し、歯科医師や栄養士による個別療法を組み合わせることが重要となる。本研究は2021年度日本歯周病学会シニア育成若手研究助成を受けて行われた。

P-42

エムドゲイン®ゲルおよびリグロス®による歯周組織再生療法後の創傷治癒比較

中山 洋平

キーワード：歯周外科治療, 創傷治癒, エナメルマトリックスタンパク質, 塩基性線維芽細胞成長因子, 改良型歯間乳頭保存術

【目的】エナメルマトリックスタンパク質 (エムドゲイン®ゲル, EMD) は歯周組織再生療法をはじめ、抗炎症作用を活かした治療に応用されている。一方、リコンビナントヒト塩基性線維芽細胞成長因子 (リグロス®, rhFGF-2) は、EMD 同様に歯周組織再生療法に使用されているが、法的にも適応症以外の応用は困難である現状がある。今回、これらの術式間における抗炎症作用の違いを臨床的に評価した。

【材料と方法】調査期間の患者データを対象とした後ろ向き研究を行った。歯周外科治療後の切開線の創傷治癒を評価するため、改良型歯間乳頭保存術 (mPPT) を行った症例を対象とした。創傷治癒の評価項目は、発赤、腫脹、段差、裂開、フィブリン塊および残存切開線の6項目とした、これらの項目を使用した評価ガイドを作成し、本学歯周科に在籍する20名の歯科医が、対象患者の抜糸時口腔内写真を見て創傷治癒を評価した。対象の抜糸期間は、術後13~15日とした。mPPTの交絡因子を分析した後、階層別に EMD および rhFGF-2 グループ間で、創傷治癒評価を比較した。

【結果と考察】79部位 (EMD, 46部位, rhFGF-2, 33部位) が対象となった。50歳以上のサブグループにおいて、発赤と裂開の評価は、rhFGF-2 グループの方が良好であった。Non-contained 骨欠損サブグループにおいても、同様の結果がみられた。

【結論】mPPTを用いた歯周組織再生療法において、リグロス®の使用は、エムドゲイン®ゲルと比較して、強い歯肉の抗炎症作用がある可能性がある。

P-44

岡山大学病院 歯科・歯周科部門での歯周組織再生療法におけるリグロス®歯科用液キット導入の影響

松本 俊樹

キーワード：歯周組織再生療法, リグロス®, 自家骨, 高齢者

【緒言】2016年に世界初の歯周組織再生医薬品としてリグロス®歯科用液キットの販売が開始された。当部門での歯周組織再生療法も、歯周組織再生誘導法や自家骨移植を用いた術式から、リグロス®を用いた術式に移行している。その理由として、術式の簡略化、侵襲の低減、生体安全性におけるリグロス®の優位性が考えられる。

【目的】リグロス®導入前後の歯槽骨再生効果を比較し、その影響を検討すること。

【方法】2013年から2021年に当部門で実施した歯周組織再生治療症例452件と、そのうち65歳以上の患者症例105件で、リグロス®導入前後での症例数と患者層の変化を検討した。さらに、歯周病専門医が実施した114件からリグロス®と自家骨の併用症例やデータの欠落症例を除外し、自家骨移植を用いた14名15部位、リグロス®を用いた24名41部位について、術前後の治療効果を解析した。

【結果】リグロス®の導入前後で比較すると、症例数は4.95倍に増加し、65歳以上の患者の割合は1.25倍に増加した。歯周病専門医が実施した症例において、垂直性骨欠損改善率は、自家骨移植で $30.1 \pm 23.6\%$ 、リグロス®で $40.5 \pm 19.2\%$ であり、歯周ポケット深さ改善量は、自家骨移植で $2.5 \pm 1.5\text{mm}$ 、リグロス®で $2.8 \pm 1.4\text{mm}$ であった。共に治療法による統計学的な差はなかった。

【考察・結論】リグロス®を用いた歯周組織再生療法における垂直性骨欠損改善率と歯周ポケット深さ改善量は、自家骨移植の効果と比較して同等以上 (非劣勢) であり、リグロス®の導入によって歯周組織再生療法の適応患者層の拡大に繋がる。

P-45

塩化セチルピリジニウムのハイドロキシアパタイトへの滞留が、バイオフィーム形成および分散に与える影響

中嶋 優里

キーワード：バイオフィーム, 塩化セチルピリジニウム

【背景・目的】口腔衛生の維持においては、歯科医院でのプロフェッショナルケアや日々のセルフケアにより、歯面からバイオフィーム (BF) を取り除いた状態をいかに保つかが重要である。塩化セチルピリジニウム (CPC) はカチオン性の殺菌剤であり、歯の主成分であるハイドロキシアパタイト (HA) 上に滞留してBFの形成を抑制する特徴を有する。しかし、常に細菌が存在する口腔内においては時間とともにBFが形成するのが実状であるにも関わらず、形成されたBFの特徴について検証した報告は少ない。そこで本研究では、CPC配合液体製剤を使用した後のBF形成および分散に及ぼす影響について検証するとともに、日本のオーラルケア製剤に用いられる汎用殺菌剤が配合された液体製剤についても同検証を行った。

【方法】唾液ペリクルを形成させたHAディスクに各種液体製剤を添加し、薬剤処理を行った。薬剤処理後のHAディスクを蒸留水で洗浄した後、*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) を添加し培養することでBFを形成した。BFを形成させたHAディスクをプレートミキサーで振盪し、振盪前後のBFの形状を共焦点レーザー顕微鏡で観察することで、BFに物理的な力を加えた際の剥がれ方を液体製剤ごとに比較した。

【結果・結論】共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察結果より、CPC配合液体製剤で処理したHAディスクに形成するBFは、他の殺菌剤配合液体製剤で処理した場合よりも、物理的な力を加えた際に剥がれやすい状態であることが明らかとなった。お口の健康を保つためにはBFをしっかり取り除き歯面を清潔に保つことが重要であり、CPCを含有する液体製剤を使用することは有効であると考えられる。

P-46

Ebi3^{-/-}マウスを用いた混合感染肺炎モデルにおけるIL-35の役割

川村 翔太郎

キーワード：歯周病, 誤嚥性肺炎, *Ebi3*^{-/-}マウス, IL-35, IL-17

【目的】歯周病と誤嚥性肺炎の関連について報告されているものの、その機序については未だ不明な点も多い。制御性T (Treg) 細胞や一部のB細胞により産生されるInterleukin (IL) -35は、Epstein-Barr virus-induced gene 3 (*Ebi3*) とIL-12のサブユニットp35のヘテロダイマーである。IL-35は、Th17細胞やIL-17に対しても抑制的に作用し、感染に対する免疫制御において重要な役割を担っていると考えられている。そこで、*Ebi3*ノックアウト (*Ebi3*^{-/-}) マウスを用いて誤嚥性肺炎の主な起因菌である*Streptococcus pneumoniae* (*S.p*) と歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) の培養上清を混合して感染させる肺炎モデルを作成し、IL-35の免疫制御機構について検討する。

【材料および方法】8-12週令の雄性野生型 (WT) マウスと*Ebi3*^{-/-}マウスにおいて、*S.p*と*P.g*培養上清を経気道感染させ、混合感染肺炎モデルマウスを作成した。感染4日後に各種サンプルを回収し、IL-35に関連する免疫応答について解析した。

【結果および考察】組織学的解析の結果、WTマウスの混合感染群と比較し、同群の*Ebi3*^{-/-}マウスではより強い間質の肥厚と炎症性細胞の浸潤を認めた。さらに、IL-35関連サイトカインやTh17およびTreg細胞の動態に関する免疫反応は、組織学的解析結果を裏付ける傾向となった。本実験結果より、IL-35は、歯周病による誤嚥性肺炎の悪化を抑制する可能性が示唆された。

P-47

歯周病高齢患者のオーラルフレイルと口腔内バイオマーカーとの関連

枘富 健二

キーワード：歯周病, 高齢患者, オーラルフレイル, バイオマーカー

【目的】加齢とともに口腔機能に現れる脆弱化をオーラルフレイルといい、早期の介入で全身フレイルや要介護状態を遅らせ健康寿命の延伸に貢献できると考えられている。口腔内バイオマーカーを測定することにより、オーラルフレイルの状態が簡単に判定できれば早期のスクリーニングや予防が可能になる。本研究では、歯周病高齢患者のオーラルフレイルの状態を調べ、さらに唾液および歯肉溝滲出液中のバイオマーカーを測定し、その関連について解析した。

【材料と方法】徳島大学病院歯周病科あるいは枘富歯科医院を受診した65歳以上で、現在歯数が10本以上の患者を研究対象とした (徳島大学病院医学系研究倫理審査委員会の承認: 番号3729)。本研究への参加に同意を得た後、歯周病検査を行い、唾液および歯肉溝滲出液を採取した。これら検体に含まれるバイオマーカー (8-OHdG, Advanced Glycated End Products; AGE, Calprotectin; CPT) レベルは、各種ELISAキットを用いて測定した。また、オーラルフレイル診査は①口腔衛生状態 ②口腔乾燥状態 ③咬合力 ④舌口唇運動機能 ⑤舌圧 ⑥咀嚼機能 ⑦嚥下機能の7項目を評価し、該当項目数 (オーラルフレイルスコア) 3以上でオーラルフレイルと判定した。

【結果と考察】口腔内バイオマーカーとオーラルフレイルの各検査結果の統計解析より、歯肉溝滲出液中CPTは咀嚼機能と嚥下機能、唾液中CPTは咀嚼機能と粘膜湿潤度、唾液中8-OHdGは咀嚼機能と舌口唇運動、唾液中AGEは舌口唇運動との間にそれぞれ相関が認められた。またオーラルフレイルスコアと唾液中AGEとの間に有意な相関を認めた。これらのことからオーラルフレイルの状態とある種の口腔内のバイオマーカーレベルに関連がある可能性が示唆され、今後の詳細な解析が必要である。

P-48

MiR-200bはヒト歯肉上皮細胞におけるTNF- α 誘導ODAM遺伝子発現を抑制する

金 振宇

キーワード：歯源性エナメル芽細胞関連タンパク質, 接合上皮, 転写調節, 腫瘍壊死因子 α

Purpose: Odontogenic ameloblast-associated protein (ODAM) is produced by maturation stage ameloblasts and junctional epithelium. In this study, we have used human gingival epithelial Ca9-22 cells to demonstrate the effects of miR-200b on human ODA gene transcription regulated by tumor necrosis factor- α (TNF- α).

Materials and methods: Total RNA and proteins were extracted from Ca9-22 cells. Real-time PCR and Western blot were performed to analyze the effects of miR-200b on mRNA and protein levels with or without stimulation by TNF- α (10ng/ml). MiR-200b expression plasmid and -480ODAM luciferase (LUC) construct were transfected into Ca9-22 cells, and LCU assays were performed with or without stimulation by TNF- α . Several kinase inhibitors were used for LUC assays.

Results: TNF- α increased miR-200b expressions in Ca9-22 cells. TNF- α induced ODA mRNA and protein levels were inhibited by miR-200b overexpression. MiR-200b inhibitor further increased TNF- α induced ODA mRNA levels. LUC activities of -480ODAM induced by TNF- α partially suppressed by miR-200b overexpression. In the presence of miR-200b, TNF- α induced LUC activities were suppressed by tyrosine kinase, IKK β and NF- κ B inhibitors. ODA, IKK β and MKP-5 mRNA and protein levels were increased by TNF- α and inhibited by miR-200b overexpression.

Conclusion: These results suggest that miR-200b suppresses ODA expressions by targeting to ODA, IKK β and MKP-5 mRNAs in the human gingival epithelial cells.

P-49

腸でおこる免疫応答による歯周病の発症と重症化のしくみ

田中 芳彦

キーワード：歯周病，腸内細菌，免疫応答，ヘルパーT細胞，歯周病感染モデルマウス

【目的】歯周病は我が国で約400万人が罹患している国民病といえる疾患である。高齢化が進む中，歯周病の重症化は歯を失う最大の原因であることから，歯周病の発症と重症化のメカニズムの解明が待たれている。歯周病は歯周病原細菌による感染症で，近年，ヘルパーT細胞のTh17細胞が原因であることが注目されているが，詳しい免疫応答のメカニズムは不明であった。

【材料と方法】物理的な手法ではなく歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を感染させる歯周病感染モデルマウスの評価系を構築し，生理的な条件で歯周病の病態と免疫応答の評価を行った。腸での免疫応答が歯周病の発症と重症化を引き起こす仕組みをマウスで解析した。

【結果と考察】歯周病患者が一日に飲み込んでいる量の歯周病原細菌 *P. gingivalis* を腸管に投与しておく，M細胞を介してパイエル板の樹状細胞に取込まれており，腸内細菌叢の影響を受けて「腸」で *P. gingivalis* に応答するTh17細胞が誘導されていた。光照射で蛍光色素が変化する遺伝子改変マウスを用いてTh17細胞を追跡すると，*P. gingivalis* の口腔感染を契機に「腸」から「口腔」へ移動して著しい歯槽骨吸収を起こしていた。一方，無菌マウス（腸内細菌がいない）では，Th17細胞は誘導されず歯周病が起らなかった。腸内細菌が歯周病の発症に関わっていることが分かった。また，ある種の抗菌剤によってマウスの腸内細菌が乱れてしまうと，Th17細胞の誘導が増強されて歯周病が重症化した。さらに，逆に歯周病の発症を抑える別種の抗菌剤があることも明らかになった。

【結論】今後の検証により，腸内細菌をターゲットとした薬剤や整腸剤による新しい歯周病の予防法と治療法の開発が期待される。

P-51

CPC+CAEによるバイオフィーム病原性の抑制効果～唾液バイオフィームのマイクロバイオームと形態に関する洞察～

モハマド シャリザイル

キーワード：歯周病，バイオフィーム，*Fusobacterium nucleatum*，*Porphyromonas gingivalis*，塩化セチルピリジニウム

Objectives: Periodontitis is an infectious inflammatory disease characterized by dysbiotic biofilm formation. Our previous investigations demonstrated the efficacy of cetylpyridinium chloride (CPC) in combination with PCA Ethyl Cocoyl Arginate (CAE) to inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* by killing *Fusobacterium* in salivary biofilms. Building on these findings, our current study aimed to explore the impact of CPC+CAE on both the microbiome and morphology of salivary biofilms.

Methods: Using an established *in vitro* biofilm model, salivary biofilms were treated with CPC+CAE or CPC-only solutions and subjected to microbiome analysis using high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene on the Illumina MiSeq platform. Additionally, we stained the biofilms with SYTO 9 and propidium iodide for live/dead analysis and subjected them to confocal laser scanning microscopy (CLSM).

Results: Notably, microbiome analysis revealed a shift in the composition, with CPC+CAE-treated biofilm exhibiting a healthy microbiome by reducing the prevalence of pathogenic species compared to CPC-only solution. Furthermore, CPC+CAE treatment increased the intensity of red-stained bacteria, indicative of biofilm disruption and altered morphology.

Conclusion: These findings provide promising insights into the potential of CPC+CAE to modulate biofilm morphology and promote a healthier microbiome.

P-50

口腔細菌検出装置を用いたモチベーション向上効果について

角田 憲祐

キーワード：モチベーション，口腔細菌検出装置

【目的】歯周病治療はプロフェッショナルケアのみならず，患者自身のセルフケアが非常に重要である。我々はそのモチベーションを維持する手法として，口腔細菌検出装置「orcoa®」に着目した。「orcoa®」は迅速かつ簡便，そして高精度に測定できるPCR装置である。口腔内の歯周病細菌 (*Porphyromonas gingivalis*) を数値化することで，患者に口腔内状況をわかりやすく伝え，歯周治療に対するモチベーションの向上につながると考える。本研究の目的は，アンケート調査により，患者のモチベーションの向上に対する「orcoa®」の有用性について，検討を行うものである。

【材料と方法】被験者は日本歯科大学附属病院を受診した慢性歯周炎を有する初診患者を対象とした。歯周組織検査時に，歯周病の説明に加え，歯周組織検査と「orcoa®」による細菌検出検査を行なった。対象歯は，口腔内の歯周ポケットの最深部を有する歯とし，キットを用いてプラークを採取し，PCR検査を行なった。*P.g*の検出結果の数値を患者に伝えることで，モチベーションに影響を及ぼすか，約10項目についてアンケート調査（回答選択形式）を行い，「orcoa®」を用いる前後で統計学的分析を行い，比較検討した。本研究は，日本歯科大学研究倫理審査委員会に承認を受け，実施された (NDU-T2022-45)。

【結果】対象患者15名から調査結果を得た。口腔細菌検出装置「orcoa®」を用いた調査結果を通知した後のアンケート結果の方が，調査前のアンケートと比較し，有効性を認めた。

【結論】口腔細菌検出装置「orcoa®」が，治療に対するモチベーションの向上に有用であることが示唆された。

P-52

ヒト由来単球細胞株 THP-1 に対する大気圧プラズマの抗炎症効果

平澤 以冬

キーワード：大気圧プラズマ，歯周病，抗炎症

【目的】プラズマは，固体・液体・気体に次ぐ第四の状態とも呼ばれ，気体分子が電子とイオンに電離した状態のことを指す。近年，大気圧下で室温程度の低温のプラズマを生成する技術が発達し，プラズマにより生成した化学活性種が，殺菌・細胞増殖・抗炎症といった作用を生体組織にもたらすことが明らかになっており，歯周病などの慢性炎症と細菌感染を伴う疾患に対して有効な治療となることが期待されている。しかしながら，大気圧プラズマによる抗炎症効果の細胞内メカニズムは明らかにされていない。そこで，本研究では *in vitro* における大気圧プラズマの抗炎症メカニズムを明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】*Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS でヒト由来単球細胞株 THP-1 に炎症を惹起し，大気圧プラズマを照射した。細胞毒性の測定とトランスクリプトーム解析を行った。

【結果および考察】70秒以下の照射では大気圧プラズマは細胞毒性を示さなかった一方，同条件にて IL-6 の発現が抑制された。トランスクリプトーム解析の結果からは，炎症反応や主要組織適合遺伝子複合体クラス II に関わる遺伝子の発現が抑制されていた。さらに，酸化ストレスを制御する nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) が，大気圧プラズマの照射に最も関連の強い転写因子として推定された。加えて，NRF2 は大気圧プラズマによって核内に移行することが示された。これらの結果から，大気圧プラズマは NRF2 の活性化を介して抗炎症効果を発現している可能性が示唆された。

P-53

*Porphyromonas gingivalis*由来のLPSによる心機能障害に対する抗ウイルス薬ビダラビンの抑制効果

角田 通則

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*由来のLPS、交感神経系、心臓型アデニル酸シクラーゼ

【目的】歯周病患者は交感神経活性が健常者と比較して亢進していることが臨床研究で報告されている。慢性的な交感神経活性の亢進は心房細動や不整脈などの心疾患を誘発する。抗ヘルペス薬ビダラビン(Vid)は心臓型アデニル酸シクラーゼを選択的に阻害することで、心臓保護効果を示す。本研究では歯周病患者の血液中から検出される*Porphyromonas gingivalis*由来Lipopolysaccharide (PG-LPS)の濃度と同等の歯周病モデルマウスを作製し、PG-LPSによる心機能障害に対するVidの保護効果を検討した。

【材料と方法】C57BL/6/Jマウス(オス12週齢)を、1) PBS投与群(Control群)、2) PG-LPS (0.8mg/kg/day:腹腔内投与)投与群(LPS群)、3) ビダラビン投与群(15mg/kg/day:浸透圧ポンプ投与:Vid群)、4) LPSとビダラビンの併用投与群(LPS+Vid群)に分けた。浸透圧ポンプの埋め込み手術はLPS投与開始3日前に行い、LPS投与開始から7日後に心エコーにて心機能測定を行った。実験終了後に心臓を摘出し、心筋線維化領域、アポトーシス細胞数、心機能制御に関わるシグナル伝達を評価した。

【結果】Control群と比較しLPS群では有意に心機能の低下、心筋線維化領域の増加、アポトーシス細胞数の増加が起きたが、LPS+Vid群でそれらは有意に抑制された。また、p-calmodulin kinase II (Thr286)、p-phospholamban (Thr17)はLPS群で有意に増加したが、LPS+Vid群でそれらの増加は有意に抑制された。

【結論】PG-LPSによる心機能障害はビダラビンにより保護された。これらの結果はビダラビンは、副作用が問題視されるβ遮断薬の代替治療となる可能性を示唆している。

P-55

塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)製剤の歯肉創傷治癒に及ぼす影響

吉永 泰周

キーワード：塩基性線維芽細胞増殖因子、創傷治癒、動物実験

【背景と目的】塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)は歯周組織再生剤として臨床の場において歯周組織再生効果が示されている。しかしながらFGF-2製剤の歯周外科後の軟組織治癒に対する効果についてはほとんど報告がない。そこで本研究では、ラット歯肉創傷治癒モデルを用いてFGF-2製剤の歯肉創傷治癒への影響を検討することを目的とした。

【材料と方法】7週齢雄性Sprague Dawleyラットを以下の3群に分けた。対照群：上顎第一臼歯近心隅角から切歯方向へ向けて切開、全層弁剥離、縫合を行った。FGF-2群：縫合前にFGF-2製剤を塗布した。エナメルマトリックスデリバティブ(EMD)群：縫合前にEMDを塗布した。各群は処置後1, 3, 7日後に安楽死を行い、上顎骨を切除し、パラフィン切片を作製した。作製したパラフィン切片はH.E.染色を行い、病理組織学的表と上皮の裂開量、炎症細胞浸潤および歯肉の厚みの計測を行った。

【結果】病理学的評価では、対照群1日では上皮が裂開しており、上皮結合組織には強い炎症性細胞浸潤が認められた。FGF-2群およびEMD群では、上皮の裂開は対照群と比べて有意に減少しており、EMD群では結合組織への炎症性細胞も対照群と比べて減少傾向を示した。またFGF-2群では対照群およびEMD群と比べて歯肉の厚みが有意に増加していた。7日目には、すべての群で上皮は完全に閉鎖しており、炎症性細胞浸潤も消失していた。

【考察と結論】FGF-2製剤およびEMDは切開後の上皮化を促進し、EMDは炎症性細胞浸潤を抑制する可能性が示唆された。さらにFGF-2製剤は歯肉の厚みを増加させた。

P-54

各種波長のLED光照射が*Porphyromonas gingivalis*に及ぼす影響

林 桜

キーワード：LED、*Porphyromonas gingivalis*、歯周病、光線治療

【背景・目的】光エネルギーは殺菌や消炎、組織の治癒促進等の効果が期待でき、近年では歯周病の管理にも応用されている。LED光と色素を用いた抗菌的光線力学療法は研究が進んでいるが、光単独での抗菌効果については不明な点も多い。本研究では各種波長のLED光照射が歯周病原細菌である*Porphyromonas gingivalis*に及ぼす影響を*in vitro*において評価した。

【材料・方法】*P. gingivails* ATCC33277の懸濁液に対し、365, 405, 450, 470, 565, 625nmの各波長のLED光を50-200mW/cm²の出力で3分間照射後、生存細菌数を培養法により測定した。また光照射後の活性酸素の産生量の測定、ならびに*P. gingivails*の増殖や病原性に関連する遺伝子発現を、リアルタイムPCR法により調べた。

【結果】*P. gingivails*に対するLED光の抗菌効果は365nmの照射で最も高く、次いで450nmで効果が認められた。一方で活性酸素の産生量は450nmの光照射で最も高かった。また450nmの光照射では、細菌の増殖に関連する一部の遺伝子発現の低下とともに、ジンジバインや線毛に関連する遺伝子発現の低下が認められた。

【結論】365nmおよび450nmのLED光照射は*P. gingivails*に対して有意な抗菌効果を示した。また450nmの光の抗菌効果は、活性酸素によるものの他に、細菌の様々な遺伝子発現の変化が関与している可能性が示された。

P-56

2-Deoxy-D-Glucoseによる細胞内グルコース代謝阻害がマウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞の増殖と骨芽細胞分化に及ぼす影響

万代 千晶

キーワード：グルコース代謝、骨芽細胞、硬組織分化、2-Deoxy-D-Glucose

【目的】グルコース代謝は硬組織形成に関与することが報告されているが、その詳細なメカニズムについては未だ明らかでない。本研究では、2-Deoxy-D-Glucose (2-DG)による細胞内グルコース代謝阻害がマウス骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の増殖と骨芽細胞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】グルコース濃度100, 0mg/dLの10%FBS含有Minimum Essential Media (MEM)と2-DGを添加した100mg/dLのMEMでMC3T3-E1を培養し、細胞増殖と硬組織分化を評価した。細胞増殖をMTT法によるホルマザンの測定とcalceinによる生細胞染色を用いて検討した。また細胞形態に及ぼす影響はcrystal violet染色法を用いて検討した。硬組織分化についてはalkaline phosphatase (ALP)活性、カルシウム析出量の測定、alizarin red染色による石灰化物形成の検討、*runx2* mRNAの発現およびオステオカルシン(OCN)産生量を評価した。

【結果と考察】2-DG添加による細胞内グルコース代謝阻害はMC3T3-E1の細胞増殖を抑制することが明らかになった。また2-DG添加群ではMC3T3-E1のALP活性、石灰化物形成が抑制されたが、OCN産生量に有意差はみられなかった。*runx2* mRNAの遺伝子発現は2-DG群で促進される傾向を示した。

【結論】細胞内グルコース代謝が低下することで硬組織形成を制御する可能性が示唆される。

P-57

多菌感染歯周病モデルマウスにおける腸内細菌叢と肝臓免疫応答の変化

倉治 竜太郎

キーワード：実験的歯周炎、歯周病原細菌、腸内ディスバイオシス、肝臓免疫、肝機能障害

【目的】特定の歯周病原細菌が腸内ディスバイオシスや腸管バリア機能障害を惹起し、腸肝循環を介して脂肪肝炎を誘発することが知られる。本研究の目的は、多菌感染歯周病モデルマウスを用いて、歯周病が腸内細菌叢と肝臓免疫応答に及ぼす影響を評価することである。

【材料と方法】8週齢C57BL/6Jマウスを対照群と感染群の2群に分けた。感染群には、歯周病原細菌（Red complexと*Fusobacterium nucleatum*）の混合菌液を口腔内に局所投与し、歯周病モデルを成立させた。対照群にはPBSが投与された。投与8週後に安楽死し、小腸内容物の16S rDNA シークエンス解析、フローサイトメトリーによる肝臓への浸潤白血球の解析、および血中アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の測定を行った。

【結果】対照群と比べ、感染群の小腸内細菌叢におけるFirmicutes/Bacteroidota比の有意な増加を伴う微生物組成の変化と、多様性の減少が認められた。細菌叢ネットワークにおいて、対照群では、その中核をなす細菌種として*Leuconostocaceae*属や*Streptococcus*属が同定されたが、感染群では検出されなかった。また、歯周病原細菌の感染により、肝臓への好中球の浸潤とマクロファージの出現を示した。さらに、血中ALT値は感染群で有意に上昇した。

【結論】歯周病原細菌によって惹起される腸内ディスバイオシスは、肝臓の免疫応答亢進や肝細胞障害に影響する可能性が示された。本研究は、科学研究費助成金（若手：21K16980）、日本歯周病学会シーズ育成若手奨励研究助成金（2021）、およびNIH grant R01 R01DE025225の一部を資金源とした。

P-59

藍（タデアイ）に含まれるTryptanthrinは破骨細胞の分化を抑制する

畑田 祐佳里

キーワード：トリプタンズリン、破骨細胞、歯周病、歯槽骨吸収

【目的】藍（タデアイ）は、古来より染料として用いられているが、その抽出液は抗炎症作用や歯周病原細菌に対する抗菌作用を有することが知られている。さらに、藍に含まれるTryptanthrinは抗酸化作用を有し、炎症性サイトカインの発現も抑制することが報告されているが、歯周病に対する効果は明らかではない。そこで我々は、歯周病における歯槽骨吸収に対する影響を調べるために、Tryptanthrinの破骨細胞分化に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】細胞はマウスマクロファージ様細胞Raw264.7を用いた。先ず市販のキットを用いてTryptanthrinの細胞毒性を確認した。次に50ng/mLのRANKLと0~20μMのTryptanthrinを培地に加えて、破骨細胞分化に対する影響をTRAP染色とウェスタンブロット法にて解析した。

【結果と考察】7.5μM以上のTryptanthrinでは、RAW264.7細胞の細胞生存率が有意に低下した。またTRAP染色の結果、Tryptanthrinは2.5μM以上の濃度で多核の破骨細胞形成を有意に抑制した。さらに、ウェスタンブロット法の結果、Tryptanthrinは0~5μMの範囲で濃度依存的にNFATc1およびカテプシンKの発現を抑制した。以上の結果より、Tryptanthrinは破骨細胞の分化マーカーの発現を調節して破骨細胞の分化を抑制することが示された。

【結論】Tryptanthrinは、歯周病における歯槽骨吸収抑制効果を有する可能性が示唆された。

P-58

ヒトセメント芽細胞の細胞分化誘導に対するBone Morphogenetic Protein-9とFK506の影響の検討

岩田 真行

キーワード：セメント芽細胞、FK506、BMP-9、歯周炎、歯周組織再生

【目的】Bone morphogenetic protein (BMP) -9はBMP-2と同等かそれ以上の強力な骨芽細胞様分化促進作用を有することから、近年注目されている。しかし、セメント芽細胞に対するBMP-9の作用は不明である。本研究の目的は、ヒトセメント芽細胞の細胞分化に与えるBMP-9と補助的な促進因子としての免疫抑制剤FK506 (tacrolimus)の併用効果を明らかにすることである。

【材料と方法】①細胞：ヒトセメント質由来細胞株（HCEM） ②添加因子：recombinant human BMP-9, FK506 ③骨関連遺伝子発現解析：リアルタイムPCR法 ④表現型解析：ALP活性測定およびAlizarin Red S染色による石灰化物形成能解析 ⑤FKBP12-siRNAを導入したHCEMにおける骨関連遺伝子発現解析

【結果】HCEMにおいて、BMP-9単独刺激で骨関連遺伝子のosterix, ID1, Bone sialoproteinの遺伝子発現は有意に上昇し、FK506との共刺激によりその発現は有意に促進され、osteopontinの遺伝子発現はBMP9とFK506の共刺激群において最も高値を示した。ALP活性および石灰化物形成能においても同様にBMP-9単独刺激で有意に上昇し、FK506による共刺激で有意に促進された。また、FKBP12-siRNAを導入したHCEMにおけるBMP9刺激下でのosterixの遺伝子発現はcontrol-siRNA導入群と比較して有意に上昇した。

【結論】BMP-9によるHCEMの骨芽/セメント芽細胞様分化作用は、FK506による共刺激で促進され、この作用はFKBP12を介している可能性が示唆された。

P-60

Heat-killed *Fusobacterium nucleatum*が神経細胞分化に及ぼす影響について

水谷 翔

キーワード：*Fusobacterium nucleatum*、PC-12細胞、アルツハイマー病

【目的】アルツハイマー病（AD）は不可逆的進行性脳疾患であり、日常生活に支障をきたす認知症の約70%を占める。近年、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)のタンパク分解酵素やLPSがADの危険因子だと報告されているが、いまだその詳細について不明なところが多い。本研究では、*P. gingivalis* LPSに加えHeat-killed *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*)を使用し、神経細胞の形態変化や細胞内シグナルに与える影響を検討した。

【材料と方法】ラット副腎髄質由来のPC-12細胞をNeuron growth factorにて分化誘導後、Amyloid-β, *P. gingivalis* LPSまたは80℃ 1時間加熱処理した*F. nucleatum*を用いて細胞形態や細胞内シグナルを評価した。神経細胞の形態形成に関わるMAP2やβ3-tubulinの遺伝子発現はreal-time PCR法、タンパク発現はwestern blot法を使用し、蛍光免疫染色法にて細胞の形態観察を行なった。

【結果】PC-12細胞において、Heat-killed *F. nucleatum*は、*P. gingivalis* LPSと同様に細胞形態及び、細胞増殖能に影響を及ぼした。神経分化マーカーであるMAP2, β3-tubulinは遺伝子・タンパク発現共に抑制された。

【考察】Heat-killed *F. nucleatum*は、神経組織の恒常性に関与し、ADの危険因子である可能性が示唆される。

P-61

EBVは歯肉線維芽細胞からの炎症性サイトカイン産生とRANKL誘導性破骨細胞分化を促進する

渡辺 典久

キーワード：歯周病, EBV, 破骨細胞

【目的】近年、EBVが歯周病や潰瘍性大腸炎等の炎症性疾患の発症に関与するのでは、との興味深い報告が世界各国から蓄積している。宿主に感染し免疫機能の低下を引き起こすEBVの役割が注目されている。我々は、歯周病の進行とポケット中のEBV量とが相関すること、EBVが実際に歯肉のB細胞に感染していること等を報告してきた。しかし、歯周病所で潜伏感染EBVの再活性化がどのように誘導されるのか、再活性化EBVが歯周病の発症にどのように関わっているのかに関してはよくわかっていない。そこで今回、唾液によるEBV再活性化の可能性と炎症性サイトカイン産生と破骨細胞分化に対するEBVの作用について検討した。

【結果】質量分析により唾液中の短鎖脂肪酸を測定した結果、歯周病患者唾液中には酪酸、プロピオン酸及び酢酸が高濃度で存在し、その値は健康者と比較して優位に高かった。実際に、EBV潜伏感染細胞に歯周病患者の唾液を添加した結果、EBVの再活性化因子BZLF1の発現とヒストンH3のアセチル化が誘導された。BZLF1発現量と唾液中の酪酸濃度との間にのみ有意な相関が認められた。さらにEBVは、歯周病患者で検出される量よりも少ない量でNF- κ Bを活性化、歯肉線維芽細胞からのIL-6とIL-8の産生を強く誘導するとともに、RANKL誘導性の破骨細胞形成を量依存的に増大させた。

【考察】歯周病の発症に細菌の関与は必須であるものの、主な原因は宿主側にあり特に免疫機能の低下が重要な因子であるとの考えが広く認識されるようになった。本研究から、歯周病菌の代謝産物である唾液中の酪酸がEBVを再活性化すること、EBVが炎症性サイトカインの産生を誘導するとともに、破骨細胞形成も促進することが明らかとなり、これまで細菌感染のみでは説明が困難であった歯周病発症機序の解明に繋がる可能性が示唆された。

P-63

Porphyromonas gingivalis由来OMVsの歯肉上皮細胞におけるE-cadherinおよびclaudin1に及ぼす影響

岩田 泰億

キーワード：Porphyromonas gingivalis, Outer Membrane Vesicles, ヒト歯肉上皮細胞, E-cadherin, claudin1

【目的】Porphyromonas gingivalis (Pg) は、脂質二重膜から構成されるOuter Membrane Vesicles (OMVs)を産生し、細胞に影響を与えると知られている。Pg-OMVsが、歯肉上皮のバリア機能に与える影響については不明点が多い。本研究では、Pg-OMVsが歯肉上皮のバリア機能に重要な役割を果たす細胞間接着分子に及ぼす影響について検討を行った。

【材料と方法】Pg ATCC33277株とジンジバイン欠失株であるPg KDP 136株の培養上清からPg-OMVsおよびPg KDP-OMVsを精製し、Pg由来LPS (Pg-LPS) のエンドトキシン活性LPS 100ng/mlと同等にあわせ、ヒト歯肉上皮細胞株OBA-9細胞を刺激した。OMVs刺激後6, 12, 24hのtotal RNAと24hの蛋白質を回収し、E-cadherinおよびClaudin-1のmRNA発現と蛋白産生レベルについて、real-time RT-PCRとWestern blot法を用いて解析した。

【結果および考察】Pg-OMVsでのOBA-9細胞への刺激12, 24hでは、コントロールと比較して、E-cadherinのmRNA発現レベルの減少を認めたが、Pg KDP-OMVs刺激で変化は認めなかった。Claudin-1では、Pg-OMVs添加12, 24hでmRNA発現レベルの減少傾向を認めたが、Pg KDP-OMVsでは認めなかった。Western blot法では、Pg-OMVs刺激24hで、コントロールと比較して蛋白産生の減少を認めたが、Pg KDP-OMVs刺激では変化は認めなかった。この結果より、Pg-OMVs内含有のジンジバインが、ヒト歯肉上皮細胞で細胞間接着に関与するE-cadherinおよびClaudin-1の発現・産生に影響を及ぼすことが示唆された。

P-62

Fusobacterium nucleatumは呼吸器ウイルス活性化因子TMPRSS2の発現を亢進させる

高木 朝子

キーワード：Fusobacterium nucleatum, TMPRSS2, Influenza virus

【目的】膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) は、新型コロナウイルスやインフルエンザなどの呼吸器ウイルスを活性化させる宿主因子である。最近、歯周病患者の歯肉においてTMPRSS2の発現が亢進していることが報告された。不良な口腔衛生状態がCOVID19やインフルエンザの発症リスクを高めることも報告されていることから、歯周病原菌は、TMPRSS2の発現を亢進させ、ウイルス感染促進にはたらいている可能性がある。そこで本研究では、歯周病原菌Fusobacterium nucleatumが呼吸器上皮細胞刺激時のTMPRSS2発現への影響を調べるとともに、呼吸器ウイルス感染に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】歯周病原菌F. nucleatum培養上清によりヒト肺上皮細胞株 Calu-3細胞を刺激し、TMPRSS2の発現状態をreal-time PCRおよびWestern blotにより解析した。インフルエンザウイルスは、A/Udorn/307/72 (H3N2) を用いてMOI 0.001でCalu-3細胞に感染させ、ブラークアッセイによりウイルス量を評価した。

【結果と考察】F. nucleatum刺激によりTMPRSS2の発現亢進が認められた。さらに、F. nucleatum刺激した細胞にインフルエンザウイルスを感染させた結果、ウイルスの放出量が増加した。以上の結果から、F. nucleatumがTMPRSS2の発現を亢進させ、インフルエンザウイルス感染を促進させたと考えられ、健康な口腔は、呼吸器ウイルス感染を予防できる可能性が示唆された。

P-64

骨隆起と歯周炎の関連性について

加藤 智崇

キーワード：骨隆起, 咬合性外傷, ブラキシズム, 歯周炎, 多変量解析

【目的】骨隆起の原因は、ブラキシズム・咬合力・遺伝等が考えられている。一方で、歯周炎の増悪因子としてブラキシズムなどの咬合性外傷が挙げられるため、骨隆起のある患者は歯周炎と関連があると思われる。本研究は、骨隆起と歯周炎の関連を明らかにするために骨隆起の有無と各種臨床データを比較した。

【研究方法】対象者は、ある一般歯科医院において、10年以上通院している20歳以上すべての患者（初診時平均44歳）。骨隆起の有無について、過去の文献を参考にして1人の歯科医師がすべての患者を判定した。また、初診時の歯周組織検査（歯肉や予後不良の歯は除いた）に加え、年齢、性別、喫煙、糖尿病、DMFT歯数、PCR値、骨隆起の有無の臨床データを解析に用いた。統計解析は、独立変数を各臨床データとして、従属変数を歯周ポケットが6mm以上ある歯数について重回帰分析をおこなった。また、骨隆起の有無について、上顎のみ、下顎のみ、上顎と下顎両方に骨隆起が存在する3つのパターンで解析した。

【結果】対象者は合計479名であった。それぞれの解析において骨隆起のP値は0.05以上であって、有意な関連性は認められなかった。一方で、年齢、喫煙、糖尿病では有意差が認められた。

【考察・結論】骨隆起と歯周炎の関連があるという示唆は得ること出来なかった。今後、この患者群には継続的に歯周検査をおこなっているため、骨隆起の有無と歯周組織の変化について今後は解析する予定である。

P-65

京丹後長寿コホート研究における口腔内常在微生物叢と口腔機能の検討

山本 英章

キーワード：健康長寿，口腔微生物叢，口腔機能，口腔健康

【緒言】近年，口腔内常在微生物叢の dysbiosis は，肝硬変，睪臓がん，大腸がん，炎症性腸疾患など様々な疾患と関連するとされ，口腔内常在微生物叢と全身の健康のかかわりに注目が集まっている。加齢による歯の喪失をはじめとした口腔機能の低下は，機能障害と死亡リスクに大きな影響を与える。そして歯の喪失を予防することは，寿命の延伸，すなわち長寿に貢献する。そこで今回我々は，世界有数の長寿地域の健康な長寿者の口腔内常在微生物叢と口腔機能について検討を行った。

【対象および方法】80歳以上の健康な長寿者78名を対象に口腔内診査，咀嚼能力検査，舌口唇運動機能検査，唾液検査，16S rRNA 遺伝子を標的とした次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行った。なお，対照群として都市部在住の健康な若年者26名について同様の検討を行った。そして得られたデータは，統計学的解析を加えた。なお本研究は，本学医学倫理審査委員会の許可（ERB-C-885）を得ている。

【結果】現在歯数19歯以下に比べ20歯以上において，健康な長寿者は口腔内常在微生物叢の多様性がみられ，相関関係を有する口腔常在細菌の種類が多い傾向であった。さらに，現在歯数20歯以上では，咀嚼能力，舌口唇運動機能，唾液量が正常値であったが，19歯以下ではこれらが有意に低下した。

【結論】長寿地域の健康な長寿者において，20歯以上の現在歯数を維持することは，口腔内常在微生物叢の多様性の獲得ならびに口腔機能の維持につながっていた。

P-67

次世代シーケンサーを用いた慢性歯周炎細菌叢の経時解析

森 祥太郎

キーワード：慢性歯周炎，口腔内細菌叢，次世代シーケンス Mis-eq, QIIME2

【背景と目的】慢性歯周炎は多因子性疾患であり，なかでも口腔細菌叢はその発症との関わりが大きいと考えられている。口腔内細菌叢の変化が歯肉炎症の惹起や歯槽骨の吸収に強く関連しているという報告はあるが，同一被験者の経時的な口腔内細菌叢の変化について解析した報告は少ない。そこで本研究は，慢性歯周炎細菌叢の経時の変化について解析することを目的とする。

【研究対象】大阪歯科大学附属病院歯周治療科に慢性歯周炎の治療で通院している患者4名

【方法】口腔細菌叢の採取部位は，被験者の唾液と歯肉縁下ブラークとした。慢性歯周炎と診断された患者から，初診時および歯周基本治療終了時にそれぞれ該当部位の歯肉縁下ブラークおよび唾液の採取を行った。サンプルから抽出したDNAを鋳型に16S rRNA 遺伝子領域をPCRで増幅し，次世代シーケンサー-MiSeq (Illumina社)を用いて塩基配列を解読し，QIIME2により細菌叢を決定した。患者4名の細菌叢のα多様性とβ多様性について解析を行い，被験者間，被験歯式や治療前後の比較を行った。

【結果と考察】被験者4人計24サンプルから *Streptococcus*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Corynebacterium* 属等の細菌が検出された。α多様性β多様性については，ブラーク・唾液の細菌叢において4人の被験者間の有意差がみられたが，同一部位における治療前後，被験歯式での有意差はみられなかった。今回さらに，臨床症状が改善した被験者における治療前後の菌叢や各菌種の構成比と，臨床症状との関連性について報告する予定である。

P-66

1型および2型糖尿病患者と非糖尿病の者における歯周病指標の比較

平田 貴久

キーワード：歯周病，糖尿病

【目的】2型糖尿病と非糖尿病の歯周組織の状態の比較は多く報告されているが，日本における1型糖尿病の情報は少ない。本研究では1型糖尿病の歯周組織の現状を把握するために，非糖尿病の者，1型糖尿病患者および2型糖尿病患者の歯周病指標を比較した。

【材料と方法】全国臨床糖尿病医会の29施設と神奈川歯科大学附属病院歯周病科に来院した患者3749名（非糖尿病542名，1型糖尿病106名，2型糖尿病3,146名）を対象とした。各施設から紹介された歯科診療所または神奈川歯科大学附属病院歯周病科で，全顎6点法の歯周ポケット深さ（PD），歯単位のプロビング時出血（BOP），ブラークスコア（PCR），歯の動揺，現在歯数を診査した。各歯周病指標の3群比較を行い，その後，目的変数を各歯周病指標，説明変数を1型糖尿病ダミー，2型糖尿病ダミー，共変数を年齢と性別として重回帰分析を行った。また，重回帰モデルで2型糖尿病ダミーの代わりに非糖尿病ダミーを投入したモデルも作成し検討した。

【結果と考察】歯周病指標である平均PD，PD 4mm以上部位率，PCR，動揺歯率では非糖尿病，1型糖尿病および2型糖尿病の3群間で有意差が見られ，1型糖尿病は，非糖尿病と2型糖尿病の中間に位置した。重回帰分析では平均PD，PD 4mm以上部位率，PCRおよび動揺歯率は，非糖尿病よりも1型糖尿病および2型糖尿病で有意に高値を示したが，1型糖尿病と2型糖尿病の間には有意差はなかった。

【結論】1型糖尿病患者は2型糖尿病患者と同程度の歯周病状態であり，非糖尿病の者よりも重度であった。

P-68

*Porphyromonas gingivalis*由来のLPSによるβアドレナリン受容体シグナル活性化の影響

松尾 一朗

キーワード：交感神経系，内毒素（LPS），心拍変動

【目的】歯周病罹患患者は心拍変動（Heart rate variability; HRV）の異常を示す割合が高いことが疫学的研究により示唆されている。これらの結果から歯周病は交感神経系の異常亢進による全身疾患発症に関与する可能性が示唆される。本研究では *Porphyromonas gingivalis* 由来リボポリサッカライド（PG-LPS）を投与した歯周病マウスモデルを作成し「PG-LPSの慢性刺激状態は交感神経系の異常亢進状態を引き起こす」という仮説を立て，交感神経系の末梢に存在するβアドレナリン受容体の非選択的阻害薬であるプロプラノロールを用いてその検証を行った。

【方法】C57BL/6/Jマウス（オス12週令）を用いて，1）PBS投与群（Control群），2）PG-LPS（0.8mg/kg/day：腹腔内投与）投与群（LPS群），3）プロプラノロール投与群（1g/L：経口投与：PPL群），4）LPSとPPLの併用投与群（LPS + PPL群）を作成した。投与開始2週間前にテレメトリ心電図計装置をイソフルラン麻酔下にてマウス体内に設置した。1週間投与終了後に24時間HRV解析を実施，その後心臓・脳を摘出しウェスタンブロッティング法による分子生物学的評価を行った。【結果】1）24時間HRV解析により交感神経系活性化を示す指標である周波数領域指標（LF（交感神経成分）/HF（副交感神経成分）値），時間領域指標（SDNN）はControl群と比較してLPS投与群で有意に高値を示した。2）ウェスタンブロッティング法による評価から，交感神経系活性化の指標の一つである心筋細胞CaMKIIのリン酸化量，脳組織C-Fosの発現量はLPS投与群で有意に増加したが，その増加はPPL併用群で有意に抑制された。

【結論】PG-LPSは交感神経系の異常亢進状態を惹起することが示唆された。

P-69

Histologic and dimensional estimation of ridge preservation procedure with deproteinized bovine bone mineral with collagen: A randomized controlled trial
Hyun Jae Kim

Keywords: Alveolar ridge preservation, Socket seal, Cone beam computerized tomography, Wound healing, xenograft

Objectives: The aim of this study was to evaluate the effectiveness of alveolar ridge preservation (ARP) using deproteinized bovine bone mineral with collagen (DBBM-C) with or without extraction socket sealing.

Materials and methods: In this clinical trial, 50 patients were included and randomized into three groups, ARP with 1) spontaneous healing (control group), 2) DBBM-C alone (DBBM-C group), and 3) DBBM-C sealed with a free gingival graft (DBBM-C/FGG group). 6 months after the ARP procedure, the implant was placed. Cone beam computed tomography, histological, implant stability and three-dimensional volumetric analysis were performed through time.

Results: The results indicated that ARP using DBBM-C with or without FGG sealing had no statistically significant difference compared with control group. However, the DBBM-C/FGG group showed the least horizontal ridge resorption at 1.0mm below the crest ($p < 0.05$). In the DBBM-C/FGG group, the exhibition of newly formed bone was not statistically significantly different from the control group. In all group, ISQ value was over 70 but DBBM-C group showed slightly lower values than other groups.

Conclusions: Within the limitation of the study, DBBM-C with FGG socket sealing could maintain the width of the alveolar ridge after tooth extraction. However, the use of DBBM-C does not have significant advantage for preserving hard tissue but can offer clinical acceptable implant stability.

P-71

Clinical evaluation of Er:YAG laser for regenerative surgical therapy of peri-implantitis
Hae-Won Park

Keywords: laser, peri-implantitis, regeneration, decontamination, case

Objectives: When performing surgical regenerative therapy to treat peri-implantitis, decontamination of the implant surface is important. Laser has been proposed as an useful tool to remove bacterial infections on the surface. Through this case report, it is evaluated that the additional use of Er:YAG laser has a benefit in regenerative surgical therapy of peri-implantitis.

Materials and methods: In all cases, patients received the following treatment: open flap debridement, supracrestal implantoplasty, implant surface decontamination with a non-contact, defocused Er:YAG laser (panel setting 40mJ/pulse, 20Hz, 0.5mm/sec), bone grafting using human allograft (FDBA) and covered with collagen membrane. Case 1: A 77-year-old female patient presented with signs of inflammation around #25i with 8-mm PPD.

Case 2: A 60-year-old male patient presented with signs of inflammation around #36i and 37i.

Case 3: A 67-year-old male patient presented with bleeding and discomfort after brushing around #16i.

Results: In all cases, significant reductions in PPD, BOP, GI, and gains in CAL were observed. Radiographic assessment demonstrated reductions in the peri-implant defect and linear bone gains.

Conclusions: The use of Er:YAG laser to treat peri-implantitis may lead to significant clinical parameter improvements. These results support that Er:YAG laser provides additional benefits to conventional mechanical debridement and further aids in the regenerative surgical therapy of peri-implantitis.

P-70

Lactobacillus fermentum BCC-LF-01 inhibits the progression of experimental periodontitis in mice
Yoon-Yi Lee

Keywords: Alveolar bone loss, Periodontitis, Probiotics, Cytokines

Objectives: This study aimed to investigate the effect of *Lactobacillus fermentum* on the progression of periodontitis and the level of pro-inflammatory cytokines in mice of ligature-induced periodontitis (LIP).

Materials and methods: This study hypothesized that *L. fermentum* BCC-LF-01 could inhibit the progression of periodontitis, and a mouse model of ligature-induced periodontitis was used to confirm this hypothesis. Sixty mice were randomly assigned to negative control group (CTL), LIP/PBS group (LIP and phosphate buffered saline applied), and LIP/BCC-LF-01 group (LIP and *L. fermentum* BCC-LF-01 applied). For 14 days, *L. fermentum* BCC-LF-01 at a concentration of 5×10^8 CFU was applied twice a day to the maxillary second molar of mice in the experimental group. After the 14 days, randomly assigned ten mice of each group were used for radiographic and histologic assessment, while the others were used for immunologic assessment.

Results: LIP/PBS and LIP/BCC-LF-01 groups showed greater alveolar bone loss compared to the CTL group ($P < 0.05$). The mice in LIP/ BCC-LF-01 showed a significantly reduced alveolar bone loss compared to LIP/PBS group at the mesial side. Histologically, though the LIP/BCC-LF-01 group showed destructive signs compared to CTL group, it remained the regularity of connective tissue fibers arrangement, and showed reduction of inflammatory infiltration, lesser amount of alveolar bone loss, and higher alveolar bone density compared to LIP/PBS group. Pro-inflammatory cytokines were significantly lower in LIP/BCC-LF-01 compared to the LIP/PBS group.

Conclusions: *L. fermentum* BCC-LF-01 inhibits the alveolar bone loss and the progression of periodontitis through regulating the production of pro-inflammatory cytokines and by means of several mechanisms unknown yet.

P-72

C-X-C motif ligand; Key Chemokines Mediating Neutrophilic Inflammation in Peri-implantitis
SeongEun Park

Keywords: Dental implants, Peri-implantitis, Inflammation, Cytokines, Chemokines

Objectives: The aim of this study is to investigate the role of CXCL5/ CXCL8 in neutrophilic inflammation induced by peri-implantitis and elucidate their underlying mechanisms in its pathogenesis.

Materials and methods: A total of 40 patients visiting the Department of Periodontology at Kyungpook University Dental College Hospital were included. They were divided into two groups: a healthy implant group ($n=20$) and a peri-implantitis group ($n=20$). RNA sequencing results were used to identify representative cytokines, and samples were subjected to RT-PCR. H&E staining and IHC analysis were performed to assess expression levels and analyze tissue histology. Statistical analysis was conducted using a student t-test.

Results: Among various cytokines, CXCL8, CXCL5 showed the highest expression levels in the peri-implantitis group compared to the healthy implant group. These cytokines are known to be associated with inflammatory responses. The mRNA expression levels of IL-8 (CXCL8) were significantly increased in the peri-implantitis group compared to the control group ($P < 0.045$), while the mRNA expression level of IL36rn was significantly decreased ($P < 0.008$). IHC analysis using specific antibodies targeting CXCL8 and CXCL5 was conducted to evaluate the expression of their proteins.

Conclusions: In conclusion, this study found higher gene expression levels of CXCL8 and CXCL5 in soft tissue at peri-implantitis sites compared to healthy sites. These findings may contribute to more accurate diagnosis and treatment planning for peri-implantitis.

P-73

Effectivity and Predictability of Simplified Free Gingiva Graft (sFGG) Using Bone Tacks

Sang-Hyun Son

Keywords: Simplified Free Gingiva Graft, Bone Tack

Objectives: The adequate width of keratinized tissue (KTW) around the implant is important for implant survival. However, inflammation occur frequently when KTW is insufficient. To attain sufficient KTW, conventional free gingiva graft (cFGG) is a representative method. In this cases, graft fixation is essential for successful engraftment of the graft. In this presentaion, simplified free gingiva graft (sFGG) using bone tacks for fixation of FGG is compared with the cFGG.

Materials and methods: Two surgical methods were performed on 4 patients with insufficient KTW. Two had cFGG and two had sFGG surgery. At sFGG, apically positioned flap (APF) was performed by using the same procedure as cFGG. Also, more smaller sized FGG was harvested from the palate. After then, the FGG was secured on the recipient site with bone tack and single interrupted sutures.

Results: In total 4 patients, KTW was assessed at before surgery (T0), after surgery (T1), 6 months later (T2). At T2, average KTW was 1.75 and 1.88mm in the cFGG and sFGG. The shrinkage rate of re-established tissue(%) was caculated from T0 to T2. The shrinkage rate of cFGG and sFGG was different (56.0% vs. 28.8%).

Conclusions: Simplified free gingiva graft (sFGG) is an easier and faster technique with predictable results. Moreover, sFGG need smaller FGG from palate. For further studies, a long term data and large number of cases needed.

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT) (No. RS-2023-00222390).

P-75

The Impact of Mechanical Debridement Methods on Femtosecond Treated Titanium Surface

Seung-Mo Eun

Keywords: Implant surfaces, Surface treatment, Femtosecond laser, Mechanical treatment, Surface alteration

Objectives: This study investigated the effects of different mechanical treatments on implant surfaces (Femtosecond laser-treated, Machined, and SLA). The goal was to assess their impact and compare responses.

Materials and methods: Fixture discs of each surface type were prepared. Mechanical treatments were applied, and SEM analysis and weight percentage analysis were performed. Confocal scanning microscopy was used for surface analysis. Statistical analysis was done with the Kruskal-Wallis H test.

Results: In the Machined group, significant surface deformations were observed with a titanium scaler. SLA surfaces showed greater alteration with a scaler compared to a curette. Femtosecond laser-treated surfaces had similar results to the other groups.

Conclusions: Femtosecond laser treatment caused chemical composition changes, resulting in outcomes comparable to Machined and SLA surfaces. While mechanical treatments induced surface changes, only the SLA surface treated with a scaler showed decreased roughness value. Femtosecond laser-treated implants have potential as an alternative surface treatment option.

P-74

Association of Severity of Periodontitis and Glycated Hemoglobin Levels

Beom-Chan Lee

Keywords: periodontitis, Diabetes, Glycated Hemoglobin Levels (HbA1c), Early diabetes diagnosis

Objectives: Recent studies show a bidirectional link between diabetes and periodontitis. However, there is a lack of screening and referral for diabetes testing and treatment in periodontal conditions. This study aims to investigate the association between periodontitis (alveolar bone loss) and diabetes (HbA1c levels) to screen undiagnosed diabetes and refer them for evaluation.

Materials and methods: A retrospective study included 222 patients (123 males, 99 females) without prior diabetes diagnosis. Patients underwent HbA1c testing and radiographs. Radiologic bone loss (RBL) was measured by blinded examiner. Periodontitis severity was categorized as stage 1 (RBL <15%), stage 2 (RBL 15%-33%), and stages 3, 4 (RBL >33%). Correlation analysis and ANOVA examined the relationship between RBL, periodontitis, and HbA1c. Logistic regression analyzed the impact of periodontitis on diabetes.

Results: Correlation analysis showed a significant association between RBL and HbA1c (correlation coefficient: 0.413, $p < 0.05$). HbA1c levels differed significantly with periodontitis staging ($p < 0.05$). Mean HbA1c levels were 6.36% for stage 3, 4 periodontitis, 5.18% for stage 1, and 5.58% for stage 2. Logistic regression revealed an odds ratio of 1.069 for RBL in diabetic patients.

Conclusions: Measuring RBL can aid in early screening of prediabetes (HbA1c 5.7-6.4%) and diabetes (HbA1c >6.4%) when periodontitis is staged as 2 or higher. The prevalence of diabetes increased as periodontitis progressed from stage 2 to stages 3, 4, with 49.5% of individuals with stage 3, 4 periodontitis having diabetes. This highlights the importance of periodontal approach for diabetic patients.

P-76

Alteration of femtosecond laser treated implant surface after Electrocautery and laser treatment

Jinseok Lee

Keywords: Femto-second laser treatment, Laser treatment, Implant surface topography, Implant surface treatment, Peri-implantitis

Objectives: The aim of this study is to investigate the changes occurring after laser treatment on various implant surfaces (Machined, SLA, and Femtosecond laser-treated surface), with particular emphasis on the changes in Femtosecond laser-treated implant surface.

Materials and methods: The study involved performing three different treatments on Machined surface, SLA (sand-blasted and acid-etched), and Femtosecond-treated implant surfaces: Diode laser, Er,Cr:YSGG laser, and Bovie Surgitron FfpF. Subsequently, the changes occurring on the surfaces were analyzed using Energy Dispersive Spectrometry, SEM (Scanning Electron Microscopy), and Wettability tests. Kruskal-Wallis test was performed to assess the differences in surface roughness between laser treatment.

Results: Minor changes in surface structure were observed after different treatments, except for severe surface alteration was observed after Er,Cr:YSGG laser treatment. Machined surface showed an increase in oxygen (O) and a decrease in titanium (Ti) when exposed to laser treatment. Carbon (C) and phosphorus (P) were detected only in the laser-treated disks. Statistical significance was not observed for most comparisons, indicating no significant differences between surface modifications ($P > 0.05$).

Conclusions: Qualitative analysis of surface topography showed that the effects of laser treatment varied depending on the implant surface type. Quantitative analysis using Ra values revealed significant changes in surface roughness after Er,Cr:YSGG laser treatment, with the largest changes observed for SLA disks.

P-77

The effect of soft tissue augmentation with immediate implant placement in conjunction with two soft tissue grafts and polydeoxyribonucleotide (PDRN): A pilot pre-clinical study

LEE Han-Kyu

Keywords: Immediate implant placement, Soft tissue augmentation, Volume-stable collagen matrix, Subepithelial connective tissue graft, Polydeoxyribonucleotide

Objectives: The immediate implant placement (IIP) is of particular interest, especially aesthetic aspects. Soft tissue augmentation is considered an integral part of treatment. According to the literature, autogenous subepithelial connective tissue grafts (SCTG) are used. Current research focuses on volume-stable collagen matrix (VCMX) as alternatives. In addition, PDRN can be used as healing enhancers and improve the outcome. The aim of this study was to test whether or not the use of VCMX with/without PDRN results in a soft tissue volume increase non-inferior to a SCTG.

Materials and methods: This study employed 4 mongrel dogs. Following extraction of the distal roots of 3rd and 4th premolars, implants were placed immediately. The gap between the implant and the buccal bone plate was filled with synthetic bone substitute material. The following soft tissue augmentation modalities were applied: (i) No grafting (ii) autogenous SCTG (iii) VCMX (iv) VCMX/PDRN. After 4 months, all animals were sacrificed. Linear and profilometric analysis were performed.

Results: During the healing period, there were no specific findings in all areas. In total tissue thickness at the implant platform and the ± 1 mm level from the platform, all test groups were larger than no grafting, without significant difference in 45° thickness. And the dimension of keratinized tissue showed a small amount of shrinkage. Ridge contour changes after surgery at the 2mm level from pre-extraction gingival margin in groups VCMX, VCMX/PDRN were larger than the others. However, the group VCMX/PDRN demonstrated the similar value as group SCTG at the study endpoint and more favorable ridge contour than no grafting.

Conclusions: These ridge changes exhibited no remarkable difference or better results compared with no grafting. This indicates that a proper execution of the immediate placement protocol in a selected indication can lead to clinically favorable results. Also, PDRN may be beneficial in soft tissue augmentation.

P-79

Bioactive Nanoparticles Improve Alveolar Bone Regeneration in Infected Extraction Sockets of Dog Model

Jeong-Ho Yun

Keywords: Nanoparticles, Bone regeneration, Extraction socket

Objectives: This study aimed to evaluate the effectiveness of tannic acid mineral particles (TMP) for bone regeneration in extraction sockets with chronic pathology.

Methods: At baseline, bilateral third and fourth premolars and first molars were hemisected in four beagle dogs, and distal roots were extracted. Combined endodontic-periodontal lesions were induced in the remaining mesial roots. After 3 months of lesion induction, the mesial roots were removed atraumatically, and assigned for randomization: Group 1 - no treatment only debridement, group 2 - collagen plug only, group 3 - collagen plug with a low concentration (1mg) of TMP, group 4 - collagen plug with a high concentration (5mg) of TMP. All the beagle dogs were sacrificed after 2 months of the socket healing period for micro-computed tomography and histomorphometry analysis.

Results: All the sites were healed uneventfully. The percent bone volume was higher in group 4 and significant difference exists compared to the other groups ($p < 0.05$). In addition, the group 4 sockets were composed of highest proportion of mineralized bone than in group 2 ($p < 0.05$) but no significant differences with the other groups.

Conclusion: An infected socket delays the healing process and improved bone regeneration can be achieved with a high concentration (5mg) of TMP because of its osteoconductive and anti-inflammatory effect.

*This work was supported under the framework of international cooperation program managed by the National Research Foundation of Korea (NRF-2021K2A9A2A08000058, FY2021)

P-78

Depigmentation with Er:YAG laser

Yeon-Jeong Kang

Keywords: Depigmentation, Er:YAG laser, Gingival discoloration, Basal epithelial layer, Re-epithelization

Objectives: Discoloration of the oral mucosa or gingiva associated with several factors. Physiological pigmentation caused by melanin granules in the basal epithelial layer. Recently, depigmentation using laser is commonly used. The use of Er:YAG laser for depigmentation has been recognized as an effective technique. The Er:YAG (Erbium) laser effectively ablates soft tissue, with minimal coagulation and carbonization.

Materials and methods: In two cases, a Er:YAG laser was used with the wavelength of 2940nm, frequency Hz.

Case 1: A 39-year-old female had complaint of discoloration of her upper gingiva. Especially, anterior maxillary gingiva was black-pigmented. Er:YAG laser mediated depigmentation was performed.

Case 2: A 29-year-old male was referred for periodontal treatment. Generalized gingival swelling and redness was observed. Moreover, moderate and diffuse pigmentation was found on anterior areas. Scaling and root planing were initially performed. After 1 month, Er:YAG laser was used for depigmentation.

Results: After 1 week post-depigmentation, healing was uneventful. Patients did not report any discomfort. Re-epithelization was gradually undergone. No discomfort or sensitivity was report. In Case 2, relapse tendency was found.

Conclusions: Er:YAG laser can be successfully utilized for depigmentation. The advantages of Er:YAG laser are minimal patients' discomfort and easiness to use.