

第2会場

O-21~27

一般演題口演

第3会場

O-01~20

O-28~31

(第2会場・第3会場)

10月4日(金)	第2会場	15:00~16:10
	第3会場	9:00~10:40, 14:30~16:20
10月5日(土)	第3会場	9:00~9:40

O-01

ヒト歯根膜細胞の高グルコース状態における miR-146a の関与

文元 智優

キーワード：糖尿病，歯根膜細胞，miRNA

【目的】糖尿病と歯周病は互いに悪影響を及ぼし，高血糖は歯周炎の進行や組織破壊に密接に関係している。タンパク質をコードしない MicroRNA (miRNA) はタンパク質発現を負に制御し，様々な疾患の発症や制御に関与する。miR-146a は，高グルコース状態の培養において低下が報告されているが，ヒト歯根膜細胞 (hPDLs) に対してどのように作用するか明らかになっていない。本研究の目的は，高グルコース状態の hPDLs における miR-146a の関与について検討した。

【方法】抜去歯より単離樹立した hPDLs を異なるグルコース濃度 (5.5 mM, 24mM) にて培養し，24時間，48時間，72時間の細胞増殖能および炎症性サイトカイン産生量を測定した。また同条件下にて miR-146a および miR-146a が制御している TRAF6, IRAK1 の発現について検討した。さらに miR-146a 模倣分子 (mimic) を導入し，炎症性サイトカインや TRAF6, IRAK1 の発現への影響について検討した。

【結果・考察】高グルコース状態下での細胞増殖能に有意な差を認めなかったが，炎症性サイトカイン産生量は有意な増加が認められた。また同条件では miR-146a の発現は有意に低下し，TRAF6, IRAK1 の発現は有意に増加した。さらに miR-146a を過剰発現させることにより炎症性サイトカイン，TRAF6 および IRAK1 は有意に減少した。

【結論】高グルコース状態下におけるヒト歯根膜細胞の炎症性サイトカイン産生の増加は，miR-146a 発現の減少による可能性が示唆される。

O-02

終末糖化産物は Ca9-22 細胞の COX2, TNF- α 発現を促進する

小野 美紗恵

キーワード：AGEs, 炎症性メディエーター, COX2, TNF- α

【目的】終末糖化産物 (AGEs) は，高血糖状態の生体内で生成し，糖尿病合併症を引き起こす要因の1つとして報告されている。先行研究では，2型糖尿病患者の歯肉溝滲出液中の AGEs 濃度は，非糖尿病患者と比較して高いことが示されている。しかしながら，糖尿病と歯周病の重症化との関係を示す詳細なメカニズムについては，まだ不明な点が多い。そこで演者らは，血液や歯肉溝滲出液に含まれる AGEs が歯肉上皮に作用し，炎症性メディエーター発現に影響を及ぼすことが，糖尿病患者の歯周病重症化を引き起こす要因の1つではないかと考え，本研究を企図した。

【材料および方法】Ca9-22細胞を60mm dishに 4.0×10^4 cells/cm²の密度で播種し，AGEs (100 μ g/ml) 添加，BSA (100 μ g/ml) 添加または非添加 (control) 下で最大72時間培養した。その後，細胞を回収し，サンプルとして用いた。各サンプルのCOX2, TNF- α の遺伝子発現をreal-time PCR法，タンパク質発現をwestern blotting法で調べた。

【結果】培養48時間後，AGEs添加群は，BSA添加群・コントロール群と比較して，COX2とTNF- α の遺伝子およびタンパク質発現の有意な増加が認められた。

【結論】AGEsはCa9-22細胞のCOX2及びTNF- α の発現を増加させることで，炎症性メディエーターの発現を促進する可能性が示唆された。

O-03

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起組織における制御性T細胞 (Treg) の動態

早乙女 雅美

キーワード：糖尿病，動物実験，実験的歯周炎，免疫寛容，制御性T細胞

【目的】糖尿病は歯周病の病態進行を増悪させる重大なリスク因子である。近年，歯周組織の免疫系におけるTregの影響が注目されており，糖尿病性歯周炎との関連が示唆される。そこで本報告は，ストレプトゾトシン (STZ) により高血糖を誘発したマウスの歯肉組織におけるTregの動態を検索した。

【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 (C群)，上顎第二臼歯に絹糸を結紮する群 (P群)，STZを投与する群 (D群)，STZを投与しP群と同様に結紮する群 (PD群)。マウスの糖尿病の成立をSTZ投与後2週目に評価し，さらに結紮後1週経過時に安楽死を行った。上顎右側は病理組織学的に評価し，上顎左側の口蓋歯肉は遺伝子解析，歯槽骨は骨構造解析を行った。さらに，末梢血と歯肉組織中のリンパ球でフローサイトメトリー解析を行った。

【結果】骨構造解析の結果，歯槽骨高さ，BV/TVおよびBMDがP群と比較してPD群で低かった。歯肉組織において，Foxp3の遺伝子発現量がC群と比べPD群で増加しており，IL-17AはP群よりもPD群で発現亢進していた。さらに，フローサイトメトリー解析の結果，末梢血と歯肉組織においてTreg (CD4+/CD25+/Foxp3+) 細胞数が，C群と比べてP群とPD群で有意に多かった。加えて，Tregより機能的な減弱が報告されているCD4+/CD25-/Foxp3+細胞数が末梢血のPD群で増加していた。歯肉組織における免疫蛍光染色では，CD25+/Foxp3+細胞がP群のみで増加しており，一方CD25-/Foxp3+細胞はPD群で増加傾向を認めた。

【結論】本研究は，実験的歯周炎モデルマウスにおいて，STZ投与により誘導した高血糖状態がTregを数的・機能的に減弱させ，免疫寛容の障害が歯周組織の炎症と骨破壊の増悪に関与する可能性を示した。

O-04

Experimental periodontitis may contribute to the progression of tubular pathology in a diabetic nephropathy model of KK-A^y mice

Ahmed Ali Mohammed Hussein Al Kafee

Keywords: Diabetic Nephropathy, Periodontal Disease, KK-A^y Mice
Background: Previous studies have suggested an association between diabetic nephropathy (DN) and periodontal disease (PD), although the precise underlying mechanism is still unclear. Here, we focused on the tubular pathology which might be potentially influenced by PD.

Methods: Thirteen-week-old male C57BL/6 and KK-A^y mice were randomly divided into groups with or without experimental periodontitis induced by 6-0 silk ligation around the maxillary second teeth for 3 weeks. Urinary tubular injury markers were determined. Tubular fibrosis and inflammatory cell infiltration were assessed using Masson's Trichrome stain and immunofluorescent stain for CD68. Inflammatory and fibrotic gene expressions in tubular fractions were measured by real-time PCR. Additionally, RNA sequencing was conducted to explore PD-associated factors in the tubules of DN mice.

Results: The urinary Lipocalin2-creatinine ratio in KK-A^y mice was significantly elevated by experimental periodontitis. The area and The number of CD68 positive cells in the tubules was significantly increased in KK-A^y mice with ligation compared to those without ligation. Tubular gene expressions related to fibrosis and inflammation, such as Fibronectin1, Tnfa, IL-1 β , and Mcp-1, were significantly upregulated in KK-A^y mice with ligation compared to those without ligation. RNA-sequence analysis revealed that the ion transport-related pathway was significantly altered in KK-A^y mice by experimental periodontitis.

Conclusion: Experimental periodontitis may contribute to the progression of not only mesangial pathology but also tubular pathology in DN.

O-05

進行性NASHモデルにおける肝線維化は結紮による実験的歯周炎で増悪する

梁 尚陽

キーワード：NAFLD, NASH, Periodontal medicine

【背景】非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の進行と歯周炎の関連において、モデル動物を用いた検討では歯周炎による脂肪肝の増悪を示唆する報告が多い一方で、非アルコール性脂肪性肝疾患（NASH）の増悪にかかわることを示した報告はきわめて限られている。そこで我々は、数あるNASHモデル動物の中で、短期間にNASHを呈するSTAMマウスに実験的歯周炎を惹起することによる肝疾患への影響を検討した。

【方法】通法に従い作成したSTAMマウス（雄性、6週齢）の上顎第2臼歯に6-0絹糸を結紮して実験的歯周炎を誘導し、4週間後に組織を回収した。肝臓の線維化をMasson Trichrome染色、炎症細胞浸潤をCD68の蛍光免疫染色にて評価した。肝臓での炎症・脂肪代謝・線維化関連遺伝子発現をqPCR法で定量した。また血液中の肝障害マーカーを測定した。

【結果】結紮によるSTAMマウスの体重や血糖値への影響は見られなかった。結紮群では、肝臓重量・体重比が非結紮群よりも有意に高値であった。肝線維化領域およびCD68陽性細胞数は、非結紮群に対して結紮群で有意に増加していた。結紮群では、肝Srebp1c, Acc, Fasn, Tnf α , Mcp-1, Fnl, Coll1a1, Col3a1のmRNA発現が非結紮群と比較して有意に亢進した。また、結紮群の血漿ALT, ChE, 総コレステロール、トリグリセリド濃度は非結紮群よりも有意に上昇していた。

【結論】歯周炎はNASHの増悪に寄与することが示唆され、NASH患者における歯周治療の有用性を基礎研究からも支持する結果が得られた。

O-06

歯周炎は肝臓のシクロコムP450を阻害し、n-3系脂肪酸エポキシ化代謝経路を抑制する

大道寺 美乃

キーワード：実験的歯周炎モデル, リビドミクス, n-3系脂肪酸

【目的】歯周炎は非アルコール性脂肪性肝疾患を代表とする肝疾患の増悪に寄与する。本研究では、マウス実験的歯周炎モデル肝臓のトランスクリプトーム解析および代謝物解析により、歯周炎が肝臓の遺伝子発現と代謝機能におよぼす影響、代謝物産生変化が肝臓での炎症反応におよぼす影響を解析した。

【材料と方法】マウス上顎臼歯周囲を14日間絹糸結紮して歯周炎を誘導後、肝臓を回収し、RNA-seq解析およびリビドミクス解析を行った。また、肝細胞株HepG2をTNF- α 刺激下で培養し、脂肪酸代謝物添加による炎症関連遺伝子発現への影響をqPCRにて解析した。

【結果】歯周炎発症群の肝臓では、RNA-seq解析の結果、n-3系脂肪酸であるeicosapentaenoic acid (EPA)とdocosahexaenoic acid (DHA)のエポキシ化を担う*Cyp4a12a/b*の発現低下、リビドミクス解析の結果、EPAとDHAがエポキシ化したepoxyicosatetraenoic acid (EpETE)とepoxydocosapentaenoic acid (EpDPA)の加水分解生成物であるdihydroxyicosatetraenoic acid (diHETE)とdihydroxydocosapentaenoic acid (diHDoPE)の減少が明らかとなった。HepG2における17,18-EpETEおよび17,18-diHETE添加は、TNF- α 誘導性のTNF- α 発現上昇を有意に抑制した。

【結論】歯周炎は肝臓のCYP阻害を介してn-3系脂肪酸のエポキシ化経路代謝を抑制し、抗炎症性脂肪酸代謝物の産生を抑制する可能性が示唆された。

O-07

*Fusobacterium nucleatum*由来の細胞外膜小胞が神経細胞分化に及ぼす影響

水谷 翔

キーワード：フゾバクテリウム スクレアタム, PC12細胞, アルツハイマー病, 外膜小胞

【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、歯周病原細菌のタンパク分解酵素やLPSがADの危険因子と報告されているが、いまだその詳細なメカニズムについて不明なところが多い。本研究では、*Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) から抽出した細胞外膜小胞、Heat-killed *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細胞に対し、ExoBacteria OMV Isolation Kitにて抽出した*F. nucleatum*由来の細胞外膜小胞または80°C 1時間で熱処理した*F. nucleatum*を刺激後、Neuron growth factorによる分化誘導時における細胞形態や細胞シグナルの変化について解析した。Western blotting法により神経細胞の形態形成に関わるcAMP response element binding protein (CREB) やMAPKのタンパク発現を、蛍光免疫染色法により細胞の形態観察を行なった。

【結果】PC-12細胞において、*F. nucleatum*由来の細胞外膜小胞は、細胞形態、細胞増殖能および、神経分化マーカーであるCREB, MAPKのタンパク発現に影響を及ぼした。

【考察】*F. nucleatum*菌体成分および細胞外膜小胞は、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た。

O-08

歯周炎は脳内炎症を引き起こし認知機能障害をきたす：マウスモデルを用いた解析

森川 暁

キーワード：歯周炎, 認知機能障害, 炎症

【目的】歯周炎が全身性炎症を引き起こし、多臓器に影響を及ぼすことが知られている。本研究では、歯周炎モデルマウスを用いて、歯周炎が脳内炎症および認知機能に及ぼす影響を評価することを目的とした。

【方法】C57BL/6Jマウスの第二臼歯に絹糸を結紮することで歯周炎モデルを作製し、結紮しないマウスを対照群とした。結紮後3か月および5か月時点で、マイクロCTにて歯槽骨吸収を評価した。Barnes迷路試験により空間認知機能を評価し、海馬におけるミクログリアの数および成体神経新生を免疫組織化学的に解析した。

【結果】歯周炎モデルマウスでは、結紮後3か月および5か月時点で対照群と比較して有意な歯槽骨吸収が認められた。5か月時点の歯周炎モデルマウスでは、Barnes迷路試験により空間認知機能の有意な低下が明らかになった。さらに、歯周炎モデルマウスの海馬では、ミクログリア数の有意な増加と成体神経新生の有意な減少が認められ、脳内への炎症の波及が示された。

【結論】本研究により、歯周炎モデルマウスにおいて歯槽骨吸収および認知機能障害が引き起こされることが明らかになった。歯周炎による脳内のミクログリア増加と成体神経新生の減少が、認知機能障害に寄与する可能性が示唆された。これらの結果は、歯周炎が全身に及ぼす影響を軽減するためにも、その予防と治療が重要であることを裏付けるものである。

O-09

実験的歯周炎モデル加齢マウスの腓腹筋におよぼす影響

伊神 裕高

キーワード：実験的歯周炎、腓腹筋、Atrogin-1、MuRF

【目的】加齢に伴う身体機能の低下は社会的に問題となっているが、加齢に歯周炎が関与することによってフレイルが進行するの未だ明らかになっていない。近年の研究から筋萎縮の起点に炎症性サイトカインが関与しており、炎症性サイトカインは歯周炎の発症にも関与している。このことから歯周炎による持続的な感染が筋萎縮に影響があると考えられるものの未だ報告はない。そこで、本研究では絹糸を結紮し惹起させた実験的歯周炎が骨格筋である腓腹筋におよぼす影響について解析した。

【材料と方法】88週C57BL6雄性マウスの上顎右側第二臼歯に絹糸結紮した実験群（n=8）と非結紮対照群（n=3）を実験に供した。結紮から4週間後に上顎、両下肢の腓腹筋を採取した。上顎骨はマイクロCTを用いて歯槽骨の吸収程度を観察し、第二臼歯周囲の歯槽高径を定量的に分析した。またHE染色を行い歯周組織の破壊の程度を観察した。右側腓腹筋はHE染色、トリクローム染色から組織学的に観察した。左側腓腹筋はタンパク質抽出し筋萎縮関連遺伝子であるAtrogin-1、MuRFの抗体を用いたウェスタンブロッティングにより評価した。すべてのデータは平均±SEMとして表、データの比較はt検定を使用し $p < 0.05$ の場合、有意差ありとした。本研究は朝日大学動物実験専門委員会の承認（承認番号22-028）を得て実施した。

【結果と考察】第二臼歯結紮により歯槽骨吸収は惹起され歯周組織破壊が進行していた。腓腹筋は筋線維の大小不同を認め、Atrogin-1、MuRFの発現が亢進した。マウス実験的歯周炎モデルにおいて歯周炎は腓腹筋の萎縮に関連するリスク因子である可能性が示唆された。

O-11

スフェロイド培養とHippo経路阻害剤を用いた口腔扁平上皮癌細胞株-*Porphyromonas gingivalis* 共培養系の樹立とその応用

中島 由梨花

キーワード：*P. gingivalis*、口腔扁平上皮癌、共培養

近年、歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*)が口腔扁平上皮癌の発症・進展に関与することが明らかとなりつつあるが、*Pg*は偏性嫌気性菌であるため、生菌と腫瘍細胞の相互作用解析は困難である。そこで、3次元の*in vitro*モデルである腫瘍スフェロイドの内部が嫌気状態となることに着目し、スフェロイド培養の改変および口腔扁平上皮癌細胞と*Pg*の共培養系の樹立を目指した。口腔扁平上皮癌細胞株SAS、HSC-2、HSC-3、HSC-4を用いてスフェロイド培養を行った。その結果SAS細胞を除きスフェロイド成長が認められなかったが、癌抑制性シグナルであるHippo経路に対する阻害剤によりすべての細胞株で安定的なスフェロイド成長が認められた。また、培養開始翌日に*Pg*を添加し、3日後に嫌気培養にて*Pg*の生存を確認した結果、SAS、HSC-2、HSC-4細胞において*Pg*の生存が確認され、口腔扁平上皮癌細胞と*Pg*の共培養が可能であることが示された。共培養による口腔扁平上皮癌細胞への影響について、スフェロイド成長、ストレス応答MAPK p38のリン酸化、炎症性サイトカインIL-1 α とIL-8について検討した。その結果、スフェロイド成長への影響は認められなかったが、p38の活性化及びIL-1 α とIL-8の発現亢進が認められ、これらの発現はp38阻害剤により抑制された。また、癌臨床検体の細菌叢解析データであるThe Cancer Microbiome Atlasによる解析を行ったところ、口腔扁平上皮癌臨床検体においても*Pg*とIL-1 α 、IL-8及びp38リン酸化との相関が認められた。以上の結果から、本実験系は*Pg*と口腔扁平上皮癌細胞の共培養が可能であり、また臨床における*Pg*の影響を反映することから、長期的な口腔扁平上皮癌-*Pg*相互作用解析に有用な実験系となることが示された。

O-10

*P. gingivalis*感染モデルマウスにおける抗IL-6受容体抗体の歯周炎に対する影響について

藤森 良介

キーワード：実験的歯周炎モデルマウス、*Porphyromonas gingivalis*、IL-6

【目的】歯周炎は歯周組織の炎症により骨破壊を生じる疾患である。歯周病原細菌の感染による、歯周組織の破壊には、IL-6をはじめとした炎症性サイトカインが強く関わっている。関節リウマチの治療薬として抗IL-6受容体抗体が使用されているが、この薬剤の使用が歯周炎の進行が抑制するとの報告がある。そこで本研究では*P. gingivalis* (*Pg*)の主要な病原因子であるgingipainの歯周炎増悪への影響と歯周炎マウスモデルにおける抗IL-6受容体抗体の骨吸収阻害効果について検討した。

【材料と方法】歯周炎患者93名のgingipainに対する患者血清反応性をELISA法で測定し、PISAとの相関を検討した。6週齢の雌性マウス(C57BL/6)の実験開始2週間前にリコンビナントArg-gingipain (Rgp)を腹腔内に免疫した。その後口腔内に3日おきに*Pg* (10^8 CFU/50 μ l, 1%カルボキシセルロース溶液に懸濁)を塗布し、実験開始時と3週目に抗IL-6受容体抗体(MR16-1 中外製薬)を0, 2, 10, 20, 200 μ g/mouseとなるよう、それぞれ腹腔内投与した。6週間後に上顎臼歯部歯槽骨と血清を採取し、歯槽骨吸収レベルの評価とサイトカイン測定をLEGENDplexで行った。

【結果と考察】歯周炎患者のPISAとRgpに対する血清抗体価には正の相関が認められた。これまでの*Pg*塗布のみの歯周炎モデルマウスと比較して、今回確立したRgp免疫した*Pg*群では骨吸収量の増加が認められた。コントロール群と比較して*Pg*群では有意に歯槽骨吸収が増加し、*Pg*-抗IL-6受容体抗体群では歯槽骨吸収はコントロール群と同レベルとなった。また抗IL-6受容体抗体群では歯槽骨吸収は認められなかった。以上からRgpが歯周炎の増悪に関与していることが示唆された。

O-12

脂肪酸ベース・イオン液体の抗バイオフィーム効果

柳川 万由子

キーワード：イオン液体、抗バイオフィーム効果、慢性歯周炎

【目的】イオン液体(ILs)は様々な陽・陰イオンから成る常温で液体の塩である。陽イオンであるコリンと陰イオンであるゲラン酸から構成されるCAGEは高い抗菌活性を特徴とするILである。しかし、ゲラン酸に由来する細胞刺激性が報告されており代替イオンによる置換が必要である。本研究では、ゲラン酸に代わる陰イオン供与体を検索することを目的とした。

【材料と方法】陰イオン供与体として細胞膜や食品に含まれる脂肪酸を選択した。各種脂肪酸(アゼライン酸・オクタン酸・ラウリン酸・オレイン酸・リノール酸)とコリンを分子量比1:1で混合し、コリン-脂肪酸ILを作製した。各脂肪酸ILの歯周病原細菌(*Porphyromonas gingivalis* ATCC33277株)に対する抗菌効果を最小発育阻止濃度(MIC)と最小殺菌濃度(MBC)の測定にて評価した。さらに*P. gingivalis*成熟バイオフィーム内の細菌に対する殺菌効果をlive/dead染色にて評価した。脂肪酸単体においても同様の検証を行い、IL化の有用性を確認した。比較として、CAGEにおいても同様の検証を行った。

【結果と考察】5種の脂肪酸ILはいずれも歯周病原細菌に対する抗菌効果を有し、MIC・MBCはCAGEと同程度以下であった。特にリノール酸ILはCAGEの1/100濃度で作用し、極めて高い抗菌効果を認めた。また、いずれの脂肪酸ILもバイオフィーム細菌に対する殺菌効果を示し、特にリノール酸ILはCAGEと比較して有意に高い抗バイオフィーム効果を有することが示された。脂肪酸単体では、各脂肪酸ILの100倍以上の濃度で抗バイオフィーム効果が認められ、IL化による効果の増強が確認された。

【結論】脂肪酸ILは歯周病原細菌に対する極めて高い抗菌・抗バイオフィーム効果を有し、歯周医薬品として応用可能性を持つ。

O-13

低濃度フッ化ジアンミン銀を用いた歯周病原細菌に対する影響について

坂下 和真

キーワード：フッ化ジアンミン銀, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, 歯周病, ディスク拡散法, ATP Assay

【目的】フッ化ジアンミン銀 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ (サホライド[®], SDF) は *Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) に対して抗菌性があることが示唆されたが、他の歯周病原細菌に対しては効果を示せていない。本研究では他菌種に対して SDF が効果を示すのか検証した。

【材料および方法】GAM ブイヨンにて嫌気培養した *Prevotella intermedia* ATCC25611 (*P.i*), *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586 (*F.n*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC29522 (*A.a*) 菌液を変法 GAM 寒天平板に塗抹後、低濃度 SDF を滴下した濾紙を静置し、ディスク拡散法による発育阻止円の計測を行った。さらに BacTiter-Glo[™] を用いて ATP の発光量を計測した。

【結果と考察】ディスク拡散法では発育阻止円は *P.i*: 10% SDF, *F.n*: 1% SDF, *A.a*: 1% SDF まで形成された。*P.i* は 1%, 0.1% SDF, *F.n* と *A.a* は 0.1% SDF で濾紙の周囲にわずかな透過帯を認めた。BacTiter-Glo[™] を用いた実験では *P.i*: 0.01% SDF, *F.n*: 0.01% SDF, *A.a*: 0.001% まで ATP 産生を阻害した。本研究では低濃度 SDF が *P.i*, *F.n*, *A.a* に対して抗菌性があることが示唆された。菌種によってわずかな差が生じたのは、菌の構造の違いによるものだと考えられる。

【結論】*P.g* よりも低濃度の SDF で他菌種に対し抗菌性を示したため、歯周治療で SDF を応用する意義が裏付けられた。

O-14

インドシアニングリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーによる抗菌光線力学療法の歯周バイオフィルム抑制効果

小野 皓大

キーワード：aPDT, インドシアニングリーン, バイオフィルム, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus gordonii*

【目的】我々は、光感受性物質としてインドシアニングリーンを封入したナノ粒子と半導体レーザー (810nm) を用いた抗菌光線力学療法 (aPDT) の方法を考案し、今回、歯面初期定着細菌の一つである *Streptococcus gordonii* (以下 *S.g*) と歯周病原細菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* (以下 *P.g*) の 2 菌種複合バイオフィルムにて殺菌効果を確認したため報告を行う。

【方法】歯周ポケット内照射モデルとして、バイオフィルム上にナノ粒子を添加後、半導体レーザー (LIGHTSURGE SQUARE, オサダ社) の照射 (ピーク出力 0.7W, duty cycle 50%, 間欠照射 60 秒照射ごとに 10 秒休止) を試料より 1cm 上方から単一菌種バイオフィルムに対し 1 分、複合バイオフィルムに対しては 3 分行った。照射後、段階希釈を行った菌液を寒天培地に播種した。培地を 37℃, 嫌気状態にて培養し、コロニーカウントによる生菌数測定を行い、減少率を算出した。歯周ポケット外照射モデルとして、単一、複合バイオフィルムとともに歯肉モデル (3mm の牛肉片) を 96 ウェルプレートのの上のせ、歯肉モデルより 1cm 上方、ピーク出力 2.0W, エアブロー冷却 (2.0L/min) 下に変更し間欠照射を行った。照射後は歯周ポケット内照射と同様に行った。

【結果】コントロール群と aPDT 群の生菌数の比較を行ったところ、歯周ポケット内照射モデル、歯周ポケット外照射モデルにおいて、*P.g* 単一バイオフィルム、*S.g* 単一バイオフィルム、複合バイオフィルム共に、90% 以上の生菌数の有意な減少を認めた。

【考察】今回の基礎研究により、単一バイオフィルムよりも実際の構造に近い複合バイオフィルムにおいても、半導体レーザーとインドシアニンググリーン封入ナノ粒子を用いた aPDT の有効性が確認された。

O-15

歯肉縁下ブラーク中 *Porphyromonas gingivalis* を検出する新規イムノクロマト装置の評価

山中 理映子

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, イムノクロマト装置, 歯肉縁下ブラーク

【目的】*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) は多くの病原因子を有する細菌で、歯周病の発症・進行に関与している。本研究の目的は、新規イムノクロマト装置によって歯肉縁下ブラーク中の *Pg* を検出し、リアルタイム PCR 法 (RT-PCR) と比較することである。

【材料と方法】125 名の被験者 (健康者 53 名, 歯周病患者 72 名) に対して、歯周組織検査を行った。各被験者の最も深い歯周ポケットから歯肉縁下ブラークを採取しサンプルとした。このサンプルを新規イムノクロマト装置上で反応させ、検出されたバンドを専用リーダーで 0 から 5 のスケールでスコア化した。このスコアをリアルタイム PCR 法 (RT-PCR) により測定した *Pg* 数と比較した。

【結果】新規イムノクロマト装置によるスコアと RT-PCR で測定した *Pg* 数との間には有意な正の相関が認められた。また、サンプルをスコアにより 3 群 (0, 0.25-2.5, 2.5-5) に分けた際の *Pg* 数は各群間で有意差を認めた。RT-PCR, イムノクロマト装置による *Pg* の検出は、感度: 77%, 特異度: 98%, 陽性的中率: 94%, 陰性的中率: 89%, 全体一致率: 90% であった。歯周病患者サンプルのスコアは健康者よりも有意に高く、RT-PCR でも同様であった。また、スコアとプロービングポケット深さ及びクリニカルアタッチメントレベルには有意な正の相関が認められた。一方、スコアの歯周病診断における有用性を評価するために、ROC 解析を行ったところ、AUC 値は 0.73 であった。

【結論】本研究の結果より、新規イムノクロマト装置は歯肉縁下ブラーク中の *Pg* を半定量的に検出できることが示唆された。

O-16

特発性歯肉線維腫症のメカニズム解明研究

二宮 由梨香

キーワード：特発性歯肉線維腫症, TGM2, BGN

【目的】特発性歯肉線維腫症 (IGF: Idiopathic gingival fibromatosis) は、薬物の服用がなく、家族内集積のない孤発例であり、原因が特定できない歯肉肥厚を特徴した疾患である。本研究では、広島大学病院歯周診療科を受診した 2 名の IGF 患者および 1 名の歯周炎患者 (PD) から得た歯肉線維芽細胞 (HGF) を用いて IGF のメカニズムを解明することを目的とした。

【材料と方法】本研究に同意の得られた患者から歯肉線維芽細胞を樹立した (広島大学倫理委員会承認: E2015-0001)。RNA-seq によって、IGF および PD 患者由来の HGF に発現する遺伝子解析を網羅的に行った。得られた結果を real-time PCR および Western blotting 法によって評価した。さらに着目した遺伝子の発現動態に関して詳細に調べた。

【結果】RNA-seq で GO 解析を行った結果、IGF 由来 HGF では、PD 由来 HGF と比較して extracellular matrix 関連遺伝子の発現が多く認められた。その中で、PD 由来 HGF と比較して IGF 由来 HGF で著しく発現が減少しているトランスグルタミナーゼ 2 (TGM2: Transglutaminase2) に注目した。Real-time PCR および Western blotting によって IGF 由来の HGF では TGM2 の発現が mRNA レベルおよびタンパク質レベルで有意に減少していることを確認した。さらに IGF 由来 HGF では PD 由来 HGF と比較して、プロテオグリカンの一つであるパイグリカン (BGN: Biglycan) が有意に上昇していることが確認された。TGM2 のリコンビナントタンパク質の投与で、BGN の発現を遺伝子レベルおよびタンパク質レベルで減少させた。

【考察】IGF 患者では TGM2 の発現減少が、BGN 発現亢進に関与していることが示唆された。

O-17

スクレロチンの薬剤関連顎骨壊死発症における影響

中嶋 良徳

キーワード：スクレロチン、薬剤関連顎骨壊死、*Sost*^{-/-}マウス

【背景】薬剤関連顎骨壊死（MRONJ）は、骨吸収抑制薬などの服用患者に発症する副作用で、根本的な発症メカニズムは不明であるが、抜歯窩の骨形成阻害がMRONJ発症、及び増悪に関わるとする報告がある。Sclerostinは骨形成抑制と骨吸収促進の作用を持ち、骨細胞が主に分泌する骨関連タンパク質である。本研究では、MRONJ発症におけるSclerostin阻害の役割を検証することを目的として、Sclerostin欠損（*Sost*^{-/-}）マウスを用いて、以下の実験を行った。

【方法】MRONJは、Wild type (WT), *Sost*^{-/-}マウスにBisphosphonate (BP) 投与に糸糸結紮歯周炎を併用し、抜歯を行うことで発症させた。WTマウスまたは、*Sost*^{-/-}マウスにBPを投与する群、及び*Sost*^{-/-}マウスにBP非投与群の3群を設定した。抜歯窩の骨形成量をμCTで解析し、骨形成関連タンパク質の発現を免疫染色で評価した。ONJ発症に歯肉の創傷治癒遅延が関係しているとの報告があるため、Sclerostinの細胞遊走能に与える効果を、*Sost*^{-/-}マウス由来歯肉線維芽細胞（GF）を用いて評価した。また、WTマウスと*Sost*^{-/-}マウスの抜歯窩歯肉の治癒を経時的に比較した。

【結果】BP投与歯周炎誘導抜歯モデルでは、*Sost*^{-/-}群はWT群と比較し、抜歯窩の高い骨形成量と骨形成関連タンパク質の高い発現が確認され、MRONJ発症は少なかった。Sclerostin添加によりGFの遊走能を抑制した。抜歯窩における歯肉の創傷治癒はWTマウスと比較して*Sost*^{-/-}マウスでは亢進した。

【考察】*Sost*^{-/-}マウスの抜歯窩の高い骨形成能は、ONJ発症を抑制した事が示唆される。また、*Sost*^{-/-}マウスのGFの遊走能促進と、抜歯窩治癒促進もONJ発症抑制に寄与したと考える。

O-19

歯周炎による歯槽骨破壊を引き起こす破骨前駆細胞の由来

藤原 友斗

キーワード：破骨細胞、骨髄キメラ、歯槽骨、組織透明化

【目的】歯周組織に存在する破骨前駆細胞は破骨細胞を供給し、歯槽骨のリモデリングや歯周炎による歯槽骨の破壊を担っている。しかしながら、同細胞の動態については不明な点が多く残されている。本研究では歯周組織の破骨前駆細胞の由来を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】破骨前駆細胞を標識するCX3CR1-EGFPマウスと破骨細胞を標識するTRAP-tdTomatoマウスを掛け合わせ、CX3CR1-EGFP/TRAP-tdTomatoマウスを作製した。同マウスから骨髄を採取し、放射線照射した10週齢野生型レシピエントマウスに骨髄移植を行った。移植後1および3ヶ月において、レシピエントマウス骨髄をフローサイトメトリーにて解析するとともに、同マウスの上顎左側第二臼歯に5-0絹糸を結紮することにより、歯周組織破壊を誘導した。結紮7日後に上顎骨を取り出し、組織透明化後にライトシート顕微鏡観察を行った。

【結果と考察】骨髄移植後1ヶ月のレシピエントマウスの骨髄にはドナーマウスの骨髄と同程度のEGFP陽性細胞が認められ、骨髄キメラが成立していた。同骨髄キメラマウスの正常歯周組織にEGFP陽性細胞およびtdTomato陽性細胞を認め、両細胞の分布はドナーマウスの歯周組織と同程度であった。さらに、同マウスの糸糸結紮側の歯周組織においては、非結紮側と比べ、結紮周囲に多くのtdTomato陽性細胞が集積していた。骨髄移植後3ヶ月においても、同1ヶ月と同様の観察像であった。これらの結果より、歯根膜に存在する破骨前駆細胞は骨髄から供給され、同細胞が局所で破骨細胞へと分化することが示唆された。

O-18

歯周炎におけるRANKL陽性歯根膜細胞集団の同定

吉田 悠作

キーワード：破骨細胞、RANKL、Cxcl5、肉芽組織

【目的】歯周炎の病変局所においては歯根膜細胞や骨芽細胞などの間葉系細胞に由来するRANKLが破骨細胞を誘導し、歯槽骨破壊を促進する。しかしながら、RANKL発現間葉系細胞の詳細については不明である。我々はこれまでにマウス歯根膜から効率的に歯根膜細胞を単離し、シングルセルRNA-seq解析を実施することにより、歯根膜細胞の多様性を示してきた。本研究では歯根膜中のRANKL発現間葉系細胞集団を同定することを目的とした。

【材料と方法】8週齢野生型マウスの左側上下顎第二臼歯に5-0絹糸を7日間結紮することにより歯周組織破壊を誘導した。同マウスから顎骨を取り出し、歯肉を除去した後に、臼歯を抜去し、酵素処理を行うことにより、歯根膜細胞を多く含む細胞集団を単離し、シングルセルRNA-seq解析を実施した。糸糸結紮を行っていない右側を対照群として、細胞構成を比較するとともに、蛍光*in situ* hybridizationにより遺伝子発現を組織学的に検討した。

【結果と考察】シングルセルRNA-seq解析の結果、歯周炎においては好中球の割合が増加するとともに、*Cx3cr1*陽性マクロファージが減少し、*Acp5*陽性破骨細胞が増加していた。この結果は組織学的な検討結果と一致した。また、歯周炎群でのみ出現する間葉系細胞集団として、*Cxcl5*陽性細胞を見出し、同細胞はRANKLをコードする*Tnfsf11*を発現していた。組織学的に同細胞群は歯肉上皮下のαSMA陽性肉芽組織中に存在していた。以上の結果より、*Cxcl5*陽性myofibroblastが歯周炎に特異的なRANKL発現間葉系細胞であることが示唆された。

O-20

Role of AOX1 on RXR Signaling Leads to Inhibition of Osteogenesis in hPDLMSCs

孫 士偉

キーワード：歯根膜由来間葉系幹細胞、アルデヒドオキシダーゼ1、骨形成

Alveolar bone loss resulting from periodontal disease ultimately leads to tooth loss. Periodontal ligament mesenchymal stem cells (PDLMSCs) serve as the tissue-specific cells responsible for maintaining and repairing the periodontal ligament, cementum, and alveolar bone. In this study, we explored the role of aldehyde oxidase 1 (AOX1) in regulating the osteo-induction of human periodontal ligament stem cells (hPDLMSCs). hPDLMSCs were isolated from clinically healthy donors, and AOX1 expression was assessed by comparing induced and non-induced hPDLMSCs. Remarkably, we observed a significant upregulation of AOX1 expression during osteo-induction, while AOX1 silencing resulted in the enhanced osteogenic potential of hPDLMSCs. Subsequent experiments and analysis unveiled the involvement of retinoid X receptor (RXR) signaling in the inhibition of osteogenesis in hPDLMSCs. Ligands targeting the RXR receptor mirrored the effects of AOX1 on osteogenesis, as evidenced by alterations in alkaline phosphatase (ALP) activity and bone formation levels. Collectively, these findings underscore the potential regulatory role of AOX1 via RXR signaling in the osteogenesis of hPDLMSCs. This elucidation is pivotal for advancing hPDLMSCs-based periodontal regeneration strategies and lays the groundwork for the development of targeted therapeutic interventions aimed at enhancing bone formation in the context of periodontal disease.

O-21

ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞のスフェロイド培養による幹細胞性維持機構の解明

弘中 祥

キーワード：歯根膜由来間葉系幹細胞、スフェロイド、幹細胞性、細胞周期

【目的】細胞が凝集して3次元状態となったスフェロイド(SP)は、単層培養と比較して幹細胞性と多分化能が上昇するため再生医療への応用が期待される。本研究では、ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞(hPDLMSC)の単層培養とSP培養をトランスクリプトーム解析(RNA-seq)により比較し、SPの特性に関わる遺伝子を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】ヒト抜歯よりhPDLMSCを単離し、SP作製用マイクロウェルチップ内で3日間培養した。対照群として3日間単層培養したhPDLMSCを用いて、両群からRNAを回収した。RNA-seqで発現変動遺伝子(DEGs)を抽出し、KEGG pathway解析を実施した。さらに特定の遺伝子についてqRT-PCRで遺伝子発現を比較した。

【結果】KEGG pathway解析では、SP群で発現上昇しているDEGsのうち細胞周期を負に制御するFOXOシグナルが有意にエンリッチメントされていることが明らかになった。また、qRT-PCRでは、SP群においてFOXO遺伝子群の発現上昇を認めた。その一方で、細胞周期の進行にかかわるCyclin A, Cyclin Eの発現は減少した。さらに、Cyclin遺伝子を負に制御するp21などのCDK阻害因子の発現上昇を認めた。

【考察】hPDLMSCはSP培養により、CDK阻害因子やFOXO遺伝子が上昇し、細胞周期が抑制されることで、幹細胞性の向上につながるが示唆された。

【結論】スフェロイドなどの3次元培養は、細胞周期関連因子を制御し、静止期を保つことにより、hPDLMSCの幹細胞性を維持することが示唆される。

O-23

Periodontal ligament fibroblasts utilize isoprenoid intermediate farnesyl diphosphate for maintaining osteo/cementogenic differentiation abilities

Xiuting Wang

Keywords: Periodontal tissue regeneration, Energy metabolism, Isoprenoid synthesis, Periodontal ligament fibroblasts, Peroxisome proliferator-activated receptor γ

Objectives: We explored the effect of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) agonists in periodontal tissue regeneration and which PPAR γ isoforms and metabolic pathways are indispensable for osteo/cementogenic abilities in periodontal ligament fibroblasts (PDLFs).

Materials and methods: Rosiglitazone was locally administered to regenerate murine periodontal tissue. Afterward, μ CT and histological analysis were applied to evaluate the regeneration. The distinct functions of three PPAR γ isoforms in PDLFs were assessed using an over-expression strategy, ALP activity, and Alizarin red S staining. Metabolic processes were ranked by gene ontology analysis of PPAR γ -knockdown PDLFs. *In vitro* differentiation experiments evaluated the functions of two major isoprenoid intermediates: farnesyl diphosphate and geranylgeranyl diphosphate.

Results: Rosiglitazone promoted periodontal tissue regeneration. Full-length PPAR γ overexpression enhanced the osteo/cementogenic differentiation of PDLFs induced by PPAR γ agonists. The isoprenoid metabolic process was the top-ranked downregulated metabolism-associated pathway by PPAR γ -knockdown and farnesyl diphosphate enhanced the osteo/cementogenic differentiation of PDLFs. Gene expression analysis of human clinical periodontal tissues exhibited osteocalcin correlated with *farnesyl pyrophosphate synthetase*.

Conclusions: PPAR γ agonists facilitated periodontal tissue regeneration via activating the full-length PPAR γ isoform. Farnesyl diphosphate increased osteo/cementogenic abilities of PDLFs.

O-22

歯根膜線維芽細胞におけるアスコルビン酸トランスポーターSodium-dependent vitamin C transporter2 (SVCT2) を介した機能制御

神田 智子

キーワード：歯根膜、アスコルビン酸、トランスポーター

【目的】歯根膜線維芽細胞(PDLF)は歯根膜において多数を占める細胞種であり、アスコルビン酸(Ascorbic acid, AA)はPDLFに特異的な働きを制御することが知られている。I型とII型が存在するナトリウム依存性アスコルビン酸トランスポーター(sodium-dependent vitamin C transporter, SVCT)はAAの細胞内輸送に関与するが、PDLFにおけるSVCTについては情報が無い。本研究の目的はPDLFにおけるSVCTの関与を明らかとすることである。

【材料と方法】PDLFはLonza社より購入し実験に使用した。SVCTの発現には定量的RT-PCR法、Western blot (WB)を用いた。マウス歯周組織でのSVCT2の局在を免疫染色を用いて検討した。SVCT2の発現抑制にはsiRNAを用い、SVCT2が制御する遺伝子の解析にはRNA-sequence (RNA-seq)を用いた。

【結果】PDLFでは主にSVCT2が発現することが明らかとなった。WB法よりSVCT2のタンパク発現が確認された。マウス歯周組織の免疫染色よりSVCT2の局在が確認された。またSVCT2を発現抑制すると、AAによって増強されるCollA1およびALP発現が減少した。RNA-seqの結果、SVCT2を介して遺伝子発現が制御される遺伝子群が確認された。その中からDNA damage制御に関与する可能性のある遺伝子について検討すると、これらの遺伝子がAAによって増強することが明らかとなった。

【結論】PDLFはSVCT2を発現しAA刺激によるCollA1, ALP発現を増強させた。また、SVCT2がDNA damage修復に関与する遺伝子の発現を制御することも明らかとなった。SVCT2は歯根膜におけるAA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。

O-24

ヒトiPS細胞由来第一咽頭弓外胚葉性間葉を用いた顎骨オルガノイドの創成

本池 総太

キーワード：顎骨、オルガノイド、第一咽頭弓、外胚葉性間葉、骨細胞

【目的】iPS細胞等の多能性幹細胞を用いて器官の発生過程を模倣することで得られるオルガノイドが再生医療開発や病態解明研究を加速させている。発生学的に顎骨は胎生期の頭部神経堤細胞(Neural crest cell, NCC)由来第一咽頭弓(1st pharyngeal arch, PA1)外胚葉性間葉(PA1 ectomesenchyme, PA1-EM)に由来する。また、膜性骨化を主体として発生する顎骨では、PA1-EMの凝集と骨形成細胞への分化を介して3次元的骨細胞ネットワークを有する骨組織が形成される。そこで本研究では、ヒトiPS細胞から3次元的にPA1-EMを誘導し、さらに、PA1-EM集塊から骨細胞ネットワーク構造を有した顎骨オルガノイドを作製することを目的とした。

【方法と結果】96穴V底培養プレートで集塊化させたヒトiPS細胞からゼノフリーかつ高効率にNCCsを誘導することに成功した。さらに、このNCCs集塊をEndothelin-1含有培養液中で振盪培養することで下顎の発生に特徴的な領域パターンニングを示す下顎原基のPA1-EM(Mandibular PA1-EM, mdEM)を誘導できることを見出した。骨分化誘導培地で培養したmdEMは、骨基質を産生しながら、骨芽細胞と骨細胞に順次分化していき、最終的に、石灰化骨基質中で骨細胞が3次元的ネットワークを形成する顎骨様オルガノイドが形成された。顎骨様オルガノイドを免疫不全マウスに作製した直径2mmの顎骨欠損に移植すると、移植4週間後に効果的な骨組織再生が確認された。さらに、骨形成不全症患者由来iPS細胞から作製した顎骨様オルガノイドは、コラーゲン構造の脆弱性を特徴とする骨形成不全症の病態を再現した。

【結論】ヒトiPS細胞からmdEMを経て作製された顎骨様オルガノイドは、顎骨再生治療や病態解析に有効なツールとなる可能性が示された。

O-25

GelMA-RF ハイドロゲル内で3次元培養した骨芽細胞の骨分化能評価

鈴木 結子

キーワード：ハイドロゲル, GelMA-RF, 再生医療, 足場

【目的】再生医療において足場材料として使用される Gelatin Methacryloyl (GelMA) は、光照射により調節可能な機械的性質を持つハイドロゲルである。骨欠損部位に効果的な細胞移植治療を確立する為、若齢及び老齢ラットから採取した骨芽細胞を、独自の方法で光感受性物質のリボフラビン (RF) と GelMA を混和させて作製した GelMA-RF に包埋し、骨芽細胞の GelMA-RF での3次元培養における骨分化能を検討、比較した。

【方法】7週齢/70週齢の雄性SDラットの歯槽骨より採取した骨芽細胞を GelMA-RF に混和し、光照射器 (395~480nm) を用いて硬化させた GelMA-RF 内で2週間培養、骨分化誘導を行った。培養後、Calcein を用いた骨分化能の評価、エネルギー分散型X線分光法 (EDS) による骨分化析出物質の元素分析、qPCR による骨マーカー遺伝子発現解析の比較を行った。

【結果】蛍光顕微鏡にて Calcein の沈着は7週齢/70週齢両群共に同様であった。EDS による元素分析の結果、7週齢/70週齢両群共に GelMA-RF 表面に石灰化物様組織を認めた。Ca, P の蓄積は7週齢群に比べ数値は劣るが、70週齢群でも検出された。qPCR 解析の結果、7週齢/70週齢両群ともに Bsp の遺伝子発現は骨分化誘導しないものと比較し有意に亢進していた。

【結論】老齢ラット由来骨芽細胞を用いた場合でも GelMA-RF ハイドロゲル内での石灰化を確認でき、高齢者歯槽骨由来骨芽細胞と GelMA-RF の有益性が示唆された。今後、ラットの大腿骨に対する移植実験も行い、生体安全性や骨分化能を評価する。

O-27

GBRを伴うインプラント治療を対象とした塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 製剤併用療法の安全性および有効性の評価

中川 紗矢香

キーワード：インプラント, 塩基性線維芽細胞増殖因子, 骨造成, 後ろ向き研究

【背景】骨組織再生誘導法 (以下 GBR) はインプラント治療における骨造成処置として有用であり、現在臨床において様々な材料が使用されている。大阪大学歯学部附属病院では、GBRが必要なインプラント治療に対して塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 製剤 (以下 FGF-2製剤) と炭酸アパタイトを主成分とした人工骨の併用療法が適用外使用として承認され、治療が進められた。(当院薬事委員会 R03-1) GBR に FGF-2製剤を併用することにより、インプラント体周囲の骨造成をより強く誘導すると考えられるが、現在までのところインプラント治療における FGF-2製剤の併用に関する安全性および有効性については確立されていない。そこで今回、これまでに GBR を伴うインプラント治療に FGF-2製剤を併用した症例を対象に、安全性および有効性について後ろ向きに評価を行った。

【方法】当院にて2018年以降にインプラント治療を行った症例において、インプラント埋入予定部位に骨の裂開あるいは骨欠損を認め、サイトランズ®グラニュール (GC) およびサイトランズ®エラシールド (GC) にて骨造成を図る必要があった症例のなかで、FGF-2製剤を併用した群 (RE群) 9名、非併用群 (non-RE群) 9名を対象に評価を行った。安全性の評価として、埋入後の疼痛、腫脹等の術後経過、術部の治癒経過を観察した。加えてCBCTを用いて骨造成部の高さおよび厚さを測定し有効性についての評価も行った。

【結果と考察】RE群の全ての症例において有害事象の発生は認められず、non-RE群と同様あるいはそれ以上に良好な術後の治癒経過が得られた。さらに、FGF-2製剤の血管新生促進作用により骨造成部は有意に厚くなる可能性が示唆された。

【結論】以上の結果より、安全性および有効性が示された。

O-26

塩基性線維芽細胞増殖因子と炭酸アパタイトの併用が歯周組織の治癒に与える影響

宮田 直樹

キーワード：塩基性線維芽細胞増殖因子, 炭酸アパタイト, 歯周組織再生療法

【目的】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明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】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週で標本を作製し組織学的解析、免疫組織化学的解析、骨梁構造解析を行った。また FGF-2添加/非添加の CO₃Ap 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。

【結果】FGF-2+CO₃Ap群の、骨体積率は、CO₃Ap群と比較し術後2, 4週で有意に高く、新生骨の相対的高さは FGF-2, CO₃Ap群と比較し術後4週で有意に高かった。FGF-2+CO₃Ap群の osteocalcin 陽性細胞は、CO₃Ap群と比較し術後2, 4週で有意に多く認められた。FGF-2+CO₃Ap群は CO₃Ap群と比較し細胞生存/増殖率が増加し、より多くの CO₃Ap への細胞接着や伸長した細胞が観察されたが、Runx2と Sp7 の発現は抑制された。

【結論】FGF-2と CO₃Ap の併用は歯周組織欠損の治癒を促進することが示唆された。FGF-2は、骨芽細胞分化を制御し、CO₃Ap への初期付着および増殖を促し、歯根付近からの新生骨形成に寄与すると考えられた。

O-28

動揺度に影響をおよぼすクリニカルパラメーターに関する研究

園田 愛美

キーワード：動揺度, PESA, 骨吸収率

【目的】本研究の目的は、動揺度 (Miller) の程度と各種クリニカルパラメーターのうちどの項目と高い相関性を持つのかを調べることで動揺度測定の意味を明らかにすることである。本研究は朝日大学歯学部倫理委員会の承認 (承認番号32020) を受けて実施した。

【被験者および方法】朝日大学医科歯科医療センター歯周病科に入院している慢性歯周炎患者331名 (男性144名, 女性187名), 792歯を対象として調査をした。動揺度と相関を見たクリニカルパラメーターは骨吸収率, 歯周疾患の進行程度 (Stage), 歯周上皮表面積 (PESA), 臨床的歯冠歯根比, 近遠心平均骨吸収率差, 上顎および下顎大臼歯の比較である。

【結果と考察】動揺度が大きくなると PESA と骨吸収率が有意に増加した ($p < 0.05$)。部位別 (前歯部, 小臼歯部, 大臼歯部) においても動揺度が大きくなると PESA と骨吸収率が有意に増加した ($p < 0.05$)。動揺度と Stage での検討では歯周疾患の進行を認め動揺度が大きくなると PESA と骨吸収率が有意に増加した ($p < 0.05$)。動揺度と歯冠歯根比の比較は歯周疾患の進行, 動揺度が大きくなると Stage 別, 部位別でも有意に悪化した ($p < 0.05$)。

【結論】部位で歯冠歯根比を検討すると複根歯は単根歯よりも動揺が起きにくかった。さらに近遠心の骨吸収率が少ないにも関わらず、動揺度が大きい場合は PESA 値が大きい傾向にあることから、動揺度は近遠心の骨吸収程度だけでなくレントゲン写真で判断しにくい頬舌側の骨吸収程度も反映していることが示された。

O-29

歯周病の進行程度・ファセット比率および睡眠時ブラキシズムとの関係

本田 虎太郎

キーワード：慢性歯周炎、咬合力、咀嚼能率、ブラキシズム、ファセット

【目的】歯周病の進行に伴いに咬合力、咀嚼能率が低下することが近年の研究から明らかとなっている。しかし、歯周病の進行とファセット比率や睡眠時ブラキシズムとの関連性についての報告は少ない。本研究の目的は、Stage、Grade分類、骨吸収率、咬合力、咀嚼能率、ファセット比率、睡眠時ブラキシズムの関連性を検討することにある。朝日大学倫理委員会承認（承認番号32020）

【材料と方法】朝日大学医科歯科医療センター歯周病科の慢性歯周炎患者で本研究に同意を得た患者（150名）を対象に本研究を実施した。咬合力をデンタルプレスケールⅡ[®]、咀嚼能率をグルコセンサー[®]にて測定した。スタディーモデルを作成し模型上でファセット比率を測定した。睡眠時ブラキシズムはウェアラブル筋電計[®]にて評価した。患者の除外基準として、1)顎関節症の存在、2)矯正治療中の患者、3)残存歯が20本未満の患者、および4)過去1年間に歯周治療を受けた患者、とした。

【結果と考察】Stage、Gradeの進行にともない咬合力、咀嚼能率が有意に減少した（ $p<0.01$ ）。Stageの進行とファセット比率の比較ではStageⅢまでは増加傾向を示すがStageⅣで減少した（ $p<0.01$ ）。Gradeが進行するとファセット比率が有意に減少した（ $p<0.01$ ）。しかし、睡眠時咬みしめ回数、咬みしめ強さについては慢性歯周炎患者群と健康者群で有意差を認めなかった。

【結論】歯周病の進行速度が急速な場合、ファセット比率が減少することが示唆された。歯周病の進行程度は睡眠時ブラキシズムの程度に影響を及ぼさないことが示唆された。

O-30

歯周組織再生療法後における口腔関連QOLと疼痛の評価

竹ノ谷 淳

キーワード：歯周組織再生療法、口腔関連QOL、術後疼痛

【目的】近年、歯周治療の評価として、口腔関連QOLなどの患者主体の評価が重要視されつつある。これまでに、エナメルマトリックスデリバティブ（EMD）や塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）製剤を用いた歯周組織再生療法後の、患者の身体的、精神的負担について比較検討した研究はない。本研究は、質問票により歯周組織再生療法後の口腔関連QOLおよび術後疼痛に関する調査を行い、術後の患者負担を評価することを目的とした。

【材料と方法】明海大学歯学部付属明海大学病院歯周病科にて、歯周外科治療を行った慢性歯周炎患者のうち、EMD群46例、FGF-2群35例、対照としてフラップ手術群23例を対象とした。口腔関連QOLはGeneral Oral Health Assessment Index（GOHAI）、術後疼痛はVisual Analogue Scale（VAS）により評価した。GOHAIは各下位尺度（機能面、心理社会面、疼痛・不快）も評価項目とした。調査は術直前（0日目）および術後3、7、14日目に実施した。

【結果】GOHAIは各群で3、7日目に有意に低下し、機能面は各群で、心理社会面はEMD群で3日目に低下した。VASは各群で3日目に有意な上昇がみられ、14日目にFGF-2群がEMD群に対し有意に高かった。VASについて手術部位および年齢で検討したところ、上顎では14日目に、65歳以上では3、14日目にEMD群とFGF-2群との間に有意差を認めた。

【考察】歯周組織再生療法後の患者負担には、各生理活性物質の治療機転の違いに加えて、手術部位や患者年齢などの因子が関与している可能性が考えられた。

O-31

糖尿病を早期に発見する仕組みの構築を目指した歯科医院での血糖値測定研究

原井 望

キーワード：耐糖能異常、歯周病、医科歯科連携強化

【背景・目的】歯周病ではインスリン抵抗性により血糖値が上昇し、管理不良の糖尿病では易感染性により歯周病のリスクが増加する。一方で、歯科医院での血糖値測定は、診療報酬に算定できず、両者の関連性を血糖値のデータを用いて客観的・直接的に証明することは難しい現状がある。本研究は、歯科医院受診者を対象に血糖値をスクリーニングし、内科医療機関への受診を提案することで糖尿病の早期発見と重症化予防の推進を目的とする。

【方法】山梨県内の10歯科医院および7内科医療機関との前向き共同研究である。歯科医院受診者に対して血糖測定を実施し、空腹時血糖値100mg/dL以上または、非空腹時血糖値140mg/dL以上の場合に、共同研究内科医療機関への受診を促す。内科医療機関受診後は75g経口ブドウ糖負荷試験を施行し糖尿病の診断や治療を行う。

【結果】2024年5月20日時点（現在も募集中）で研究参加者は426人である。男性は212人、年齢中央値（四分位範囲）は56（46-65）歳、糖尿病既往を7人に認めた。歯周病重症度別の頻度は、無が1%、軽度が32%、中等度が30%、重度が22%であった。歯科医院での血糖値が基準以上であったのは78人、現時点で内科医療機関を受診したのは27人、内科医療機関で耐糖能異常ありと診断されたのは12人であった。

【成果】歯科医院受診者における耐糖能異常の頻度を検討し、内科医療機関への受診につなげた研究は本研究が初めてである。

【今後】歯科医院での血糖値測定を推奨する患者像を検討し、糖尿病早期発見のための仕組みの構築および内科医療機関へのシームレスな受診を提供できる体制の構築を目指す。