

# 一般演題口演

(B会場・C会場)

B 会 場

O-01~06

O-12~16

C 会 場

O-07~11

O-17~19

5月24日(金) B会場 9:00~10:00, 12:50~13:40  
C会場 9:00~ 9:50, 12:50~13:20

O-01

実験的大腸がんモデルマウスにおける *Porphyromonas gingivalis* が及ぼす影響とそのメカニズムの解析

本杉 駿弥

キーワード：実験的大腸がんモデルマウス、ペリオドンタルメディシン、*Porphyromonas gingivalis*、ヒト腸管上皮細胞

【背景と目的】 下部消化管における炎症やがんの発症・進行について、口腔由来の細菌の関与が報告されている。大腸がんに関しては、主要な歯周病原細菌のひとつである *Fusobacterium nucleatum* の関与が多く報告されているが、その他歯周病原細菌の関連の詳細は不明である。そこで本研究の目的は、薬剤誘導性実験的大腸がんモデルマウスを用いて、*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) および *Prevotella intermedia* (*P.i*) の大腸がんへの影響を検討することである。

【材料と方法】 6週齢のC57BL/6雄マウスにアゾキシメタンを腹腔内投与後、2.5%デキストラン硫酸ナトリウム溶液飲水（7日間）と通常飲水（14日間）を3クール行い、実験的大腸がんを惹起した。*P.g*もしくは*P.i*をカルボキシメチルセルロースにて懸濁し、実験期間にわたり3日に1回の頻度で経口投与した。大腸がんの重症度は、ポリープ数測定および腸管組織の免疫染色にて評価した。また16SrRNA細菌叢解析を行った。*in vitro*においては、ヒト腸管上皮細胞株(Caco-2)を用い、*P.g*もしくは*P.i*の付着能を解析した。

【結果と考察】 *P.g*投与群では対照群と比較し、ポリープ数およびPCNA・β-catenin陽性細胞の有意な増加を認めた。細菌叢解析では顕著な差異は認めなかった。*in vitro*において、*P.g*は*P.i*と比較してCaco-2への付着能が高いことが確認された。以上の結果から*P.g*投与が大腸がんを重症化させること、*P.g*が腸管上皮細胞に対し強い付着力を有することが示唆された。

O-03

歯周病と喘息の関連を探る —歯周病原由来物質感作による喘息誘発—

酒井 嶺

キーワード：歯周病、喘息、好酸球、*F. nucleatum*

【背景と目的】 我々は歯周病と呼吸器疾患（肺炎、COPD、COVID-19、インフルエンザ等）との関連研究を進めている。患者が多い喘息と歯周病との関連に関しては、現状、マウスを使用した数報程度の報告に留まる。使用する菌量や実験条件による影響と考えられるが、歯周病原菌が喘息様症状を悪化させるという報告がある一方で、逆に喘息を軽減させるといった相反する報告も認められる。小児のう蝕の有無で喘息の重症度に差がある報告があるが、口腔細菌と喘息との関係は明らかになっていない。

そこで今回、歯周病と喘息との関連を調べるために、歯周病原菌を種々の条件でマウスに気道内投与することにより、喘息が誘発されるか否かを検証した。

【方法】 マウスに抗原としてday 0, 7, 14にOvalbumin (OVA) を経気道投与した。day 0, 7にアジュバンドとして*F. nucleatum* (F.N), *P. gingivalis* (P.G), *T. denticola* (T.D), *A. actinomycetemcomitans* (A.A), *S. salivarius* (S.S) を投与した。day 16に気管支肺胞洗浄液(BALF)、血清、肺組織等を採取して各群の細胞分画を評価した。

【結果】 OVA単独投与やP.G, T.D, S.S投与群と比較して、少量のF.NとA.A投与群のBALF中細胞分画で、喘息発症において中心的役割を担う好酸球数の増強を認めた。特にF.N投与マウスにおいては、IL-5とIL-13の発現も認められ、F.NがType2炎症を強く誘導することがわかった。

【結論】 F.Nの誤嚥はOVAとのアジュバンド効果で喘息を誘発する可能性が示唆された。

O-02

実験的歯周炎にตอบสนองし発現が上昇した糸球体PGD2はKK-A<sup>y</sup>マウスにおける糖尿病性腎症の増悪に寄与する  
佐藤 晃平

キーワード：実験的歯周炎モデル、KK-A<sup>y</sup>、2型糖尿病、糖尿病性腎臓病、HPGDS

【背景】 糖尿病性腎症 (DN) は歯周炎によって増悪することが示唆されているが、その分子機序は不明である。これまでに、実験的歯周炎により腎糸球体中の造血管型プロスタグランジンD合成酵素 (HPGDS) の発現が上昇し、DNが増悪することを報告した。しかし、HPGDSにより合成されるPGD2の腎症への寄与は不明である。そこでPGD2がDNを増悪する機序を検討した。

【方法】 13週齢のKK-A<sup>y</sup>マウスに6-0絹糸結紮を3週間持続させた結紮群と非結紮群を設定した。それぞれにHPGDS阻害薬 (HQL-79, 30mg/kg) または溶媒を1日1回経口投与し、糸球体組織重量当たりのPGD2量をELISA法で測定した。また通常・高血糖処理をしたマウスメサングウム細胞株CRL-1927、血管内皮細胞株TKD2、マクロファージ細胞株RAW264.7をPGD2で刺激し、24~48時間のHPGDS発現をWB法で、線維化・細胞間結合・炎症関連遺伝子発現をqPCR法で測定した。

【結果】 結紮でKK-A<sup>y</sup>マウス糸球体中のPGD2量は有意に増加し、HQL-79投与で抑制された。CRL-1927では高血糖処理によりHPGDS発現が有意に亢進し、PGD2は高血糖誘導性の線維化関連遺伝子発現を有意に増強した。また、PGD2はTKD2におけるタイトジャンクション関連遺伝子発現を低下させた。一方、RAW264.7ではPGD2による炎症関連遺伝子発現への影響は見られなかった。

【考察】 実験的歯周炎にตอบสนองした糸球体HPGDS発現増大によりPGD2産生が増強し、種々の糸球体構成細胞に作用することでDN増悪に寄与することが示唆された。

O-04

Grade分類における歯肉溝滲出液バイオマーカーとクリニカルパラメータとの相関性

清水 雄太

キーワード：歯肉溝滲出液、Grade分類、PISA、MMP、TIMP

【背景と目的】 ヒト歯肉溝滲出液 (GCF) は、非侵襲的に採取でき、歯周病検査の診断材料の1つとして注目されている。我々は、歯周炎 (Stage) が重症化するとGCF量が増加し、Stage III, IV間にてMMP-9の発現が急増することを示した (2023年春季歯周病学会)。そこで、本研究では歯周病新分類の進行速度 (Grade) ごとにGCF量、総タンパク濃度、MMP/TIMP発現とBOP率、PISAとの相関性を評価し、Grade分類におけるGCF検査の有用性を明らかにする。

【方法】 朝日大学医科歯科医療センターを受診した慢性歯周炎患者約200名を総被験者とし、初診時エックス線写真と歯周組織検査、糖尿病および喫煙の有無からGrade分類した。GCF量を測定後、150μlのPBS中に浸漬、攪拌、遠心した。各GradeごとにGCF中の成分を溶出させ、総タンパク濃度およびメンブレン抗体アレイ、ELISAによるサイトカイン発現を評価した。また、BOP率、PISAとの相関関係も評価した。

【結果と考察】 Gradeが進行するとGCF量および総タンパク濃度が増加した。組織破壊因子のMMP-8、9発現は、Grade BとCを境に亢進し、組織破壊抑制因子のTIMP-1、2発現はGrade BとCを境に減少した。また、BOP率、PISAとの相関関係を比較した際、MMP-8、9では正の相関、TIMP-1では負の相関を示した。本研究から、Gradeが進行するにつれGCFにおけるMMP/TIMP比率のバランスが破綻し、歯周組織破壊が起こると示唆される。これらは、Grade分類するうえでの1つの指標となりえる可能性がある。

O-05

GOHAIを用いた口腔関連QOLの評価と歯周炎重症度との関連性に関する研究

石井 麻紀子

キーワード：口腔関連QOL, GOHAI, 歯周治療

【目的】近年、患者の主観的アウトカムである口腔関連QOL (Oral Health-related Quality of Life) を用いた包括的な歯周治療評価の重要性が認識されている。しかし、口腔関連QOLを低下させる歯周病学的要因との関連性はいまだ明らかとなっていない。そこで本研究は、歯周炎患者の口腔関連QOLおよび歯周病学的パラメータを評価し、歯周炎の進行が口腔関連QOLに及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】明海大学歯学部付属明海大学歯周病科に来院した慢性歯周炎患者68人を患者群、歯周炎に罹患していない者27人を対象群とした。口腔関連QOLの評価にはGeneral Oral Health Assessment Index (GOHAI) を用いた。患者群を歯周炎重症度別にステージIからIV群に分類し、口腔関連QOLとの比較を行った。また、以下の歯周病学的パラメータと口腔関連QOLの関連性を検討した；1) PD, 2) BOP, 3) 歯槽骨吸収率 (BL), 4) 動揺度。

【結果と考察】口腔関連QOLは、ステージI群およびII群と比較し、IV群では有意に低い結果となった。PD, BOP, BLおよび動揺度と口腔関連QOLとの間には有意な負の相関が認められた。さらに重回帰分析において、BLと動揺度が口腔関連QOLに強い影響を及ぼす因子であることが示された。以上の結果から、歯周炎重症度が高くなるのに伴い、患者の口腔関連QOLは低下し、BL、歯の動揺が口腔関連QOLに強く関連することが示唆された。本研究より、口腔関連QOLの評価は、今後の歯周炎患者アセスメントの一助として有効活用されていく可能性が考えられた。

O-06

学会主導型多施設共同研究 ～全身性疾患への影響を考慮した新たな歯周病重症度検査項目の策定～ 口腔内検査データ解析

松田 真司

キーワード：PISA, 多施設臨床研究, 咀嚼能率, 歯周病新分類

【目的】これまで日本歯周病学会主導多施設研究により、periodontal inflamed surface area (PISA) 値と血清IL-6値に強い関係が認められ、PISA値を基準とした治療効果が血清IL-6値の減少に関係していることを報告してきた。本研究で歯周病新分類を基準としたPISA値と咀嚼能率値の分布及びそれぞれのデータの関係性に興味深い知見が得られたので報告する。

【方法】20歳以上で20歯以上が残存している全身的に健康な歯周炎患者を対象とした。StageとGradeで歯周病を分類し、歯周基本治療前後のPISA値および咀嚼能率値を評価した。

【結果】初診時のPISA値はStageやGradeの上昇とともに増加した。Stage II (417.8 (300.7-629.7)), Stage III (991.4 (613.6-1587.3)), Stage IV (1318.8 (750.1-2564.4))であった。Grade A (275.3 (71.9-606.4)), Grade B (723.3 (445.5-1323.3)), Grade C (1126.6 (760.8-1936.0))であった。一方、咀嚼能率値はそれぞれの分類のレベル上昇とともに低下した。初診時の咀嚼能率値に影響する因子は、現在歯数や性別等で調整後もPISA値が強い関係を持ち、咀嚼能率値と負の関連があることが見出された。歯周治療前後のPISA値の有意な減少、咀嚼能率値の有意な上昇が認められた。Stage, Gradeで分類した治療後のPISA値は、Stage IVおよびGrade Cで有意に高かった。

【結論】初診時の歯周炎の新分類のStage, Gradeが上昇するごとにPISA値は上昇し、咀嚼能率値は減少した。また、PISA値と咀嚼能率値に強い負の関連があることが見出された。

O-07

低濃度フッ化ジアンミン銀を用いた新たな歯周病治療の可能性について

坂下 和真

キーワード：フッ化ジアンミン銀, *Porphyromonas gingivalis*, 歯周病, ディスク拡散法, ATP assay

【目的】フッ化ジアンミン銀  $Ag(NH_3)_2F$  (サホライド<sup>®</sup>, SDF) は根面う蝕の進行抑制・予防に用いられる。近年、高齢者の残存歯数の増加により根面う蝕、歯周病の罹患率も増加している。そこで本研究では低濃度SDFを用いた新たな歯周病治療の可能性について検証した。

【材料および方法】GAMブイヨンにて嫌気培養した *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 (*P.g.*) 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<sup>™</sup>を用いて生菌数を判定した。加えて、CellTiter-Glo<sup>™</sup>を用いて歯肉上皮細胞株 (HSC-2) に対する細胞毒性を判定した。

【結果と考察】ディスク拡散法では発育阻止円は0.3% SDFまで形成された。これはYolandraらの研究結果 (2022) と近似している。BacTiter-Glo<sup>™</sup>を用いた実験では1%, 0.1% SDFがATP産生を阻害し菌が死滅した。CellTiter-Glo<sup>™</sup>を用いた実験では0.1%, 0.01% SDFが強い細胞毒性を示し細胞が死滅した。また0.001% SDFでも明確な細胞毒性を認めた。本研究では低濃度SDFが *P.g.* に対して抗菌性があることが示唆された。しかし、この有効濃度はHSC-2に対して細胞毒性を有する結果となった。これは *in vitro* 研究での結果であり、実際の口腔内の影響を踏まえて今後詳細に検討していく必要がある。

【結論】低濃度SDFは歯周病原細菌である *P.g.* に対して抗菌性を示し、歯周病治療に応用できる可能性を見出した。

O-08

サイクロデキストランは *Porphyromonas gulae* および *Porphyromonas gingivalis* によるバイオフィルム形成を阻害し、歯周病菌に起因する口臭や炎症反応を抑制する

福山 朋季

キーワード：犬, 歯周病, サイクロデキストラン, *Porphyromonas gulae*, *Porphyromonas gingivalis*

【目的】獣医領域においても歯周病の蔓延は社会問題となっており、2歳齢までの猫の70%、犬の80%が歯周病に罹患していることが言及されている。歯周病予防には、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少ない。本研究で着目した環状オリゴ糖であるサイクロデキストラン (CI) は、4~33個のグルコースが $\alpha$ -1,6グルコシド結合で環状に連結した環状イソマルトオリゴ糖であり、無味無臭であることから、犬猫の嗜好性が高い。水溶性が極めて高く、犬猫が飲み込んでも問題ないだけの安全性を有する。本研究では、CIの歯周病菌 (*Porphyromonas gulae*, *Porphyromonas gingivalis*) に対するバイオフィルム形成、口臭や炎症反応に及ぼす影響について調査を行った。

【方法】 *P. gulae* および *P. gingivalis* とCI共培養下での生菌数、水溶性/非水溶性グルカンの生成、口臭の主要元素であるメチルメルカプタンの発生およびバイオフィルム形成能を測定した。さらに、CIと共培養した歯周病菌をマウスマクロファージ細胞に添加した際のIL-6産生量を測定した。

【結果】 CIには殺菌効果はなかったが、グルカン生成、口臭の主要元素であるメチルメルカプタンの発生およびバイオフィルム形成能は無処置群と比較して有意に阻害した。また、CIとの共培養によってマクロファージ細胞から産生されるIL-6量も無処置群と比較して有意に減少した。

【結論・考察】 CIは *P. gulae* および *P. gingivalis* によるグルカン形成を有意に阻害する事により、バイオフィルム形成、その後の歯垢形成を阻害し、歯周病菌の定着を防ぐことで口臭や炎症の進行抑制が期待できた。CIは人間および小動物の歯周病ケアに有用であると考えられる。

O-09

ジベプチジルペプチダーゼ阻害薬による歯周病抑制効果の検討

湊 裕佳子

キーワード：ジベプチジルペプチダーゼ, *Porphyromonas gingivalis*, 抗菌活性, 歯周病モデルマウス

【目的】*Porphyromonas gingivalis*の生育に重要なジベプチジルペプチダーゼ (DPP) を標的とした, DPP阻害剤による歯周病抑制効果を明らかにすることを目的とする。

【材料と方法】*P. gingivalis*のDPP構造をもとに阻害剤の設計を行い, ジベプチド化合物を開発した (特願2022-110510)。阻害剤の歯周病原細菌に対する抗菌活性を最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) を指標として評価した。バイオフィームに対する形成阻害作用はクリスタルバイオレット染色にて評価した。9週齢のC57BL/6Nマウスに上顎第二臼歯への絹糸の結紮と*P. gingivalis* W83の経口投与により実験的歯周炎を誘導し, DPP阻害剤20mg/kg/dayを自由飲水にて7日間投与した。歯槽骨吸収量は歯根表面積を測定した。また結紮糸に付着した細菌量は16S rRNAに特異的なプライマーセットを作製しqPCR法で解析を行った。

【結果と考察】DPP阻害剤は*P. gingivalis* W83に対してMIC 1.56μM, MBC 6.25μMと強い抗菌活性を示した。一方, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *S. mitis*に対しては抗菌活性を示さなかった。また, *P. gingivalis*バイオフィームに対して形成阻害作用を示した。歯周炎モデルマウスにおいて, DPP阻害剤の投与により歯槽骨吸収は有意に抑制された。口腔内の総細菌量には変化が無く, *P. gingivalis*量は有意に減少することから, DPP阻害剤が*P. gingivalis*特異的な抗菌活性により歯周病を抑制することが示唆された。

【結論】DPP阻害剤が*P. gingivalis*特異的な抗菌活性により, 歯周病モデルマウスにおける歯槽骨吸収を抑制することが明らかとなった。

O-11

ヒト歯肉線維芽細胞 (hGF) における高グルコースによるエピゲノム異常と阻害剤の検討

小島 健人

キーワード：糖尿病, エピゲノム, 歯肉線維芽細胞

【目的】糖尿病患者は歯周病に罹患しやすく, かつ重症化しやすいがその機序は未だ明確ではない。近年, 糖尿病合併症におけるメタボリックメモリーにエピゲノムが関与するとされる研究が報告されている。本研究では, ヒストンメチル化に着目し, ヒト歯肉線維芽細胞 (hGF) における高グルコースによる影響とヒストンメチルトランスフェラーゼ (HMT) 阻害剤の効果について検討した。

【方法】hGFを高グルコース (27.5mM) 下で7日間培養し, ヒストンメチル化タンパクであるH3K4me3, H3K9me3, H3K27me3を蛍光免疫染色し, 蛍光強度をImage Jを用いて定量化し, 正常グルコース (5.5mM) 群と比較検討した。また, 高グルコースによる炎症性サイトカイン, MMPs及びTIMPsの遺伝子発現をreal-time PCR法にて解析し, 正常グルコース群と比較検討した。さらにHMT阻害剤であるshinifungin (2μM) を投与し, 同様に遺伝子発現の変化を検討した。

【結果】(1) 免疫蛍光染色において, 高グルコース群では正常グルコース群と比較し, 各種ヒストンメチル化タンパクの蛍光強度の変化を認めた。(2) real-time PCRにおいて, 高グルコース群では正常グルコース群と比較し, 炎症性サイトカイン及びMMPsの有意な遺伝子発現の増加を認めた。さらにshinifunginの投与により, 高血糖により増加した遺伝子発現の抑制傾向を認めた。

【結論】高グルコース条件下のhGFにおける遺伝子発現の変化にエピゲノムが関与する可能性が示唆された。

O-10

マウス歯周病炎モデルを用いた歯周組織MAIT細胞の解析

野田 武聖

キーワード：歯周病, 実験的歯周炎モデル, MAIT細胞

【目的】種々の疾患に対する免疫学的研究はこれまでも行なわれてきたが, mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞が近年注目されている。MAIT細胞は皮膚や肺などの特定の組織において固有の機能を示すことが報告されているが, 歯周組織での役割は未だ明らかにされていない。本研究ではマウスモデルを使用し, 炎症歯周組織におけるMAIT細胞の特徴を明らかにすることを目的とした。

【方法】まず定常状態および炎症誘導時における歯周組織・頸部リンパ節・循環血液中のMAIT細胞数と割合をフローサイトメトリーにより解析した。歯周組織に対する炎症惹起は, 絹糸をマウス上顎臼歯周囲に結紮することで行った。次にIL-17A発現調節に重要な転写因子であるRorγtに着目し, 歯周組織MAIT細胞での発現を同様に解析した。また, 歯周組織における炎症性サイトカインの発現についてリアルタイムPCRを用いて検討し, 歯周組織MAIT細胞制御機構の考察を行った。

【結果】歯周組織・頸部リンパ節におけるMAIT細胞数および割合は, 非結紮側と比較した際, 炎症が誘導された結紮側の方で有意に高く, 同細胞はRorγtを強く発現していた。対照的に, 血液中MAIT細胞の割合は絹糸結紮後に減少した。炎症歯周組織では*Il1b*, *Il23p19*といったサイトカインの発現上昇を認めた。

【結論】歯周組織MAIT細胞は炎症状態において誘導され, その機序として炎症性サイトカインによる局所での増殖と血液循環からの移行が考えられた。また, 同細胞は高いIL-17A分泌能を持ち得ることから, 歯周炎を増悪させることが示唆された。

O-12

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:** Cultured periosteal cells (PCs) possess a high bone regenerative potential, and remarkable clinical outcomes of the cell transplantation have been demonstrated. Recombinant collagen peptide (RCP), a synthesized biomaterial containing Arginine-Glycine-Aspartic acid-rich motif, is expected to be beneficial as a bio-scaffold for bone tissue engineering. The aim of this study is to evaluate the biocompatibility of cultured human PCs and RCP.

**Methods:** MTT assay was performed to determine the concentration of RCP treatment *in vitro*. The effect of RCP on cellular adhesion and migration of PCs was examined by cell adhesion assay and migration assay. Alteration of gene expression of PCs after RCP treatment were profiled by using RNA-sequencing and real-time PCR analysis. Furthermore, therapeutic potential of RCP on PCs-induced bone regeneration was evaluated by using a rat calvaria defect model *in vivo*.

**Results:** RCP treatment increased the adhesion and migration abilities of PCs. RNA-seq and qPCR analysis demonstrated RCP treatment altered various gene expressions including extracellular matrix-related genes and osteogenic-related genes. In addition, *in vivo* study suggested the beneficial effect of RCP on PCs-induced bone regeneration.

**Conclusions:** This study suggested that RCP treatment promoted PCs-induced bone regeneration by enhancing cellular adhesion and increasing expressions of genes encoding proteins associated with extracellular matrix and osteogenesis.

O-13

結合組織移植片由来の間葉系幹細胞/間質細胞

森川 暁

キーワード：間葉系幹細胞, 間葉系間質細胞, 結合組織移植片  
 間葉系幹細胞/間質細胞 (Mesenchymal stem/stromal cells: MSCs) は骨髄や脂肪組織, 口腔領域では歯髄に分布し, 細胞培養による分離が比較的容易で, 多分化能を有する細胞集団であることから, 骨や軟骨損傷に対する細胞移植治療, あるいは抗炎症作用と免疫抑制作用を保持していることから, 移植片対宿主病に対する予防や緩和を期待した治療への研究が進められている。本研究では口腔組織の間葉系幹細胞/間質細胞の細胞供給源として, 結合組織移植片に注目した。マウス結合組織移植片由来の細胞は培養ディッシュ上で分化能力を維持したまま増殖させることが可能であり, 線維芽細胞状の形態を示した。また未分化性を維持したまま増殖された結合組織移植片由来の細胞は, 骨細胞, 軟骨細胞等に分化できる能力を有することが明らかとなった。

O-14

TCA サイクル中間生成物  $\alpha$ -ketoglutarate が歯根膜細胞の分化・増殖能維持におよぼす効果

長谷川 龍

キーワード：歯根膜線維芽細胞, 代謝産物,  $\alpha$ -ketoglutarate, ヒストン修飾

【目的】細胞は維持, 増殖, 分化などの様々な細胞活動の過程で代謝が行われ, 代謝産物が生成される。近年, この代謝産物がエピゲノム変化を介して, 遺伝子発現を制御をしていることが報告されている。TCA サイクル中間生成物である  $\alpha$ -ketoglutarate ( $\alpha$ KG) は, ヒストンやDNAのエピジェネティクスな変化を誘導し, 細胞分化・増殖に関与することで, 全身的には骨粗鬆症の改善や, 健康寿命の延伸に影響しているとの報告がある。歯周組織は, 幹細胞から分化した様々な細胞で構成されているが,  $\alpha$ KGが歯根膜細胞の機能に与える影響は未だ不明である。そこで本研究では,  $\alpha$ KG添加が, 歯根膜細胞分化・増殖におよぼす影響ならびにエピジェネティクスな変化を解析することを目的とした。

【材料と方法】ヒト歯根膜線維芽細胞 (hPDL) に  $\alpha$ KG (0, 2, 4mM) を添加し, 硬組織形成誘導培地で培養した。細胞増殖能をWST-8アッセイで測定, アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の測定, アリザリンレッドS染色を行った。また, 硬組織形成関連遺伝子発現の変化をリアルタイムPCR法にて解析した。さらに,  $\alpha$ KGで刺激後にトータルヒストンを回収し, ウェスタンブロッティング法により, ヒストン修飾の変化を解析した。

【結果】 $\alpha$ KGの添加は, hPDLの細胞増殖に影響を与えずに, ALP活性を上昇させた。さらには, 硬組織形成関連遺伝子である, COL1A1, ALP, RUNX2の発現が増加していた。遺伝子発現の制御に関与するH3K4me3, H3K27me3の発現量が分化過程において変化していた。

【考察と結論】 $\alpha$ KGはエピジェネティクスな変化を介し, hPDLの硬組織形成能を増強することから,  $\alpha$ KGを用いた新たな歯周組織再生療法の開発が期待される。

O-15

エムドゲインのプロテオミクス

福田 隆男

キーワード：プロテオミクス, エナメル基質蛋白, エムドゲイン  
 【背景】歯周組織再生に用いられるエナメル基質蛋白 (EMD: エムドゲイン®) は, 「歯の発生環境の模倣による再生」をコンセプトとして25年以上もの長きにわたり使用され, 一定の効果あげてきた。とりわけ, EMDには術後腫脹や血腫がなく治療が良好であることが経験的に知られているが, EMDが炎症を制御する成分およびその機序は未だ不明である。そこで, EMDの含有蛋白について全ての報告を検証したところ, 最新の高感度LC-MS/MS解析を駆使した解析が存在しないことに気づいた。つまり, EMDの微量成分として何が含まれているのか不明のまま使用してきたことになる。そこで, 最新のプロテオミクス技術を駆使した成分の解析を行うことを本研究の目的とした。

【方法】ストローマン社より提供を受けたEMDを, 低発現タンパク質の検出や定量性に優れたSWATH技術を応用したDIA (Data independent acquisition) 法でプロテオーム解析した。同定された含有蛋白をDAVIDによるGOエンリッチメント解析からクラスタ分類し, パスウェイ解析を行った。

【結果と考察】プロテオミクス解析により2806種類のタンパクを同定した。含有蛋白の上位はamelogeninに代表されるエナメルタンパク質およびプロテアーゼ関連蛋白であった。さらに, 増殖因子や歯根膜走化性因子, 発生シグナル促進因子などが確認された。一方, ストレス顆粒関連蛋白, 細胞外小胞 (EV) 関連蛋白も多数同定された。クラスタ分類上位はRNA-binding, Spliceosome, GTP-bindingであった一方, 自然免疫関連クラスタも存在した。パスウェイ解析の結果とあわせ, エムドゲイン含有タンパクの性状を報告する。

O-16

移植幹細胞のアポトーシスが歯周組織再生効果に及ぼす影響の検討

河上 和馬

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

【目的】脂肪組織由来多系統前駆細胞 (ADMPC) を歯周組織欠損部に同種移植した後に生じる同細胞のアポトーシスが, ADMPC移植による歯周組織再生効果に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】SD-Tg (CAG-EGFP) ラットの皮下脂肪組織からADMPCを単離・培養し, *Bcl2*強発現ADMPC (*Bcl2*-ADMPC) を作製した。一方で, SDラットの上顎に歯周組織欠損を作製し, 試験側に*Bcl2*-ADMPC, 対照側にコントロールADMPCを同種移植した。移植1週間後の顎骨を透明化しライトシート顕微鏡にてGFPシグナルを観察するとともに, 移植8週間後における歯周組織再生効果をマイクロCT解析および組織学的解析により評価した。加えて, SDラットの骨髄由来マクロファージをアポトーシス誘導あるいは非誘導ADMPCと共培養し, タイムラプス観察およびflow cytometry解析にてエフェロサイトーシスを検出するとともに, 修復型マクロファージに発現するCD163の発現を解析した。

【結果】*Bcl2*-ADMPC移植側において対照側と比較し, 強いGFPシグナルが移植部位に観察された。また, *Bcl2*-ADMPC移植側において対照側と比較して歯周組織の再生が有意に低下することが明らかとなった。マクロファージとアポトーシス誘導ADMPCの共培養により, エフェロサイトーシスが観察され, エフェロサイトーシスしたマクロファージにCD163の発現を認めた。

【結論と考察】ADMPC同種移植による歯周組織再生効果に, ADMPCのアポトーシスが影響を及ぼすことが明らかとなった。また, その分子機序として, アポトーシスしたADMPCに対する宿主由来マクロファージによるエフェロサイトーシスと, その後の同マクロファージの修復型への変化が関与する可能性が示唆された。

O-17

インプラント周囲軟組織の形態的特徴とインプラント周囲炎の関連を調べる縦断研究

山崎 厚作

キーワード：インプラント周囲炎，インプラント周囲軟組織の形態的特徴，治療結果，後ろ向き研究

【目的】インプラント周囲炎はインプラント周囲溝の感染と炎症によって惹起されるが，インプラント周囲炎とインプラント周囲組織の関わりを評価した研究はほとんどない。演者らは，インプラント周囲軟組織の特徴とインプラント周囲炎との関連性を調べた。

【材料と方法】Yamazakiら（J Pers Med 2022）が報告した89名の患者から，最終補綴物製作用ガム模型を用いてインプラント周囲軟組織の計測が可能な患者（45名）のインプラント体（175本）を研究対象とした。治療予後をMBL3mm未満，非炎症性骨吸収およびインプラント周囲炎の3群に分類した。患者データ（歯周炎の重症度，インプラント周囲骨吸収量（MBL），ガム模型のインプラント周囲軟組織の高さおよび幅）を取得し，SPSSを用いて各種統計分析を行った。

【結果と考察】インプラントレベルの成功は142本（81.1%），非炎症性骨吸収は15本（8.57%），一方インプラント周囲炎は18本（10.3%）であった。インプラント体近遠心部の軟組織の高さおよび幅と治療予後には有意差はみられなかった（ $p>0.05$ ；ANOVA）。一方，各群における近遠心の特徴では，インプラント周囲炎に罹患したインプラント体の近遠心部がインプラント体である確率が高かった。

インプラント周囲溝の高さおよび幅はインプラント周囲炎のrisk indicatorとは考えにくい。一方，インプラント周囲炎に罹患したインプラント体は全て臼歯部で連結されていた。臼歯部への過剰な咬合負担，天然歯と比較してインプラント周囲骨の血流が悪いことやブラックコントロールの困難さがリスク要因なのかもしれない。

【結論】インプラント周囲軟組織の形態的特徴よりもインプラント体連結がインプラント周囲炎のrisk indicatorになり得る。

O-19

繰り返し荷重負荷によるインプラント-アバットメント接合部の経年変化に関する基礎研究

塩田 幸一朗

キーワード：インプラント-アバットメント接合部，封鎖性，経年変化，繰り返し荷重

【背景】インプラント-アバットメント接合部（IAI）封鎖性が低下するとIAIへの細菌侵入量が増加し，インプラント周囲疾患発症のリスクが高くなることが示唆されている。上田らは，300N，15Hz，100万回の繰り返し荷重負荷によりIAI封鎖性が低下することを示しているが，荷重回数の増加にともなうIAI封鎖性の変化についてはまだ明らかではない。そこで本研究の目的は，荷重回数を増加させた場合のIAI封鎖性を評価し，機能年数に応じたIAIの経年変化を検討することとした。

【材料と方法】チタン合金（Ti-6Al-4V）で製作したコニカルコネクションのインプラントを使用した。ISO14801に準拠する方法で300N，15Hzの繰り返し荷重をアバットメントに負荷した。荷重回数は25万回，50万回，および100万回に設定し，荷重回数に応じたIAIおよびインプラント体プラットフォーム内径の変化を評価した。

【結果】繰り返し荷重負荷前後の比較においては，25万回，50万回，および100万回でいずれもIAIとインプラント体プラットフォーム内径が有意に拡大することが示された（ $p<0.05$ ）。また，荷重回数別の拡大量の比較においては，25万回，50万回，および100万回の間で群間差が認められ，荷重回数の増加にともない拡大量が増加することが示された（ $p<0.05$ ）。

【考察】本研究の結果から，インプラントの機能年数の長期化に伴い，IAIおよびインプラント体プラットフォーム内径は拡大し，インプラント周囲疾患発症のリスクが高くなる可能性が示唆された。

O-18

低出力パルス超音波が遊離歯肉移植術後の創傷治癒に与える効果

大塚 秀春

キーワード：低出力パルス超音波，遊離歯肉移植術，創傷治癒，血管内皮細胞増殖因子

【目的】遊離歯肉移植術は，天然歯やインプラント周囲の角化組織の増大に用いる手術方法であるが，移植片の供給側である口蓋部が開創となることから術後出血，疼痛などが生じやすい。本研究は，遊離歯肉移植術後の供給側歯肉に対する低出力パルス超音波（LIPUS）の効果の評価することを目的とした。

【材料と方法】実験には，8週齢の雄性Wistar系ラット20匹を用いた。照射（IR）群と非照射（N-IR）群を設定し，実験期間は7日および14日とした。全身麻酔下で4×2mmの実験的粘膜欠損を形成し，IR群では，術直後にオステオトロンV（伊藤超短波，東京）を用いてLIPUSを周波数1.5MHz，20分間照射した。評価方法は，（1）肉眼的形態観察，（2）画像分析による形態評価，（3）組織形態評価，および（4）血管内皮細胞増殖因子（VEGF）発現の免疫組織学的評価とした。

【結果とまとめ】画像分析による形態評価では，IR群の創傷部の頬口蓋方向の最長径は，術後7日目ではN-IR群と比較して有意に小さかった。創傷面積では，IR群は，術後7および14日目で，N-IR群と比較して有意に小さかった。組織学的評価では，IR群の術後7日目では創傷中央部の閉鎖が見られたが，N-IR群では見られなかった。VEGFの免疫組織学的評価では，IR群の術後7日目の上皮直下の結合組織に強い陽性所見が観察された。以上の結果から，遊離歯肉移植術後の供給側歯肉へのLIPUS照射は，術後早期の軟組織の治癒を促進させる可能性があることが示唆された。