

一般演題ポスター

(ポスター会場)

ポスター会場

5月24日 (金)	ポスター掲示	8:30~10:00
	ポスター展示・閲覧	10:00~17:30
	ポスター討論	17:30~18:10
	ポスター撤去	18:10~18:40

P-01~39



P-01

*Porphyromonas gingivalis*由来OMVsによるアストロサイト
サイトのNLRP3インフラマソーム活性化機構

高井 彩有

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, Outer Membrane Vesicles, アストロサイト, NLRP3インフラマソーム

【目的】*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) から産生される膜小胞Outer Membrane Vesicles (OMVs) は, *Pg*の病原因子の大半を含み体内の細胞に病的な反応を誘導する。本研究では, 歯周病によるアルツハイマー型認知症など神経変性疾患の発症機序の解明を目指す。今回は, 脳グリア細胞であるアストロサイトにおいて, *Pg*-OMVsがNLRP3インフラマソームを活性化する機構を検討した。NLRP3インフラマソームとは, Casp-1を活性化し, IL-1 β を分泌させる細胞内タンパク質複合体である。

【材料・方法】ヒトアストロサイト (SVG-p12) を培養し, *Pg*-OMVsを5000ng/mL添加した。添加後0~180分間にtotal RNAを回収し, IL-1 β とNLRP3の発現をreal-time PCRで解析した。また, *Pg*-OMVs添加30分後および60分後にNLRP3抗体で免疫蛍光染色し, NLRP3の局在を蛍光顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

【結果】*Pg*-OMVs添加120分後において, IL-1 β のmRNA発現は非添加群と比較し有意に亢進したのに対し, NLRP3のmRNA発現は変化が認められなかった。また, 非添加群でSVG-p12の細胞質に観察されたNLRP3は, *Pg*-OMVs添加60分後にはミトコンドリアと思われる部位に局在変化した。

【考察】NLRP3はミトコンドリアに移行して活性化する。本研究結果から, *Pg*-OMVsによりNLRP3が活性化した可能性がある。NLRP3の局在をより明確にするには, ミトコンドリアマーカーを用いて検証する必要がある。今後は, NLRP3インフラマソームの活性化機構を明らかにするために, Casp-1の活性化やIL-1 β の分泌の様相についても解析する予定である。

P-03

*Porphyromonas gingivalis*由来外膜小胞 (OMVs) が
骨芽細胞に及ぼす影響

仲村 大輔

キーワード：外膜小胞, OMV, ポルフィロモナス ジンジバリス, 骨芽細胞, MC3T3-E1細胞, RANKL, OPG, ALP

【目的】外膜小胞 (OMVs) は細菌の外膜から放出される直径100nm前後の小胞で, 菌固有の核酸やタンパク質などを含んでいる。歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) はOMVsを産生し, 歯周組織を構成する様々な細胞に影響を与えることが報告されている。我々の研究室では*Pg*-OMVsが破骨細胞の分化を促進し, *in vivo*で歯槽骨吸収を引き起こすことを明らかにした。そこで今回, *Pg*-OMVsの骨代謝への影響を調べるために骨芽細胞に対する作用を検討した。

【材料と方法】*Pg*-OMVsは市販のキットを用いて精製し, *Pg*-LPSのエンドトキシン活性を指標に濃度を設定した。まずMC3T3-E1細胞を*Pg*-OMVs (0~200ng/mL) で48時間刺激して細胞毒性を調べた。次に石灰化誘導培地で培養したMC3T3-E1細胞を回収して, RANKLとOPGのmRNA発現をリアルタイムPCR法で解析し, RANKLのタンパク発現をELISAにて定量した。またALP活性の測定とvon Kossa染色による骨様結節の計測を行い, 石灰化への影響を調べた。

【結果と考察】*Pg*-OMVsは150ng/mL以上の濃度で, MC3T3-E1細胞の生存率を有意に低下させた。そして*Pg*-OMVsは濃度依存的にmRNAレベルでRANKLの発現上昇とOPGの発現低下を導き, RANKLのタンパク発現を上昇させた。さらに*Pg*-OMVsは濃度依存的にALP活性を低下させ骨様結節の形成も抑制した。以上の結果より, *Pg*-OMVsは骨芽細胞のRANKL発現上昇とOPG発現やALP活性低下により, 石灰化を抑制することが示唆された。

P-02

*Porphyromonas gingivalis*のOuter membrane vesiclesが血管透過性に与える影響

芽形 真奈

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, Outer Membrane Vesicles, 血管透過性, Rhoキナーゼ

【目的】*Porphyromonas gingivalis*が放出する細胞外膜小胞 (Outer membrane vesicles, OMVs) は, *Pg*の病原因子の大半を包含し血管経路で全身疾患に関与する可能性が提唱されているが, 血管機能に及ぼす直接的な影響は解明されていない。そこで今回, *Pg* OMVsの血管透過性への影響を解析した。

【材料と方法】*Pg* ATCC33277の培養上清から抽出した*Pg* OMVsをマウス皮下組織に作用させたMiles assayにより, またHUVECやHPMECに作用させTranswellと蛍光標識デキストランを用いたassayにより血管透過性を測定した。次に, PhalloidinやVEcの免疫染色によりストレスファイバー形成を, ウェスタンブロット法でVEcの発現変化を検出した。またVEc発現変化におけるリソソーム/後期エンドソーム経路の関与を, リソソーム阻害剤を用いて検討した。さらに, ジンジバイン欠損型*Pg*由来OMVsやRhoキナーゼ阻害剤を用いて, *Pg* OMVsによるジンジバインやRhoキナーゼへの影響を検討した。

【結果と考察】*Pg* OMVsは, マウス皮下組織あるいはHUVECやHPMECでの血管透過性を亢進させ, またストレスファイバー形成やVEc蛋白のレベル低下を誘導した。chloroquineで前処理したHUVECでは*Pg* OMVsにより核周辺に小胞状のVEcの集積を認め, その一部がLAMP1の局在と一致したことから, *Pg* OMVsによるVEc蛋白のレベル低下はリソソーム/後期エンドソームによる蛋白質分解経路の亢進が一因であることが示唆された。一方, ジンジバインはストレスファイバー形成やVEc蛋白の分解に関与しなかった。さらに, Rhoキナーゼ阻害剤でこれらが解除されたことから, *Pg* OMVsが誘導する血管透過性亢進にRhoキナーゼが重要な役割を担うことが示唆された。

P-04

カチオン性コメペプチドによる*Porphyromonas gingivalis*
バイオフィーム阻害効果の検討

安藤 大樹

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, バイオフィーム, ペプチド

【目的】慢性腎臓病患者の治療食である低タンパク米製造過程の副産物から発見されたコメ由来ペプチド (Taniguchi M, 2020) について, 歯周病原細菌に対する抗菌活性とバイオフィームに与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】カチオン性を有するコメ由来ペプチド (アミノ酸配列: KRKARKKGRFSKK) について, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277株, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) と最小殺菌濃度 (MBC) を測定した。また, propidium iodide染色を用いて, ペプチドによる細胞膜傷害性を評価した。バイオフィーム形成阻害作用および成熟バイオフィームに対する除去作用をCV染色にて検討した。また, クオラムセンシングに関連するオートインデュサー-2 (AI-2) 阻害活性を, *Vibrio harveyi* BB170の発光測定により評価した。

【結果と考察】コメ由来ペプチドの*P. gingivalis*に対して殺菌的抗菌作用を示し, MICは200 μ Mであった。Propidium iodide染色にて, ペプチド添加による膜透過性の亢進が認められた。また, ペプチドが*P. gingivalis*のバイオフィーム形成を阻害することが示された。AI-2に誘導される発光にペプチド添加の影響はなく, クオラムセンシング阻害活性は認められなかった。

【結論】コメ由来ペプチドが*P. gingivalis*に対して抗菌活性を示し, バイオフィーム阻害作用を示すことが明らかになった。

P-05

ヒトとカリフォルニアアシカ (*Zalophus californianus*)
における歯周病原性細菌の交差感染

島津 徳人

キーワード：歯周病, 交差感染, ヒト, カリフォルニアアシカ

【目的】ヒトにとどまらず、動物園や水族館の展示動物においても高齢化が進み、多くの動物で歯周病の増加が問題視されている。ヒトとイヌ・ネコとの間で歯周病原性細菌の交差感染を示唆する報告があるが、展示動物と飼育員との間で歯周病原性細菌の交差感染が生じているのか実態は不明である。本研究では、展示動物の歯周炎の有病状況を明らかにするとともに、ヒト歯周病原性細菌による人獣共通感染症の実態を把握することを目的とした。

【材料と方法】国内の施設で飼育されているカリフォルニアアシカ7頭とその飼育員6名を解析対象とした。歯肉溝滲出液は、歯肉溝に歯科用ペーパーポイントを1本挿入し、5~10秒間静置して採取した。得られた歯肉溝滲出液からDNAを抽出し、増幅と蛍光標識を行った。高病原性の歯周病原性細菌であるRed complexなど計28種類のヒト歯周病原性細菌を検出するプローブを搭載したDNAチップ（三菱ケミカル）とハイブリダイゼーションさせ、蛍光強度を測定した。

【結果と考察】カリフォルニアアシカとその飼育員の歯肉溝滲出液を対象とした解析結果から、すべてのアシカから高病原性のRed complexと低病原性のOrange complexに属するヒト歯周病原性細菌群が検出された。注目される所見として、アシカのRed complexとOrange complexの感染パターンが、飼育員の歯周病細菌感染パターンに類似することが判明した。一方で、善玉菌や弱毒菌であるGreen/Blue/Purple/Yellow complex細菌群の多くは飼育員からは検出されたが、アシカからは検出されなかった。

【結論】以上のことから、ヒトとアシカとの間でRed complexやOrange complexに属する歯周病細菌が交差感染していることが推察され、歯周病が人獣共通感染症となっている可能性が示された。

P-07

実験的歯周炎モデルマウスに対する熟成ニンニク抽出液の効果

Canyan Kuang

キーワード：歯周病, 抗炎症, 植物化学, 熟成ニンニク抽出物

Objective: Aged garlic extract (AGE), extracted from aged garlic in a water-ethanol mixture for more than 10 months, shows anti-inflammatory effects in various diseases. Clinical studies showed that AGE improves the periodontal probing depth, indicating the potential of AGE in the prevention and treatment of periodontitis by Zini (2020). However, the specific mechanism of action of AGE is unclear. In this study, we investigated the effects of AGE on inflammatory factors in a mouse model of periodontitis.

Materials and methods: AGE (0.2g/mL) and pure water were pre-administered for 3 days, to two groups with 15 mice each. Ligature-induced periodontitis was prepared in the left maxillary second molar with the same administration every day for seven days. Blood biochemical tests, alveolar bone resorption, and mRNA expression of inflammatory cytokines quantified by quantitative PCR were compared (one-way ANOVA and Student's t-test).

Results: Bone resorption in the AGE group was lower than in the control group ($P=0.01$), and the mRNA expression of *Tnf- α* was inhibited on the AGE ligation side ($P=0.04$). In addition, there was no statistically significant difference in total protein and albumin levels in the blood between the two groups.

Conclusion: We demonstrated that AGEs may inhibit inflammation and alveolar bone resorption in periodontal disease *in vivo*.

P-06

a-PDTによるマウス歯周炎発症モデルを用いた歯周炎抑制効果の検討

刈谷 匠吾

キーワード：歯周炎, a-PDT, マイクロCT, 歯槽骨吸収, 生菌数

【目的】抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy: a-PDT) は海外において歯周炎、歯内病変、インプラント周囲炎の治療法の1つとして広く用いられている。a-PDTは、光感受性薬剤とレーザー光照射による光化学反応を利用している。Wilson (1992)らの報告以降、様々な条件下でa-PDTによる歯周病原細菌に対する殺菌効果や歯周治療効果について検討されてきた。しかし、歯周病進行に対するa-PDTの抑制効果についての検討は少ないことから、本研究ではa-PDTによるマウス歯周炎発症モデルの歯周炎の抑制効果について検討した。

【材料および方法】6週齢C57BL/6雄性マウス ($n=20$) の上顎右側第二臼歯歯頸部に対して5-0絹糸を14日間結紮し、実験的歯周炎を惹起させた。その間に各6回ずつa-PDTを行った。a-PDTはPACT400, PeriowaveTM, FotoSan[®]Blueの3種を用いた。結紮部の歯槽骨吸収程度はマイクロCTを用いて定量的に計測した。結紮糸に含まれる細菌量については培養法にてCFUを計測した。

【結果と考察】照射群と非照射群共に照射部位周囲の組織に著明な腫脹や発赤など炎症所見は肉眼的に観察されなかった。また、生菌数は減少傾向を認めるも有意な差は認めなかった。マイクロCTによる骨吸収量評価では照射群で有意な歯槽骨吸収を抑制した。

【結論】実験的歯周炎モデルマウスにおいてa-PDTは歯周炎の進行を抑制できる可能性が示唆された。

P-08

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惹起組織における免疫応答

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】糖尿病は、歯周炎の新分類に導入されたように、重大なリスク因子となっている。そこで本報告は、ストレプトゾトシン (STZ) により高血糖を呈したマウスの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絹糸を結紮した群 (歯周病群：P群)、STZを投与した群 (糖尿病群：D群)、STZを投与し、P群と同様に結紮した群 (糖尿病-歯周病群：PD群)。糖尿病と診断されたマウスは、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、上顎左側の口蓋歯肉に対しては、qRT-PCR法による遺伝子解析および μ CTによる歯槽骨の骨構造解析を行った。さらに、末梢血および脾臓のリンパ球を採取し、免疫学的解析を行った。

【結果】歯肉組織中において、IL-17およびFoxp3の遺伝子発現量がC群と比較してPD群で有意に増加した。IL-17については、P群と比べPD群で有意に増加した。これらの結果は、病理組織学的所見とも一致しており、PD群と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、歯槽骨高さ、BV/TVおよびBMDがP群と比較してPD群で有意に低下した。さらに、免疫学的解析の結果、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺細胞数がC群と比較して、末梢血においてはP群とPD群、脾臓においてはD群で有意に増加した。

【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免疫寛容に影響を与えることが示唆され、歯肉組織の炎症と骨破壊を増悪させた。今後は、更なる免疫学的解析を進める。

P-09

実験的歯周炎、糖尿病、動脈硬化症に対する老化細胞除去効果

小山 尚人

キーワード：セノリティクス、D+Q、老化細胞、糖尿病、歯周病、動脈硬化症

【目的】近年、歯周炎（P）、糖尿病（DM）、動脈硬化症（ATH）を代表とする生活習慣病に共通した病因として老化が注目されている。老化の基盤病態として慢性炎症が報告されており、これには老化細胞が誘導する細胞老化随伴分泌現象が深く関与している。そこで今回、加齢マウスを使用して実験的P、DM、ATHに対して老化細胞除去による病態改善効果を観察した。

【材料と方法】C57BL/6マウスとApoE^(-/-)マウスの合計129匹を実験に供した。これらのマウスをコントロール、P、DM、ATH、P+DM、P+ATH、DM+ATH、P+DM+ATHの8グループに分けた。さらに各グループを老化細胞除去薬投与群と非投与群に分け、72週（1.5年）齢まで飼育した。P群は臼歯に絹糸を2週間結紮、DM群はStreptozotocinとNicotinamideを6週齢時に2日間投与し誘導、ATH群はApoE^(-/-)マウスを適用した。老化細胞除去薬は、Dasatinib[®]とQuercetin[®]溶液（D+Q）を56週齢より4ヶ月間経口投与した。評価は、歯肉のSA-β-gal染色による老化細胞染色面積の計測、μ-CT解析による歯槽骨吸収、空腹時血糖値、動脈内腔の脂肪沈着率、血清中のIL-6濃度測定を施行した。

【結果と考察】マウスは実験終了時86匹に減少した。老化細胞は、すべてのD+Q投与群で有意に染色面積が減少し、歯槽骨吸収量、血糖値も減少傾向であった。動脈内腔脂肪沈着率、IL-6濃度は有意に減少した。

【結論】D+Q投与で老化マウスの老化細胞除去効果と各疾患の病態改善が観察されたことから、歯周病をはじめ糖尿病、動脈硬化症に対して老化細胞除去療法が効果的であることが示唆された。しかし各疾患の合併症では病態の悪化傾向はみられたが、疾患単独群との有意な差はみられなかった。

P-11

アメリロジェニンが他家皮膚移植モデルマウスの拒絶反応に及ぼす影響

信太 実有

キーワード：アメリロジェニン、他家皮膚移植、創傷治癒

【目的】歯周組織再生療法に用いられるエナメル基質蛋白質は処置後の炎症反応に乏しく治癒機転が良好であることが経験的に知られている。先行研究にて、アメリロジェニンがマクロファージ核内に取り込まれた後、ヒストンH3のユークロマチン抑制を介して、主要組織適合遺伝子複合体クラスII（MHC II）を抑制し、結果的に抗原提示能を低下させることを報告した。しかしながらその生理的意義は不明である。本研究ではハプロタイプ抗原の異なるマウス間で皮膚移植を行い、アメリロジェニンが移植片拒絶反応に与える影響を検証した。

【方法と結果】C57BL/6Jマウスから採取した背面皮膚に組換えアメリロジェニンを塗布しBALB/cマウス受容部に移植した結果、PBS塗布対照群と比較して移植片の生存期間中央値が6日間延長し、移植片壊死面積も減少した。移植7日後の皮膚組織像では対照群で著しい炎症性細胞浸潤が確認されたが、アメリロジェニン塗布群では免疫細胞数とMHC II⁺細胞数が有意に減少した。末梢血中の炎症性サイトカイン量測定において、アメリロジェニン塗布群ではIFN-γとIL-2量の低下が観察された。他家移植による脾臓への影響を検証した結果、対照群の脾臓ではサイズの肥大化が観察された一方、アメリロジェニン塗布群では総重量および細胞数が有意に減少した。特にアメリロジェニン塗布群でCD4⁺細胞とCD19⁺細胞が減少し、中でもIFN-γ⁺CD4⁺細胞は減少したがCD25⁺Foxp3⁺CD4⁺細胞は逆に増加した。

【結論】以上の結果から、アメリロジェニンによる歯周外科術後の創傷治癒促進機序や、根面被覆のための歯肉移植術におけるアメリロジェニン応用の科学的根拠の一端が説明でき、将来的にアメリロジェニンが臓器移植医療の場などで免疫抑制剤として応用できる可能性が示唆された。

P-10

Cinnamaldehydeの抗バイオフィーム効果と歯槽骨吸収抑制作用

野中 由香莉

キーワード：Cinnamaldehyde、バイオフィーム、*Porphyromonas gingivalis*

【目的】TRPA1チャネルアゴニストであるCinnamaldehyde（CA）は、腫瘍や糖尿病の抑制効果や、ピロリ菌やサルモネラ菌に対する抗菌作用が報告されている。本研究では、CAの歯周病原細菌に対する抗菌、抗バイオフィーム効果および歯周病マウスモデルにおける歯槽骨吸収抑制能について検討した。

【材料と方法】*Porphyromonas gingivalis*、*Fusobacterium nucleatum*など、各種細菌に対するCAの抗菌活性を最小発育阻止濃度（MIC）と最小殺菌濃度（MBC）にて評価した。抗バイオフィーム作用はCV染色を用いて評価した。9週齢のマウスC57BL/6Nの上顎第二臼歯への絹糸の結紮と*P. gingivalis*の経口投与により歯周病マウスモデルを作製した。結紮3日目から20mg/kg CAを1日1回経口投与した。結紮7日後の歯槽骨吸収量は実体顕微鏡下にて測定した。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】CAは*P. gingivalis*に対して強い抗菌活性を示した。また、*P. gingivalis*バイオフィームの形成阻害作用に加えて、成熟バイオフィームに対する除去作用を示した。また、歯周病マウスモデルにおいてCAは歯槽骨吸収を有意に抑制した。歯牙周囲のバイオフィーム量がCA投与によって有意に減少しており、CAは抗バイオフィーム効果によって歯周組織破壊を抑制する可能性が示唆された。

【結論】CAは*P. gingivalis*に対して殺菌的抗菌活性を示し、バイオフィーム形成を阻害し、成熟バイオフィームを除去した。また、歯周病モデルマウスにおいて、バイオフィーム量を減少させ、歯槽骨吸収を有意に抑制することが明らかになった。

P-12

Dec2の欠損は、歯周病の炎症とパイロプトーシスを刺激する

岡 俊一

キーワード：歯周病、パイロプトーシス

【目的】炎症反応を惹起するインフラソームの活性化は、ガスタービンDを介しパイロプトーシスを引き起こす。分化胚性軟骨細胞発現遺伝子（Dec2）は、自然免疫反応や炎症反応に関する遺伝子の発現を制御する転写抑制因子であるが、歯周組織のインフラソーム誘発性パイロプトーシスに及ぼす影響は、まだ解明されていない。本研究では、Dec2がインフラソームの活性化と*P. gingivalis*のLPS誘発性パイロプトーシスに及ぼす影響を評価することを目的とした。

【材料と方法】ヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）とヒト歯根膜線維芽細胞（HPDLFs）を*in vitro*で、*P. gingivalis* LPSで刺激した。歯周炎モデルマウス（野生型、Dec2KO）を作成し、歯周組織のパイロプトーシスを観察した。

【結果と考察】*gingivalis* LPSは、カスパーゼ-1、カスパーゼ-11およびNF-κBを活性化した。LPSによって、IL-β、Dec2、カスパーゼ-1、GSDMDの切断、NF-κBのリン酸化およびリン酸化したNF-κBの核移行がみられた。Dec2の欠損は、カスパーゼ-1とGSDMDの活性化、NF-κBのリン酸化およびIL-βの発現が抑制された。Dec2KOマウス歯周炎モデルでは、GSDMDが誘導され、リン酸化NF-κBの発現レベルが上昇した。

【結論】*P. gingivalis*による歯周組織の炎症には転写因子Dec2が関与しており、Dec2の欠損は、過剰な炎症反応が起こり、最終的には歯周細胞のパイロプトーシスや歯周組織の破壊につながる事が明らかになった。

P-13

犬の歯周病菌 *Porphyromonas gulae* 感染により作製した歯周病モデルマウスにおける粘土鉱物であるベントナイトの歯周病予防効果の検討

市川 菜南

キーワード：歯周病, ベントナイト, *Porphyromonas gulae*, 獣医療
【目的】 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おり、人間と同様に歯磨きやサブリメントを用いたホームケアが重要となる。本研究で着目した粘土鉱物であるベントナイト (Bt) は、犬の歯周病菌 *Porphyromonas gulae* (*P. gulae*) と結合することによる細菌数の減少およびバイオフィーム形成阻害効果が認められている。本研究では、*P. gulae* 感染により作製した、歯周病モデルマウスにBtを投与した際の歯周病病態発症に対する予防効果を検討した。

【方法】 6週齢の雌性BALB/cマウスに *P. gulae* (1×10^9 CFU/200 μ L) を7日間強制経口投与し、最終投与の3日後から2日おき5回、*P. gulae* (1×10^9 CFU/20 μ L) をイソフルラン吸入麻酔下で上顎へ口腔感染させる事で *P. gulae* 誘発歯周病モデルを作製した。Btの歯周病発症予防効果を検討するため、無処置群、歯周病群 (*P. gulae* 感染) およびBt投与歯周病群 (*P. gulae* にBt 30mg/mlを混合) を設定し、腸管免疫および歯周病病態を比較した。

【結果・考察】 歯周病群で無処置群と比較して腸間膜リンパ節中のT細胞数の増加傾向が認められたが、Bt投与群では歯周病群と比較してT細胞数の減少傾向がみられた。歯周病態の評価では、歯周病群で無処置群と比較して歯槽骨頂からエナメル質とセメント質の境界までの距離が有意に長くなっていたが、Bt群では歯周病群と比較して短くなる傾向が確認された。Btは *P. gulae* と結合することにより、犬の歯周病発症によって起こる免疫変化および歯茎の弛緩を軽減する可能性が示唆された。

P-15

Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) 関連肝細胞がんと口腔・腸内における歯周病原細菌の関連性

松井 嵩昌

キーワード：肝細胞がん, MASH, 口腔内細菌叢, 腸内細菌叢

【背景と目的】 Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH: 旧NASH) 関連肝細胞がん (HCC) の発症・進行機構には、多数の因子が並行作用する Multiple parallel hits 仮説が提唱されており、歯周病原細菌も様々な段階で関与すると考えられている。本研究の目的は、口腔・腸内細菌叢データ分析からMASH-HCCと歯周病原細菌の関連を明らかにすることである。

【材料と方法】 横浜市立大学附属病院消化器内科に通院または入院しているMASH患者41名およびMASH-HCC患者19名を被験者とし、洗口吐出液の採取と糞便の回収を行った。採取したサンプルから細菌DNA抽出、16S rRNA 遺伝子の増幅、MiSeq シーケンサーによる塩基配列の解読および細菌叢解析を行った。

【結果】 MASHに比べて、MASH-HCCの糞便中 *Butyricoccus* 属と *Roseburia* 属の占有率は有意に低く、*Fusobacterium* 属は有意に高かった。因果関係を示すベイジアンネットワーク解析の結果、MASH-HCCが口腔内の歯周病原細菌と糞便中細菌に影響を与えていた。また、口腔内 *P. gingivalis* が糞便中 *Blautia* 属と *Butyricoccus* 属に間接的に影響していた。

【結論】 MASH-HCCが口腔内の歯周病原細菌と腸内細菌に対し、直接的に影響を与えていることが示唆された。また、口腔内 *P. gingivalis* がHCCと関連している腸内細菌に対して、間接的に影響している可能性が示された。

P-14

関節リウマチ患者の歯周炎, シトルリン化関連因子, および腎機能の関連性の解析

小林 哲夫

キーワード：歯周炎, 関節リウマチ, シトルリン化, 腎機能

【目的】 歯周炎と関節リウマチ (RA) は関連し、ともにシトルリン化や腎機能とも関連することが示唆されている。そこで本研究では、RA患者の歯周炎, シトルリン化関連因子, および腎機能の関連性を検証する。

【方法】 新潟県立リウマチセンターにてインフォームドコンセントが得られたRA患者127名を対象に、1) 歯周検査, 2) リウマチ検査, 3) 血清検査, 各々の結果を後ろ向き調査にて回収した。腎機能指標として、血清クレアチニン値から推定糸球体濾過量 (eGFR) を推算し、評価した。

【結果】 対象RA患者127名のうち、腎機能指標G1, G2, およびG3 (eGFR $\geq 90, 60-89$, および $30-59$ mL/min/1.73m²) は、各々49名, 58名, および20名であった。G1+G2群と比べてG3群では、平均年齢 ($p = 0.002$), 喫煙 ($p = 0.01$), プロービング深さ ≥ 4 mm・臨床的付着レベル ≥ 4 mmの部位比 ($p = 0.03 \cdot p = 0.02$), *Porphyromonas gingivalis* に対する免疫グロブリンG (anti-Pg IgG) レベル ($p = 0.04$) が有意に高値であった。また、2変数解析ならびに年齢・性別・喫煙・合併症・投薬を調整した多重回帰解析の結果では、anti-Pg IgGレベルはeGFR値と有意な関連 (ともに $p < 0.001$) を示したが、歯周炎指標、抗環状シトルリン化ペプチド抗体, および好中球細胞外トラップは関連しなかった。

【結論】 RA患者における *P. gingivalis* 感染と腎機能の関連が示唆された。

P-16

歯周病が呼吸器疾患に及ぼす影響 — *P. gingivalis* ジンジバインによるMUC5AC発現とムチン産生の誘導 —

渡辺 典久

キーワード：歯周病, 肺炎, ジンジバイン, ムチン, MUC5AC

【目的】 口腔細菌の誤嚥がどのように肺炎やCOPDの進行に関与しているのか、その機序に関してはよく解っていない。我々はこれまでに、歯周病原菌が肺炎起因菌の受容体や炎症性サイトカインを誘導することなどを報告してきた。肺炎やCOPD患者の下気道におけるムチンの過剰産生は喀痰過多の原因となるのみならず、気管支の狭窄をもたらす呼吸機能の低下を引き起こすことが知られている。今回、歯周病原菌がムチンのコア蛋白であるMUC5ACの発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】 *P. gingivalis* (*P. g.*) 標準株及びジンジバイン欠損株の培養上清を呼吸器上皮細胞株とヒト由来気管支上皮細胞に添加後、MUC5ACの発現を定量した。また、マウスに *P. g.* 培養上清を誤嚥させ、肺におけるMUC5ACとムチンの発現を免疫染色とPCRで検討した。

【結果と考察】 *P. g.* 培養上清は呼吸器上皮細胞株において濃度依存的にMUC5ACの発現を誘導した。本作用は、*P. g.* のLPSと線毛では認められなかったことからジンジバイン (KgpとRgp) に着目した。各欠損株を用いた実験から、*P. g.* によるMUC5ACの発現には特にRgpが深く関与していることが明らかとなった。同様の結果は、プライマリー気管支上皮細胞を用いた実験においても認められた。さらに、マウス肺においても *P. g.* はMUC5ACの発現とムチンの産生を強く誘導した。しかし、Rgp欠損株誤嚥マウスにおいては同作用は認められなかった。

今回新たに、*P. g.* がジンジバインを介してMUC5ACの発現を誘導し、ムチンの過剰産生を引き起こすことにより呼吸機能の低下に関与していることが示唆された。

P-17

重度歯周炎は三叉神経中脳路核の神経変性を生じ細胞外Aβを増加させる

南 総一郎

キーワード：歯周炎, アルツハイマー病, アミロイドβ

【目的】アルツハイマー病 (AD) を増悪させるリスクファクターとして以前より歯周炎が挙げられているが、詳細なメカニズムは不明である。本研究では歯根膜周囲で圧覚を受容する三叉神経中脳路核(Vmes)に着目し、重度歯周炎がVmesの神経変性およびAβ₁₋₄₂オリゴマー放出を促すかどうかについて明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】2ヵ月齢のADモデルマウスAPP^{ML-G-F}の上顎右側第二臼歯 (M2) に絹糸を結紮し1回/3日、*Porphyromonas gingivalis* 菌のLPS (1mg/ml, 1回10μL) を結紮糸周囲に投与して歯周炎を誘発し、反対側を対照とした。1ヵ月後に脳・口腔組織を採取し、上顎骨のμCT撮影、脳切片を免疫染色し、光学および共焦点顕微鏡を用いて解析した。

【結果】対照側と比較し歯槽骨の顕著な骨吸収を認めたものを重度歯周炎例とした。免疫染色を実施した脳切片では、歯周炎誘発側でVmesの減少および細胞外Aβ₁₋₄₂オリゴマーの集積を認めた。

【考察】今回の結果より、重度歯周炎においてVmesの神経変性が促進され、Vmes細胞周囲のAβ₁₋₄₂オリゴマーの増加を認められた。このことから、重度歯周炎においてもADが促進される可能性が示唆された。従来、歯の喪失によりADが促進されるという報告があったが、重度歯周炎でも直接的にVmesの神経変性を生じ、ADの発症に関わる可能性がある。

P-19

HUCPVCの石灰化決定因子の同定について

浅田 桜子

キーワード：スクレオチドピロホスファターゼ1, 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の石灰化決定因子の同定を目的とした。

【材料と方法】活性型ビタミンD3, 骨形成タンパク質阻害剤 (LDN-193189), およびトランスフォーミング成長因子ベータ1 (TGF-β1) を添加した石灰化誘導培地で線維芽細胞成長因子2 (FGF2) を含むHUCPVC (FGF (+) HUCPVC) と含まないHUCPVC (FGF (-) HUCPVC) を作製し、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性の測定、定量PCR (qPCR) による硬組織および基質小胞関連遺伝子発現の測定、石灰化誘導実験を行った。また、次世代シーケンス (NGS) 解析により石灰化に必須な因子について探索した。

【結果と考察】FGF (+) HUCPVCはFGF (-) HUCPVCと比較しALP活性が高かった。qPCR解析よりFGF (+) HUCPVCではALP, オステオポンチン, リン酸トランスポーター1遺伝子の発現上昇を認めた。しかし、スクレオチドピロホスファターゼ1 (ENPP1) の発現はFGF (-) HUCPVCで増加していた。さらにFGF (+) HUCPVCでは石灰化誘導が認められた。またNGS解析結果でもqPCRと同様の結果が得られた。これらの結果より、ENPP1により産生されるピロリン酸がFGF (-) HUCPVCで石灰化を抑制していることが示唆された。

【結論】FGF2とTGF-β1の相乗作用はHUCPVCのENPP1の発現を抑制し、基質小胞性石灰化誘導を決定する重要な因子である。

P-18

ラット下顎骨欠損モデルにおけるBone morphogenetic protein-9添加コラーゲン膜の骨造成に及ぼす影響

近藤 宏樹

キーワード：BMP-9, 骨造成, コラーゲン膜, ラット下顎骨欠損モデル

【目的】歯科インプラント治療は歯の欠損部位に対する予知性の高い治療法として日常臨床において広く受け入れられている。インプラント埋入の際、当該部位に十分な骨幅や骨の高さが不足し骨形態の改善が必要となった場合に応用される骨再生誘導法は、コラーゲンメンブレン (collagen membrane; CM) を代表としたバリアメンブレンを使用し、骨造成を促進する術式である。また成長因子として骨形成タンパク (bone morphogenetic protein; BMP)-9は強力な骨再生能を有し、CMとの併用により骨造成に要する治療期間の短縮が期待される。本研究では、CMにBMP-9を添加した再生ユニット (CM/BMP-9) が骨造成に及ぼす経時的な影響についてラット下顎骨欠損モデルを用いて検討した。

【材料と方法】雄性近交系ラット (F344/jcl) 10週齢の下顎骨に、内径4.0mmのトレファインバーで下顎骨欠損モデルを作製した。欠損のみ (control群), 欠損をCMで被覆 (CM群), CMにBMP-9を低用量0.5μg添加 (BMP-9 [L] 群), 高用量2.0μg添加 (BMP-9 [H] 群) し被覆した4群に分けた。実験動物用3DマイクロCT (マイクロCT) によるエックス線学的観察をベースライン時、術後2, 4, 6週において行い、組織切片標本による組織学的評価を、術後6週において行った。

【結果と考察】エックス線学的観察より、control群, CM群と比較してBMP-9 [L] 群, BMP-9 [H] 群では骨欠損部に顕著な新生骨量, 骨密度および骨欠損閉鎖率の経時的な増加を認めた。さらに組織学的観察では、BMP-9 [L] 群, BMP-9 [H] 群において新生骨は既存骨と類似した組織学的特徴を有していた。

【結論】CM/BMP-9は、ラット下顎骨欠損モデルに対して骨造成を経時的に誘導することが示唆された。

P-20

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における術後1週間の創傷治癒比較

中山 洋平

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】歯周組織再生療法で使用されるEMD (エムドゲイン®ゲル) およびrhFGF-2製剤 (リグロス®) は抗炎症作用を示すいくつかの報告がある。以前我々は、術後2週目での創傷治癒評価で、改良型歯間乳頭保存術 (mPPT) 横切開部において、発赤および裂開の状態は、EMDよりもrhFGF-2製剤の方が良好であることを示した。しかし、さらに早期における創傷治癒の差は明らかではない。今回、術後1週目での創傷治癒を評価し、比較検討した。

【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、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、評価ガイドを作成した (mEHI)。また同時に創傷治癒スコア (EHS) を用いた評価を行った。3名の日本歯周病学会認定医が、対象患者の術後1週目の口腔内写真を用いて、創傷治癒を評価した。EMDおよびrhFGF-2群間で、創傷治癒評価を比較し、統計解析を行った。

【結果と考察】72部位 (EMD, 42部位, rhFGF-2, 30部位) が対象となった。段差, 裂開, 残存切開線の項目において、rhFGF-2群が有意に高値であったが、腫脹の項目においてはEMD群の方が高値である傾向を示した。発赤およびフィブリン塊の項目において、有意差はなかった。また、EHSスコアは、2群間で有意差はなかった。

【結論】mPPTを用いた歯周組織再生療法において、リグロス®を使用した場合、エムドゲイン®ゲルと比較して、術後1週目では腫脹を認める傾向があったが、歯肉弁の閉鎖は良好である可能性を示した。

P-21

福岡歯科大学医科歯科総合病院歯周病科における
FGF-2製剤を用いた歯周組織再生療法の治療成績
と歯周外科選択への影響

丸尾 直樹

キーワード：FGF-2, 歯周外科の選択, 歯周組織再生療法

【目的】2016年12月にFGF-2を有効成分とした歯周組織再生剤が上市、保険取載され、当院でも2017年1月より実施可能になった。FGF-2製剤による歯周外科治療の選択への影響や再生療法としての効果を評価するために、当院の歯周外科治療の実施状況の推移を調査するとともに、FGF-2製剤を用いた歯周組織再生療法の治療成績について検討した。

【材料と方法】2012年度から2019年度の当院歯周病科における歯周外科症例数を集計し、解析を行った。さらにFGF-2製剤を用いた患者(2017年1月から2018年9月に実施)のうち、術前と術後6か月経過時の臨床パラメーター(PPD, CALおよびBOP)とデンタルX線画像の比較が可能であった症例を対象に治療成績を評価した。

【結果と考察】歯周外科の症例数は、調査期間を通して年間約100件で推移していた。再生療法の症例数は、FGF-2製剤導入後の2017年度に2015年度比で3倍の年間51症例に増加した。再生療法の内訳を見ると2015年度までは、エナメルマトリックスタンパク質の応用が大部分であったが、2016年度の移行期を経て、2017年度からはFGF-2製剤が主に用いられていた。FGF-2製剤の治療成績は、術後6か月において術前と比較してPPD, CALおよび骨欠損深さで有意な改善が認められた。

【結論】FGF-2製剤を用いた歯周組織再生療法を導入以降は、保険取載による費用負担の軽減効果もあり、歯周組織再生療法を広く患者に提供することが可能になった。今後はさらに治療経過を追い、長期的な有効性を検討する予定である。

P-23

プロピオン酸および酢酸による歯肉接合上皮細胞における炎症性サイトカイン・創傷治癒および細胞増殖への影響

及川 貴子

キーワード：歯周病, プロピオン酸, 酢酸, マウス接合上皮細胞, IL-6, IL-8, CDK1, p21

【目的】歯周病発症機序において歯周病原細菌の病原因子による影響は大きく、主な病原因子としてLPSや線毛、プロテアーゼ等の関与が明らかにされている。また、歯周病原細菌の代謝産物である脂肪酸の関与もまた示唆されているが、その歯周組織への作用機序は明らかとなっていない。本研究では、歯周病の進行において重要な細胞である接合上皮細胞への脂肪酸の作用を明らかにすることにより、歯周病発症機序や増悪への影響について検討を行うことを目的とした。

【材料と方法】マウス接合上皮細胞(JE-1)をプロピオン酸(0.1mM, 1.0mM, 10mM)および酢酸(2.5mM, 12.5mM, 25mM)による刺激群と対照群(無刺激)に分類した。刺激後48時間のIL-6, IL-8, CDK1およびp21の遺伝子発現についてreal-time RT-PCR法を用いて解析した。また、スクラッチアッセイ法を用いて刺激後3日目まで24時間ごとに創傷治癒への影響を検討した。細胞増殖試験はCell counting kit-8を用いて4日間24時間ごとに行った。

【結果と考察】対照群と比較して、プロピオン酸10mMおよび酢酸12.5mMで刺激後48時間のIL-6, IL-8, CDK1およびp21の遺伝子発現量に変化が認められた。スクラッチアッセイ法では、対照群と比較して、プロピオン酸10mMおよび酢酸25mMにより創傷治癒に遅延が認められた。細胞増殖試験では、対照群と比較して、プロピオン酸10mM, 酢酸25mMでの刺激により細胞増殖の阻害が認められた。本実験結果より、歯周病原細菌の代謝産物である脂肪酸が接合上皮細胞における炎症性サイトカインの産生を惹起するとともに、細胞増殖および創傷治癒を阻害している可能性が示唆された。

P-22

CAL-27細胞へのPorphyromonas gingivalis LPS刺激
における炎症性サイトカインへの平胃散の影響

加藤 嘉哉

キーワード：漢方薬, 平胃散, 抗炎症作用, Porphyromonas gingivalis LPS, CAL-27細胞

【目的】平胃散は口内炎の効能効果をもつ医療用漢方製剤である。本研究では平胃散によるCAL27細胞のPorphyromonas gingivalis (P. g.) LPS刺激における炎症性サイトカインIL-6産生抑制作用解明を目的とする。

【方法】平胃散10, 100, 1000μg/ml存在下でCAL27細胞を1日培養後、細胞生存についてMTT assayで解析した。平胃散(1000μg/ml)とP. g. LPS(100ng/ml)存在下でCAL27細胞を1日培養後、培地を回収した。培地中のIL-6量についてELISAで解析した。NF-κB結合配列にルシフェラーゼ遺伝子を連結したレポータープラスミドpIlgk-LucとインターナルコントロールプラスミドpRSV-b-gal(0.05mg)をCAL27細胞(1 x 10⁴)に導入した。1日培養後、平胃散とP. g. LPSで刺激した。1日培養後、細胞を回収し、ルシフェラーゼアッセイとb-ガラクトシダーゼアッセイを行った。

【結果と考察】平胃散のみの刺激でもLPS刺激と同様にIL-6が産生された。平胃散とLPS両刺激でのIL-6産生量は平胃散のみあるいはLPSのみ場合と比較して低下した。平胃散のみの刺激でもLPS刺激と同様にNF-κBは活性化された。平胃散とLPS両刺激でのNF-κB活性化は、平胃散のみあるいはLPSのみの場合と比較して若干低下した。本研究では平胃散のみの刺激でもNF-κBの活性化が認められた。IL-6産生を解析したELISAの結果と同じ傾向になった。実験で使った平胃散は口内炎の適応があるため抗炎症作用があると思われるが、平胃散は、他の3種の漢方薬と違って強い消炎作用を有する生薬は含まれていない。今後は平胃散の配合生薬の六味を解析していく。

【結論】平胃散は炎症性サイトカインの産生抑制作用をもつことが示唆された。

P-24

AGEsはCa9-22細胞におけるCLDN7の発現を低下させる

市川 理沙

キーワード：終末糖化産物, CLDN, タイトジャンクション

【目的】近年、制御不能な高血糖状態で生成される終末糖化産物(Advanced Glycation Endproducts: AGEs)が、糖尿病合併症を引き起こす要因の1つである可能性が報告されている。上皮細胞には細胞間接着機構が存在しており、タイトジャンクションは、上皮において細菌の侵入に対して最前線に位置している。そこで、血中や歯肉溝滲出液に含まれるAGEsが歯肉上皮のバリア機能を崩し、歯周組織へ細菌の侵襲が加わることが、糖尿病での歯周病重症化を惹起する要因の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 x 10⁴ cells/cm²の密度で播種し、AGEs(100μg/ml)を添加し最大72時間培養した。試料としてCa9-22細胞を回収しRNAを抽出した後、Claudin7 (CLDN7)の発現をreal-time PCR法またはwestern blot法を用いて調べた。またCa9-22細胞でのCLDN7の細胞表面の局在は免疫蛍光組織染色で調べた。さらにAGEsの受容体(RAGE)の阻害剤としてFMS-ZM1(20μM)を用いた。

【結果】培養72時間後において、100g/ml AGEs添加群は、非添加群と比較して、CLDN7の発現の有意な低下および細胞表面への局在の低下が認められた。

【結論】AGEsは歯肉上皮のCLDN7の発現と細胞局在を低下させることで、歯肉上皮のバリア機能を破壊する可能性が示唆された。

P-25

ヒト歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞における網羅的解析

吉田 光希

キーワード：歯肉線維芽細胞, 歯根膜線維芽細胞

【目的】結合組織を構成する線維芽細胞は存在する部位・組織によって異なる性質を持ち、組織特異的な恒常性維持や病態形成に寄与することが知られている。これまで歯肉と歯根膜の線維芽細胞について差次的発現遺伝子の報告はされているが、異なる患者間の個体差が結果に影響している問題があった。本研究は、同一抜去歯から採取した歯肉線維芽細胞 (GF) と歯根膜線維芽細胞 (PDLF) の遺伝子発現および身体位置固有の情報と関連するHomeobox 遺伝子 (Hox) の発現について網羅的解析した。

【材料と方法】GFおよびPDLFは、歯周病罹患歴の無い患者4名 (19歳女性2名, 20歳女性1名, 27歳男性1名) の下顎埋伏智歯抜去時に採取した (歯学部研究倫理審査委員会承認番号第179号)。培養GFとPDLFからTotal RNAを抽出し、RNA-seq解析を行った。またGF、PDLF、口腔粘膜歯肉線維芽細胞 (LF)、皮膚線維芽細胞 (DF) でのHox遺伝子の発現をPCR arrayで解析した。

【結果と考察】RNA-seqでk-means clusteringの結果、TNF signaling pathwayが検出され、IL6はPDLFに比べGFで有意に発現上昇した ($p<0.05$)。PCR arrayの結果、PDLFはGFを含む他の線維芽細胞と比較してDlx3, Dlx5, Dlx6が高い発現を示した。

【結論】歯肉と歯根膜の線維芽細胞では、IL6をはじめとするTNF signaling pathway, およびHox遺伝子であるDlx3, Dlx5, Dlx6の発現に差があることが明らかとなり、これらの遺伝子群が、歯周組織局所での線維芽細胞の機能を制御している可能性が考えられた。

P-26

クロロゲン酸による歯肉線維芽細胞と歯根膜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性疾患であり、歯周病の初発症状である歯肉の炎症の改善には、機械的ブラークコントロールが重要である。さらに、薬物を用いる化学的ブラークコントロールを併用することで、よりブラークコントロールの効果が期待できる。一方、クロロゲン酸 (CGA) は、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、CGAの抗炎症作用に着目し、歯周病に対する応用ができるか検討することとした。本研究は、CGAが歯肉線維芽細胞 (GF) と歯根膜線維芽細胞 (PDL) に与える影響について検討した。

【材料と方法】GFとPDLは、*P. gingivalis*由来のLPS 1μg/mLを添加した15%FBS含有DMEMを用いて培養した。測定項目は、細胞増殖、炎症性サイトカインの発現とした。細胞はControl群、LPS群、CGA群、LPS+CGA群に群分けした。IL-6, IL-8の発現の検討は、Real-time PCR法により検討した。GF, PDLに、LPSを6時間曝露後、CGAを2時間曝露した。統計学的分析にはKruskal-Wallis検定、多重比較にはSteel-Dwass検定を用いた。

【結果】細胞増殖は、GF, PDL共にCGA 0Mと比較し、500μMで有意な増殖の抑制を認めた。GFのみにおいてCGA 0Mと比較し、200μMで有意な増殖の抑制を認めた。また、炎症性サイトカイン発現の検討では、炎症性サイトカインの抑制傾向を認めた。

【考察】本研究では、CGA各濃度のGF, PDLに対する影響の検討を行った。本研究結果から、CGA 500μMでは、細胞増殖の抑制を認めため、200μM以下での添加が望ましいと考えられる。また、CGAはGF, PDLに対する抗炎症作用を有する可能性がある。

P-27

口腔由来上皮細胞株 (Ca9-22) におけるチタン顆粒の影響について

和久田 慎

キーワード：チタン, インプラント周囲炎, インフラマソーム, レニンアンジオテンシン系, 炎症性サイトカイン

【目的】インプラント治療の普及に伴い、インプラント周囲炎が社会的問題となっているものの、その発生機序や予後には不明な点が多い。そのなかでも、チタン顆粒の上皮メカニズムへの関与がインプラント周囲炎に関与すると考えられている。本研究では、インプラント周囲組織における生体防御の最前線である上皮細胞に対するチタン顆粒の影響を検証した。

【材料と方法】口腔由来上皮細胞株をチタン顆粒 (45μm) の添加・非添加下で6時間培養した。チタン顆粒添加群は100μg/ml, 70μg/ml, 30μg/mlの計3群を用意した。次に、MTTアッセイにて細胞の生存率を調べた。そして、炎症性マーカーのmRNA発現量をPCR法にて検証し、上清中のタンパク質量をELISA法にて測定した。

【結果】MTTアッセイでは群間ごとの生存率に統計学的有意差を認めなかった。チタン顆粒添加各群は、非添加群と比較し、炎症性サイトカインの統計学的有意な増加を認めた。ELISAでは細胞上清中のIL-1β産生の上昇を認めた。

【考察】チタン顆粒は歯肉上皮細胞の炎症性サイトカイン産生を引き起こす可能性があることが示唆された。また、Renin, Angiotensinの遺伝子発現上昇が認められたことからRAS (レニンアンジオテンシン系) が炎症進行に寄与していることが示唆された。NLRP3, CASP-1, ASC, IL-1βの遺伝子発現の増加を認めたことから、チタン顆粒がNLRP3のインフラマソーム活性化を引き起こし、NLRP3, CASP-1シグナル伝達を介してIL-1β産生に寄与することが示唆された。

P-28

Shikoninがヒト歯肉線維芽細胞の創傷治癒や抗炎症作用に及ぼす影響

中村 百合香

キーワード：シコニン, ヒト歯肉線維芽細胞, 創傷治癒, IL-1β

【目的】紫根の有効成分であるShikoninは、古来より抗炎症効果や抗菌作用を有し創傷治癒を促進すると報告され、とくに皮膚や粘膜に有効とされている。本研究ではShikoninの歯周組織に対する創傷治癒を評価するために、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGnF) に対するShikoninの細胞増殖、細胞遊走および抗炎症作用について評価を行なった。

【材料と方法】ヒト歯肉線維芽細胞HGnFを各種濃度のShikonin (0.001, 0.01, 0.1, 1および10μM) で培養し細胞増殖、遊走を評価した。抗炎症作用を調べるために、1ng/mLのヒトリコンビナントIL-1bにて炎症状態を惹起しShikoninの抗炎症作用をELISA法とリアルタイムPCR法を用い炎症性サイトカインIL-6およびIL-8の発現を調べた。

【結果と考察】0.01μMのShikoninはHGnFの増殖と遊走を有意に促進し、10μMのShikoninによって細胞毒性を誘導した。また、ShikoninはHGnFに対し細胞増殖能と遊走能を示しHGnFをヒトリコンビナントIL-1bにて刺激後Shikoninで処理するとIL-6およびIL-8の発現を抑制した。

【結論】ShikoninはHGnFの細胞増殖、遊走、抗炎症作用を有し、Shikoninはヒト歯肉線維芽細胞の創傷治癒を促進させる薬品であると示唆される。

P-29

歯周基本治療前後の唾液中ロイシンリッチ α 2グリコ
 プロテイン (Leucine-rich alpha-2 glycoprotein : LRG)
 発現に関する研究

五十嵐 尚美

キーワード：歯周基本治療、ロイシンリッチ α 2グリコプロテイン、唾液

【目的】歯周治療は、歯周病の症状を的確に検査、診断することが重要である。唾液中のIL-1 β の発現量は健康者と比較して歯周炎患者で上昇し、歯周基本治療後に低下することから、唾液中の炎症性サイトカインが歯周病のマーカーとして利用できる可能性がある。ロイシンリッチ α 2グリコプロテイン (LRG) は、炎症性疾患の血清中で発現する糖タンパク質で、炎症の臨床的バイオマーカーである。今回、歯周基本治療前後の臨床パラメーターと唾液中LRG量の変化を比較し、関連性を解析した。

【材料と方法】歯周炎患者66名を3mm以下のプロービング深さ (PD) を有する患者と4mm以上のPDを有する患者群に分け、臨床パラメーターの抽出と唾液を回収し、ELISAキットにて唾液中LRG量を測定した。

【結果と考察】2群間の性別、年齢および歯数に有意差はなかった。初診時の臨床パラメーターは、コントロール群よりもテスト群で有意に高く、歯周基本治療後のテスト群は、すべての臨床パラメーターが初診時に比較して減少した。初診時の唾液中LRG量は、コントロール群に比べてテスト群で有意に高く、歯周基本治療後にテスト群でLRG量が有意に減少した。臨床パラメーターと唾液中LRG量の相関関係を解析した結果、平均PD、CAL、BOP率、PISAおよびPESAと正の相関が認められ、唾液中LRG量と平均CALが最も強い相関を示した。以上の結果から、歯周基本治療前後の歯周組織の破壊や炎症のバイオマーカーとして唾液中のLRGが使用できる可能性が示唆された。

P-31

唾液中乳酸脱水素酵素活性測定キットのCommunity
 Periodontal Indexの代理指標としての妥当性

入江 浩一郎

キーワード：乳酸脱水素酵素、歯周病、スクリーニング検査、CPI、唾液検査

【目的】Community Periodontal Index (CPI) は、歯周病のスクリーニング検査でよく用いられている指標であるが、測定者の習熟度や測定時間等の問題があり、より簡便な歯周病のスクリーニング方法を確認する必要がある。そこで本研究では、唾液中の乳酸脱水素酵素 (LD) 活性を短時間で簡易に測定できるキットがCPIの代替手段となり得るのかを検討することを目的とした。

【材料と方法】大学病院の2施設と大学クリニック1施設を受診した205名 (女性58.5%、年齢の中央値55.0歳、25~75パーセントイル値46.0~66.0歳) の患者および健診受診者を対象とした。安静時唾液サンプルを採取し、1から10までの整数スケールを備えたキットを用いて、1分後のLD値を評価した。口腔内診査はWHO口腔診査法第5版のCPIに基づいて、個人の歯周ポケットスコアを、0 (3mm以下)、1 (4~5mm)、2 (6mm以上) に分類し、歯肉出血スコアは0 (出血なし) と1 (出血あり) に分類した。

【結果と考察】120人 (58.5%) の被験者が歯周ポケットスコア1または2、また123人 (60.0%) の被験者が歯肉出血スコア1の値を示した。歯周ポケットスコア0と1以上、1以下と2を区別する唾液LDの最適カットオフ値はそれぞれ4.0と5.0であり、これらの感度および特異度はいずれも0.65以上となった。また歯肉出血スコア1の唾液LD中央値は、スコア0の値よりも有意に高く、スコア0と1を区別する最適カットオフ値は4.0で、感度および特異度はいずれも0.62以上であった。

【結論】本検査キットは、唾液LD値4.0のカットオフ値で、CPIの代理指標として有用な歯周病のスクリーニング検査が可能であると考えられる。

P-30

歯周病の予後判定に対するGCFにおけるアスパラギン酸
 アミノトランスフェラーゼ (AST) 測定の有用性
 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の目的は、歯周病の再発防止である。しかしながら、BOP検査に代表される既存の歯周病検査結果は、歯周病の病態に対する齟齬が散見され、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。今回は、従来の歯周病検査とGCF組織損傷マーカーであるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (以下、AST) との関連を検索し、AST検査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とした。GCFにおけるAST活性は、PTM kit[®] (株式会社松風、以下PTM) を用いて測定し、Wilcoxon t-testを用いて解析した。

【結果および考察】解析結果から、GI2、BOP (+) のように歯肉の炎症を強く示した部位のみならず、付着の喪失を示した部位に対してもAST (+) となり、PTMの使用は、歯周病の再発に対する有用性が期待された。今後、長期的な追跡調査から、歯周病再発の探知に寄与できる可能性を検証する予定である。

【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-32

初回プロ-ビングデプスと長期歯周病管理後の喪失
 リスクとの関連性

藤原 夏樹

キーワード：歯の喪失、歯周病治療、歯科衛生士の診療価値、1歯単位、後向きコホート研究

【目的】日常臨床の歯周病治療において、プロービングデプス (以後PPD) 6mm以上の重度歯周炎は治療後3mm以下に改善できれば理想的であるが、歯科衛生士のSRPとSPTにより4~5mmで安定するケースも多い。術前PPDとその後の喪失リスクを調査することで歯周炎を改善、安定させる歯科衛生士の診療価値を類推できると考える。歯周病患者は1歯単位でPPDが異なるため、これまでの患者単位の調査ではPPDの差異が分析できない。そこで我々は長期間1歯単位のコホート研究を行い、全身的要因の他、失活歯や大臼歯の要因も含めて喪失オッズ比を比較評価した。

【研究方法】2002年から2009年にある地方都市の歯科医院を初診で受診し、初期治療後も年1回以上の定期メンテナンスを10年間以上継続した患者の歯を対象。初診時6点法歯周組織検査PPD \leq 3mm、4~5mm、 \geq 6mmについて、それぞれの喪失オッズ比を他の喪失要因と比較。本調査は当学会倫理審査委員会の承認を受けて実施した。

【結果】対象は297名 (男性82名、女性215名、初診時平均年齢46.3歳、平均調査期間13.9年) の初期治療後に残存した7584歯 (PPD \leq 3mm : 5672歯、4~5mm : 1512歯、 \geq 6mm : 400歯)。期間中の喪失歯277歯。他要因と比較した喪失オッズ比はPPD \leq 3mm : 0.33、4~5mm : 1.34、 \geq 6mm : 4.41だった。

【考察・結論】調査の結果、PPDによりその後の喪失率に明らかな差があることがわかった。歯周病治療により重度歯周病を4~5mmで安定させることができれば、その後の喪失率も大きく改善できることが示唆された。

P-33

歯周炎患者におけるSRPおよびEr:YAGレーザー応用による歯石除去時の生体応答の検討

保莉 崇大

キーワード：SRP, 緑下スケーリング, Er:YAGレーザー, バイタルサイン

【目的】歯周治療においてSRPは病原因子を除去するために必須の機械的処置であるが、この観血的歯周治療が侵襲として生体に及ぼす影響については未だ十分には明らかにされていない。そこで本研究においては、歯周炎患者におけるSRP時およびEr:YAGレーザーによる歯石除去時の生体応答を検討することとした。

【材料と方法】35歳以上の中等度～重度の広汎型慢性歯周炎（広汎型Stage II・III Grade B）を伴う患者32名を被験者とし、5mm以上の歯周ポケットが存在する3歯を対象部位とした。被験者を無作為に2群（スケララー群、レーザー群）に割り当て、浸潤麻酔下で手用スケララーによるSRPまたはEr:YAGレーザー（Erwin Adverl EVO）とレーザー照射用チップ（PS600TS: 20pps, 50mJ, 注水下）による緑下スケーリングを実施した。治療前と治療直後に採血。治療前と治療12週後に歯周検査、治療前・麻酔直後・治療直後に生理指標測定を行った。マルチプレックスアレイにより6種類の炎症性サイトカインを、ELISA法により血清中エンドトキシン、高感度CRP、コルチゾール、アドレナリンを測定した。

【結果と考察】ベースラインの各検査項目間において様々な正もしくは負の相関が確認された。治療後は2群とも同等の治療効果を示したが、最深の臨床的アタッチメントレベルはレーザー群においてのみ有意に減少した。また、共にバイタルサインを変動させることが示唆された。

P-35

弱アルカリ性美白歯磨剤における着色除去性の臨床評価

佐藤 亜紀

キーワード：ステイン除去性, 弱アルカリ性美白歯磨剤

【目的】高濃度の清掃剤を配合した、弱アルカリ性の美白歯磨剤（SG71）を開発した。本研究ではSG71の着色除去性について臨床での効果を評価することを目的とした。

【材料と方法】本研究は20～40代の成人男女を対象とした（倫理承認番号：RP2301）。分光測色計で上下顎前歯部を測色し、試験前測色値（L*値, a*値, b*値）とした。試験試料（SG71）は約1gを使用した。歯ブラシはルシェロW-10を用いた。試験期間は2週間とし、試験試料でのブラッシングは1日1回以上、試験試料以外の歯磨剤を使用する際は研磨剤無配合のものとした。1回ブラッシング時及び1週間後、2週間後に測色し、試験前後の測色値から色差（ ΔE^*ab ）及び白さの指標であるホワイトネス（W）を算出した。色差の統計処理はt検定、その他の値はTukey-Kramerの検定を行った。

【結果と考察】試験前とブラッシング後における被験者10名の平均色差は1回使用で 2.6 ± 0.9 、1週間使用で 3.1 ± 0.8 、2週間後で 3.2 ± 0.8 だった。1週間及び2週間使用後の色差はヒトが識別可能な色差（2.3）より有意に高かった（ $p < 0.01$ ）。L*が上昇し、b*が低下する傾向が認められた。W値は試験前（ 64.9 ± 1.9 ）から1回の使用で大きく上昇（ 66.7 ± 1.2 ）した。1週間後（ 66.9 ± 1.2 ）、2週間後（ 67.1 ± 1.4 ）、値は緩やかに上昇し、試験前と比較して有意差が認められた（ $p < 0.05$ ）。歯面に蓄積したタンパク質を含む着色汚れが弱アルカリ性であるSG71によって脆弱化し、高濃度の清掃剤によって除去されたため、歯牙の明度上昇と黄色みの低下に繋がったと考えた。

【結論】SG71は臨床において歯面の着色を効率的に除去し、歯牙を本来の色に近づける優れた歯磨剤であることが示唆された。

P-34

奥羽大学歯学部附属病院歯周病科における過去6年間の歯周外科治療の分布

吉沢 大樹

キーワード：歯周外科治療, フラップ手術, 歯周組織再生療法, 口腔インプラント治療, 臨床的歯冠延長術

【緒言】現在の歯周外科治療には多岐にわたる術式が含まれる。明視野下での感染源の除去、歯周ポケットの浅化および歯周組織再生に加えて、歯周形成外科治療と口腔インプラント治療関連の術式が増えている。本発表では、過去6年間に本学附属病院歯周病科で行われた各種歯周外科治療の特徴を報告する。

【材料・方法】2017年4月から2023年12月までの6年間に歯周外科治療を受けた患者315名（男性131名、女性184名、平均年齢55.4歳）を調査対象として、各種歯周外科治療の実施状況を分析した。

【結果】手術総数は756回、患者1人あたりの平均手術数は2.4回であった。フラップ手術191回（25.4%）、歯周組織再生療法182回（24.2%）およびインプラント関連手術180回（23.9%）が7割以上、歯周組織再生療法およびインプラント関連手術が約半数を占め、歯周組織再生療法の96%でFGF-2製剤が併用された。臨床的歯冠延長術88回（11.7%）、歯周形成手術55回（7.3%）、根分岐部病変の治療21回（2.9%）、外科的歯内療法17回（2.2%）およびその他22回（2.9%）に分類された。

【考察】歯周外科治療の約半数が歯周組織再生療法およびインプラント治療関連手術であり、インプラント治療が歯周補綴治療の選択肢として高頻度に行われていた。FGF-2製剤が主に選択された理由は2017年に保険収載されたことが考えられる。一方、臨床的歯冠延長術が手術全体の約1割を占め、歯肉縁下齶蝕あるいは残根状態の患歯に対して保存的治療が行われていた。

【結論】本学附属病院歯周病科では、歯周組織再生療法および口腔インプラント治療およびquestionable teethに対する保存的治療が高頻度に行われていた。

P-36

ニコチン・細菌病原のデュアル曝露への歯周組織の反応—文献レビュー方法の検討

埴岡 隆

キーワード：タバコ, ニコチン, 細菌病原, 歯周組織, 炎症, 歯周病

【目的】ニコチンと細菌由来病原の曝露に対する歯周組織・細胞の反応に関する研究結果を抽出・統合し、デュアル曝露への歯周組織の反応を評価する方法を探索し動機づけ支援に資することを本研究の目的とした。

【方法】PubMed文献データベースで「ニコチン」「細菌」「歯周組織」の3つのカテゴリーを満足する英語文献をタイトル・アブストラクト・精読により選別し、他の情報を利用して文献を追加した。研究結果に含まれた非曝露・ニコチン曝露・細菌病原曝露への反応を抽出し分類・整理した。

【結果と考察】17編の文献からニコチンと細菌病原以外の物質の曝露を調べた1編、ニコチンと細菌病原の同時曝露のみを調べた2編を除く14編の研究結果を抽出・整理した。ニコチンと細菌由来リポ多糖・細菌溶解物への歯肉線維芽細胞・角化細胞・内皮細胞、歯根膜・線維芽細胞、骨芽細胞の反応が調べられていた。細菌由来物質の曝露量はほぼ一定だったが、曝露期間およびニコチン濃度の範囲は広がった。一つの曝露条件の実験では反復測定が行われていたが、一方で、同条件での実験の繰り返しも行われていた。細胞応答には細胞生存率と炎症に関わる遺伝子表現・破壊性炎症に関わる生理活性物質等が含まれていた。これらの研究ではニコチンと細菌病原曝露への反応が相加的に増加したことが一貫して報告されていた。燃焼・加熱式タバコ喫煙により歯周組織は相当量のニコチンに曝露され、喫煙は口腔ディスバイオシスの遷移を促進する。

【結論】適切な評価方法を経た一貫した相対的影響は歯科を受診するハイブリッド型のタバコ使用者への動機づけ支援に有用である可能性が示唆された。本研究はJSPS科研費JP21K10223の助成を受けた。

P-37

ポストコロナ時代のオンデマンド動画教材を用いた
歯周病学技能教育における取り組み

田口 洋一郎

キーワード：歯周病学，技能教育，オンデマンド教材

【目的】2020年初頭から新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の増加で，大学教育は従来の対面講義からリモート会議システムを用いたオンライン講義への変更を余儀なくされた。歯周病学の技能教育においても，制限のある中で様々な工夫が行われた。本研究では，コロナ禍を踏まえ今後のオンデマンド動画教材を用いた技能教育の向上について検討した。

【材料と方法】大阪歯科大学歯学部3年生で行われる歯周病学実習において，従来行われていた各課題の実習担当教員によるデモンストレーションを事前に動画にて撮影し，動画編集を施し，実習日1週間前に学内のストレージにアップロードし事前教育を推奨した。実習当日は実習の前後で同じ内容における実際の技能にかかわる試験を行い，事前教育の効果とオンデマンド教材におけるデモンストレーションの効果を検討した。尚，同時に今回のオンデマンド教材のみのデモンストレーションの取り組みについて学生からアンケートを実施した。

【結果と考察】オンデマンド教材の事前視聴について比較すると，視聴した群が視聴していない群に比べて全課題において試験の成績向上の傾向が認められた。また，実習後の調査では事前視聴していない群においても著しい成績の向上が認められ，課題においては事前視聴している群と同様の教育効果が認められた。

【結論】ポストコロナ時代においても歯周治療の技能教育においてオンデマンド教材の有用性が認められ，今後の活用が期待される。

P-38

京丹後地域の口腔健康に関する横断的調査研究

山本 俊郎

キーワード：アンケート調査，口腔健康，京丹後

【目的】これまで，長寿地域である京丹後地域の高齢者では，8020の維持が口腔機能の維持と口腔内常在微生物叢の多様性の獲得につながることを報告した。そこで，これら高齢者の口腔健康に関する横断的調査を実施した。

【材料と方法】2018年11月からの5年間，80歳以上の長寿者205名に対し，口腔健康に関するアンケートを用いた調査研究を実施，得られたデータに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】歯・歯肉の不調は22.4%，過去1年間に1回以上の歯肉腫脹は25.4%，1日の歯磨き回数は2回が最多（34.1%），歯間部清掃は37.6%，電動ブラシの使用は3.4%，デンタルリンスの使用は18.5%，舌の清掃は21.0%，かかりつけ歯科医院受診は86.8%，過去1年間に1回以上の歯科受診と歯石除去の割合は67.8%と38.5%であった。口渇の自覚は27.3%，義歯使用者は69.3%であった。さらに，8020達成率は38.5%，8020達成者は未達成者に比べ歯磨き回数に差がなかったが（35.4% vs 33.3%），歯間部清掃の割合が有意に高かった（60.8% vs 33.0%）。

【考察】本調査フィールドの長寿地域では，8020達成率が全国調査（歯科疾患実態調査）に比べ低かった。そして同調査の全世代と比べ，この地域の高齢者は最多歯磨き回数（2回）（34.1% vs 50.8%）と歯間部清掃（37.6% vs 50.9%）の割合は低かったが，年1回以上の歯科受診回数の割合（67.8% vs 58.0%）は高かった。今後さらなる症例を重ねる予定である。

P-39

自立高齢者における認知機能低下と歯周病，口腔細菌叢，産生タンパクおよびオーラルフレイルについての横断的検討

出分 菜々衣

キーワード：認知機能低下，歯周病，口腔細菌叢，タンパク

【目的】自立高齢者において認知機能と歯周病関連項目，口腔細菌叢中の歯周病関連細菌の分布，産生タンパクおよびオーラルフレイルについて横断的に明らかにすることを目的とした。

【方法】対象は，60歳以上の自立高齢者23名である。調査項目は，認知機能検査はMini-mental State Examinationを用い，口腔内検査では，現在歯数，義歯の有無，歯周組織検査6点法にて，歯周炎症表面積，歯周炎のステージ分類（進行度）を検討した。また，口腔機能検査は，舌圧，オーラルディアドコネシス，EAT-10を用いた。菌叢解析はテクノスルガ・ラボ社に委託し，アンプリコンシーケンス解析MiSeqおよびPICRUST2による予測メタゲノム解析を実施した。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】認知機能低下群（N = 11）と正常群（N = 12）との比較で，有意に現在歯数，歯周炎のステージ，プロービングによる出血，オーラルディアドコネシスのパ音およびカ音の発音回数に関連した。菌叢解析ではα多様性が認知機能低下群でSimpson indexが有意に高く，歯周病関連細菌である *Tannerella* 属が有意に検出された。β多様性は，2群間の組成に有意差を認めなかった。また，口腔細菌の産生タンパクのCOX11および可溶性シトクロム b562が，認知機能低下群にて有意に割合が低下した。これらは，ミトコンドリア電子伝達系に関連し，神経変性疾患に関わる可能性が示唆されている。以上より，認知機能が低下した自立高齢者においては，歯周病の進行と発音機能の低下を認めた。さらに一部の歯周病関連細菌の存在と口腔細菌中が産生するタンパクの減少が認知機能低下と関わる可能性が示唆された。