

平成 30 年 6 月 2 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26463145

研究課題名(和文) 歯周炎で誘導されるインフラマソーム活性化が動脈硬化に及ぼす影響とその制御

研究課題名(英文) Effects of periodontitis induced inflammasome activation on arteriosclerosis and its control

研究代表者

落合 智子(栗田智子)(OCHIAI, Tomoko)

日本大学・松戸歯学部・教授

研究者番号：20130594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：歯周病原性細菌*P. gingivalis*(*P. g.*)の経口感染は、インフラマソームを活性化して炎症性サイトカイン産生を誘導し、その結果Th17細胞の誘発、IL-17の増強により慢性炎症が持続する可能性が示唆された。さらにこれらの活性化には、ジンジパインや線毛が関与していることが示唆された。またApoEsh1マウスへの*P. g.*感染はLDLの酸化変性増強作用を誘導した。In vitro実験において、*P. g.*及び*P. g.* LPSは血管内皮細胞からの活性酸素(ROS)産生を増強した。更に、*P. g.*はox-LDLと共通エピトープを有し、分子相同性による炎症増強にも関与していた。

研究成果の概要(英文)：Oral infection of the periodontopathic bacteria *P. gingivalis* (*P. g.*) activate various inflammasomes and induce inflammatory cytokine production, resulting in the production of Th17 cells. It was suggested that chronic inflammation may persist due to induction and enhancement of IL-17. Furthermore, it was suggested that gingipain and fimbria, which are the pathogenic factors of *P. g.*, are involved in the activation of these inflammasomes. *P. g.* or A. a. infection into ApoEsh1 mice also increased the oxidative denaturation enhancing action of LDL. In vitro experiments, *P. g.* and *P. g.* LPS enhanced active oxygen (ROS) production from vascular endothelial cells. Furthermore, it was suggested that *P. g.* has a common epitope with ox-LDL and may be involved not only in direct oxidation by *P. g.* but also in inflammation enhancement due to molecular homology.

研究分野：医歯薬学

キーワード：感染 歯周病 歯周病原細菌 インフラマソーム 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

申請者らはこれまでに、自然発症 ApoE 欠損高脂血症マウスを用い、主要歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) や *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a.*) と動脈硬化発症の関連性について報告してきた。その結果、歯周病原細菌感染により動脈硬化の促進、病変部における Toll like receptor (TLR) や Nod like receptor protein (NLRP) 3 インフラマソームの発現増強、酸化 LDL やその受容体である LOX-1、酸化ストレス、熱ショックタンパク、炎症性サイトカイン誘導因子である IL-17 の増強を認めた。これらの結果は、マクロファージ等が歯周病原菌を TLR でパターン認識した後に生じた活性酸素が LDL を酸化し、生じた酸化 LDL などの内因性シグナルが TLR と共に、インフラマソームを活性化して IL-1 や IL-18 の産生を促進し、Th17 細胞の分化誘導を促して炎症を慢性化している可能性を強く示唆している。更に最近の知見から、高脂血症や肥満とは無縁の古代ミイラに見られる動脈硬化のレベルは現代人集団とほぼ同レベルであることが判明し、慢性感染症などの持続炎症との関連性が注目を浴びている (Nature 2013-3-11)。また、乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクスは脂質酸化を抑制し、抗炎症作用を有することが報告されており、歯周病や動脈硬化などの慢性炎症性疾患の予防に有効と考えられる。

2. 研究の目的

近年、歯周炎を始め動脈硬化やメタボリック症候群、心筋梗塞といった様々な疾患における慢性炎症の重要性が指摘されている。その慢性炎症病態には、インフラマソームを介した「自然免疫系」の活性化メカニズムや IL-1 や IL-18 産生誘導による炎症誘発が重要な役割を演じている可能性が示唆されている。しかし、歯周病で誘導される動脈硬化におけるインフラマソームや IL-1 /IL-18 の役割はこれまで報告されていない。そこで、本研究では歯周病原細菌感染による自然免疫受容体の経時的発現によるインフラマソームの役割及びインフラマソーム活性化に関する内因性シグナルの検索 インフラマソーム構成成分 (NLRP3, Asc, Caspase-1, IL-1 β) 欠損マウスにおける歯周病原細菌感染による炎症性サイトカイン産生及び動脈硬化誘発機序への影響 歯周病原細菌感染による酸化ストレス亢進メカニズムや LDL の酸化変性機序を検討することにより、歯周病による慢性炎症病態の持続が自然免疫応答を賦活し、どのように動脈硬化の進展に 関与するかを明らかにする。更に 自己抗原刺激した寛容性樹状細胞による制御性 T 細胞の誘導や プロバイ

オティクスの経口投与による抗酸化効果が動脈硬化の進展に及ぼす影響を検討し、慢性炎症性疾患の予防法の開発を目指す。

3. 研究の方法

歯周病原細菌感染による自然免疫受容体の経時的発現によるインフラマソームの役割及びインフラマソームを活性化する内因性シグナルの検索:ApoE 欠損マウスに *P. g.* 菌や *A. a.* 菌等の主要歯周病原細菌を感染し、血中や大動脈組織における自然免疫受容体 (TLRs, NLRs, CLRs, ALRs) 発現を免疫染色及び定量 PCR (現有設備), Western blot 等で確認する。インフラマソームサイトカイン (IL-1, IL-1, IL-6, CCL2, TNF-) 産生の推移は ELISA 法又は cytometric bead array kit を用いて確認する。更にインフラマソームを活性化する内因性シグナル (HSP60, MHGB1, 酸化 LDL, HSP 抗体、酸化 LDL 抗体、2GPI 抗体、カルジオリピン抗体など) の産生を ELISA 法により検討する。また、組織から RNA を抽出、逆転写後のサンプルを Gene chip (現有設備) を用いて検討する。血清、肝臓、脂肪組織のセラミドは MALDI-TOF-MS (現有設備) にて解析し、病巣におけるカテプシン B の検出は免疫組織および定量 PCR にて検討する。

インフラマソーム構成成分 (NLRP3, Asc, Caspase-1, IL-1) 欠損マウスによる歯周病原菌感染からの炎症性サイトカイン産生及び動脈硬化誘発機序への影響: インフラマソームの構成成分である NLRP3, Asc, Caspase-1, IL-1 遺伝子を個々に欠損させたマウスに歯周病原菌を感染させ、動脈硬化発症並びに炎症性サイトカイン産生を測定する。Th17/Treg 細胞の検出を行いインフラマソーム欠損によりどのように影響を受けているか検討する。Th17 の転写因子である ROR γ t, Treg の転写因子である Foxp3 の遺伝子発現を定量 PCR にて解析する。更に Th17 細胞の分化誘導因子である miR-326, miR-155, Treg 細胞の抑制機能に関連する miR-146a の遺伝子発現を合わせて検討する。血中のサイトカイン (IL-17, IL-6, IL-21, IL-23, IL-10, TGF β) レベルを ELISA により定量する。更にインフラマソーム構成成分の発現を抑制する siRNA や miRNA を検索し、ヒト単球や血管内皮細胞への siRNA やプラスミドのトランスフェクションにより転写因子や炎症性サイトカイン発現の影響を検討する (遺伝子導入装置保有)。

大動脈組織、歯肉における酸化ストレス測定: マウス心臓及び歯肉からパラフィン切片を作成し、酸化 LDL の指標として ox-LDL, LP-PLA2、酸化ストレスの指標として 4HNE に対する蛋白又は 遺伝子発現を抗体を用いた免疫染色又はプライマーを用いて

の in situ hybridization により解析する。更に酸化 LDL 関連因子である LOX-1, NADPH オキシダーゼ関連酵素に対する遺伝子発現を定量 PCR(現有設備)により解析する。In vitro 実験による酸化ストレスの測定: ヒト単球、歯肉線維芽細胞、血管内皮細胞を用い、歯周病原菌感染による活性酸素産生能、LDL 酸化能を測定する。更に LOX-1, NADPH オキシダーゼ関連酵素に対する遺伝子発現を定量 PCR により解析する。以上の結果から、歯周病原性細菌感染により活性化されるインフラマソーム形成に、感染から生じた内因性シグナルがどのように関わっているかを明らかにし、インフラマソーム構成成分欠損が炎症誘発に与える影響を検討する。

酸化 LDL で刺激した未熟樹状細胞による制御性 T 細胞の誘導: (1) 骨髄由来樹状細胞の単離: 骨髄前駆細胞は Inaba らの方法に準じて単離する。大腿骨及び脛骨から骨髄を抽出する。赤血球は溶血キットを用いて除去する。CD34+ 前駆細胞は抗マウス CD4, CD8, CD11b, CD19, 及び CD56 抗体でのネガティブセレクションにより単離し、GM-CSF 及び IL-4 存在下で培養する。2 日ごとに培地およびサイトカインを補給し 7-10 日目に細胞を Histopaque-1077 を用いた濃度勾配法により精製する。(2) 表面分子の確認: 樹状細胞は 4 重染色により確認する。細胞を FITC ラベルした抗マウス CD11b, CD40, CD86, 及び MHC class II にて染色し、フローサイトメーター(現有設備)にて解析する。(3) マウスへの投与: 樹状細胞を酸化 LDL と共に 2h 培養後、マウスに 3×10^6 の濃度で皮下注射する。(4) T リンパ球の単離精製: 脾臓より単核球を単離し、付着細胞を除去する。CD4⁺ 又は CD8⁺ 細胞は抗マウス CD4 又は CD8, CD11B 及び CD19 抗体でのネガティブセレクションにより単離する。(5) フローサイトメーターでの Treg 細胞の解析: 細胞を抗マウス CD25-RPE, CD4-FITC 又は CD8-FITC 及び抗マウス Foxp3-Alexa647 又は CD127-Alexa647 にて染色する。Foxp3 の染色は細胞固定と膜透過後に細胞内染色を行う。

プロバイオティクスによる口腔内環境の改善による動脈硬化予防: (1) 自然発症 ApoE 欠損高脂血症(SHL)マウスに乳酸菌を 5 週間に渡りゾンデを用いて経口投与後、代表的歯周病原菌を経口感染し、歯肉の炎症状態を HE 染色にて病理組織的に解析する。また歯槽骨吸収量をデジタル HD マイクロスコープにて計測する。(2) マウス歯肉組織や腸管関連リンパ組織における樹状細胞や CD4⁺/CD8⁺T 細胞、B220⁺B 細胞の継時的変化を解析することにより免疫担当細胞の推移を明らかにする。また転写因子発現や細胞内サイトカイン染色法を用いてサイトカインの発現を解析することにより

Th1, Th2, Th17, Treg 細胞の発現頻度の継時的変動を計測する。(3) 代表的歯周病原菌により、又は自然発症的に誘導される動脈硬化が、プロバイオティクスによる口腔内環境の改善により制御されているか否かを、Oil-red O 染色による動脈硬化面積測定、炎症性サイトカイン、酸化ストレス、酸化 LDL や LOX-1 の定量により検討する。

以上の結果から、感染により誘発されるインフラマソームの活性化と慢性炎症及び動脈硬化の発症との因果関係を明らかにし、予防・治療の効果的戦略について総合評価を行う。

4. 研究成果

歯周病原性細菌感染による自然免疫受容体の発現増強と疾患増悪: *P. g.* 生菌感染群は線毛欠損株(KDP150)又はジンジバイン欠損株(KDP136)感染群と比較して歯肉および大動脈における TLR-2, -4, -9 発現の有意な増加を認め、さらに大動脈洞内のプラーク形成面積や骨吸収も有意に増加していた。動脈硬化進展度および骨吸収の割合は *P. g.* 生菌 > KDP136 > KDP150 > CMC の順であった。

歯周病原性細菌感染による炎症性サイトカイン活性化: Apoe^{sh1} マウスへの *P. g.* 生菌の経口感染は、腹腔マクロファージにおける IL-1, IL-18 および TNF- α 産生を有意に増加した。一方、KDP150 及び KDP136 は、*P. g.* 生菌と比較して IL-1, IL-18 および TNF- α 産生の有意な減少を認めた。

歯周病原性細菌感染によるインフラマソーム活性化: Apoe^{sh1} マウスへの *P. g.* 生菌感染は、歯肉組織や大動脈起始部において NLRP3, pro-IL-1 β , pro-IL-18 及び procaspase-1 等のインフラマソーム関連因子や内因性シグナル(HSP60, 酸化 LDL)を有意に増強した。一方、KDP136 及び KDP150 の経口感染は、*P. g.* 生菌と比較するとインフラマソーム関連因子や内因性シグナル発現は有意に抑制されていた。

インフラマソーム構成成分欠損による歯周病原菌感染マウスからの炎症性サイトカイン産生及び動脈硬化誘発機序への影響: NLRP3 欠損マウスへの歯周病原菌感染は野生マウスと比較して、歯肉や大動脈での炎症性サイトカイン(Pro-IL-1 及び Pro-IL-18)や RANKL, OPG 発現を有意に抑制し、歯槽骨吸収や動脈硬化を有意に抑制した。ASC 欠損又は Caspase-1 欠損マウスへの *P. g.* 菌感染は野生マウスと比較して、歯肉の炎症性サイトカイン(Pro-IL-1 及び Pro-IL-18)や RANKL, OPG 発現を有意に抑制した。更に *P. g.* 菌感染による腹腔マクロファージからの炎症性サイトカイン(IL-1 及び IL-18)産生や Caspase-1 活性を有意に抑制した。以上の結果から、歯周病原性細菌 *P. gingivalis* の経口感染は、種々のインフラマソーム(NLRP3, ASC, Caspase-1)を活性化して炎症性サイト

カイン産生を誘導し、その結果 Th17 細胞の誘発、IL-17 の増強により慢性炎症が持続する可能性が示唆された。

歯周病原性細菌感染による酸化ストレス亢進メカニズムや LDL の酸化変性機序の解明：脂質酸化は多くの疾患において重要な役割を果たしているが、特に LDL 酸化は動脈硬化の進展において重要なステップとなる。LDL 酸化はマクロファージ内でのその蓄積および泡沫細胞形成に必要な不可欠であり、動脈硬化関連ケモカインや接着因子の発現を促進し、更に IL-6, TNF- α , C 反応性蛋白分泌を促進する。ApoE^{shl} マウスへの *A. a.* 感染は 4-hydroxynoneal や ox-LDL, phospholipase A2 の大動脈組織での発現増加、血清中の ox-LDL, 8-oxo-2'-deoxyguanosine および myeloperoxidase レベルの増加、NADPH オキシダーゼ、calveolin-1, receptor for advanced glycation endproducts の大動脈での遺伝子発現増加等の結果から、LDL 酸化を促進した。*P. g.* においてもまた LDL の酸化変性増強作用 (4HNE, ox-LDL, PLA2, MPO, CD36 の大動脈組織での発現増加や心臓組織における LOX-1 や NADPH オキシダーゼの発現増強) が認められた。In vitro 実験において、*P. g.* 及び *P. g.* LPS は菌数依存的に単球及び血管内皮細胞からの活性酸素 (ROS) 産生を増強した。更に、*P. g.* は抗 ox-LDL 抗体と反応することが確認され、この反応性はジンジパイン阻害剤やジンジパイン欠損株で有意に抑制された。従って、*P. g.* は ox-LDL と共通エピトープを有し、*P. g.* による直接の酸化作用のみならず、分子相同性による炎症増強にも関与している可能性が示唆された。

プロバイオティクスによる口腔内環境の改善による動脈硬化予防：乳酸菌の経口投与における歯周病並びに歯周病誘発動脈硬化の改善について検討した。

(1) 教室保存の乳酸菌 (*Lactobacillus paracasei* JCM1133, *L. casei* JCM1134, *L. rhaminus* JCM1136, *L. paracasei* subsp. Telerans JCM1171, *L. casei* IF03353, *L. paracasei* JCM8130, *L. salivarius* IT2711) 及び口腔分離株 (*L. casei* KI-2, *L. fermentum* KI-5, KI-6-2, and *L. gasseri* 03-2) を用いて、歯周病原細菌 (*Porphyromonas gingivalis* 381 株及び 33277 株) に対する抗菌活性を濁度法により計測した。教室保存の乳酸菌では、*L. casei* JCM1134 と *L. salivarius* IT2711 が *P. gingivalis* 381 及び 33277 に対して 40% の阻害活性を示した。口腔分離株においては、*L. fermentum* KI-5 が *P. gingivalis* 381 及び 33277 に対して 35-40%, *L. gasseri* 03-2 が同株に対して 44-46% の阻害活性を示した。

(2) 上記の乳酸菌を用いて、活性酸素消去能及び脂質過酸化能を測定した。*L. salivarius* IT2711 以外の菌株はいずれも高い活性酸素消去能及び低い脂質過酸化能を示したが、特に *L. paracasei* JCM1133 で顕著であった。

以上の結果から、マウス実験の乳酸菌候補として、抗菌活性が最も高かった *L. gasseri* 03-2 及び高い活性酸素消去能及び低い脂質過酸化能を示した *L. paracasei* JCM1133 を選択した。

(3) Apoe 欠損高脂血症マウスを 6 群に分け、1. Control 群 2. *L. gasseri* 03-2 投与群、3. *L. paracasei* JCM1133 投与群 4. *P. gingivalis* 感染群 5. *L. gasseri* 03-2 投与群+*P. gingivalis* 感染群 6. *L. paracasei* JCM1133 投与群+*P. gingivalis* 感染群とした。乳酸菌を 5 週間にわたり経口投与後、*P. gingivalis* 381 株を経口感染し、歯槽骨吸収量をデジタル HD マイクロスコープにて計測した。更に、心臓の凍結切片を用いて Oil-red O 染色を行った。*L. gasseri* 03-2 及び *L. paracasei* JCM1133 投与群は、いずれも *P. gingivalis* 感染による骨吸収を有意に抑制した。一方、動脈効果発症に対する影響は *L. gasseri* 03-2 だけが *P. gingivalis* 感染によるプラークの蓄積を有意に阻害した。更に、歯肉や大動脈組織における IL-18 発現の顕著な減少が認められた。これらの結果から、*L. gasseri* 03-2 の経口投与は歯周病並びに歯周病から派生する動脈効果の予防に有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 30 件)

1. 落合邦康, マーニ E. クエノ, 落合智子: 口腔内細菌の全身疾患への関わり. 化学療法の領域. 34(3): 61-69, 2018. 査読無
2. Yamaguchi Y, Kurita-Ochiai T, Kobayashi R, Suzuki T, Ando T. Regulation of the NLRP3 inflammasome in *Porphyromonas gingivalis*-accelerated periodontal disease. *Inflamm. Res.* 66(1): 59-65, 2017. 査読有
3. Kurita-Ochiai T, Hashizume-Takizawa T, Kobayashi R, Bhawal UK, Hosono A, Kinukawa N, Oguchi S. *Porphyromonas gingivalis* promotes low-density lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J. Oral Biosci.* 59: 44-49, 2017. 査読有
4. 片岡宏介, 土居貴士, 神光一郎, 上根昌子, 伊藤博夫, 落合(栗田)智子, 三宅達郎. 樹状細胞を活性化する経鼻 DNA アジュバントの開発-感染症・NCD 制御を目指す粘膜ワクチン-. 口腔衛生学会雑誌. 第 67 巻 P2-10, 2017. 査読有
5. Kobayashi R, Kobayashi T, Sakai F, Hosoya T, Yamamoto M, Kurita-Ochiai T. Oral administration of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 is effective in preventing *Porphyromonas*

- gingivalis*-accelerated periodontal disease. Scientific Reports, 7:545, DOI: 10.1038/s41598-017-00623-9, 2017. 査読有
6. Tsuzukibashi O, Uchibori S, Kobayashi T, Umezawa K, Mashimo C, Nambu T, Saito M, Hashizume-Takizawa T, Kurita-Ochiai T. Isolation and identification methods of *Rothia* species in oral cavities. J. Microbiological Methods 134:21-26, 2017. 査読有
 7. 小林良喜、田口千重子、有川量崇、内山敏一、斎藤孝親、落合智子。納豆食による自然免疫機構誘導の検討。日大口腔科学、第43巻1号。P41-47, 2017. 査読有
 8. Fuse, M., Hayakawa, T., Hashizume-Takizawa, T., Suzuki, H., Wakai, H., Nakanishi, M., Niki, Y., Sung-Moon, H., Asaka, K., Kurita-Ochiai, T., Fukumoto, M. Attachment of mouse osteoblast-like cells onto fibronectin- or albumin-immobilized poly (lactic acid-ε-caprolactone) films. J. Oral. Tissue. Engin 15(1):3-10, 2017. 査読有
 9. 落合邦康、落合智子。口腔内フローラと腸内フローラ。PROGRESS IN MEDICINE. 37:711-716, 2017. 査読無
 10. Keisuke Seki, Marni E. Cueno, Noriaki Kamio, Yuko Saito, Atsushi Kamimoto, Tomoko Kurita-Ochiai, Kuniyasu Ochiai. Varying butyric acid amounts induce different stress- and cell death-related signals in nerve growth factor-treated PC12 cells: implications in neuropathic pain absence during periodontal disease progression. Apoptosis, 21:699-707, 2016. 査読有
 11. Evans M, Morofushi T, Tsuda H, Mikami Y, Zhano N, Ochiai K, Kurita-Ochiai T, Yamamoto M, Otsuka K, Suzuki N. Combined effects of starvation and butyrate on autophagy-dependent gingival epithelial cell death. J. Periodontal Res., Sep. 13. Doi: 10.1111/jre. 12418. 2016. 査読有
 12. Nakayama Y, Kobayashi R, Matsui S, Matsumura H, Iwai Y, Noda K, Yamazaki M, Kurita-Ochiai T, Yoshimura A, Shinomura T, Ganss B, Ogata Y. Localization and expression pattern of amelotin odontogenic ameloblast-associated protein and follicular dendritic cell-secreted protein in the junctional epithelium of inflamed gingiva. Odontology, 2. DOI:10.1007/s10266-016-0277-y. 2016. 査読有
 13. 小林良喜、田口千恵子、有川量崇、内山敏一、伊藤誠康、落合智子。*Porphyromonas gingivalis* 口腔感染により発現する Exosome の検討。日大口腔科学、第42巻第1号。P34-39, 2016. 査読有
 14. Yamaguchi Y, Kurita-Ochiai, T., Kobayashi, R., Suzuki, T., and Ando, T. Activation of the NLRP3 inflammasome in *Porphyromonas gingivalis*-accelerated atherosclerosis. Pathog. Dis. 73(4). 2015. 査読有
 15. Jia, R., Hashizume-Takizawa, T., Du, Y., Yamamoto, M., and Kurita-Ochiai, T. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* induces Th17 cells in atherosclerotic lesions. Pathog. Dis. 73(3). 2015. 査読有
 16. Cueno M.E., Kamio, N., Seki, K., Kurita-Ochiai, T., and K. Ochiai. High butyric acid amounts induce oxidative stress, alter calcium homeostasis, and cause neurite retraction in nerve growth factor-treated PC12 cells. Cell Stress Chaperones, 20(4) 709-713, July. 2015. 査読有
 17. 落合智子：口腔環境と全身疾患の関係。バイオインダストリー、32(4) 59-64, 2015. 査読無
 18. Ryoki Kobayashi, C. Taguchi, S. Yonenaga, K. Arikawa, T. Uchiyama, T. Kohon, I. Nasu, and T. Ochiai. 2014. Circadian rhythm affect S-IgA dynamic of the mucosal secretion. *Int. J. Oral-Med. Sci.* Vol.14(1) 1-7, June, 2015. 査読有
 19. Taguchi Chieko, Arikawa Kazumune, Saitou Masanori, Uchiyama Toshikazu, Watanabe Itsuki, Tobita Keisuke, Kobayashi Ryoki, Ochiai Tomoko, Nasu Ikuo. 2014. Orally Ingested *Lactobacillus crispatus* KT-11 inhibits *Porphyromonas gingivalis*-infected alveolar bone resorption. *Int. J. Oral-Med. Sci.* Vol. 13(3) 102-109, March, 2015. 査読有
 20. Kurita-Ochiai T, Ru Jia, Yu Cai, Yamaguchi Y, Yamamoto M. Periodontal disease-induced atherosclerosis and oxidative stress. Antioxidants, Vol. 4 (3) 577-590, Sep.2, 2015. 査読有
 21. Fuse M, Hayakawa T, Hshizume-Takizawa T, Takeuchi R, Kurita-Ochiai T, Fujita-Yoshigaki J, Fukumoto M. MC3T3-E1 cell assay on collagen or fibronectin immobilized poly (lactic acid-ε-caprolactone) film. J. Hard Tissue Biol. 24: 249-256, 2015. 査読有
 22. Tomomi Hashizume-Takizawa, Noriko Shinozaki-Kuwahara, and Tomoko Kurita-Ochiai. Transformation of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* with green fluorescent protein. *Int. J. Oral-Med. Sci.* Vol. 14(2)(3), 41-47, December, 2015. 査読有
 23. 斎藤真規、栗原紀子、續橋治、小林

- 良喜、平澤正晃、落合智子。歯周病原性黒色集落嫌気性桿菌群のための増殖培地の検討。日大口腔科学、第41巻第3,4合併号。p103-109, 2015。査読有
24. Hagiwara M, Kurita-Ochiai T, Kobayashi R, Hashizume-Takizawa T, Yamazaki K, Yamamoto M. Sublingual vaccine with GroEL attenuates atherosclerosis. J. Dent. Res. 93 (4): 382-387, 2014. 査読有
25. Hashizume-Takizawa, T., Shinozaki-Kuwahara, N., Tomita, N., and Kurita-Ochiai, T. Establishment of a convenient sandwich-ELISA for direct quantification of glucosyltransferase-I: application for dual diagnosis of dental caries. Monoclon. Antib. Immunodiagn. Immunother. 33: 89-93. 2014. 査読有
26. Kusama H, Kobayashi R, Kurita-Ochiai T. Midazolam inhibits IgE production in mice via suppression of class switch recombination. J. Oral Sci. 56(1): 77-83, 2014. 査読有
27. Tomita, N., Hashizume-Takizawa, T., and Kurita-Ochiai, T. Comparison of Apolipoprotein E knockout mice and spontaneously hyperlipidemic mice in *Porphyromonas gingivalis*-induced atherosclerosis. Int. J. Oral-Med. Sci. 12: 209-215. 2014. 査読有
28. Arikawa, K., Kobayashi, R., Kurisu, R., Taguchi, C., Uchiyama, T., Kamachi, K., Kurita-Ochiai, T, and Nasu, I. Enhancement of antimicrobial peptide induction in both oral and intestinal mucosa by fermented daily products. Int. J. Oral-Med. Sci. 12: 225-229. 2014. 査読有
29. Kurita-Ochiai, T. and Yamamoto M. 2014. Periodontal pathogens and atherosclerosis: Implications of inflammation and oxidative modification of LDL. BioMed Res. Int. 2014:595981. 2014. 査読有
30. Cai, Y., Kobayashi, R., Hashizume-Takizawa, T., Kurita-Ochiai, T. *Porphyromonas gingivalis* infection enhances Th17 responses for development of atherosclerosis. Arch Oral Biol. 59: 1183-1191. 2014. 査読有
- [学会発表](計 58 件)
1. Kurita-Ochiai T, Yamaguchi Y, Kobayashi R, Ando T. Involvement of NLRP3 inflammasome in P. gingivalis-accelerated atherosclerosis and periodontal disease. International Congress of Immunology (Melbourne, Australia)

- 2016年8月21-26日。
2. 落合智子、瀧澤智美、小林良喜。ジンジパインと酸化LDLとのエピトープ交差反応性。第59回春季日本歯周病学会学術大会。2016年5月20-21日、かごしま県民交流センター。
3. Yamaguchi Y., Kobayashi R., Hashizume-Takizawa T., Ando T., Ochiai T. Activation of the NLRP3 inflammasome in *Porphyromonas gingivalis*-accelerated atherosclerosis and periodontal disease. 93rd General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research (Boston, USA) 2015年3月11-14日。
4. Yamaguchi Y., Ochiai T., Kobayashi R., Hashizume T., Ando T. Activation of NLRP3 inflammasome in *Porphyromonas gingivalis*-accelerated atherosclerosis and periodontal disease. The 43rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. (京都国際会議場) 2014年12月10-12日。
5. Yamaguchi Y., T. Ochiai, T. Hashizume, R. Kobayashi, and T. Ando. Association of inflammasome in periodontal disease and atherosclerosis induced by *Porphyromonas gingivalis* oral infection. 96th Annual Meeting, Scientific Sessions & Exhibition (Hawaii, USA) 2014年9月10日。

[図書](計 1 件)

1. 落合智子他。口腔微生物学 感染と免疫、第6版 54-75, 学健書院、東京、2018
2. 落合智子: 腸内細菌・口腔細菌と全身疾患。シーエムシー出版、168-175, 2015。

[産業財産権]

6. 研究組織

- (1)研究代表者
落合智子(栗田智子)(OCHIAI Tomoko)
日本大学・松戸歯学部・教授
研究者番号: 20130594
- (2)連携研究者
大口純人(OGUCHI Sumito)
日本大学・松戸歯学部・准教授
研究者番号: 30366611
- (3)連携研究者
鈴木敏彦(SUZUKI Toshihiko)
琉球大学・医学部・教授
研究者番号: 10292848