

平成22年 3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19592396  
 研究課題名（和文） 歯周病進行の危険度を予測する診断用カスタムアレイの開発  
 研究課題名（英文） A development of the custom array for diagnoses to predict a risk of the periodontal-disease  
 研究代表者  
 平塚 浩一（HIRATSUKA KOICHI）  
 日本大学・松戸歯学部・講師  
 研究者番号：80246917

研究成果の概要（和文）：歯周病患者の病態を診断するための歯周病病原細菌遺伝子発現解析アレイを製作し、その有用性を検証した。歯周病病原微生物として良く知られている *Porphyromonas gingivalis* をターゲットとして全遺伝子プローブをアレイ上に構築した。歯周病の病態を悪化させる宿主側の候補遺伝子を検索した結果、病態に依存して発現が高い遺伝子を確認し、将来的に診断に役立つものと思われる。

研究成果の概要（英文）：We produced a gene expression array for periodontal disease-associated pathogens to diagnose the state of periodontal disease, and inspected the utility. All gene probes of *Porphyromonas gingivalis* well-known as periodontal pathogen were targeted, and were built on the array. As a result of searching the candidate genes of the bacteria deteriorating clinical condition of periodontal disease, we confirmed high-expressed genes depend on the clinical state. Thus, it seems that the candidates will be helpful in the diagnosis in a future.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：マイクロアレイ，診断，歯周病，細菌，遺伝子発現，病態

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 従来、細菌学的に歯周病診断基準の1つになっていたのは、臨床的に特定の菌体が分離されるか否かという点にあった。しかしながら近年の研究報告により、同一菌種であっ

ても病原性は様々であることがわかってきた。例えば、マウス腹腔内接種により高い膿瘍形成能を持つものもあれば、ほとんど持たない株ものもあり (Oral Microbiol Immunol. 1996 11:309-18 ; Infect Immun. 1992

60:1447-54)、また蛋白質分解酵素発現量や細胞に対する付着能・invasion 能等においても同一菌種の株種の違いによって様々な相違が認められる(FEMS Microbiol Lett. 2000 15:187:139-44 ; J Periodontal Res. 1993 28:219-26)。また歯周病の進行は比較的短時間の活動期と長時間の非活動期の繰り返しにより進行すること、歯周ポケットには活動期と非活動期のものが存在すること、および破壊性の活動は部位特異的にランダムに暴発進行するという考えが主流となった。さらには同一菌株においてもその病原性は口腔内の様々な外的環境因子により変化する可能性が我々の研究結果から示唆された[「歯周病関連細菌の病原性診断のためのカスタムメイド DNA チップの作製」(基盤研究(C); 平塚浩一; 平成 13~15 年度)]。今日までの細菌を中心とした研究は、病巣から菌体が検出されたか否かを 16S リボソーム RNA の保存領域をターゲットにした PCR 法等で検出する検査法が中心となっている。これでは細菌の悪性度を示す病原性因子の発現を同時にかつ多角的に捕らえる事は難しい。従って、歯周病の進行予測には、宿主側の因子のみでなくパラサイト側からのトランスクリプトーム解析のアプローチが将来的に必要不可欠である。

(2) 感染細菌のトランスクリプトーム解析を臨床サンプルを用いる場合には 2 つの大きな問題点が存在する。第 1 に臨床サンプルから抽出可能な RNA 量が極微量であり、到底アレイに反応させるだけのマイクログラムオーダー量は分離不可能である。培養すればプロファイリングは変化してしまう。また原核生物の mRNA の 3' 末端にポリ A 配列が存在しないことから真核生物で汎用されている oligo d[T]20 プライマーによる mRNA 増幅もできないことである。第 2 に、市販されている細菌の DNA アレイをそのまま使用するにはアレイ上の遺伝子プローブに問題がある。第 1 の問題に関しては既に臨床分離された極微量の原核生物試料から特別なキットを用いずに RNA を増幅するための原核生物用プライマーを既に開発し[「歯周ポケット内生息細菌の病原性を直接モニタリング可能な診断法の開発」(基盤研究(C); 平塚浩一; 平成 16~18 年度)]、公開特許が済んでいる。これによりナノグラムオーダーの全 RNA を増幅し、マイクログラムオーダーに増量することで DNA アレイの使用が可能になった(日本細菌学会総会発表; 金沢; 2005. 03. 31)。またその結果はサンプルを増幅しないで得られる結果と高い相関性が得られる事を報告した(歯科基礎医学会総会発表; 鶴見; 2006. 09. 23)。現在、全ゲノムが解読されている細菌なら市販でマイクロアレイを購入

することができる。第 2 の問題点は、市販のアレイ上にスポットされている遺伝子プローブは、特定の 1 菌株のデータベースを基として作られている上に 25 mer の短い合成オリゴプローブを使用していることである。さらにこのプローブの設計の際、複数の菌種の混合サンプルを使用する事を想定していない。つまり設計上では、選ばれた菌株のゲノム塩基配列内で各遺伝子プローブがユニークであるか否かのみが問題になる。したがって同一菌種であっても菌株が異なることで選択された遺伝子プローブが、他の株で塩基配列が完全一致しない限り、アレイ上の遺伝子プローブに標識試料が結合しないことが起こりえる(GeneChip では 25 mer 中 1 塩基のみ違ってもアレイ上の遺伝子プローブに反応しない)。したがって既製アレイを供して臨床分離株のトランスクリプトーム解析は困難である。そこでこの問題解決には特異性を故意的にある程度下げて、多少塩基配列が異なってもアレイ上の遺伝子プローブに結合力を持つような領域、恐らくは同一菌種異種菌株の保存領域をターゲットにし、数百ベース程度の長さを持つ遺伝子プローブを設計することが必要不可欠であると考え。このようなプローブ設計およびプローブのマイクロアレイ上へのスポットング技術およびハイブリダイゼーション・洗浄条件等の検討を我々は既に済んでいる(日本歯周病学会学術大会、広島、2002 年; 国際歯科学会、イエテボリ、2003 年; 日本歯周病学会学術大会、鹿児島、2004 年; 他 3)。

## 2. 研究の目的

(1) 歯周病患者の病態を診断するための *P. gingivalis* カスタムメイドアレイを製作し、その有用性を検証する。

(2) 歯肉溝浸出液から細菌 RNA を抽出し、RNA 増幅を行い、病態の軽度の者と重度の者との *P. g* 遺伝子発現を比較・検討し、候補遺伝子をスクリーニングする。

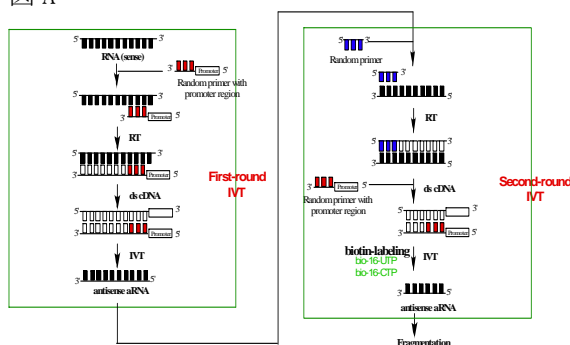
## 3. 研究の方法

(1) 感染側の細菌の病原性から歯周病の病態を予測する目的で、パブリックデータベース CMR (<http://cmr.jcvi.org>) から *P. gingivalis* の全 1,945 種の遺伝子の他、3 種の rRNA, 46 種の tRNA を選択し、それぞれ類似性の低い領域でかつ、Tm 値がほぼ均等になる 60 mer の遺伝子プローブを設計した。さらに外部標準用遺伝子として 3 種のヒト遺伝子 ( $\beta$  アクチン, GAPDH, lactoferin) を

選択し同様にプローブを設計した。設計したすべてのプローブを3セット1組にしてマイクロアレイ上に構築し、P. g カスタムアレイを作成した。

(2) RNA 試料の使用量や標識法に関する最適化および病態予測に最適な遺伝子を探索する目的で P. gingivalis に様々なストレス（温度変化、pH 変化、ヘミン量および酸素ストレス等）を加えてたのち、total RNA 抽出し、独自の方法（図 A）にて *in vitro* transcription で linear 増幅したのち、化学的標識法にて Cy3 ラベルし、マイクロアレイ上でハイブリダイゼーションを施した。遺伝子発現の変動を解析し、各種ストレスに対して変動しやすい遺伝子を探索した。

図 A



(3) 臨床試料には細菌 RNA の他ヒト RNA も含有する。また、細菌全 RNA の中には mRNA 以外に多くの rRNA や tRNA を含有する。このような夾雑物がアレイ結果にどの程度及ぼすのかを調べておく事は、極微量の試料から正確な解析を施すには重要なことである。そこで図 B に示すような方法で細菌試料を調製しアレイ解析を行なった。

図 B



(4) 慢性歯周病患者（プロービング時の歯肉出血有り・歯槽骨吸収有り）のうち、軽度歯周炎（PD:3mm 以下）および重度歯周炎（PD:7mm 以上）と判断される患者のポケットから滅菌ペーパーポイントで 30 秒差し込むことで、歯肉溝浸出液を採取した。一部は RNA 安定化試薬に保存後、RNA 抽出を行なった。また歯肉溝浸出液の一部を PBS 溶液に保存し生化学的解析（IL-1, IL-6, IL-8, PGE2, TNF  $\alpha$ ）を ELISA 法で行なった。抽出した RNA から哺乳動物 RNA をサブトラクトしたのち、逆転写反応、二本鎖 cDNA 作成後、IVT 法により cRNA の増幅を行なった。またそれを標識しアレイ上の遺伝子プローブとハイブリダイゼーションを行なった。慢性歯周病患者と軽度歯周炎患者での P. gingivalis 遺伝子発現の差異を検索し、マーカー探索を行なった。

(5) 口腔内試料から各歯周病原細菌がどの程度検出できるかを調べる事で、病態に関わる細菌の遺伝子発現を調べる対象として適当か否かを推測可能である。そこでボランティア（n = 42, 平均 41.6 歳）から早朝に唾液を採取した。なお試料採取前日の就寝前のブラッシングは控えて頂いた。唾液 200  $\mu$ L に対して 25% Chelex 100 レジン（Bio-Rad 社）を 50  $\mu$ L 加えて 56°C で 30 分間温置後、10 分間煮沸した。冷却後、10,000  $\times$ g で 5 分間遠心して得られた上清を細菌 DNA 試料とした。口腔内細菌として *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*), *Bacteroides forsythus* (*Tannerella forsythensis*), *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* および *Treponema denticola*, *Eikenella corrodens* の 8 菌種を選択し、18S rRNA の塩基配列からこれら菌種に特異的な PCR primer を合成した。また、全ての細菌に共通して存在する 16S rRNA のコンセンサ領域を増幅するための Universal primer をポジティブコントロールとした。PCR 反応は唾液処理試料 7.5  $\mu$ L, プライマー (2.5 mM) を各 2.5  $\mu$ L, PrimeSTAR Max DNA Polymerase (TAKARA) を 12.5  $\mu$ L (合計 25.0  $\mu$ L) を混合し、98°C で 10 秒、55°C で 5 秒、72°C で 5 秒を 1 サイクルとして、40 サイクル行った。各 PCR 産物 10  $\mu$ L を agarose gel 電気泳動し、染色後、写真を撮影した。得られた PCR 産物のバンドの大きさや濃さから、口腔内で検出された細菌の種類および量を推定した。

本研究はヒト試料を使用するため、実験計画書を日本大学松戸歯学部倫理委員会に提出・審議の上、承認(EC 07-019号, 2007.12.3)を得た。

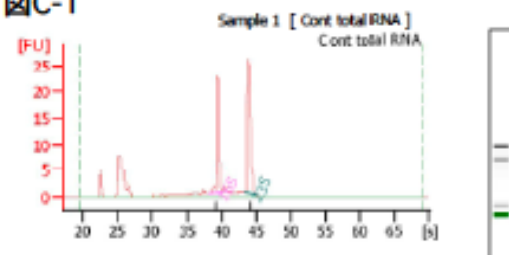
#### 4. 研究成果

(1) 細菌から RNA を抽出した場合には、その中には mRNA 以外に tRNA (5%), rRNA (90%), small RNA (数%)の夾雑物を含有する。本研究での RNA 増幅にはランダムプライマーを使用するため、mRNA を含めたすべての RNA を対象に増幅してしまうことになる。そこで、このような total RNA をアレイ試料にするのが適当か、さらに total RNA から夾雑物を可能な限り除去し、mRNA-rich 試料をアレイ試料として用いるのが適当なのかを調べた。total RNA 試料 (図C-1)、total RNA から rRNA を除去した試料 (図C-2)、および total RNA から rRNA と tRNA を除去した試料 (図C-3) を Bioanalyzer にかけた波形を示す。rRNA を total RNA から本方法で除去すると RNA 量で平均 64%除去 (n=4)、tRNA を更に除去すると total RNA から平均 94%除去 (n=1) された。

(2) 歯周病原細菌として主たる *P. gingivalis* にまず着目し、口腔内で起こり得る環境変化に対して変動しやすい遺伝子群を探った。本菌体に、温度変化、pH 変化、培地中のヘミン量の変化 (臨床的には歯周ポケット内での出血の程度) および酸素ストレス等の環境変化を加えて、発現変化が顕著である遺伝子群を検索した。各ストレスに対して、特異的に大きな発現変化をする遺伝子群と、全てのストレスに共通して変動が認められる遺伝子群を遺伝子発現アレイ実験後、解析ソフトを使用して検索した。さらに、歯周病患者の臨床試料を使つてのパイロット実験を行い、歯周病が中等度の患者と重度に進行した歯周病患者から得られた細菌試料を使用し、発現変化の著明な遺伝子群を解析した。以上の様々な解析結果を総合し、ストレスに変動しやすい遺伝子を病態を診断する上での候補遺伝子に挙げた。

(3) total RNA と mRNA - rich 試料とで Cy3 標識の効率が異なるか否かを検討した。1 ug の cRNA に対する Cy3 の取り込みは、total RNA および mRNA - rich 試料でそれぞれ 98 pmol/ug, 121 pmol/ug であり、ほぼ同等の取り込みをする事がわかった。またスキャン画像から得られた S/N 比に関して total RNA を材料にしたものは S/N 比が 1.5~1.8 であるのに対して mRNA-rich にしたものは 2.4~3.9 と明らかに向上した。従つて total RNA より

図C-1



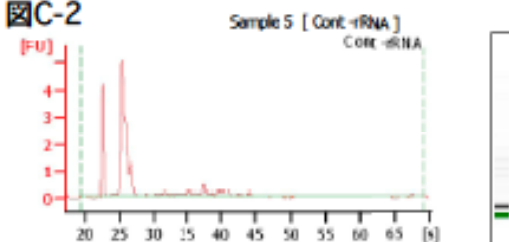
Overall Results for sample 1 : **Sample 1**

RNA Area: 106.2  
RNA Concentration: 190 ng/ul  
rRNA Ratio [23s / 16s]: 1.4  
RNA Integrity Number (RIN): 9.6 (0.02,04)

Fragment table for sample 1 : **Sample 1**

Name	Start Time [s]	End Time [s]	Area	% of total Area
16S	38.25	40.30	21.2	15.9
23S	43.30	45.15	34.8	32.8

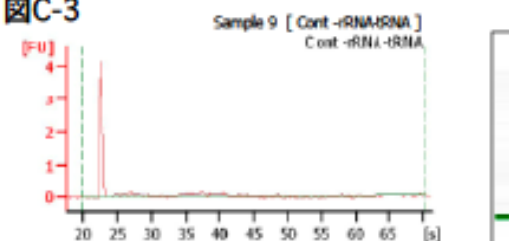
図C-2



Overall Results for sample 5 : **Sample 5**

RNA Area: 23.3  
RNA Concentration: 42 ng/ul  
rRNA Ratio [23s / 16s]: 0.0  
RNA Integrity Number (RIN): 2.8 (0.02,04)

図C-3



Overall Results for sample 9 : **Sample 9**

RNA Area: 2.1  
RNA Concentration: 4 ng/ul  
rRNA Ratio [23s / 16s]: 0.0  
RNA Integrity Number (RIN): N/A (0.02,04)

も mRNA-rich に精製した試料の方がアレイ解析においてバックグラウンドを軽減できることが判明した。

(4) 人の臨床試料から細菌 RNA を採取するに当たり、どうしても口腔粘膜等から脱離したヒト細胞由来の RNA がコンタミネーションする事になる。細菌が付着・浸潤している歯肉組織から、細菌のみを単離することは極めて難しい。そこで、そのような臨床試料全体 (ヒト RNA と細菌 RNA の混在) を標識してアレイ試料にした場合と、全試料からヒト RNA および低分子 RNA を極力除去したものを標識してアレイ試料にした場合とで、遺伝子発現アレイに及ぼす影響を検討した。その結果、ヒト・細菌の混在する RNA 全体からヒト細胞由来の RNA および低分子 RNA を除く事で、アレイ上でのバックグラウンドを押さえ、S/N 比を 2-3 倍高める事がわかった。

(5) 慢性歯周病患者のうち、軽度歯周炎および重度歯周炎と判断される患者のポケットから歯肉溝浸出液を採取し、生化学的解析お

よびアレイ解析を行なった。その結果、軽度歯周炎と重度歯周炎患者の歯肉溝中の *P. gingivalis* 遺伝子の発現量に差があるものが、数百遺伝子疾患マーカー候補として存在した。また、この中から発現パターンのご組合せの検討と生化学的マーカーとの関連性について検討し興味ある知見が得られた。

(6) 唾液提供者から得られた結果を Table 2 にまとめた。その際の PCR 量のおおよその評価は、泳動時に一定量必ず加える 100 bp ラダーマーカーの 600 bp の濃さを (++) として、それより薄いバンドは (+)、濃いバンドは (+++) とした。また、PCR 産物が認められないものをマイナス (-) で表した。全てのプライマーは想定されるサイズのバンドが認められ、非特異的に増幅されたものは確認されなかった。また、42 検体全てで細菌 16S rRNA 共通のユニバーサルプライマーでの増幅が認められた。Family I は全員に *B. f* が認められ、それ以外では *P. n* が優位に認められる。Family II では *B. f* が優位ではあるが、ある家族の親 (G) と子 (I, J) では本菌が認められていない。Family III では最も多くの菌種を検出できた家系であり、*B. f* と *P. n* が同程度に優位に認められ、共に陽性率が 75% であった。また、*E. c* の検出率が比較的高い家系であった。Family IV は唾液提供者が 14 と最多であるにもかかわらず、全員に *B. f* が検出されたが、Family I や Family III のように *P. n* の検出はそれ程高くなかった。

家系間での各細菌種ごとの検出率を Table 3 にまとめた。提供者全体での各細菌の検出率はそれぞれ、*T. d* (0%), *P. n* (38.2%), *P. i* (9.5%), *P. g* (16.7%), *E. c* (23.8%), *C. r* (4.8%), *B. f* (81.0%), および *A. a* (4.8%) であった。どの家系も *B. f* は他の口腔内細菌に比較して非常に高頻度 (60 - 100%) で検

Family I

Bacteria	A	B	C	D	E	F
Universal primer	++	++	++	++	++	++
<i>T. denticola</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. nigrescens</i>	+	-	++	-	+	+
<i>P. intermedia</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. gingivais</i>	-	-	-	-	-	-
<i>E. corrodens</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C. rectus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>B. forsythus</i>	++	++	+	++	++	+
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	-	-	-	-	-	-

Family II

Bacteria	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Universal primer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>T. denticola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. nigrescens</i>	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-
<i>P. intermedia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. gingivais</i>	++	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
<i>E. corrodens</i>	++	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
<i>C. rectus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. forsythus</i>	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	++
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Family III

Bacteria	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Universal primer	++	++	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+
<i>T. denticola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. nigrescens</i>	+	-	++	+	+	-	-	+	++	++	++	++
<i>P. intermedia</i>	-	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>P. gingivais</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. corrodens</i>	-	+	-	+	-	-	-	++	+++	-	+	+
<i>C. rectus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. forsythus</i>	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-

Family IV

Bacteria	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
Universal primer	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>T. denticola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. nigrescens</i>	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. intermedia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. gingivais</i>	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
<i>E. corrodens</i>	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
<i>C. rectus</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. forsythus</i>	++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-

出された。逆に *T. denticola* はどの家系にも全く検出されなかつた Table 2 Gel electrophoresis results for detection of bacterial-specific PCR bands

った。*P. n* は比較的高頻度に認められた菌種であるが、家系間での差が大きく、2家系が 67% で 2家系が 10 - 20% 程度であった。さらに高頻度家系を詳細に調べると、親のどちらか一方が陽性である場合に、子の一部または全部が陽性である割合は 80% と高頻度であった。低頻度の家系ではそのような関連は認められなかつた。*P. i* も全体の出現頻度は 9.5% と低いが、陽性となる場合の多くは親とその子供であった。*P. g* も family III では同様の傾向が認められた。一方、*E. c* にはそのような親子での関連は全く認められなかつた。*C. r* および *A. a* は出現頻度そのものが共に 4.8% と低く、家族性は認められなかつた。今回、特に検出率が高かつた *B. f* は、歯肉縁上プラークから分離されるグラム陰性の嫌気性菌であり、主要な歯周病原性細菌である。また、歯肉の正常部位が疾患部位に変わる際に有意に増加する主要細菌として知られている<sup>1,6)</sup>。同様に検出率の高かつた *P. n* は慢性歯周炎、急性壊死性潰瘍性歯周炎、妊娠性歯肉炎および根尖性歯周炎など、口腔領域の感染症から高頻度かつ高比率に分離される黒色素産生性偏性嫌気性グラム陰性桿菌である。*B. f* および *P. n* は、共に嫌気性菌であるので、歯肉縁下プラークよりも唾液中の方が高頻度で検出されるとは考えにくい。

Table 3 Detection percentage of oral bacteria

Bacterial species	Detection percentage				
	T(n=6)	I (n=15)	(n=12)	(n=14)	Total (n=44)
Universal primer	100	100	100	100	100
<i>T. denticola</i>	0	0	0	0	0
<i>P. nigrescens</i>	66.7	10.0	66.7	21.4	38.2
<i>P. intermedia</i>	0	0	25.0	7.1	9.5
<i>P. gingivais</i>	0	20.0	25.0	14.3	16.7
<i>E. corrodens</i>	0	20.0	41.7	21.4	23.8
<i>C. rectus</i>	0	0	8.3	7.1	4.8
<i>B. forsythus</i>	100	60.0	66.7	100	81.0
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0	0	8.3	7.1	4.8

歯肉が健康な部位の歯肉縁下プラークからは *B. f* は全く検出されないとする報告 (n = 10)、2-12 歳を対象にした健康歯肉での *B. f* の検出率は 33.3%, *P. n* は 45.8% であるという広島大学の報告 (n = 119)、歯周病的に健康な被験者からの *B. f* の歯肉縁上プラークでの検出は 5% であり、歯肉縁下プラークでは 35% であるという報告 (n = 20) がある。また、56 名の子供 (平均 8.3 ± 3.5 歳) の全唾液を対象とした検出率は *B. f* (42.9%), *P. n* (42.9%) である報告や、6 歳以後に *P. g*, *B. f* および *T. d* の検出率が高まるとの報告、*P. n* は、小児 (n = 41, 6-13 歳) の唾液で最も頻繁に検出された菌種 (80%) であつた

とする報告もある。いずれの場合においても対象となる被験者の年齢やサンプルの違い（唾液またはプラーク）はあるが、歯周病的に健常な被験者であっても *B.f* や *P.n* の検出率は報告に大きく偏って（0 ～ 80%）おり、本研究で得られた両菌種の検出率が正常範囲であるか否かを判断する事は難しいと思われる。いずれにしても、本研究において *B.f* や *P.n* の検出率は高く、将来的な診断用細菌としての候補と考えるべきであろう。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 3 件）

- ① Hiratsuka K, Kiyama-Kishikawa M, Abiko Y. Hemin-binding protein 35 (HBP35) plays an important role in bacteria-mammalian cells interactions in *Porphyromonas gingivalis*. *Microb Pathog.* 査読有, 48(3-4), 2010, pp116-123.
- ② Hiratsuka K, Hayakawa M, Kiyama-Kishikawa M, Sasaki Y, Hirai T, Abiko Y. Role of the hemin-binding protein 35 (HBP35) of *Porphyromonas gingivalis* in coaggregation. *Microb Pathog.* 査読有, 44(4), 2008, pp320-328.
- ③ Yamashiro K, Myokai F, Hiratsuka K, Yamamoto T, Senoo K, Arai H, Nishimura F, Abiko Y, and Takashiba S. Oligonucleotide array analysis of cyclic tension-responsive genes in human periodontal ligament fibroblasts. *Int J Biochem & Cell Biol*, 査読有, 39 (5), 2007, pp910-921.

〔学会発表〕（計 2 件）

- ① 安孫子宜光・柴田恭子・平塚浩一・岡野総一郎； 歯科医学へのバイオインフォーマティクスの応用、第 21 回日本歯科医学会総会、神奈川（横浜）（2008. 11. 16）
- ② T. MURAKAMI, T. FUKUNAGA, N. TAKESHITA, K. HIRATSUKA, T. YAMASHIRO, Y. ABIKO, and T. TAKANO-YAMAMOTO ; Novel roles of Ten-m/Odz3 in development of mandibular condylar cartilage. IADR (Toronto) (2008. 02. 04)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平塚 浩一 (HIRATSUKA KOICHI)

日本大学・松戸歯学部・講師

研究者番号：8 0 2 4 6 9 1 7