

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 1日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21390497

研究課題名（和文） 歯周病の新規治療標的分子の探索とヒト型抗体療法 IT創薬開発のゲノム科学応用研究

研究課題名（英文） Searching newly targets and applying their antibodies for the periodontal disease, furthermore development of IT drugs.

研究代表者

安孫子 宜光（ABIKO YOSHIMITSU）

日本大学・松戸歯学部・教授

研究者番号：70050086

研究成果の概要（和文）：日本人の歯周炎患者にはFimA線毛II型*P. gingivalis*が多いという報告から、II型TDC60株の全遺伝子配列解析し、公開した。歯周病の効果的な新規治療標的分子を探索し、臨床で実用化可能な中和抗体の作製とIT創薬の開発を試みた。標的分子として、TDC60株で発現量が多いマイナー線毛分子Mfa1、コラーゲン代謝酵素Dap2、ジペプチダーゼ PepD-2について解析した。PepD-2及び共凝集因子でヘミン結合能をもつHBP35の立体構造解析を行い、各々の分子機能と阻害因子について解析を行った。

研究成果の概要（英文）：Analyzing the genomic information for TDC60 is expected to provide new insights into the mechanisms underlying the onset and progression of periodontitis. For that reason, we searched for the specific virulence factor in the TDC60 strain using the complete genome sequences, and found higher levels of a dipeptidase PepD-2, a minor fimbriae-1 (Mfa1), a collagenolysis-related peptidase Dap2 compared to the W83 strain using 2-DE and MALDI-TOF mass spectrometry. The crystal structure of PepD and HBP35 showed that the overall folding and then analyzed their function.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2010年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2011年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2012年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

 キーワード：歯周病、*P. gingivalis*、TDC60株、治療標的分子、ゲノムプロジェクト、データベース、IT創薬、抗体

## 1. 研究開始当初の背景

歯周病の主要な原因菌*P. gingivalis*は、線毛*fim A*遺伝子多型によってI-V型に分類され、各分類株で病原性が異なるといわれている。87%の進行性歯周炎患者から本菌が分離されるが、*fim A*遺伝子多型が調べられた結果、*fim A* II型株が約70%と圧倒的に多く、一方、健

常者の33%からも本菌が分離されるが、*fim A* I型がなんと80%以上を占めるという。*P. gingivalis*ゲノム計画の動向は、TIGR/Forsyth Dental Centerによって*fim A* IV型W83株のゲノム計画が終了しており公開されている、またI型株のATCC33277のゲノムプロジェクトも終了しており、ORF情報のみが公開されて

いる。ATCCからI型株の入手が容易であることもあって世界の多くの研究者が*fim A I*型を標的として研究を進めてきたきらいがあるが、II型株については研究が遅れている。このことが効果的な分子標的治療の開発を遅れさせてしまった可能性は否定できない。したがって歯周病の標的分子治療の実現にはII型*P.gingivalis*の特異的病原因子の探索が不可欠と考え、すでに*fim A II*型株TDC60のゲノムプロジェクトを開始し年内に終了する。これらの背景から*fim A II*型TDC60、I型ATCC33277、IV型株W83との比較ゲノム科学研究を通して歯周治療に有用な標的病原分子の網羅的な探索が可能となる。分子標的治療の展開として、研究代表者らはこれまでに、受動免疫療法を開発を目的に*P.gingivalis*の定着因子である40-kDa外膜タンパク、130-kDa赤血球凝集因子の病原性機能、機能部位を特定し(*J Biol Chem*, 274:5012-, 1999; *Biochem Biophys Res Commun*, 300:351-, 2004; *Crit Rev Oral Biol & Med*, 11:140-, 2000)、IgG H, L鎖可変部位の遺伝子組換え単鎖抗体(ScFv)の作出に成功し(*Infect Immun*, 66: 2207-, 1998)、*E.coli*封入体によるScFv低産生問題を世界で初めて*B.brevis*発現系を応用して解決し量産を可能にした(*Biosci Biotechnol Biochem*, 65:389-, 2001, *Biochim Biophys Acta*. 1722:189-, 2005)。また、ヒトFc受容体と抗体の可変部位Fvを合体させたBi-specific抗体の作成にも成功している(*Vaccine*, 23:585-, 2004)。歯科臨床での実用化を考えた時、絶対的な安全性の保証が必須で、動物由来抗体は回避すべきであると考え、免疫不全マウスとEBV不死化法(*Infect Immun*, 65:3966-, 1997)、ヒトIgG抗体遺伝子トランスジェニックマウスXeno-mouse(ヒトIgG1, 2領域遺伝子導入)を応用して赤血球凝集活性の中和ヒト抗体を(*Vaccine*, 23: 585-, 2004)、Transchromo-mouse(ヒト全抗体遺伝子染色体導入)を応用してBiofilm形成、ヘミン結合の中和ヒト抗体(*Vaccine*, 23: 3850-, 2005)の作出に成功した。加えて、作出したヒト型抗体が動物感染実験系で歯槽骨の吸収を抑制できることを証明した(*J Periodontol*, 78:933-, 2007)。しかしながら、臨床での実用化を実現するには、ハイブリドーマ細胞培養系からの量産は困難である。近年、ヒトの骨髄などからmRNAを抽出しcDNA合成後、H鎖およびL鎖の可変部遺伝子をRT-PCRで増幅し、ファージ表面に一組のFabを表出させるファージ・ディスプレイ型のコンビナトリアル・ライブラリーが構築されている。そこで、有用な歯周病治療標的分子の網羅的同定ができれば、標的分子リコ

ンビナントタンパクでファージディスプレイScFvライブラリーをパンニング法で回収し、プラスミド宿主に転換して我々が開発に成功している*B.brevis*発現系を利用してヒト型の病原因子中和組換え抗体を量産できる。これまでプロテオミクス研究による治療標的分子の探索にも着手し、酸素ストレス、バイオフィーム形成に関与するタンパク分子発現の解析を行い、すでに、いくつかの興味深い治療標的分子の特定に成功している(*Proteomics* 6:251-, 2006; *Proteomics* 8: 2936-47, 2008)。そして、歯科界では本邦初の*P.gingivalis*プロテオームデータベースを研究者の共通財産としてWebsite <http://bipos.mascot.nihon-u.ac.jp>(当教室)で公開し、本菌のプロテオーム研究に貢献している(*Oral Microbiol Immunol*, 20: 344-, 2005)。歯周病のファーマコゲノミクス創薬研究は立ち遅れているが、その試みとして、*P.gingivalis*の40-kDa外膜タンパクを大量精製、結晶化、X線回折で立体構造を決定し、本分子がもつ共凝集、赤血球凝集、ヘミン結合、チオドレキシシンの機能ドメインを同定することに成功している。そして、ヘキサマー構造をとって宿主細胞膜に対するpore-forming toxinであるleukocidinと一致するβ-sheet構造が存在することを発見した。これらの立体構造情報を応用して歯周病学、歯科界では初のIT創薬の開発に挑戦する。閉塞気味の歯科界にあって、これを打開するには歯科医学の次世代の有能な青年の確保が必要である。当教室大学院生と進める本研究の達成で、歯科界の未来を背負う有能な研究者の育成、包括的な歯周病の分子標的治療が実現するだけでなく、歯科医学界から社会へ、いかに歯科医学が魅力的で有意義であるかの情報発信が期待出来る。

## 2. 研究の目的

主要な歯周病原菌*P.gingivalis*を標的として、当研究室で構築したゲノムデータベースを基盤に、歯周病の効果的な新規治療標的分子を探索し、その標的分子に対して、臨床で実用化可能な安全性の高いヒト型中和抗体の作製と歯科界では初といえるIT創薬の開発を試みる。本研究の付加価値として、本大学院教育でゲノム科学基礎研究者として大学院生を参加させ、歯科医学の将来をになうゲノム科学専門研究者として育成する。また、本研究の研究成果を網羅的に利用できるようなデータベースを構築し、歯科界の共通財産として公開することで歯周病撲滅のための研究推進に役立てる。

### 3. 研究の方法

#### (1) *P. gingivalis* TDC60 (II型) ゲノムプロジェクト解析

既存のインターネットデータベースを利用して、*P. gingivalis* TDC60 の ORF を予測する。約 2000 の予想遺伝子について、blast 検索を行ない、各遺伝子の機能を予測する。ゲノムプロジェクトが終了している ATCC 33277 (I型)*P. gingivalis* W83 (IV型)、各遺伝子の相同性を比較する。

#### (2) *P. gingivalis* TDC60 特異発現標的分子の探索

① *P. gingivalis* TDC60 の予測 ORF を基に Fasta 形式のデータベースを構築する。ORF の確認同定、転写開始部分の推測、シグナルペプチドの確認などの基礎データをデータベース化する。

② 2D-PAGE ゲルで展開されたタンパク質スポットを網羅的に MALDI-TOF-MS 解析を行なう。そして、ゲノムデータベースのコード遺伝子と照合することでゲノム情報の信頼性を高める。

③ 組織定着因子、結合組織破壊因子、バイオフィーム形成因子、オートファジー応答因子、など新規標的分子の探索を行い、発現レベルを RT-PCR 法によって検索する。

#### (3) 治療標的分子の遺伝子クローニングと組換えタンパクの量産

① 特定した標的分子の予測 ORF を基に前後の遺伝子配列情報を参考に PCR DNA primers を設計し、RT-PCR 法で検索した後、His-Tag 付き、あるいは、Tag 無しの高発現プラスミドで遺伝子クローニングを行なう。

② 高発現プラスミド発現遺伝子クローンの細胞抽出液から His-Tag-アフィニティカラムで病原因子のリコンビナントタンパクを精製する。

#### (4) ヒト型抗体の作出と組換え ScFv 抗体の量産

① 精製病原因子の組換えタンパクでヒト型抗体ライブラリーのパンニングを行なう。

② 大腸菌に形質転換しファージミドに変換し、ファージライセートで中和活性を検証する。

③ 新規標的分子遺伝子クローンから組換えタンパクを量産し立体構造を解明する。

#### (5) 歯周病のファーマコゲノミクス研究

① 40-kDa 外膜タンパクを SDS-, Triton 浮遊

させオリゴヘキサマーを形成させ SDS-PAGE で泳動し、ヘキサマー分子を回収し、ウサギ、ラットに免疫し、抗血清の leukocidin 活性阻害を検証する。

② 立体構造情報をもとに DOCK システムを利用して in silico screening を行いリード化合物の探索を行なう。

### 4. 研究成果

本申請研究内で、歯周病原菌 *P. gingivalis* II 型 TDC60 株の全遺伝子配列解析が終了し、NCBI database にて公開した。解析の終了した全遺伝子を W83 株、ATCC33277 株と比較した結果、図 1 に示すように、約 TDC60 株遺伝子の 15% が特異的であった。

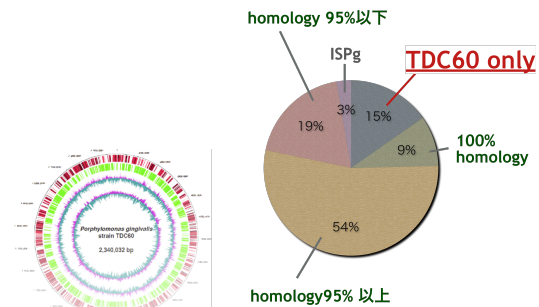


図 1 ゲノム解析と特異遺伝子の比較

一方、免疫療法開発のための新規標的分子の探索を目的とし、W83 株、ATCC33277 株と比べて TDC60 株に特異的に発現する分子の探索と解析を行った。タンパク質発現の比較は、二次元電気泳動を行って比較解析し (図 2)、MALDI-TOF-MS にて同定した。その結果、TDC60 で発現が増大している分子として、マイナー線毛分子 Mfa1、コラーゲン代謝に関わる Dap2, aminoacyl-histidine dipeptidase (PepD-2) 等を同定した。さらに、TDC60 においてのみ存在する遺伝子、或は他株と比べて時に発現変動が大きい遺伝子について、60 遺伝子を選択し、優先的にクローニングを行った。

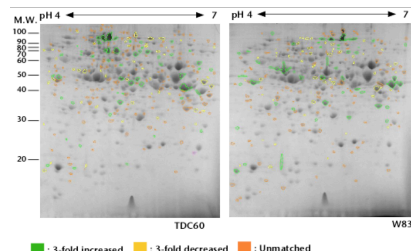


図 2 W83 株と TDC60 株の全タンパク質比較

ATCC33277 株にて、マイナーな短線毛と呼ばれる Mfa1 は、TDC60 株では発現量が多く、さらに、*P. gingivalis* 菌体からの精製法を工夫することによってインタクトな線毛を抽出し

(図3)、電気泳動を行い、Mfa1はTDC60株においては、決して短毛ではないことを明らかにした。TDC60株において、Mfa1は、短毛でもマイナーでもないというMfa1線毛の違いが、TDC60株の病原性との関連性がある可能性が示唆された。そこで、TDC60株のII型rFimA と rMfa1分子を抗原として、数種のモノクローナル抗体とポリクローナル抗体(ウサギ血清抗体)を作製した。さらに、リコンビナント抗体ScFvの作製を検討した。

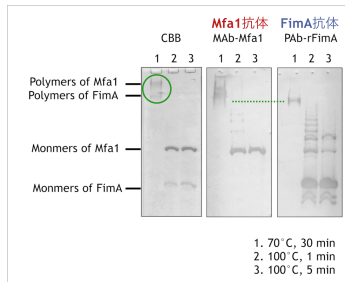


図3 短線毛Mfa1の比較

TDC60株で発現量の多いとされたPepD-2は、Alaに特異性を示すアミノペプチダーゼでありながら、遷移金属イオン存在下、carnosine ( $\beta$ -alanylhistidine)を基質とし、 $\beta$ -alanineとL-histidineへの代謝活性を有していたことから、生体のヒスチジン含有ペプチド代謝に影響を及ぼす可能性が示唆された。(図4)

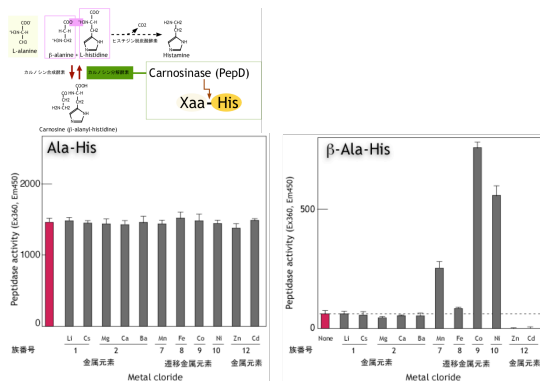


図4 カルノシンとPepD酵素活性

PepD-2の立体構造解析を行った。*P. gingivalis* PepDは、M20に分類される酵素で、二量体分子として構造解析された。(図5)二量体の構造は、*Vibrio alginolyticus*のPepDと良く重なった。一方、mouse CN2のとは同一の反応を触媒する酵素でM20に分類されるが、基質結合に違いが認められた。金属元素結合部位は、<sup>75</sup>His, <sup>114</sup>D, <sup>145</sup>E, <sup>168</sup>Dであった。アミノペプチダーゼNの阻害剤として知られるBestatin結合mouse CN2の構造比較から推定した*P. gingivalis* PepDの基質結合部位は、<sup>144</sup>Eであった。(図6)基質結合時に、結合部位の隙間が縮まるように分子に揺らぎが起

こるのは、Doamin AとDoamin Bとの間に構造上存在しているループによるものと示唆された。

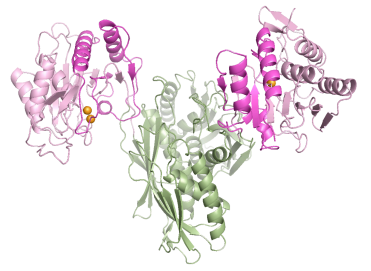


図5 TDC60 PepD 二量体の立体構造

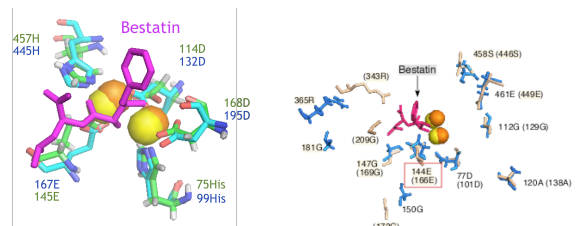


図6 TDC60 PepDの金属イオン及び基質結合部位

*P. gingivalis* PepD-2の阻害を検討した結果、Bestatinによる酵素活性抑制は、PepD-2のAlaアミノペプチダーゼ活性への抑制効果は少ないが、カルノシナーゼ活性に対する抑制がより強く、LD<sub>50</sub> = 7 nMであった。さらに、*P. gingivalis*の増殖をBestatinが強く抑制する結果が得られた。(図7)

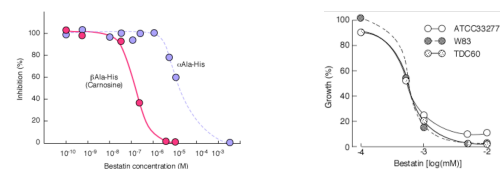


図7 ベスタチンによるPepD阻害と増殖阻害

さらに、*P. gingivalis*の共凝集因子であり、ヘミン結合タンパク質であるHBP35の立体構造解析を行った。本分子は、本体分子とチオレドキシンドメインからなる分子であり、インフルエンザ分子の変異をくり返す部位と相同性の高いPVQNLTを有することが判明し、インフルエンザと歯周病原細菌との影響を及ぼす関係(図8)が示唆された。また、本分子は、チオレドキシンドメインを持ち、この部位の2つのシステイン残基によって強い還元作用を示す事(図9)をCys→Ser変異分子を作製することによって明らかとなった。

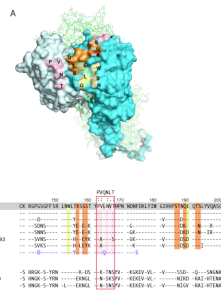


図8 HBP35の立体構造とインフルエンザアミノ酸の相同性

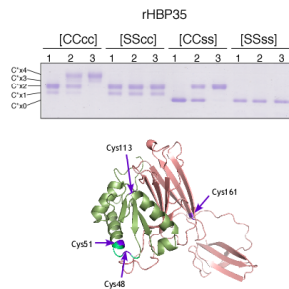


図9 HBP35変異分子の酸化還元電位の変化

TDC60株全菌を用いて、400を超えるモノクローナル抗体を作製した。そのうち17%はLPS認識抗体であった。歯肉繊維芽細胞のLPS反応性のIL-8産生の抑制効果を検討した結果、数種の異なるLPS認識抗体を多数認めた。(図10)

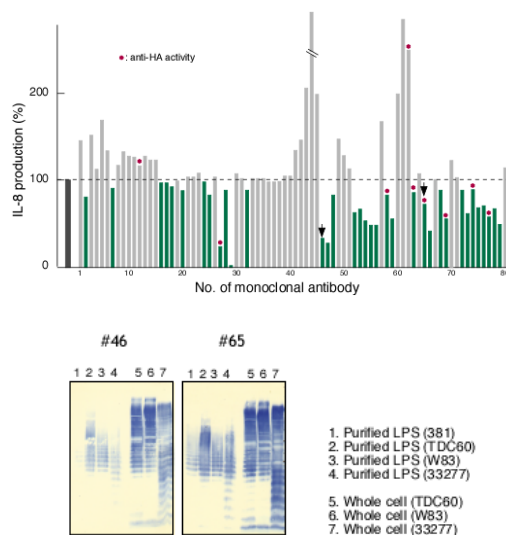


図10 TDC60株のモノクローナル抗体の効果

### 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20件)

- ① Chou CT, Bhawal UK, Watanabe N, Kuboyama N, Chang WJ, Lee SY, Abiko Y, Expression of caveolin-1 in the early phase of beta-TCP implanted in dog mandible. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013, Epub, 査読有 doi: 10.1002/jbm.b.32884
- ② Kuboyama N, Kiba H, Arai K, Uchida R, Tanimoto Y, Bhawal UK, Abiko Y, Miyamoto S, Knight D, Asakura T, Nishiyama N. Silk fibroin-based scaffolds for bone regeneration. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013, Vol. 101:295-302. 査読有 doi: 10.1002/jbm.b.32839
- ③ Nakayama Y, Yang L, Takai H, Kaneko H, Abiko Y, Ogata Y. Fibroblast growth factor 2 and forskolin induce mineralization-associated genes in two kinds of osteoblast-like cells, J Oral Sci. 2012, Vol 54:251-9. 査読有 PMID: 23047036
- ④ Bhawal UK, Ito Y, Tanimoto K, Sato F, Fujimoto K, Kawamoto T, Sasahira T, Hamada N, Kuniyasu H, Arakawa H, Kato Y, Abiko Y, IL-1 $\beta$ -mediated up-regulation of DEC1 in human gingiva cells via the Akt pathway. J Cell Biochem. 2012, Vol 113:3246-53. 査読有 doi: 10.1002/jcb.24205.
- ⑤ Ikuta T, Bhawal UK, Tsushima K, Aoki A, Kuboyama N, Abiko Y. Identification by DNA microarray of genes involved in Candida albicans-treated gingival epithelial cells. J Oral Pathol Med. 2012 Vol 41(10):769-78. 査読有 doi: 10.1111/j.1600-0714.2012.01149.x.
- ⑥ Yuzawa S, Kurita-Ochiai T, Hashizume T, Kobayashi R, Abiko Y, Yamamoto M. Sublingual vaccination with fusion protein consisting of the functional domain of hemagglutinin A of Porphyromonas gingivalis and Escherichia coli maltose-binding protein elicits protective immunity in the oral cavity. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012 Vol 64:265-72. 査読有 doi: 10.1111/j.1574-695X.2011.00895.x.
- ⑦ Aoki A, Shibata Y, Okano S, Maruyama F, Amano A, Nakagawa I, Abiko Y, Transition metal ions induce carnosinase activity in PepD-homologous protein from Porphyromonas gingivalis. Microb Pathog. 2012 Vol 52:17-24. 査読有 doi: 10.1016/j.micpath.2011.09.003.
- ⑧ Shibata Y, Okano S, Shiroza T, Tahara T, Nakazawa K, Kataoka S, Ishida I, Kobayashi T, Yoshie H, Abiko Y, Characterization of human-type monoclonal antibodies against reduced form of hemin binding protein 35 from Porphyromonas gingivalis. J Periodontal

- Res. 2011 Vol 46:673-81. 査読有 doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01389.x.
- ⑨ Zhang L, Zhao J, Kuboyama N, Abiko Y, Low-level laser irradiation treatment reduces CCL2 expression in rat rheumatoid synovia via a chemokine signaling pathway. *Lasers Med Sci.* 2011 Vol 26:707-17. 査読有 doi: 10.1007/s10103-011-0917-y.
- ⑩ Tabata K, Sakai H, Nakajima R, Saya-Nishimura R, Motani K, Okano S, Shibata Y, Abiko Y, Suzuki T, Acute application of cisplatin affects methylation status in neuroblastoma cells. *Oncol Rep.* 2011 Vol 25:1655-60. 査読有 doi: 10.3892/or.2011.1222.
- ⑪ Hayashi M, Takahashi T, Kawaguchi K, Watanabe T, Zhao J, Abiko Y, Connexin 43 expression at an early stage in dog mandibles by  $\beta$ -TCP. *Dent Mater J.* 2011 Vol 30(1):58-65. 査読有 PMID: 21282887
- ⑫ Toyoda T, Okano S, Shibata Y, Abiko Y, Oxidative stress induces phosphorylation of the ABC transporter, ATP-binding protein, in *Porphyromonas gingivalis*. *J Oral Sci.* 2010 Vol 52(4):561-6. 査読有 PMID: 21206157
- ⑬ Zhao J, Watanabe T, Bhawal UK, Kubota E, Abiko Y, Transcriptome analysis of  $\beta$ -TCP implanted in dog mandible. *Bone.* 2011 Vol 48:864-77. 査読有 doi: 10.1016/j.bone.2010.11.019.
- ⑭ Du Y, Hashizume T, Kurita-Ochiai T, Yuzawa S, Abiko Y, Yamamoto M. Nasal immunization with a fusion protein consisting of the hemagglutinin A antigenic region and the maltose-binding protein elicits CD11c(+) CD8(+) dendritic cells for induced long-term protective immunity. *Infect Immun.* 2011 Vol 79(2):895-904. 査読有 doi: 10.1128/IAI.01203-10.
- ⑮ Li Y, Shibata Y, Zhang L, Kuboyama N, Abiko Y, Periodontal pathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS induces mitochondria-dependent-apoptosis in human placental trophoblasts. *Placenta.* 2011 Vol 32(1):11-9. 査読有 doi: 10.1016/j.placenta.2010.10.007.
- ⑯ Obikane H, Abiko Y, Ueno H, Kusumi Y, Esumi M, Mitsumata M. Effect of endothelial cell proliferation on atherogenesis: a role of p21(Sdi/Cip/Waf1) in monocyte adhesion to endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2010 Vol 212(1):116-22. 査読有 doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.05.029.
- ⑰ Hijiya T, Shibata Y, Hayakawa M, Abiko Y, A monoclonal antibody against fimA type II *Porphyromonas gingivalis* inhibits IL-8 production in human gingival fibroblasts. *Hybridoma (Larchmt).* 2010 Vol 29(3):201-4. 査読有 doi: 10.1089/hyb.2009.0109.
- ⑱ 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.* 2010 Vol 48:116-23. 査読有 doi: 10.1016/j.micpath.2010.01.001.
- ⑲ Maruyama M, Hayakawa M, Zhang L, Shibata Y, Abiko Y, Monoclonal antibodies produced against lipopolysaccharide from fimA Type II *Porphyromonas gingivalis*. *Hybridoma (Larchmt).* 2009 Vol 28(6):431-4. 査読有 doi: 10.1089/hyb.2009.0055.
- ⑳ Shibata Y, Kasai H, Shimada M, Koitabashi T, Arai T, Sai R, Terao H, Horikiri M, Negishi H, Miyazawa K, Abiko Y, IL-1 $\beta$  stimulates IL-8 production, including prostaglandin E<sub>2</sub> receptor EP4-triggered pathways, in synoviocyte MH7A cells. *Mol Med Rep.* 2009 Vol 2:359-63. 査読有 doi: 10.3892/mmr\_00000108.
- [学会発表] (計 4 0 件)
- ① M. Yamazaki, M. Saitoh, M. Nishimura, J. Sato, H. Saotoh, R. Takai, U.K. Bhawal, Y. Abiko, Gene Expression Profiles of Increased Expression of beta-defensin-2 in Keratinocyte, IADR, 2013年3月20日～2013年3月23日, Seattle (USA)
- ② C. Chui, K. Horatsuka, A. Aoki, Y. Takeuchi, Y. Abiko, Y. Izumi, Effect of blue LED on *Porphyromonas gingivalis* growth in vitro. IADR, 2013年3月20日～2013年3月23日, Seattle(USA)
- ③ K. Hiratsuka, Y. Abiko, A study of 16S rRNA for bacterial gene expression analysis, IADR, 2013年3月20日～2013年3月23日, Seattle (USA)
- ④ U. Bahwal, Y. Abiko, Transcription factor DEC1 and Epithelial-Mesenchymal Transition, IADR, 2013年3月20日～2013年3月23日, Seattle (USA)
- ⑤ 鈴木守・柴田恭子・藤原芳江・安孫子宜光, 新規歯周病治療標的分子PepDの結晶構造解析, 構研サイエンスフェスタ つくば国際会議場エポカル, 2013年3月14日～2013年3月15日, つくば国際会議場 (茨城)
- ⑥ 鈴木守・柴田恭子・藤原芳江・安孫子宜光, 新規歯周病治療標的分子PepDの結晶構造解析, 第26回日本放射光学会年会放射光科学合同シンポジウム, 2013年1月12日～2013年1月14日, 名古屋大学 (愛知)
- ⑦ M. Shoji, H. Ukitake, K. sato, Y. Shibata, M. Naito, J. Aduse-Opoku, Y. Abiko, M.A. Curtis,

- K. Nakayama, Identification of a component of LPS biosynthesis in *Porphyromonas gingivalis*, 第60回国際歯科学研究学会日本部会 総会・学術大会, 2012年12月14日～2012年12月15日, 新潟コンベンションセンター (新潟)
- ⑧ 鈴木守、柴田恭子、藤原芳江、安孫子宜光, 新規歯周病標的分子PepDのX線結晶構造解析, 平成24年度 日本結晶学会年会および総会, 2012年10月25日～2012年10月26日 東北大学片平キャンパス (宮城)
- ⑨ 柴田恭子、鈴木守、安孫子宜光, FimA II型 *P. gingivalis* (TDC60)新規治療標的分子の探索-新規標的分子PepDの構造および機能解析-, 第54回歯科基礎医学会 学術大会ならびに総会, 2012年9月14日～2012年9月15日, 奥羽大学 (福島)
- ⑩ Y. Abiko, Development of the molecular targeted therapy for periodontal disease, Int Assoc Dent Res, Korean Division Annual Meeting, 2011. 11.23, ソウル (韓国)
- ⑪ U. Bhawal, K. Tsushima, T. Ikuta, Y. Abiko, IL-8 signaling pathway in *Candida albicans*-infected gingival epithelial cells. 59<sup>th</sup> Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2011年10月8日, International Conference Center Hiroshima (Hiroshima)
- ⑫ Y. Abiko, From diagnosis to periodontal therapy utilizing functional genomics, 59<sup>th</sup> Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2011年10月8日, International Conference Center Hiroshima (Hiroshima)
- ⑬ Bhawal Ujjal, 伊藤由美、安孫子宜光, ヒト口腔扁平上皮癌における PERIOD1 (PER1)と PER3 の発現, 第53回 歯科基礎医学会学術大会, 2011年10月1日, 長良川国際会議場 (岐阜)
- ⑭ Bhawal Ujjal, 伊藤由美、安孫子宜光, 炎症におけるDEC1とDEC2の役割, 第53回歯科基礎医学会学術大会, 2011年10月1日, 長良川国際会議場 (岐阜)
- ⑮ Ujjal K. Bhawal, Hu-Huang Chao, Shotaro Kojima, Noboru Kuboyama, Yoshimitsu Abiko, Expression of Caveolin in beta-TCP implanted in dog mandible., 第11回 日本大学口腔科学会学術大会, 2011年9月4日, 日本大学松戸歯学部 (千葉)
- ⑯ Y Shibata, M Arai, S Okano, K Pugdee, T Sato, Y Otsuka-Tanaka, J Mega, H J Majima, Y Ogata, Y. Abiko, Mitochondrial oxidative stress and less mineralization by hydrogen peroxide treatment in MC3T3-E1 cell line., 5th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research-Asia (SFRR-Asia) and Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine (ASMRM), 2011年 9月2日, 鹿児島市民ホール (鹿児島)
- ⑰ Y. Abiko, Molecular Mechanism of  $\beta$ -TCP in Accelerating Bone Formation and Wound Healing, The Annual Scientific Meeting of the Assoc Dental Soc Republic of China ADS-ROC, 2011年 8月26日 Taipei (Taiwan)
- ⑱ 大山秀樹、小越菜保子、川辺陸記、安川陽子、安孫子宜光, IL-22 がヒト歯根膜由来細胞の石灰化ノジュール形成に及ぼす影響, 日本歯周病学会 2011 春期学術大会 (第54回), 2011年5月28日, 福岡国際会議場 (福岡)
- ⑲ 永安慎太郎、山下明子、鈴木茂樹、半井英雄、岩下未咲、熊本園子、安孫子宜光、西村英紀, ココアフラボノールの抗炎症作用による動脈硬化抑制作用の検討, 日本歯周病学会 2011 春期学術大会 (第54回), 2011年5月27日, 福岡国際会議場 (福岡)
- ⑳ 川辺陸記、大山秀樹、安川陽子、小越奈保子、安孫子宜光, IL-22 存在下においてヒト歯根膜由来細胞が発現する遺伝子の網羅的解析, 日本歯周病学会 2011 春期学術大会 ((第54回), 2011年5月27日, 福岡国際会議場 (福岡)
- ㉑ L. Zhang, N. Kuboyama, Y. Abiko, Reduction of ICAM-1 in Rat Rheumatoid Synovium by Laser Irradiation, IADR General Session, 2011年3月19日, San Diego, Calif. (USA)
- ㉒ Abiko Yoshimitsu, Signal pathway analysis of the effectiveness of low-level laser irradiation in rheumatoid arthritis, SPIE Photonics West 2010, 2011年1月26日, San Francisco, Calif. (USA)
- ㉓ 安孫子宜光, 骨芽細胞への活性酸素刺激、歯周病原菌への酸素ストレスの機能ゲノム科学的考察, 第25回日本酸化ストレス学会 関東支部会, 2010年12月11日, タワーホール船堀 (東京)
- ㉔ Abiko Yoshimitsu, Diagnosis to molecular target therapy for oral infectious diseases by bioinformatics technology, The 1<sup>st</sup> Global Congress of Chinese Dentists, 2010年12月6日、厦門 (中国)
- ㉕ 柴田恭子、安孫子宜光, 新興感染症・再興感染症への地球規模の取り組み『歯周病原細菌ゲノム解析による新規治療戦略』, 平成22年度 日本大学学部連携研究シンポジウム, 2010年12月3日, 日本大学会館 (東京)

- ②⑥ 安孫子宜光, Functional genomic Study on the mechanism of anti-inflammatory effect by low level laser irradiation, 台湾歯科医学総会, 2010年11月29日, 台北市(台湾)
- ②⑦ Y. LI, Y. SHIBATA, Y. ABIKO, Enhanced HSPs Gene Expression in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS-challenged Human Trophoblasts, 第58回 国際歯科研究学会日本部会(JADR) 総会・学術大会, 2010年11月20日, 九州歯科大学(福岡)
- ②⑧ 安孫子宜光, Functional Genomic Study on Anti-inflammation by Low Level Laser Irradiation, The 13<sup>th</sup> Congress of Asian Pacific Association for Laser Medicine and Surgery, 2010年10月8日, 信濃医療福祉センター(静岡)
- ②⑨ 青木暁宣, 柴田恭子, 岡野総一郎, 中川一路, 丸山史人, 天野敦雄, 安孫子宜光, fimAII型*P. gingivalis* (TDC60)新規治療標的分子の探索-PepD-2の機能について, 第52回歯科基礎医学会学術大会・総会, 2010年9月22日, タワーホール船堀(東京)
- ③⑩ チューチャン トゥーン, 青木章, 竹内康雄, 佐々木好幸, 安孫子宜光, 和泉雄一, 高出力青色LEDの歯周病原菌に対する殺菌効果, 第53回秋季日本歯周病学会学術大会, 2010年9月19日, サンポートホール高松(香川)
- ③⑪ J. Zhao, N. Kuboyama, T. Watanabe, Y. Abiko, Transcriptome Analysis of  $\beta$ -TCP Implanted Dog Mandible, IADR General Session, 2010年7月15日, Barcelona (Spain)
- ③⑫ Y Li, Y Shibata, Y Abiko, Induction of Low Birth Weight by Periodontitis in Placenta Through Break-down of Balance between Apoptosis and Proliferation, American Society for Microbiology (ASM) 110th General Meeting, 2010年5月26日, San Diego, CA (USA)
- ③⑬ L Zhang, Y Shibata, Y Abiko, Monoclonal antibodies neutralizing fimA type II *Prophyromonas gingivalis* virulent factors, American Society for Microbiology (ASM) 110th General Meeting, 2010年5月24日, San Diego, CA (USA)
- ③⑭ 安孫子宜光, レーザによる炎症性シグナル伝達系の抑制効果, 日本レーザー医学会, 2009年12月3日, ホテルグランドヒル市ヶ谷(東京)
- ③⑮ 豊田隆雄, 岡野総一郎, 柴田恭子, 安孫子宜光, *P. gingivalis*におけるATP transporterのリン酸化とLPS産生への酸素刺激の影響, 第52回秋季日本歯周病学会学術大会, 2009年10月11日, 宮崎観光ホテル(宮崎)
- ③⑯ 青木暁宣, 柴田恭子, 岡野総一郎, 中川一路, 天野敦夫, 安孫子宜光, II型*P. gingivalis* (TDC60) に特異発現している70 kDaタンパク質分子について, 第51回歯科基礎医学会学術大会・総会, 2009年9月11日, 朱鷺メッセ(新潟)
- ③⑰ 柴田恭子, 岡野総一郎, 細木弓子, 安孫子宜光, *P. gingivalis* 赤血球凝集活性抑制抗体のインフルエンザに対する交叉反応性, 口腔科学会, 2009年9月6日, 日本大学松戸歯学部(千葉)
- ③⑱ 岩山智明, 橋川智子, 島袋善夫, 菱川祥郎, 小笹匡雄, 柴田恭子, 安孫子宜光, 村上伸也, ヒト血清を用いた脂肪組織由来間葉系幹細胞の硬組織分化能の解析, 日本歯周病学会 2009年春季学術大会(第52回), 2009年5月16日, 岡山コンベンションセンター(ママカリフォーラム)(岡山)
- ③⑲ 熊本園子, 山下明子, 曾我賢彦, 岩本義博, 岩下未咲, 安孫子宜光, 西村英紀, マクロファージと共存する脂肪細胞はLPS刺激によってtoll-like receptor を介するシグナルを増強する分子群を産生する, 日本歯周病学会2009年春季学術大会, 2009年5月15日, 岡山コンベンションセンター(ママカリフォーラム)(岡山)
- ④⑰ Yoshimitsu Abiko, Advancing entistry at the Crossroads of the World, FDI Annual World Dental Congress, 2009年9月5日, Singapore

〔図書〕(計3件)

- ① 柴田恭子, 安孫子宜光, レーザー照射による炎症性シグナル伝達系の抑制効果, 光アライアンス, 22巻 8-12, 2012 [解説執筆依頼]
- ② 安孫子宜光, 平塚浩一, 柴田恭子, 歯周病菌のゲノム科学と臨床応用(6-3) 「ビジュアル 歯周病を科学する」, クインテッセンス出版株式会社 p. 220-222, 2012. [執筆依頼]
- ③ Yasuko Shibata, Yoshimitsu Abiko, Profiling inflammatory genes and signaling pathways in rheumatoid synoviocytes for RA light therapy. *Rheumatoid Arthritis; (Chapter9)* INTECH Open Access Publisher, 153-170, 2011, 査読有

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
安孫子 宜光 (ABIKO YOSHIMITSU)  
日本大学・松戸歯学部・教授  
研究者番号: 70050086