

Title	ハッピーライフ「学びの歩み」
Author(s)	奥田, 克爾
Journal	歯科学報, 108(1): 41-48
URL	http://hdl.handle.net/10130/396
Right	

ハッピーライフ 「学びの歩み」

奥田克爾

はじめに

大学での研究生生活は、私の生き甲斐であり、私を育ててくれた。良き師、友、教室員、大学院生、学部学生に恵まれ、誰よりも幸せな40年であった。私は、野口英世の「人類愛に命を捧げた」生き方、坂本龍馬の「高い志で夢に向かう」から影響を受けて東京歯科大学に入学した。1968年、大学院不合格だろうが、微生物学、基礎医学を勉強するものは「ダイヤモンドである」と受け入れて下さった当時の米澤和一教授から、「研究者は、午前一日、午後一日、晩から一日頑張って自分のデータで勝負しろ」と教わった。高添一郎教授からは、「国際的評価のなされないものに価値はない」と教わり、国際感覚を叩き込んで戴いた。学位取得後、スウェーデン国費留学試験に合格でき、カロリンスカ大学のGoran Frostell教授のもとで、齶蝕予防に関する研究に没頭することが出来た。次いで、米国NIHの国費留学試験にもパスでき、ニューヨーク州立大学バッファロー校歯周病研究センターで、Robert J. Genco教授のもと、歯周病原性細菌の解析に集中出来た。留学中、ストレスによる胃潰瘍の苦しみにて研究室の床にころがって耐えた日々は、最も自分を成長させてくれた「学びの歩み」であった。この「学びの歩み」の原稿が、東京歯科大学から世界に羽ばたこうとする若い研究者に少しでも参考になれば幸甚である。

1. 歯周病原性細菌の付着因子の発見

血液平板状で黒色となる嫌気性細菌は、*Bacteroides melaninogenicus* として一括されていた。その*B. melaninogenicus*の菌体表層に線毛が存在することを1974年 Archives of oral Biology に報告した¹⁾。分離した臨床分離株の半数が、強い血球凝集能を有すること示した。その後、血球凝集能のある株は、*Bacteroides assaccharolyticus*、次いで *Bacteroides gingivalis* と命名され、現在の *Porphyromonas gingivalis* となった。1981年、留学先の State University at Buffalo の Oral Biology で Slots J. と Genco R. との共同研究で、黒色集落となるどの菌種が、どのような付着・定着因子を有するかについて解析した²⁾。次いで、付着因子の精製を試み、27KDa からなる血球凝集因子の特性を示した³⁾。さらに、*P. gingivalis* 菌株の細胞内侵入性のあるものとないものは、表層抗原に違いがあることを示した⁴⁾。黒色集落となる *Prevotella intermedia* として分類されるものは、neuraminidase 依存性の付着因子をもつこと⁵⁾や、rough 型内毒素 (lipopolysaccharide, LPS) が付着因子ともなることを明らかにした^{6, 7)}。

破壊性歯周炎病原性 *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* の定着メカニズムについても、分子生物学的解析を行った⁸⁾。本菌新鮮分離株は、長い線毛を有すること、その線毛の付着ドメインのアミノ配列を読み取り⁹⁾、その合成ペプチドは

キーワード：学びの歩み、研究生生活、学際性、国際性
東京歯科大学微生物講座
(2007年12月3日受付)
(2007年12月11日受理)

別刷請求先：〒261-8502 千葉県美浜区真砂1-2-2
東京歯科大学微生物講座 奥田克爾

Katsuji OKUDA : Happy Life : Moving forward
(Department of Microbiology, Tokyo Dental College)

本菌の細胞への付着を抑えること^{10,11)}や、本菌付着性線毛に対する免疫応答は、遺伝学的支配を受けていること¹²⁾などを明らかにした。

2. 歯周病原性細菌叢の解析とその家族内伝播

ヒトの口腔内からは、500種類を超える細菌種が検出される。私たちは、各種歯周病の局所でどのような細菌が優勢になるか検討をしてきた。侵襲性歯周炎局所には、*A. actinomycetemcomitans*だけでなく*P. intermedia*が増加し、それらの分離菌株の血清型同一性などから、その家族内感染について示唆した¹³⁾。慢性歯周炎局所には、*P. gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*がそろって増加する^{14,15)}。妊娠性歯肉炎には、*P. intermedia*が性ホルモンの影響を受けて関わることを解析した^{16,17)}。そして、混合感染の病原的意義を明らかにし、歯周ポケット内のtrypsin-like酵素活性を調べることによって*P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola*の局所での増加を知る迅速診断法を確立した^{18,19)}。

歯周病原性細菌の伝播は、分子生物学的解析法を駆使して解析した。天然歯からデンタルインプラント周囲²⁰⁾、特定の線毛タイプの*P. gingivalis*の夫婦間²¹⁾、および母子伝播²²⁾を示すことが出来た。

3. 歯周病患者の免疫応答

歯周病局所細菌叢の解析には、高い専門的知識、設備、そして労力を必要とするが、歯周病患者の免疫応答によって知ることが出来るとの考えで取り組んできた。これらの研究においても、歯周病学を中心とした臨床講座との共同研究が不可欠であった。まず、慢性歯周炎患者の*P. gingivalis*に対する血清IgG抗体の上昇を示した^{23~27)}。ついで、*A. actinomycetemcomitans*のLPSに対する免疫応答についても解析した²⁸⁾。

*P. gingivalis*や*A. actinomycetemcomitans*に対する体液性免疫応答は、感染防御に働くと考えられてきた。私たちは、特異抗体が*in vitro*で防御機能を示すこと²⁹⁾、これらの細菌の特定抗原に対するavidity antibodyは、歯周病患者で低いことを示した^{30,31)}。すなわち、歯周病原性細菌に対する抗体上昇は、防御機能を発揮することを示した。これらの知見は、ワクチンでの特定歯周病原性細菌感染予防戦略を正当化

させると考え研究を展開してきた。

4. 歯周病原性細菌バイオフィルムの形成

*P. gingivalis*の付着因子の解析から、歯周病原性バイオフィルムに関する研究がスタートしている。口腔内の多様な細菌種が、どのような共生と拮抗で歯周病原性バイオフィルムという複雑な生態系を形成するのかについて示した³²⁾。慢性歯周炎のポケット内バイオフィルムを取り出し、免疫学的手法で、*P. gingivalis*と*T. denticola*が優勢に共存することを発表した³³⁾。これらの研究展開は、微生物学講座の*P. gingivalis*ならびに*T. denticola*の系統だった研究があったからと言える。

慢性歯周炎病巣局所に増加する*T. denticola*の分類学的、および菌体表層抗原の解析もスタートさせた^{34,35)}。そして、石原和幸博士を中心とした研究が飛躍的な*T. denticola*研究を推進させた^{36~39)}。特に、*T. denticola*病原性因子のプロテアーゼであるdentilisinなどに関して、世界的な評価を受け、内外の微生物学会誌のレビューの依頼を受けている^{40,41)}。さらに、*T. denticola*が持つ宿主免疫応答をさまざまに修飾し、攪乱させ、防御機能から回避して頑固なバイオフィルム集団となり得ることを発表してきた^{42~44)}。

歯周病原性バイオフィルムは、複数細菌の間で卓越したコミュニケーションをとるという特徴についての研究も展開している^{45~47)}。さらに、歯周病原性バイオフィルムに対する抗菌薬療法の難しさも*in vitro*研究で示唆した^{48,49)}。一方、日常的に使用出来るクランベリージュースは、*P. gingivalis*のバイオフィルム形成阻害に働くことを明らかにした^{50,51)}。それらのバイオフィルム研究の科学的根拠に支えられた新しい歯周病予防や治療法が導入されていくと期待している。

5. 歯周病原性細菌感染予防ワクチン開発研究

微生物学講座に残った1968年頃は、免疫学研究の飛躍的進歩のみられた時であった。歯周病原性細菌に対する遅延型アレルギーに関する研究から、免疫応答修飾のアジュバント^{52,53)}、補体⁵⁴⁾の研究に時間を費やした。これらの研究過程で*P. gingivalis*の付着因子の発見¹⁾に出会えた。そして、歯周病患者を

中心とした歯周病原性細菌に対する免疫応答の解析から²⁴⁻²⁷⁾、特定の歯周病原性細菌の定着阻止あるいはその病原性を弱めるワクチン戦略の妥当性を察知し、そのワクチン開発に取り組むことができた。本研究においては、安全性が最優先され、*P. gingivalis* で免疫したウサギ血清の受け身免疫を試み、多くの共同研究者とともにその感染予防効果を示すことが出来た⁵⁵⁾。

新世代ワクチンの DNA ワクチンは、安全性も高く、細胞性ならびに体液性免疫応答を誘導することが出来る。*P. gingivalis* の arginine-specific cysteine proteinase である Arg-gingipain (*rgpA*) を、細胞侵入性 cytomegalovirus 遺伝子を挿入した pVAX1 プラスミドに組み込んだ *rgpA* DNA ワクチンを開発した。マウスへの本ワクチン免疫は、*P. gingivalis* 菌体への抗体産生を誘導し、インターフェロン γ 産生を介して防御作用を示し、本菌皮膚接種による膿瘍の拡大を防ぐ防御に働いた^{56,57)}。さらに、本ワクチンは、マウス口腔への *P. gingivalis* 感染による歯槽骨の吸収を抑える効果が認められた⁵⁸⁾。また、Arg-gingipain のどのドメインは、安全性が高く、強い感染防御抗体産生を誘導するかについて研究成果を発表している^{59,60)}。近年、歯周病原性細菌が全身性疾患に係わりのあることが示され、ワクチン開発戦略に勇気を与えてくれている。

歯周病原性細菌の表層抗原内毒素などに対する獲得免疫に関しては、加藤哲男博士を中心とした研究に成果を上げることが出来た⁶¹⁻⁶⁴⁾。モノクローナル抗体作製に早くから取り組み、T細胞が応答しない歯周病原性 *Eikenella corrodens* の LPS を抗-イデオタイプ抗体に置き換えて、内毒素に対する中和抗体産生の誘導戦略に繋がる発表することが出来た⁶³⁻⁶⁵⁾。唾液中の自然免疫物質に関しては、cystatin や histatin の持つ *P. gingivalis* などの有する病原性を低下させるなどの防御性についても報告してきた⁶⁶⁻⁷¹⁾。そして、それらに対するモノクローナル抗体の作製が、歯周病患者などの自然免疫防御能検査に成りうることを見いだしている⁷²⁾。さらに、慢性歯周炎局所における炎症性サイトカインの mRNA の測定意義⁷³⁾や、cystatin と炎症性サイトカイン IL-6 との関連性⁷⁴⁾についての解析をしてきた。これらの研究成果は、歯周病原性細菌感染防御ワクチン開

発、さらにはその実用化に組み込まれるものと期待している。

6. 歯周病原性細菌の全身疾患への係わり

口腔内慢性感染症は全身の疾患に関わることを、細菌学的・免疫学的手段で解析してきた。これらの研究は、医学部との共同研究である。いままで以上に、歯学に生命科学や生命生物学の導入が叫ばれ、医学そのものの教育・研究が不可欠になっている。

動脈疾患部位に *T. denticola* が見つかることを最初に報告した。すなわち、腹部大動脈瘤部位に PCR 法で *T. denticola* の特異的な 16S rRNA を見だし、その部位に本菌特異抗体に反応する抗原を見つけることが出来た⁷⁵⁾。次いで、心臓冠状動脈部位の約25% に *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *T. forsythensis* および *T. denticola* の DNA が見つかることを発表した^{76,77)}。私たちの所見を中心にして、Oral Diseases で「歯周病原性バイオフィームは循環障害にどのように関わるか」というレビューを発表することが出来た⁷⁸⁾。

掌蹠膿疱症 (pustulosis palmaris et plantaris) に、歯周病原性細菌の産生熱ショックタンパク質 (heat shock protein, HSP) が関わることを示した^{79,80)}。また、Behcet's 病に歯周病原性細菌の HSP が何らかの関与を持つことを示唆した⁸¹⁾。すなわち、口腔慢性感染症は、皮膚や粘膜疾患に影響を与えることを報告した。

胃潰瘍、胃癌のリスク因子とされる *Helicobacter pylori* と歯周病との関係に対しても知見を発表することが出来た。口腔細菌は、バクテリオシン産生によって *H. pylori* の口腔内定着を許さないことを示した^{82,83)}。また、歯周病原性 *C. rectus* は、*H. pylori* の HSP を含む共通抗原をもつことを見いだした⁸⁴⁾。歯周病と *H. pylori* 感染胃疾患との関係についてのレビューも発表することが出来た⁸⁵⁾。

7. 呼吸器感染症と口腔ケア

誤嚥性肺炎は、老人を中心としていることから、いわゆる老人性肺炎といわれる。重篤な感染症であり、死亡率の高い感染症で、治癒したとしても ADL 低下がみられる。口腔内バイオフィーム形成細菌や、細菌が付着した剥離した細胞が唾液に混入し

て、唾液といっしょに誤嚥されることが直接の原因となる。誤嚥性肺炎における歯周病原性嫌気性菌の病原性を明らかにする目的で、老化マウス実験的肺炎モデルにおける研究を行った。すなわち、*P. gingivalis* と *T. denticola* を混合感染させその病原性について調べた⁸⁶⁾。感染後の肺洗浄液(BALF)の IL-1 β , IL-6, TNF- α , および好中球の走化をもたらすなど重要な役割を果たす IL-8 と類似する KC が増加し、肺炎を発症させ、肺膿瘍形成をもたらした。これらの所見は、誤嚥性肺炎病巣から歯周病原性細菌が混合感染として検出されるという事実と一致するものである。

誤嚥性肺炎は高齢者だけの問題でなく、外科手術を受ける患者での罹患率および死亡率が高いことから、その予防が重要である。特に ICU における患者では誤嚥性肺炎がハイリスクで、その予防が強調されている。そこで、手術前に、ポビドンヨード液を使いながら徹底して給排水可能な電動ブラシで洗浄すれば、ブドウ球菌、肺炎球菌、カンジダなどの検出率、総菌数を減らすことが出来ることを明らかにした⁸⁷⁾。すなわち機械的清掃は、効果的に人工呼吸器関連性肺炎を少なくできることを示した。

私たちは、専門的口腔ケアについて解析し、口腔内総細菌数減少効果ならびに、要介護高齢者の 37.8℃ 以上の発熱、致命的なものを含む誤嚥性肺炎を減少させる効果のあることを明らかにした⁸⁸⁻⁹⁰⁾。デイケアに通う高齢者に対する歯科衛生士による週 1 回の 6 ヶ月間にわたる継続した口腔ケアは、唾液中のプロテアーゼとノイラミニダーゼの減少効果があった。また、インフルエンザ患者は専門的口腔ケア実施群の 98 名中 1 名であったのに対して非実施群は 92 名中 9 名で、有意に口腔ケア実施群で少ないことを明らかにした⁹¹⁾。このような研究を介して、今後の歯科医学は、医学そのものの教育・研究をさらに充実させるべきであることを強調したい⁹²⁾。

おわりに

私の研究ライフの成果は、多くの人たちに支えられたものである。主として歯周病原性細菌に関する研究に加えて、齶蝕細菌学については、スウェーデン時代の低齶蝕原性甘味料やフッ化物の研究に取り組み^{93,94)}、齶蝕研究についてもその予防に役立つ研

究がいかに大切であるかを再認識することができた^{95,96)}。その間、分類学的研究にも取り組み^{97,98)}、それらの研究は DNA をもとに系統的になされることを知った。それらの技術を駆使して混合感染症病巣に優勢となる細菌の迅速検査法が大切であることも再確認出来た。

留学生の受け入れは、英語でのコミュニケーションの機会を増やし、「学びの歩み」をより充実させてくれた。エイズ患者の口腔内細菌叢やそれらが HIV 感染にどう係るかについても研究出来た⁹⁹⁾。これらの研究を通して、弟、奥田研爾(横浜市立大学細菌学教授)との共同で、HIV に関する研究に成果を上げることが出来た¹⁰⁰⁻¹⁰⁵⁾。

口腔慢性感染症を生涯の研究ライフとして学んだことは、歯学研究は医学研究そのものであるとともに、さらにヘルスプロモーションに繋げるものでなくてはならないということである。例えば、歯周病は糖尿病、肥満などメタボリックシンドロームに密接に関わる¹⁰⁶⁾。それらの研究は、研究の深さ、レベルの高さはもちろんのこと、学際的研究などとするのでなく歯学そのものの研究として捉えるべきである。

本論文の要旨は、第284回東京歯科大学学会(2007年10月20日、千葉)において特別講演したものである。

謝 辞

稿を終えるにあたり、東京歯科大学で勉学の機会を支援し、励ましてくれた両親ならびに兄弟に心から感謝の意を表したい。そして、結婚以来いつも小生の原稿の清書や文章を読み易く校閲してくれた妻ひろみに心からお礼を述べる。また、教科書などの本の出版に際し、イラストなど描いてくれた長女みのりと次女たまきのお蔭によって執筆することができたことは、幸せである。

私が共著者となっている論文だけを参考文献としたが、引用していない他の論文を含めて共同研究者は簡単には数えきれない。200編をこえる国際雑誌ならびに多くの和文論文の発表は、共同研究者のお陰であり、深く感謝の意を表したい。さらに、研究を続けることが出来たのは大学の支援に加えて、主任研究者として科学研究費6,620万円、厚生科学研究費5,210万円および企業を含む総額約170,000万円近い競争的資金があったからでもあり、謝辞を述べたい。

文献

- 1) Okuda K. and Takazoe I.: Haemagglutinating activity of *Bacteroides melaninogenicus*. Arch oral Biol, 19 : 415~16, 1974.
- 2) Okuda K, Slots J. and Genco R J.: *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides asaccharolyticus* and *Bacteroides melaninogenicus* subspecies: Cell surface morphology and adherence to erythrocytes and human buccal epithelial cells. Curr Microbiol, 6 : 7~12, 1981.
- 3) Okuda K, Yamamoto A, Naito Y, Takazoe I, Slots J. and Genco R J.: Purification and properties of hemagglutinin from culture supernatant of *Bacteroides gingivalis*. Infect Immun, 54 : 659~665, 1986.
- 4) Naito Y, Tohda H, Okuda K. and Takazoe I.: Heterogeneity of hydrophobicity and adherence activity of invasive and noninvasive strains of *Porphyromonas gingivalis*. Oral Microbiol Immun, 8 : 195~202, 1993.
- 5) Okuda K, Ono M. and Kato T.: Neuraminidase-enhanced attachment of *Bacteroides intermedius* to human erythrocytes and buccal epithelial cells. Infect Immun, 57 : 1635~1637, 1989.
- 6) Okuda K. and Kato T.: Hemagglutinating activity of lipopolysaccharides from subgingival dental plaque bacteria. Infect Immun, 55 : 3192~3196, 1987.
- 7) Okuda K, Kato T, Ishihara K. and Naito Y.: Adherence to experimental pellicle of rough-type lipopolysaccharides from subgingival plaque bacteria. Oral Microbiol Immun, 6 : 241~245, 1991.
- 8) Naito Y, Tohda H, Okuda K. and Takazoe I.: Heterogeneity of hydrophobicity and adherence activity of invasive and noninvasive strains of *Porphyromonas gingivalis*. Oral Microbiol Immun, 8 : 195~202, 1993.
- 9) Ishihara K, Honma K, Miura T, Kato T. and Okuda K.: Cloning and sequence analysis of fimbriae associated (*fap*) gene from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Microbial Pathogen, 23 : 63~69, 1997.
- 10) Harano K, Yamanaka A. and Okuda K.: An antiserum to a synthetic fimbrial peptide of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* blocked adhesion of the microorganism. FEMS Microbiol Lett, 130 : 279~286, 1995.
- 11) Honma K, Kato T. and Okuda K.: Salivary immunoglobulin A production against a synthetic oligopeptide antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* fimbriae. Oral Microbiol Immunol, 14 : 34~38, 1999.
- 12) Honma K, Ishii N, Kato T, Ishihara K, Okuda K. and Okuda K.: Genetic control of immuneresponses to a synthetic fimbrial antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Microbiol Immun, 41 : 609~614, 1997.
- 13) Okuda K, Naito Y, Ohta K, Fukumoto Y, Kimura Y, Ishikawa I, Kinoshita S. and Takazoe I.: Bacteriological study of periodontal lesions in two sisters with juvenile periodontitis and their mother. Infect Immun, 45 : 118~121, 1984.
- 14) Choi J-I, Nakagawa T, Yamada S, Takazoe I. and Okuda K.: Clinical, microbiological and immunological studies on recurrent periodontal disease. J Clin Periodontol, 17 : 426~434, 1990.
- 15) Okuda K, Fukumoto Y. and Takazoe I.: Enumeration of cultivable black-pigmented *Bacteroides* species in human subgingival dental plaque and fecal samples. Oral Microbiol Immun, 3 : 28~31, 1988.
- 16) Nakagawa S, Machida Y, Nakagawa T, Fujii H, Yamada S, Takazoe I. and Okuda K.: Infection by *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and antibody responses at different age in humans. J Periodont Res, 29 : 9~16, 1994.
- 17) Nakagawa S, Fujii H, Machida Y. and Okuda K.: A longitudinal study from prepuberty to puberty of gingivitis: Correlation of occurrence of *Prevotella intermedia* and sex hormones. J Clin Periodontol, 21 : 658~665, 1994.
- 18) Ishihara K, Naito Y, Kato T, Takazoe I, Okuda K, Eguchi T, Nakashima K, Matsuda N, Yamasaki K, Suido H, Hasegawa K. and Sugihara K.: A sensitive enzymatic method (SK-013) for detection and quantification of specific periodontopathogens. J Periodont Res, 27 : 86~91, 1992.
- 19) Seida K, Saito A, Yamada S, Ishihara K, Naito Y. and Okuda K.: A sensitive enzymatic method (SK-013) for detection of *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in subgingival plaque samples. J Periodont Res, 27 : 92~97, 1992.
- 20) Sumida S, Ishihara K, Kishi M. and Okuda K.: Transmission of periodontal disease-associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. Int J Oral Maxillofacial Implant, 17 : 696~702, 2002.
- 21) Asano H, Ishihara K, Nakagawa T, Yamada S. and Okuda K.: Fim A type II of *Porphyromonas gingivalis* plays a role of the transmission in spouses. J Periodontol, 74 : 1355~1360, 2003.
- 22) Kobayashi N, Ishihara K, Sugihara N, Kusumoto M, Yakushiji M. and Okuda K.: Colonization pattern of periodontal bacteria in Japanese children and mothers. J Periodont Res, (in press)
- 23) Naito Y, Okuda K. and Takazoe I.: Immunoglobulin G response to subgingival gram-negative bacteria in human subjects. Infect Immun, 45 : 47~51, 1984.
- 24) Naito Y, Okuda K, Kato T. and Takazoe I.: Monoclonal antibodies against surface antigens of *Bacteroides gingivalis*. Infect Immun, 50 : 231~235, 1985.
- 25) Naito Y, Okuda K, Takazoe I, Watanabe H. and Ishikawa I.: The relationship between serum IgG levels to subgingival gram-negative bacteria and degree of periodontal destruction. J Dent Res, 64 : 1306~1310, 1985.
- 26) Naito Y, Okuda K. and Takazoe I.: Detection of specific antibody in adult periodontitis sera to surface antigens of *Bacteroides gingivalis*. Infect Immun, 55 : 832~834, 1987.
- 27) Nakagawa T, Yamada T, Nakagawa S, Machida Y, Ishihara K. and Okuda K.: Relative antibodies in sera from pubertal and adult gingivitis patients against various *Porphyromonas gingivalis* antigens. J Periodont Res, 30 : 396~403, 1995.
- 28) Okuda K, Kato T, Naito Y. and Takazoe I.: Precipitating antibody against lipopolysaccharide of *Haemophilus actinomycetemcomitans* in human serum. J Clin Microbiol, 24 : 854~858, 1986.
- 29) Okuda K, Kato T, Naito Y, Ono M, Kikuchi Y. and Takazoe I.: Susceptibility of *Bacteroides gingivalis* to bactericidal activity of human serum. J Dent Res, 65 : 1024~1027, 1986.
- 30) Saito A, Hosaka Y, Nakagawa T, Seida K, Yamada S, Takazoe I. and Okuda K.: Significance of serum antibody against surface antigens of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Oral Microbiol Immun, 8 : 146~153,

- 1993.
- 31) Takahashi J, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Ishihara K. and Okuda K.: Dynamics of serum immunoglobulin G activity for *Porphyromonas gingivalis* in adult periodontitis. *J Periodontol*, 69 : 367~373, 1998.
 - 32) Takazoe I, Nakamura T. and Okuda K.: Colonization of subgingival area by *Bacteroides gingivalis*. *J Dent Res*, 63 : 422~427, 1984.
 - 33) Kigure T, Saito A, Seida K, Yamada S, Ishihara K. and Okuda K.: Distribution of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in human gingival plaque at different periodontal pocket depths examined by immunohistochemical methods. *J Periodont Res*, 30 : 332~341, 1995.
 - 34) Fukumoto Y, Okuda K, Kato T, Ohta K. and Takazoe I.: Taxonomic study of spirochetes isolated from human periodontal lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 2 : 82~87, 1987.
 - 35) Fukumoto Y, Kato T, Ishihara K, Seida K, Takazoe I. and Okuda K.: A common antigen of *Treponema denticola* species detected by monoclonal antibody. *Oral Microbiol Immunol*, 4 : 112~116, 1986.
 - 36) Ishihara K, Ishihara M, Takazoe I. and Okuda K.: Cloning and expression of the aspartate carbamoyltransferase gene from *Treponema denticola*. *J Appl Env Microbiol*, 58 : 3399~3403, 1992.
 - 37) Ishihara K, Miura T, Kuramitsu H K. and Okuda K.: Characterization of the *Treponema denticola prtP* gene encoding a prolylphenylalanine specific protease (dentilisin). *Infect Immunol*, 64 : 5178~5186, 1996.
 - 38) Ishihara K, Kuramitsu HK, Miura T. and Okuda K.: Dentilisin activity affects the organization of the outer sheath of *Treponema denticola*. *J Bacteriol*, 180 : 3837~3844, 1998.
 - 39) Ishihara K, Kuramitsu H. and Okuda K.: A 43kDa protein of *Treponema denticola* is essential for dentilisin activity. *FEMS Microbiol Lett*, 232 : 181~188, 2004.
 - 40) Ishihara K. and Okuda K.: Molecular analysis for pathogenicity of oral *Treponema*. *Microbiol Immunol*, 43 : 495~503, 1999.
 - 41) Ishihara K. and Okuda K.: The role of *Treponema denticola* in periodontitis. *FEMS Microbiol Lett*, 181 : 199~204, 1999.
 - 42) Miyamoto M, Ishihara K. and Okuda K.: The *Treponema denticola* surface protease dentilisin degrades interleukin-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor alpha. *Infect Immunol*, 74 : 2462~2467, 2006.
 - 43) Yamazaki T, Meguru M, Yamada S, Okuda K and Ishihara K.: Surface protease of *Treponema denticola* hydrolyzes C3 and influences function of polymorphological leukocytes. *Microb Infect*, 8 : 1758~1763, 2006.
 - 44) Okuda T, R. Kimizuka, S. Yamada, Okuda K and Ishihara K.: *Treponema denticola* induces interleukin-8 and macrophage chemoattractant protein 1 production in human umbilical vein epithelial cells. *Microbe Infect*, 9 : 907~913, 2007.
 - 45) Honma K, Inagaki S, Okuda K, Kuramitsu H. and Sharma A.: Role of a *Tannerella forsythia* exopolysaccharide synthesis operon in biofilm development. *Microbial Pathog*, 42 : 156~166, 2007.
 - 46) Komiya-Ito A, Ito T, Yamanaka A, Okuda K, Yamada S. and Kato T.: N-tetradecanoyl homoserine lactone, signaling compound for quorum sensing, inhibits *Porphyromonas gingivalis* growth. *Res J Microbiol*, 1 : 353~359, 2006
 - 47) Saito Y, Fujii R, Nakagawa K, Kuramitsu H, Okuda K. and Ishihara K.: Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*, (in press)
 - 48) Takahashi N, Ishihara K. and Okuda K.: Susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to six antibiotics decreases as biofilm matures. *J Antimicrob Chemother*, 59 : 59~65, 2007.
 - 49) Takahashi N, Ishihara K, Kimizuka R, Okuda K. and Kato T.: The effect of tetracycline, minocycline, doxycycline and ofloxacin on *Itulica*. *Oral Microbiol Immunol*, 21 : 366~371, 2006.
 - 50) Yamanaka A, Kimizuka R, Kato T. and Okuda K.: Inhibitory effect of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation. *Oral Microbiol Immunol*, 19 : 61~64, 2004.
 - 51) Yamanaka A, Kouchi T, Kasai T, Kato T, Ishihara K. and Okuda K.: Inhibitory effect of cranberry polyphenol on biofilm formation and cysteine protease of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodont Res*, 42 : 589~592, 2007.
 - 52) Okuda K. and Takazoe I.: Adjuvant activity of *Propionibacterium acnes* isolated from the human oral cavity. *Arch oral Biol*, 22 : 113~117, 1977.
 - 53) Okuda K, Yanagi K. and Takazoe I.: Complement activation by *Propionibacterium acnes* and *Bacteroides melaninogenicus*. *Arch oral Biol*, 23 : 911~915, 1978.
 - 54) Okuda K. and Takazoe I.: Activation of complement by dental plaque. *J Periodont Res*, 15 : 232~239, 1980.
 - 55) Okuda K, Kato T, Naito Y, Takazoe I, Kikuchi Y, Nakamura T, Kiyoshige T. and Sasaki S.: Protective efficacy of active and passive immunizations against experimental infection with *Bacteroides gingivalis* in ligated hamsters. *J Dent Res*, 67 : 807~811, 1988.
 - 56) Yonezawa H, Ishihara K. and Okuda K.: Arg-gingipain A DNA vaccine induced protective immunity against infection by *Porphyromonas gingivalis* in a murine model. *Infect Immunol*, 69 : 2858~2864, 2001.
 - 57) Yonezawa H, Kato T, Kuramitsu HK, Okuda K. and Ishihara K.: Immunization by Arg-gingipain A DNA vaccine protects mice against an invasive *Porphyromonas gingivalis* infection through regulation on interferon- γ production. *Oral Microbiol Immunol*, 20 : 259~266, 2005.
 - 58) Miyachi K, Ishihara K, Kimizuka R. and Okuda K.: Arg-gingipain A DNA vaccine prevents alveolar bone loss in mice. *J Dent Res*, 86 : 446~450, 2007.
 - 59) Inagaki S, Ishihara K, Yasaki Y, Yamada, S. and Okuda K.: The antibody responses of periodontitis to gingipains of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol*, 74 : 1432~1439, 2003.
 - 60) Yazaki-Inagaki Y, Inagaki S, Yamada S, Okuda K. and Ishihara K.: Protective antibody production against *Porphyromonas gingivalis* strains by immunization with recombinant gingipain domains. *FEMS Immun Med Microbiol*, 47 : 287~295, 2006.
 - 61) Kato T, Okuda K, Takazoe I, Fujisawa T. and Mitsuoka T.: Antigenic heterogeneity of non-pigmented *Bacteroides* species from the human oral cavity. *J Dent Res*, 66 : 996~999, 1987.
 - 62) Kato T, Okuda K. and Takazoe I.: Cross-reactive monoclonal antibodies induced by LPS from periodontopathic

- bacteria. *Adv Dent Res*, 2 : 319~322, 1988.
- 63) Kato T, Takazoe I. and Okuda K.: Structural analysis of lipopolysaccharides from *Eikenella corrodens* by use of murine monoclonal antibodies. *Infect Immun*, 57 : 656~659, 1989.
- 64) Kato T, Takazoe I. and Okuda K.: Protection of mice against the lethal toxicity of a lipopolysaccharide (LPS) by immunization with anti-idiotypic antibody to a monoclonal antibody to lipid A from *Eikenella corrodens* LPS. *Infect Immun*, 58 : 416~420, 1990.
- 65) Kato T, Honma K, Yamanaka A, Miura T. and Okuda K.: Heterogeneity in the immune response to serotype b LPS of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and in inbred strains of mice. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 28 : 67~70, 2000.
- 66) Kato T, Imatani T, Miura T, Minaguchi K, Saitoh E. and Okuda K.: Cytokine inducing activity of family 2 cystatins. *Biol Chem*, 381 : 1143~1147, 2001.
- 67) Imatani T, Kato T. and Okuda K.: Production of inflammatory cytokines by human gingival fibroblasts stimulated by cell-surface preparations of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*, 16 : 65~72, 2001.
- 68) Imatani T, Kato T, Okuda K. and Yamashita Y.: Histatin 5 inhibits apoptosis in human gingival fibroblasts induced by *Porphyromonas gingivalis* cell surface polysaccharide. *Eur J Med Res*, 29 : 528~532, 2004.
- 69) Imatani T, Kato T, Minaguchi K. and Okuda K.: Histatin 5 in saliva inhibits inflammatory cytokines induction from human gingival fibroblasts by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*, 15 : 378~382, 2000.
- 70) Kato T. and Okuda K.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* possesses an antigen binding to anti-human IL-10 antibody. *FEMS Microbiol Lett*, 204 : 293~297, 2001.
- 71) Kato T, Ito T, Imatani T, Minaguchi K, Saitoh E. and Okuda K.: Cystatin SA, a cystatine proteinase inhibitor, induces gamma interferon expression in CD4 positive T cells. *Biol Chem*, 385 : 419~422, 2004.
- 72) Ito T, Komiya-Ito A, Okuda K, Minaguchi K, Saitoh E, Yamada S. and Kato K.: Murine monoclonal antibody which can distinguish cystatins SA1 and SA2. *Mol Immun*, 42 : 1259~1263, 2005.
- 73) Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S. and Okuda K.: Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol*, 72 : 590~597, 2001.
- 74) Kato T, Imatani T, Minaguchi K, Saito E. and Okuda K.: Salivary cystatins induce interleukin-6 expression via cell surface molecules. *Molecul Immun*, 39 : 423~430, 2002.
- 75) Okuda K, Ishihara K, Nakagawa T, Hirayama A, Inayama Y. and Okuda K.: Detection of *Treponema denticola* in atherosclerotic lesions. *J Clin Microbiol*, 39 : 1114~1117, 2001.
- 76) Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, Miyachi K, Kuramitsu H. and Okuda K.: Correlation between the detection of periodontopathic bacterial DNA in carotid coronary stenotic artery plaque with dental plaque. *J Clin Microbiol*, 42 : 1313~1315, 2004.
- 77) Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, Miyachi K, Kuramitsu KH and Okuda K.: Need for procedural details in detection of periodontopathic bacterial DNA in the atherosclerotic plaque by PCR. *J Clin Microbiol*, 42 : 4914~4915, 2004.
- 78) Okuda K, Ishihara K. and Kato T.: Involvement of periodontopathic biofilm in vascular diseases. *Oral Diseases*, 10 : 5~12, 2004.
- 79) Ando T, Kato T, Ishihara K, Ougiuchi H. and Okuda K.: Heat shock proteins in the human periodontal disease process. *Microbiol Immunol*, 39 : 321~327, 1995.
- 80) Ishihara K, Ando T, Kato T, Morimoto M, Yamane G, Takahashi S, Ogiuchi H. and Okuda K.: Relationship between the onset of pustulosis palmaris et plantaris, chronic oral infections, and bacterial heat shock proteins. *Oral Microbiol Immunol*, 15 : 232~237, 2000.
- 81) Miura T, Ishihara K, Kato T, Kimizuka R, Miyabe H, Ando T, Uchiyama T. and Okuda K.: Detection of heat shock proteins but not superantigen by isolated oral bacteria from patients with Behcet's disease. *Oral Microbiol Immunol*, 20 : 167~171, 2005.
- 82) Ishihara K, Miura T, Kimizuka R, Ebihara Y, Mizuno Y. and Okuda K.: Oral bacteria inhibit the *Helicobacter pylori* growth. *FEMS Microbiol Lett*, 159 : 355~361, 1997.
- 83) Okuda K, Ishihara K, Miura T, Katakura A, Noma H. and Ebihara Y.: *Helicobacter pylori* may have only transient presence in the oral cavity and the surface of oral cancer. *Microbiol Immunol*, 44 : 385~388, 2000.
- 84) Ishihara K, Miura T, Ebihara Y, Kamiya S, Hirayama T. and Okuda K.: Shared antigenicity of *Helicobacter pylori* and periodontopathic *Campylobacter rectus* strains. *FEMS Microb Lett*, 197 : 23~27, 2001.
- 85) Okuda K, Nakagawa T, Kimizuka R, Katakura A. and Ishihara K.: Ecological and immunopathological implication of oral bacteria in *Helicobacter pylori* infected disease. *J Periodontol*, 74 : 123~128, 2003.
- 86) Kimizuka R, Kato T, Ishihara K. and Okuda K.: Mixed infection with *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* causes excessive inflammatory responses in a mouse pneumonia model compared with mono-infection. *Microbi Infect*, 5 : 1357~1362, 2003.
- 87) Okuda M, Kaneko Y, Ichinohe, Ishihara K. and Okuda K.: Reduction of potential respiratory pathogens by oral hygienic treatment in patients undergoing endotracheal anesthesia. *J Anesthesiology*, 17 : 84~91, 2003.
- 88) Abe S, Ishihara K. and Okuda K.: Prevalence of potential respiratory pathogens in the mouths of elderly patients and effects of professional oral care. *Arch Gerontol Geriatr*, 32 : 45~55, 2001.
- 89) Adachi M, Ishihara K, Abe S, Okuda K. and Ishikawa T.: Effect of professional oral health care on elderly living in nursing homes. *Oral Sur Oral Med Oral Path Oral Rad Endodontics*, 94 : 191~195, 2002.
- 90) Abe S, Ishihara K, Adachi M. and Okuda K.: Oral hygiene evaluation for effective oral care in preventing pneumonia in dentate elderly. *Arch Gerontol Geriatr*, 43 : 53~64, 2006.
- 91) Abe S, Ishihara S, Adachi M, Sasaki H, Tanaka K. and Okuda K.: Professional oral care reduces influenza infection in elderly. *Arch Gerontol Geriatr*, 43 : 157~164, 2006.
- 92) Okuda K, Kimizuka R, Abe S, Ishihara K. and Kato T.: Involvement of periodontopathic biofilm in respiratory infections. *J Periodontol*, 76 : 2154~2160, 2005.
- 93) Okuda K. and Frostell G.: Effect of invert sugar on ac-

- cumulation of *Streptococcus mutans* E-49 on the teeth of rats. *Caries Res*, 15 : 515~518, 1981.
- 94) Okuda K. and Frostell G.: The effect of fluoride on the acid production activity of *Streptococcus mutans* and other oral streptococcus. *Swed Dent J*, 6 : 29~38, 1982.
- 95) Saeki Y, Kato T, Naito Y, Takazoe I. and Okuda K.: Inhibitory effects of funoran on the adherence and colonization of mutans streptococci. *Caries Res*, 30 : 119~125, 1995.
- 96) Saito T, Takatsuka T, Kato T, Ishihara K. and Okuda K.: Adherence of oral streptococci to an immobilized antimicrobial agent. *Arch oral Biol*, 42 : 539~545, 1997.
- 97) Okuda K, Kato T, Shiozu J, Takazoe I. and Nakamura T.: *Bacteroides heparinolyticus* sp. nov. isolated from humans with periodontitis. *Int J Syst Bact*, 35 : 438~442, 1985.
- 98) Fournier D, Mouton C, Lapierre T, Kato, T, Okuda K. and Menard C.: *Porphyromonas gulae* sp. nov. an anaerobic gram-negative coccobacillus from the gingival sulcus of various animal hosts. *Int J Syst Evolut Microbiol*, 36 : 252~257, 2001.
- 99) Chattin B R, Ishihara K, Okuda K, Hirai Y. and T Ishikawa.: Specific microbial infections in periodontal sites of HIV seropositive subjects. *Microbiol. Immunol*, 43 : 847~852, 1999.
- 100) Sasaki S, Fukushima J, Arai H, Kusakabe K, Hamajima K, Ishii N, Hirahara F, Okuda K, Kawamoto S, Ryschert J-M, Vandenbranden M, Wahren B. and Okuda K.: HIV-1 specific immune responses to gp160 induced by DNA vaccination are greatly enhanced by mannan-coated diC14-amidine. *Eur J Immunol*, 27 : 3121~3129, 1997.
- 101) Arai H, Xin K-Q, Hamajima K, Lu Y, Watabe S, Okuda K, Toda S, Tani K, Kudoh I, Suzuki M, and Okuda K.: Br-cAPM enhances both humoral and cell-mediated immune responses induced by an HIV-1 DNA vaccine. *Gene Therapy*, 7 : 694~702, 2000.
- 102) Kusakabe K, Xin K-Q, Katoh H, Sumino K, Hagiwara E, Kawamoto S, Okuda K, Miyagi Y, Aoki A, Nishioka K, Kliman D. and Okuda K.: The timing of GM-CSF expression plasmid administration influences the Th1/Th2 response induced by an HIV-1 specific DNA vaccine. *J Immunol*, 164 : 3102~3111, 2000.
- 103) Tadokoro K, Koizumi K, Miyagi Y, Kojima Y, Kawamoto S, Hamajima K, Okuda K, Tanaka S, Onari K, Wahren B, Aoki I. and Okuda K.: Rapid wide -reaching delivery of HIV-1 env DNA vaccine by intranasal administration. *Viral Immunol*, 14 : 159~167, 2001.
- 104) Xin K-Q, Urabe M, Yang J, Nomiyama K, Mizukami H, Hamajima K, Nomiyama H, Saito T, Imai M, Monahan J, Okuda K, Ozawa K. and Okuda K.: A novel recombinant adeno-associated virus vaccine induces a long-term humoral immune response to human immunodeficiency virus. *Human Gene Ther*, 12 : 1047~1061, 2001.
- 105) Shinoda K, Kim KQ, Jounai N, Kojima Y, Tamaru Y, Okada H, Kawamoto S, Okuda K, Klinman D. and Okuda K.: Polygene DNA vaccine induces a high level of protective effect against HIV-vaccinia virus challenge in mice. *Vaccine* 22 : 3676~3690, 2004.
- 106) Kato T, Kaneko S, Kimizuka R. and Okuda K.: Periodontopathic bacterial endotoxin-induced tumor necrosis factor α production was inhibited by exercise in mice. *FEMS Immunol Medical Microbiol*, 47 : 262~266, 2006.