

厚生労働行政推進調査事業費補助金

厚生労働科学特別研究事業

口腔内細菌叢とがん、糖尿病など全身疾患
との関わりとその予防戦略

平成29(2017)年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 浅香 正博

平成30(2018)年 3月

目 次

I . 総括研究報告	
口腔内細菌叢とがん、糖尿病など全身疾患との関わりとその予防戦略	-----3
研究代表者：浅香正博	
II . 分担研究報告	
1 . マウスにおける歯周病原細菌 <i>P.gingivalis</i> 由来LPSの全身投与が腎臓に与える影響に関する研究	----- 19
研究代表者：浅香正博	
研究分担者：小林正伸	
研究分担者：安彦善裕	
研究分担者：藏満保宏	
研究分担者：濱田淳一	
研究分担者：寺崎 将	
2 . 口腔内細菌が膵臓に与える影響に関する研究	----- 27
研究代表者：浅香正博	
研究分担者：小林正伸	
研究分担者：古市保志	
研究分担者：安彦善裕	
研究分担者：高橋伸彦	
研究分担者：藏満保宏	
研究分担者：濱田淳一	
研究分担者：寺崎 将	
3 . 口腔細菌とベーチェット病発症の関係性に関する研究	----- 33
研究代表者：浅香正博	
研究分担者：北市伸義	
研究分担者：長澤敏行	
4 . 歯周疾患病患者における口腔内細菌が全身疾患に与える影響に関する研究	----- 41
研究代表者：浅香正博	
研究分担者：古市保志	
研究分担者：中澤 太	
研究分担者：長澤敏行	
研究分担者：野口圭士	
研究分担者：秋田定伯	
III . 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 43

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
口腔内細菌叢とがん，糖尿病など全身疾患との関わりとその予防戦略
総括研究報告書

研究代表者 北海道医療大学 がん予防研究所 所長 浅香正博

研究要旨：

口腔内感染症である歯周病と消化器がん、動脈硬化症、虚血性疾患、糖尿病、誤嚥性肺炎、早産・低体重児出産、関節リウマチ、慢性腎臓病、非アルコール性脂肪性肝炎などの関連が報告されており、全身疾患の予防のためには口腔衛生状態の改善あるいは管理が重要となってくる。腸内細菌叢と口腔内細菌叢の大きな違いは、歯周病による炎症によって血中への細菌の侵入、細菌の出す毒素、炎症性サイトカインの血中での増加などがもたらされることであるが、口腔内細菌叢と全身疾患との関連性については詳細な解析が行われていない。本研究では次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析という手法を採用し、各種の疾患を有する被験者および全身的に健康な被験者から採取した口腔内検体について次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌および細菌種の検索を行い、口腔内細菌叢と全身疾患および全身の健康との相関の検討を目的とした。また、マウスでの歯周病菌の LPS 投与が腎臓、膵臓に与える影響ならびに膵がん組織での歯周病菌の存在の有無の検討を目的とした。

*P. gingivalis*由来のLPSが諸臓器に急性炎症を引き起こさないマウスモデルにおける腎臓の遺伝子発現を網羅的に検索したところ、PG-LPS投与によって発現の変化した遺伝子が5つ同定された (*Saa3*, *Ticam2*, *Reg3b*, *Oxct2a*および*Xcr1*)。これらはマウス腎内皮細胞で発現上昇しており慢性腎障害に関わっている可能性が示唆された。

口腔内感染症である歯周病と膵がんとの相関について明らかにするために、マウスに歯周病原性細菌のLPSを投与し、膵がんに関わる遺伝子の探索をマイクロアレイを用いて解析したところ、膵臓がんの特異的に増加するReg3gの増加が認められた。また、膵がんを有する患者から採取した検体のDNAに対して、次世代シーケンサーを用いてのメタゲノム解析を行ったところ、膵臓がんの検体から歯周病原細菌が認められたことから、歯周病と膵がんとの相関の可能性が示唆された。

ベーチェット病は口腔内アフタ性潰瘍，眼のぶどう膜炎，皮膚症状，外陰部潰瘍を4大主症状とする難治性炎症性全身疾患であるが、ベーチェット病発症に先行し，ほぼ全例で口腔粘膜のアフタ性潰瘍が発症することに注目し，その環境要因解明のため次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって口腔細菌叢を調査したところ、PCoA解析では各疾患群とも異なったクラスターを形成していたため、さらに被験者数を増やし詳細な細菌叢解析を行う必要性が出てきた。

また、歯周病に伴う口腔内細菌叢の変化と全身疾患および全身の健康との関連性についての詳細を明らかにするため、各種がん、糖尿病、動脈硬化症、高脂血症、関節リウマチを有する患者から採取した検体の DNA に対して、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌、細菌種および細菌叢の検索を行って細菌叢を明らかにし、口腔衛生状態の適切な維持方法を提案し、口腔内細菌によって引き起こされる全身疾患の予防につなげることを目的として患者の口腔内検体を収集している。解析は今後行う予定であるが、歯周病に伴う口腔内細菌叢の変化と全身疾患および全身の健康との関連性を明らかにしていきたい。

A . 研究目的

口腔内感染症である歯周病と全身の様々な疾患や状態との相関について多くの疫学研究結果が報告されていることから、健康の保全には口腔衛生状態の改善あるいは管理が重要であることは自明であるが、口腔内細菌叢とがん、糖尿病などの全身疾患および全身の健康との関連性については詳細な解析が行われていない。歯周病は糖尿病、感染性心内膜炎、自己免疫疾患などの全身疾患に関連する危険因子となることが報告されているが、歯周病は炎症性サイトカインや種々の起炎物質が産生されて破壊された毛細血管を介して血流に入ることで全身疾患に影響を与えられていると考えられている。今回の研究課題では、歯周病の原因菌の一つである*P. gingivalis*由来のLPS (PG-LPS) が諸臓器に急性炎症を引き起こさないマウスモデルにおける腎臓と膵臓の遺伝子発現を網羅的に検索してPG-LPS投与によって発現の変化した遺伝子を同定して歯周病菌と腎疾患、膵がんとの関連性を明らかにすること、また、膵がん、ベーチェット病、糖尿病などの各種疾患を有する被験者および全身的に健康な被験者から採取した口腔内検体に対して、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌、細菌種および細菌叢の検索を行い、口腔内細菌叢と全身疾患との関連を検討することを目的とする。また実行が難しいとされる疾患関連口腔内細菌の嫌気性培養も行う。口腔内は術者による直視下での治療用器具等のアクセスも容易であり、歯垢やその中の細菌は歯磨き等によって除去も可能であることから、口腔内フローラにおける Dysbiosis (共生バランスの失調) 発現を阻止できる可能性が高い。そうなれば、全身疾患の発症抑制、とそれに続く死亡率の低減、および医療費の軽減に繋がることが期待される。

B . 研究方法

1. 歯周病原細菌*P. gingivalis*由来LPSの全身投与が腎臓に与える影響に関する研究

歯周病原細菌*P. gingivalis*由来LPS (PG-LPS) をマウスに腹腔内投与 (3日毎、1ヶ月間 (10回)、5 mg/kg) し、最終投与より3日後に屠殺、腎臓を摘出。薄切標本を作製し組織像の観察と炎症性変化を評価。また摘出臓器よりRNAを抽出しcDNAを合成後にSurePrint G3 Rat GE 8x60K Ver.2.0 (Agilent)によるmRNA発現の変化の網羅的解析を行った。発現増加が大きな

遺伝子発現の再現性をreal-time RT-PCRにて確認した。

マイクロアレイの再現性の確認および遺伝子発現変化の要因となる細胞を確認する為にマウス腎内皮細胞 (KEC) を培養し (4.0×10^4 cells/ml)、PG-LPS (0、0.1、1.0、10、100、1,000 ng/ml) で4日及び1ヶ月間培養した。PG-LPSの添加はそれぞれ3日 (48h) 毎に行い培養4日間および33日間培養を行った。培養後はTotal RNAを抽出し、cDNAを合成しreal-time RT-PCRによるmRNA発現の変化の解析を行った。

2. 口腔内細菌が膵臓に与える影響に関する研究

PG-LPSをマウスに腹腔内投与 (3日毎、1ヶ月間 (10回)、5 mg/kg) し、最終投与より3日後にマウスを屠殺、膵臓を摘出、摘出した膵臓よりRNAを抽出、cDNAを合成してSurePrint G3 Rat GE 8x60K Ver.2.0 (Agilent) によるmRNA発現の変化の網羅的解析を行った。発現が上位であった遺伝子発現の再現性をreal-time RT-PCRにて観察し、薄切標本を作製し組織像の観察、発現が上位であった遺伝子産物の免疫染色を行った。

膵臓への口腔内細菌の感染の有無を確認するため、膵がんの患者から採取した検体のDNAに対して次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行った。膵がんDNA検体を16s rRNAのV3-V4領域をPCRにて増幅し、そのアンプリコンをもとに次世代シーケンサーMiSeq (Illumina) を用い細菌叢解析を行った。

3. 口腔細菌とベーチェット病発症の関係性に関する研究

健常者とベーチェット病患者の唾液採取を行ったが、口腔細菌叢の細菌量は食事摂取・飲水・ブラッシングなどの外的要因に大きく影響されるため、本研究での検体採取は食後2時間程度の時間帯とした。

唾液から細菌DNAの抽出を行ったが、培養によるバイアス (検体採取から培養開始までの時間や保存状態などの影響) を避けるため直接の細菌DNAを用いた。唾液DNA抽出専用チューブ (OMNIgene・ORAL) に採取した検体からDNA抽出キットDNeasy® Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いてDNAを抽出した。

口腔細菌叢のメタゲノム解析は、検体DNAの16s rRNAのV3-V4領域をPCRにて増幅し、そのアンプリコンをもとに次世代シーケンスを行い (MiSeq , Illumina)、得られたデータを基にサンプル内菌種多様性、サンプル間の相関関係 (主座標解析PCoA) および階層毎の菌種組成 (Taxonomyプロット) を解析した。

4. 歯周疾患病患者における口腔内細菌が全身疾患に与える影響に関する研究

北海道医療大学病院および歯科クリニックに来院した非歯周病患者および歯周病患者の唾液、デンタルプラークおよび血液を採取した。それぞれの被験者において歯周病の進行度を診断し、その状態について必要な情報および検査値*を収集した。

採取された唾液、デンタルプラークおよび血液に存在する細菌のプロファイリングを、次

世代シーケンサー（イルミナ社、MiSeq）を用いて、メタゲノム解析を行った。

*非歯周病患者および歯周病患者の診療情報

患者基本情報：年齢、性別、喫煙歴、飲酒歴、既往歴。 疾患情報：疾患名、治療内容、治療効果、有害事象。 血液検査結果：肝機能、腎機能、電解質。 画像検査所見。

C . 研究結果

1. 歯周病原細菌*P.gingivalis*由来LPSの全身投与が腎臓に与える影響に関する研究

(1) LPS投与から15分後において、マウス血中のLPS濃度はPG-LPS投与群で 22.2 ± 8.94 ng/mL、対照群で 8.21 ± 2.65 ng/mLであり、有意差をもってPG-LPS投与群マウス血中のLPS濃度の上昇が認められた。

(2) 腎臓の組織標本での観察では、PG-LPS投与群で糸球体の破壊やメサングウム細胞の増加などの明らかな急性炎症所見は確認されなかった。

(3) 免疫染色の結果から腎臓の糸球体細胞にPG-LPS投与群でTNF- α に弱陽性、eNOSに強陽性を示し、対照群ではいずれも弱い染色を認めただけであった。

(4) マイクロアレイによる解析で発現上昇の見られた上位10遺伝子のうち、既知の遺伝子はserum amyloid A3 (Saa3)、toll-like receptor adaptor molecule 2 (Ticam2)、regenerating islet-derived 3 beta (Reg3b)、3-oxoacid CoA transferase 2A (Oxct2a)、chemokine (C motif) receptor 1 (Xcr1)の5遺伝子で、マイクロアレイでの発現増加群の上位5遺伝子のmRNAは腎臓組織においていずれもPG-LPS投与群で有意に発現が増加していた。

(5) PG-LPSを添加したマウス腎内皮細胞の培養4日目では1,000ng/ml添加群を除くすべての群で5遺伝子の有意な発現変化は認めなかったが、1,000ng/ml添加群ではすべての遺伝子のmRNA発現の増加と有意差が認められた。さらに培養33日目ではSaa3、Oxct2aおよびXcr1でSaa3の100ng/ml群を除くすべての濃度のPG-LPS投与群で各遺伝子の発現が増加し有意差を認めた。またTicam2およびReg3bの10、100、1,000ng/mlのPG-LPS投与群で各遺伝子の発現が増加し有意差を認めた。

2. 口腔内細菌が膵臓に与える影響に関する研究

(1) 網羅的解析の結果、Control群と比較しPG-LPS投与群ではRegenerating islet-derived 3g (Reg3g)の発現が73倍まで増強しており、Real-time RT-PCRでの遺伝子発現の解析においても有意なReg3g遺伝子発現増強の再現性が確認された。

(2) 免疫染色においてもPG-LPS投与群では、ランゲルハンス島周辺部の細胞相当部にReg3g陽性細胞が確認された。

(3) 次世代シーケンサーによる細菌叢解析の結果、膵臓DNA検体に*Fusobacterium nucleatum*、*Porphyromonas gingivalis*および*Prevotella intermedia*などの歯周病原細菌が検出された。

3. 口腔細菌とペーチェット病発症の関係性に関する研究

(1) ペーチェット病患者27名、サルコイドーシス患者26名、Vogt-小柳-原田病患者17名および健常者30名から採取した唾液を用いての口腔細菌叢のメタゲノム解析の結果、ペーチェット病患者、サルコイドーシス患者、Vogt-小柳-原田病患者および健常者の唾液細菌叢を構成する細菌種の数はやや健常者のOTU(細菌種の数)の上昇を認めたが、すべての群間の細菌種の数に統計学的な有意差は認められなかった。

(2) 多様性の指標であるShannon indexにおいても、すべての群間の細菌種の数に統計学的な有意差は認められなかった。

(3) PCoA解析では各群とも異なったクラスターを形成しており、属レベルでの細菌種構成は、すべての群ともに *Veillonella*, *Streptococcus*, *Prevotella* が多く、属レベルでの大きな差は認められなかった。

4. 歯周疾患患者における口腔内細菌が全身疾患に与える影響に関する研究

(1) 現在、唾液、デンタルプラークおよび血液サンプルと診療情報を収集中であるが、解析までは至っていない。

D. 考察

歯周病原細菌 *P. gingivalis* 由来LPS全身投与の腎臓に与える影響に関する研究では、PG-LPS投与が組織学的な明らかな急性炎症を引き起こしてはいなかったが、免疫染色にてTNF- α やeNOSなど炎症性物質の発現がみられた。これら炎症性物質が遺伝子発現の変化を引き起こし腎臓における発がんリスクの上昇に悪影響を及ぼす可能性はあるのではないかと考えられた。

PG-LPSを添加したマウス腎内皮細胞の培養の実験結果から、マウスへのPG-LPSの *in vivo* での投与によって発現変化の見られた5遺伝子すべてがPG-LPS添加の培養腎内皮細胞において発現が増加しており、PG-LPSによる作用の標的細胞は腎内皮細胞である可能性が示唆された。

口腔内細菌が膵臓に与える影響に関する研究では、PG-LPS腹腔内投与マウス膵臓のトランスクリプトーム網羅的解析の結果、PG-LPS投与群でReg3gの発現が確認され、免疫染色でランゲルハンス島周辺部の細胞相当部にReg3g陽性細胞が確認された。Reg3gは膵臓腫瘍マーカーの転写の増強、抗腫瘍免疫の抑制、膵臓腫瘍マーカーの抑制など複数の機序を介してマウスの炎症関連がん進行を促進することが報告されており、Reg3gは膵臓がんの特異的に増加が認められることが分かっている。これらのことからPG-LPS投与によりReg3g発現が増強され、炎症関連がん進行に関与する可能性が考えられる。

次世代シーケンサーによる細菌叢解析の結果、膵臓がん組織DNA検体に *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* および *Prevotella intermedia* などの歯周病原細菌が検出されたことから膵臓がん患者の膵臓に歯周病原菌が恐らく血中を通して膵臓に到達し

ている可能性が示唆された。膵がんと歯周病との関連はいまだ不明であるが、今後、膵がん以外の患者の膵臓DNAの細菌叢との比較を行い、さらなる検討を重ねたい。

口腔細菌とベーチェット病発症の関係性に関する研究ではベーチェット病患者、サルコイドーシス患者、Vogt-小柳-原田病患者の口腔細菌叢のメタゲノム解析の結果、ベーチェット病患者、サルコイドーシス患者、Vogt-小柳-原田病患者および健常者の唾液細菌叢を構成する細菌種の数はやや健常者のOTU（細菌種の数）の上昇を認めしたが、すべての群間の細菌種の数に統計学的な有意差は認められなかった。またPCoA解析では各群とも異なったクラスターを形成しており、属レベルでの細菌種構成はすべての群ともに *Veillonella*、*Streptococcus*、*Prevotella*が多く、属レベルでの大きな差は認められなかった。

文献的には健常人の口腔内には *Streptococcus*、*Haemophilus*、*Neisseria*、*Prevotella*、*Veillonella*、*Rothia*属の順に多く、健常者と比較して口腔潰瘍を有するベーチェット病患者には *Bifidobacterium concisus*、*Prevotella histicola*、*Clostridiales*、*Neisseria*種などの細菌量に有意差があることが報告されているが、本研究では各群共に前述した報告のある細菌が多く含まれていた。PCoA解析では各疾患群とも異なったクラスターを形成していたことから、さらに被験者数を増やし詳細な細菌叢解析を行うと共に口腔内の状態を把握することが必要であると思われる。今後、ベーチェット病における外因としての口腔細菌の具体的な関与について解明する必要があり、その解明は治療のみならず予防にもつながる可能性があると考えられる。

E . 結論

マウスへのPG-LPSの *in vivo*投与によって腎組織中で発現の変化した遺伝子を5つ同定した (*Saa3*、*Ticam2*、*Reg3b*、*Oxct2a*、*Xcr1*)。これら5つの遺伝子はPG-LPSで *in vitro*処理した培養マウス腎内皮細胞で有意に発現が増強していることから、PG-LPSの *in vivo*投与による腎臓での5つの遺伝子発現増強は腎内皮細胞に由来することが示唆された。これらの遺伝子は慢性腎疾患の発症に関わっている可能性が考えられるが、詳細な機構は明らかになっていないため今後の研究が必要とされる。

マウスへのPG-LPSの *in vivo*投与によって膵臓組織中でのReg3gの発現が有意に増強していることが明らかとなったが、Reg3gは炎症関連がん進行を促進することが報告されており、歯周病原細菌のLPSが膵臓がんに関与する可能性が示唆された。また、膵臓組織で実際に歯周病菌が同定されており、歯周病菌が膵臓組織でのReg3g発現を増強し、炎症関連癌進行に関与する可能性が示唆された。

ベーチェット病患者、サルコイドーシス患者、Vogt-小柳-原田病患者の口腔細菌叢のメタゲノム解析の結果、PCoA解析では各疾患群とも異なったクラスターを形成することが示唆された。

実質わずか半年の研究期間では、まだ結論までには至らない結果ではあったが、慢性腎疾患、膵臓がんへの歯周病の関与が疑われる結果となったことから、歯周病の全身疾患への関り

が疑われ、歯周病の予防が多くの疾患に対する予防となりうる期待が持たれる結果であった。

F . 健康危険情報

歯周病菌により慢性腎疾患、膵がんなどの疾患が引き起こされる可能性があることが認められた。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Neopane P, Nepal HP, Shrestha R, Uehara O, Abiko Y. In vitro biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *Int J Gen Med*, 18;11:25-32, 2018.
- 2) Harada F, Uehara O, Morikawa T, Hiraki D, Onishi A, Toraya S, Adhikari BR, Takai R, Yoshida K, Sato J, Nishimura M, Chiba I, Wu CZ, Abiko Y. Effect of systemic administration of lipopolysaccharides derived from *Porphyromonas gingivalis* on gene expression in mice kidney. *Med Mol Morphol*, 2018.
- 3) Harada F, Morikawa T, Anton Lennikov, Anthony Mukwaya, Mira Schupper, Uehara O, Takai R, Yoshida K, Sato J, Horie Y, Sakaguchi H, Ching-Zong Wu, Abiko Y, Neil Lagali and Kitaichi N. Protective effects of oral astaxanthin nano-powder against ultraviolet-induced photokeratitis in mice. *Oxid Med Cell Longev*, 1956104, 2017.
- 4) Lee DJ, Lee JM, Kim EJ, Takata T, Abiko Y, Okano T, Green DW, Shimono M, Jung HS. Bio-implant as a novel restoration for tooth loss. *Sci Rep*, 7:7414, 2017.
- 5) Uehara O, Takimoto K, Morikawa T, Harada F, Takai R, Adhikari BR, Itatsu R, Nakamura T, Yoshida K, Matsuoka H, Nagayasu H, Saito I, Muthumala M, Chiba I, Abiko Y. Upregulated expression of MMP-9 in gingival epithelial cells induced by prolonged stimulation with arecoline. *Oncol Lett*, 14:1186-1192, 2017.
- 6) Adhikari BR, Uehara O, Matsuoka H, Takai R, Harada F, Utsunomiya M, Chujo T, Morikawa T, Shakya M, Yoshida K, Sato J, Arakawa T, Nishimura M, Nagayasu H, Chiba I, Abiko Y. Immunohistochemical evaluation of Klotho and DNA methyltransferase 3a in oral squamous cell carcinomas. *Med Mol Morphol*, 50:155-160, 2017.
- 7) Takahashi N, Kimura AP, Naito S, Yoshida M, Kumano O, Suzuki T, Itaya S, Moriya M, Tsuji M, Ieko M. Sarcolipin expression is repressed by endoplasmic reticulum stress in C2C12 myotubes. *Journal of Physiology and Biochemistry* 73: 531–538, 2017. DOI : 10.1007/s13105-017-0578-9
- 8) Terasaki M, Mima M, Kudoh S, Endo T, Maeda H, Hamada J, Osada K, Miyashita K, Mutoh M. Glycine and succinic acid are good indicators of the suppression of epithelial-mesenchymal transition by fucoxanthinol in colorectal cancer stem-like cells. *Oncol Rep*, 20

18. [doi: 10.3892/or.2018.6398]

9) Terasaki, M., Ogawa, Y., Endo, T., Maeda, H., Hamada, J., Osada, K., Miyashita, K., Mutoh, M. Glycine is a predictor for a suppressive effect of fucoxanthinol on colonosphere formation under hypoxia. *Anticancer Res*,38: 2169-2179, 2018.

10) Abe, T., Terasaki, M. Synthesis of Phaitanthrin E and tryptanthrin through amination/cyclization cascade. *Helv. Chim. Acta*, 101: e1700284, 2018.

11) Terasaki, M., Maeda, H., Miyashita, K., Tanaka, T., Miyamoto, S., Mutoh, M. A marine bio-functional lipid, fucoxanthinol, attenuates human colorectal cancer stem-like cell tumorigenicity and sphere formation. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 61: 25-32, 2017.

12) Terasaki, M., Maeda, H., Miyashita, K., Mutoh, M. Induction of anoikis in human colorectal cancer cells by fucoxanthinol. *Nutr. Cancer*, 69: 1043-1052, 2017.

13) Endo, T., Kimura, O., Terasaki, M., Fujii, Y., Haraguchi, K., Ohta, C., Koga, N., Kato Y. Growth-related changes in Cd, Hg, Zn, Cu, Mn and Fe in the liver of star-spotted smooth-hounds (dogfish) *Mustelus manazo* from the northern region of Japan. *Marine Environ Res*, 131, 156-161, 2017.

14) Higashi K, Meguro A, Takeuchi M, Yamane T, Kitaichi N, Horie Y, Namba K, Ohno S, Nakao K, Sakamoto T, Sakai T, Tsuneoka H, Keino H, Okada AA, akeda A, Fukuhara T, Mashimo H, Ohguro N, Oono S, Enaida H, Okinami S, Mizuki N. Investigation of association between IL10 gene polymorphisms and Vogt-Koyanagi-Harada disease in a Japanese population. *Ophthalmic Genet*. 38: 187-189. 2017. doi: 10.3109/13816810

15) Horie Y, Meguro A, Ohta T, Lee EB, Namba K, Mizuuchi K, Iwata D, Mizuki N, Ota M, Inoko H, Ishida S, Ohno S, Kitaichi N. HLA-B51 carriers are susceptible to ocular symptoms of Behcet disease and the association between the two becomes stronger towards the east along the Silk Road: a literature survey. *Ocul Immunol Inflamm*. 25: 37-40. 2017. doi: 10.3109/09273948.2015.1136422

16) Iwata D, Mizuuchi K, Aoki K, Horie Y, Kase S, Namba K, Ohno S, Ishida S, Kitaichi N. Serial observation and clinical features of uveitis in Hokkaido, Japan. *Ocul Immunol Inflamm*. 25: S15-18. 2017. doi: 10.1080/09273948.2016.1184286

17) Mashima I, Liao YC, Sabharwal A, Haase EM, Nakazawa F, Scannapieco FA. Draft genome sequence of four strains of recently established novel *Veillonella* species isolated from human oral cavities. *Genome Announcements*, 6(15):e00259-18, 2018.

18) Mashima I, Liao YC, Miyakawa H, Theodorea FC, Thaweboon B, Thaweboon S, Scannapieco FA, Nakazawa F. *Veillonella infantium* sp. nov., an anaerobic, Gram-stain-negative coccus isolated from tongue biofilms of Thai child. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(4): 1101-1106, 2018.

19) Nakazawa F. Prospects and Significance of Oral *Veillonella*. *The Dental Journal of Health*

h Sciences University of Hokkaido, 36(2): 75-89, 2018.

20) Theodora CF, Mashima I, Nakazawa F. Prospects of novel species of oral Veillonella in human saliva. *Advances in Biotechnology & Microbiology*, 5(4): 001-003, 2017.

21) Mashima I, Theodora CF, Thaweboon B, Thaweboon S, Scannapieco FA, Nakazawa F. Exploring the salivary microbiome of children stratified by the oral hygiene index. *PLOS ONE*, 12(9): e0185274, 2017.

22) Mashima I, Nakazawa F. Role of an autoinducer-2-like molecule from Veillonella tobetsuensis in Streptococcus gordonii biofilm formation. *Journal of Oral Biosciences*, 59: 152-156, 2017.

23) Theodora CF, Mashima I, Thaweboon B, Thaweboon S, Nakazawa F. Molecular detection of oral Veillonella species in the saliva of children with different oral hygiene statuses. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(7): 449-461, 2017.

24) Fujita M, Mashima I, Nakazawa F. Monitoring the decontamination efficacy of the novel Poseidon-S disinfectant system in dental unit water lines. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(3): 270-276, 2017.

25) Yamazaki K, Mashima I, Nakazawa F, Nakanishi Y, Ochi M. Application of Dental Implants Coated with Titanium Nitride; The Experimental Study with Porphyromonas gingivalis Infection. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1): 130-142, 2017.

26) Saeki A, Suzuki T, Hasebe A, Kamezaki R, Fujita M, Nakazawa F, Shibata K. Activation of nucleotide-binding domain-like receptor containing protein 3 inflammasome in dendritic cells and macrophages by Streptococcus sanguinis. *Cellular Microbiology*. 19(3); 29:e12663, 2017.

27) Kawaguchi K, Iijima M, Miyakawa H, Ohta M, Muguruma T, Endo K, Nakazawa F, Mizoguchi I. Effects of chitosan fiber addition on the properties of polyurethane with thermo-responsive shape memory. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(5), 1151-1156, 2017.

28) Tokuda K, Baron B, Kuramitsu Y, Kitagawa T, Tokuda N, Morishige N, Kobayashi M, Kimura K, Nakamura K, Sonoda K. Optimization of fixative solution for retinal morphology: a comparison with Davidson's fixative and other fixation solutions. *Jpn J Ophthalmol* 2018. (in press) doi: 10.1007/s10384-018-0592-7.

29) Shimada T, Nanimoto Y, Baron B, Kitagawa T, Tokuda K, Kuramitsu Y. Enzyme treated asparagus extract down-regulates heat shock protein 27 of pancreatic cancer cells. *In Vivo* 2018. (in press)

30) Harada K, Takenawa T, Ferdous T, Kuramitsu Y, Ueyama Y. Calreticulin is a novel independent prognostic factor for oral squamous cell carcinoma. *Oncology Letters* 13(6):4857-486

2, 2017. doi: 10.3892/ol.2017.6062.

31) Wang Y, Kuramitsu Y, Baron B, Kitagawa T, Tokuda K, Akada J, Maehara S, Maehara Y, Nakamura K. PI3K inhibitor LY294002, as opposed to wortmannin, enhances AKT phosphorylation in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Int J Oncol* 50(2): 606-612, 2017. doi: 10.3892/ijco.2016.3804.

32) Ito T, Shiromizu T, Ohnishi S, Suzuki S, Mabe K, Hasegawa A, Ujiie H, Fujita Y, Sato Y, Terai S, Kato M, Asaka M, Tomonaga T, Shimizu H, Abe R. Potential role of extracellular vesicle-mediated antigen presentation in *Helicobacter pylori* hypersensitivity during eradication therapy. *J Allergy Clin Immunol*. S0091-6749(18)30513-X. 2018. doi: 10.1016/j.jaci.2018.02.046.

33) Mabe K, Okuda M, Kikuchi S, Amagai K, Yoshimura R, Kato M, Sakamoto N, Asaka M; Japan Gast Study Group. Randomized controlled trial: PPI-based triple therapy containing metronidazole versus clarithromycin as first-line treatment for *Helicobacter pylori* in adolescents and young adults in Japan. *J Infect Chemother*. S1341-321X(18)30078-3. 2018. doi: 10.1016/j.jiac.2018.02.013.

34) Lee YC, Asaka M, Graham DY. *Helicobacter pylori* and gastric cancer in Alaskan Natives: Time to stop studying *H. pylori* and to eradicate it. *Helicobacter*. 2018 (in press) doi: 10.1111/hel.12478.

35) Togo R, Ishihara K, Mabe K, Oizumi H, Ogawa T, Kato M, Sakamoto N, Nakajima S, Asaka M, Haseyama M. Preliminary study of automatic gastric cancer risk classification from photofluorography. *World J Gastrointest Oncol*. 10(2):62-70. 2018. doi: 10.4251/wjgo.v10.i2.62.

36) Tsuda M, Asaka M, Kato M, Matsushima R, Fujimori K, Akino K, Kikuchi S, Lin Y, Sakamoto N. Effect on *Helicobacter pylori* eradication therapy against gastric cancer in Japan. *Helicobacter*. 22(5). 2017. doi: 10.1111/hel.12415.

36) Ohnishi S, Watari H, Kanno M, Ohba Y, Takeuchi S, Miyaji T, Oyamada S, Nomura E, Kato H, Sugiyama T, Asaka M, Sakuragi N, Yamaguchi T, Uezono Y, Iwase S. Additive effect of rikkunshito, an herbal medicine, on chemotherapy-induced nausea, vomiting, and anorexia in uterine cervical or corpus cancer patients treated with cisplatin and paclitaxel: results of a randomized phase II study (JORTC KMP-02). *J Gynecol Oncol*. 28(5):e44. 2017. doi: 10.3802/jgo.2017.28.e44.

37) Kobayashi T, Ishida J, Shimizu Y, Kawakami H, Suda G, Muranaka T, Komatsu Y, Asaka M, Sakamoto N. Decreased RNA-binding motif 5 expression is associated with tumor progression in gastric cancer. *Tumour Biol*. 39(3):1010428317694547. 2017. doi: 10.1177/1010428317694547.

38) Mizushima T, Ohnishi S, Hosono H, Yamahara K, Tsuda M, Shimizu Y, Kato M, Asaka M, Sakamoto N. Oral administration of conditioned medium obtained from mesenchymal stem

m cell culture prevents subsequent stricture formation after esophageal submucosal dissection in pigs. *Gastrointest Endosc.* 86(3):542-552.e1. 2017. doi: 10.1016/j.gie.2017.01.024.

39) Takada A, Matsushita K, Horioka S, Furuichi Y, Sumi Y. Bactericidal effects of 310 nm ultraviolet light-emitting diode irradiation on oral bacteria. *BMC Oral Health.* 17(1):96. 2017. doi: 10.1186/s12903-017-0382-5.

40) Wang JY, Ighani A, Ayala AP, Akita S, Lara-Corrales I, Alavi A. Medical, Surgical, and Wound Care Management of Ulcerated Infantile Hemangiomas: A Systematic Review. *J Cutan Med Surg.* 1203475418770570. 2018. doi: 10.1177/1203475418770570.

41) Saijo H, Kilpadi DV, Akita S. Evaluation of the use of recombinant human basic fibroblast growth factor in combination with negative pressure wound therapy with instillation and dwell time in porcine full-thickness wound model. *Wound Repair Regen.* 25(6):972-975. 2017. doi: 10.1111/wrr.12609.

42) Akita S, Hayashida K, Yoshimoto H, Fujioka M, Senju C, Morooka S, Nishimura G, Mukae N, Kobayashi K, Anraku K, Murakami R, Hirano A, Oishi M, Ikenoya S, Amano N, Nakagawa H. Novel Application of Cultured Epithelial Autografts (CEA) with Expanded Mesh Skin Grafting Over an Artificial Dermis or Dermal Wound Bed Preparation. *Int J Mol Sci.* 19(1). pii: E57. 2017. doi: 10.3390/ijms19010057.

43) 堀江幸弘、片山詩野、所茉莉奈、董 震宇、小齊平麻里衣、大野重昭、石田 晋、北市伸義。ビルベリーエキス含有食品摂取による眼精疲労改善効果 - ランダム化二重盲検プラセボ対照試験 -。あたらしい眼科。2018. (in press)

44) 品川真有子、南場研一、北市伸義、石田 晋。春季カタルにおけるタクロリムス点眼薬の長期使用成績。臨床眼科。71: 343-348, 2017.

45) 堤 雅幸、堀江幸弘、加瀬 諭、北市伸義。翼状片に対する新たな無切除Z型切開回転術の手術成績。臨床眼科。71: 789-794, 2017.

46) 植原治, 高井理衣, 原田文也, 大西 綾, 虎谷齊子, 平木大地, 森川哲郎, 倉重圭史, 梶美奈子, 北市伸義, 齊藤正人, 安彦善裕, 千葉逸朗。次世代シーケンサーによる16S rRNA口腔叢解析の概要。北海道医療大学歯学会雑誌36: 109-119. 2017.

47) Ogata Y, Nakayama Y, Tatsumi J, Kubota T, Sato S, Nishida T, Takeuchi Y, Onitsuka T, Sakagami R, Nozaki T, Murakami S, Matsubara N, Tanaka M, Yoshino T, Ota J, Nakagawa T, Ishihara Y, Ito T, Saito A, Yamaki K, Matsuzaki E, Hidaka T, Sasaki D, Yaegashi T, Yasuda T, Shibutani T, Noguchi K, Araki H, Ikumi N, Aoyama Y, Kogai H, Nemoto K, Deguchi S, Takiguchi T, Yamamoto M, Inokuchi K, Ito T, Kado T, Furuichi Y, Kanazashi M, Gomi K, Takagi Y, Kubokawa K, Yoshinari N, Hasegawa Y, Hirose T, Sase T, Arita H, Kodama T, Shin K, Izumi Y, Yoshie H. Prevalence and risk factors for peri-implant diseases in Japanese adult dental patients. *Journal of Oral Science* 59(1):1-11, 2017.

48) Konno M, Iijima M, Kado T, Furuichi Y, Mizoguchi I. Comprehensive periodontal/orthod

ontic treatment of bimaxillary dentoalveolar protrusion caused by posterior bite collapse due to periodontal disease. Aust Orthod 33(1):105-115, 2017.

49) 白井 要, 伊藤修一, 中塚侑子, 清水伸太郎, 河野 舞, 斎藤隆史, 長澤敏行, 古市保志. S-PRGファイラー含有根管貼薬剤に関する in vitro での検討. 日本歯科保存学雑誌 60 (2): 69-77. 2017.

2. 学会発表

1) 高橋 伸彦, 木村 敦, 内藤 澄悦, 吉田 美香, 家子 正裕. インスリン長時間暴露による骨格筋および脂肪細胞内long noncoding RNAの変化 (第60回 日本糖尿病学会年次学術集会, 愛知県名古屋市 (名古屋国際会議場) 2017年5月20日)

2) 日野 里恵, 金森 麻衣, 澤田 篤史, 姫野 陽子, 長谷 佳子, 横田 広子, 板谷 利, 森谷 満, 高橋 伸彦, 井出 肇, 辻 昌宏. 身体活動量に着目した2型糖尿病患者における筋肉量減少因子の検討 (第51回 日本糖尿病学会北海道地方会 北海道札幌市(札幌プリンスホテル 国際館パミール) 2017年11月5日)

3) 吉田 美香, 内藤 澄悦, 大村 一将, 高橋 伸彦, 家子 正裕. 凝固因子活性低下を伴うループスアンチコアグラント症例における凝固因子インヒビター量の確認の意義 (第18回 日本検査血液学会学術集会 北海道札幌市 (札幌コンベンションセンター) 2017年7月22日)

4) 鈴木 健史, 家子 正裕, 高橋 伸彦, 内藤 澄悦, 吉田 美香, 熊野 穰, 畑中 大希, 末武 司, 小宮山 豊, 佐久間 一郎. 経口直接Xa阻害薬療法における抗凝固効果の確認に関する検討 (第18回 日本検査血液学会学術集会 北海道札幌市 (札幌コンベンションセンター) 2017年7月23日)

5) 内藤 澄悦, 家子 正裕, 吉田 美香, 鈴木 健史, 高橋 伸彦, 若宮 伸隆, 森谷 満. lupus anticoagulant 陽性症例に認められる凝固因子インヒビター活性の確認 (第39回 日本血栓止血学会学術集会 愛知県名古屋市 (名古屋国際会議場) 2017年6月9日)

6) 家子 正裕, 内藤 澄悦, 吉田 美香, 高橋 伸彦, 津田 博子. 遺伝性血栓性素因の検査における現状と問題点 (第39回 日本血栓止血学会学術集会愛知県名古屋市 (名古屋国際会議場) 2017年6月9日)

7) 原田文也, 森川哲郎, Pujja Neopane, Bhoj Rhaj Adhikari, 宇津宮雅史, 吉田光希, 西村学子, 安彦善裕. マウスにおける歯周病原菌*P. gingivalis* 由来LPSの腹腔内投与が腎臓の遺伝子発現に与える影響. 第27回日本口腔内科学会・第30回口腔診断学術大会. 2017.

8) 平木大地, 植原 治, 原田文也, 森川哲郎, 虎谷斉子, 安彦善裕. マウスにおける歯周病原菌 *P. gingivalis* 由来 LPS の投与が膵臓の遺伝子発現に与える影響. 第60回日本歯周病学会学術大会. 2017.

9) Fukuhara T, Kitaichi N, Mizuuchi K, Horie Y, Iwata D, Fukuhara J, Namba K, Takama T, Ishida S, Ohno S. Trabecular meshwork depigmentation and disease onset in Vogt-Koyanagi-Harada disease. 14th Congress of the International Ocular Inflammation Society (IOIS): Lausanne, Switzerland;

2017/10/18-21.

- 10) Iwata D, Namba K, Yamamoto T, Mizuuchi K, Saito W, Ohno S, Kitaichi N, Ishida S. Clinical features of intraocular inflammation in Hokkaido University Hospital. 14th Congress of the International Ocular Inflammation Society (IOIS): Lausanne, Switzerland; 2017/10/18-21.
- 11) Kase S, Namba K, Okada H, Iwata D, Mizuuchi K, Tagawa Y, Kitaichi N, Ishida S. Immunocytochemical analysis with cell block method in vitreous infusion fluids of patients with vitreoretinal lymphoma. 14th Congress of the International Ocular Inflammation Society (IOIS): Lausanne, Switzerland; 2017/10/18-21.
- 12) Suzuki K, Namba K, Mizuuchi K, Iwata D, Fukuhara T, Uno T, Ohno S, Kitaichi N, Ishida S. Correlation between cytomegalovirus retinitis and cytomegalovirus viremia. 14th Congress of the International Ocular Inflammation Society (IOIS): Lausanne, Switzerland; 2017/10/18-21.
- 13) Iwabuchi K, Satoh M, Katoh T, Kitaichi N, Taniguchi M, Kaer LV. NKT cell-based intervention to the development of experimental autoimmune uveoretinitis in mice. 8th Japan-Korea Behcet's Disease Joint Meeting: Yokohama, Japan; 2017/12/1.
- 14) Kitaichi N, Namba K, Ohno S. Prevalence of allergic disorders in Behcet's disease - A nationwide survey. 8th Japan-Korea Behcet's Disease Joint Meeting: Yokohama, Japan; 2017/12/1.
- 15) Kitaichi N. Ethnic variation and prognosis. Workshop on Ocular Behcet's Disease Study Group / Prognostic Factors of ocular Behcet's Disease. Global Ocular Inflammation Workshops (GOIW) : Bali, Indonesia; 2017/4/28.
- 16) Ohno S, Jin X, Namba K, Kitaichi N. New treatment of non-infectious uveitis. 6th International Uveitis Symposium: Xiamen, China; 2017/4/1-2.
- 17) 岩田大樹、南場研一、北市伸義、水内一臣、長谷敬太郎、福原崇子、加瀬 諭、石田 晋. フォクト・小柳・原田病の新鮮例における画像検査の診断的有用性. 第 71 回日本臨床眼科学会、東京、2017/10/12-15.
- 18) 北市伸義、堀江幸弘、南場研一、石田 晋、大野重昭、ベーチェット病アレルギー研究会. ベーチェット病患者におけるアレルギー疾患合併率の検討. 第 71 回日本臨床眼科学会、東京、2017/10/12-15.
- 19) 水内一臣、南場研一、北市伸義、岩田大樹、長谷敬太郎、福原崇子、加瀬 諭、石田 晋. ぶどう膜炎にみられた血管増殖性網膜腫瘍の 2 症例 動静脈比測定とその有用性の検討. 第 71 回日本臨床眼科学会、東京、2017/10/12-15.
- 20) 北市伸義、堤 雅幸、橋本慎太郎、佐藤 出、青木功喜、日隅陸太郎. 熊本市の一定点施設における 4 年間のアデノウイルス角結膜炎臨床像の検討. フォーサム 2017 大阪、大阪、2017/7/14-16.
- 21) 北市伸義、原田文也、森川哲郎、植原 治、堀江幸弘、安彦善裕. ナノ化アスタキサンチン経口摂取による紫外線角膜炎の軽症化. フォーサム 2017 大阪、大阪、2017/7/14-16.
- 22) 松本悠介、南場研一、岩田大樹、水内一臣、加瀬 諭、北市伸義、大野重昭、石田 晋. 遷

- 延型 Vogt-小柳-原田病における不顕性脈絡膜循環障害. フォーサム 2017 大阪、大阪、2017/7/14-16.
- 23) 水内一臣、南場研一、北市伸義、竹内正義、鈴木智浩、齋藤理幸、岩田大樹、加瀬 諭、石田 晋. ぶどう膜炎患者硝子体液での終末糖化産物の検討. フォーサム 2017 大阪、大阪、2017/7/14-16.
- 24) 北市伸義. 世界的視点で見る原田病とベーチェット病. 第 31 回兵庫眼炎症談話会(2017 年 12 月 22 日、神戸)
- 25) 北市伸義. ドクターが自信を持って勧められる、エビデンスに基づいた眼科サプリメント. 第 4 回横須賀・横浜クリニカルワークショップ (2017 年 12 月 6 日、横浜)
- 26) 北市伸義. アデノウイルス新型へのアプローチ. シンポジウム「眼感染症の新しい展開 新種・新薬・新疾患」. 第 71 回日本臨床眼科学会 (2017 年 10 月 13 日、東京)
- 27) 北市伸義. 一定点観察による最近のアデノウイルス角結膜炎の臨床像と対策の基本. 第 8 回北海道眼炎症免疫セミナー (2017 年 9 月 1 日、札幌)
- 28) 北市伸義. 世界のベーチェット病. 第 11 回四国 Eye ランドセミナー (2017 年 5 月 20 日、高松)
- 29) 北市伸義. ぶどう膜炎の世界疫学. サブスペシャリティサンデー. 第 121 回日本眼科学会総会 (2017 年 4 月 9 日、東京)
- 30) 北市伸義. ビルベリー由来アントシアニンによる眼精疲労軽減効果. モーニングセミナー「眼科で使えるエビデンス・ベースのサプリメント素材〜ルテインおよびビルベリー由来アントシアニンの効果〜」. 第 121 回日本眼科学会総会 (2017 年 4 月 8 日、東京)
- 31) Theodorea CF, Msahima I, Nakazawa F. RpoB and DnaK sequences of unidentified Veillonella isolates. International Association of Dental Research-South-East Asia Division & 28th SEAAD Annual Scientific Meeting, August 10-13, 2017, Taipei, Taiwan.
- 32) Msahima I, Theodorea CF, Thaweboon B, Thaweboon S, Scannapieco FA, Nakazawa F. Veillonella childrensensis sp. nov., an anaerobic, gram negative coccus isolated from tongue biofilm of Thai children. American Society for Microbiology Microbe 2017, June 1-5, 2017, New Orleans, USA.
- 33) Theodorea CF, Msahima I, Nakazawa F. Correlation of oral Veillonella species with oral hygiene status. General Session of International Association of Dental Research (IADR) / Annual Meeting of the AADR / Annual Meeting of the CADR, March 20-25, 2017, San Francisco, USA.
- 34) Msahima I, Theodorea CF, Nakazawa F. Exploring the microbial community in saliva from children. General Session of International Association of Dental Research (IADR) / Annual Meeting of the AADR / Annual Meeting of the CADR, March 20-25, 2017, San Francisco, USA.
- 35) 藤田真理, 横田 博, 安井由美子, 宮庄 拓, 家子貴裕, 土居拓務, 宮川博史, 長田和実, 中澤 太. 針葉樹木由来精油の口腔細菌における抗菌性ならびにバイオフィルム形成抑制能の検討. 第 44 回防菌防黴学会, 2017 年 9 月 26-27 日, 大阪市.
- 36) Theodorea CF, Mashima I, Nakazawa F. The phylogenetic diversity of unclassified Veillonella

isolates. The 59th Annual Meeting of Japanese Association for Oral Biology, September 16-18, 2017, Shiojiri, Nagano.

37) 藤田真理, 長田和実, 宮川博史, 中澤 太. Terpinen-4-ol 類似体における構造活性 菌体ならびにバイオフィルムにおける抗菌性の解明 . 第 59 回歯科基礎医学会学術大会, 2017 年 9 月 16-18 日, 塩尻市.

38) Theodorea CF, Mashima I, Nakazawa F. Oral Veillonella profiles in saliva of the children with different oral hygiene statuses and their phylogenetic diversity. The 84th Annual Meeting of Japanese Society for Bacteriology Hokkaido Branch, August 26, 2017, Sapporo, Hokkaido.

39) Theodorea CF, Mashima I, Nakazawa F. DNA sequence analysis of the novel Veillonella species isolated from saliva of Thai children. The 90th Annual Meeting of Japanese Society for Bacteriology, March 19-21, 2017, Sendai, Miyagi.

40) Mashima I, Theodorea CF, Nakazawa F. Exploring the microbiota in saliva from children. The 90th Annual Meeting of Japanese Society for Bacteriology, March 19-21, 2017, Sendai, Miyagi.

41) Theodorea CF, Mashima I, Nakazawa F. Molecular identification of oral Veillonella species in the saliva with different oral hygiene indexes. The 35th Dental Society of Health Sciences University of Hokkaido, March 4, 2017, Sapporo, Hokkaido.

42) Theodorea CF, Mashima I, Nakazawa F. Bio-indicator for oral hygiene status. International Symposium on Development of Human Resources in Practical Oral health and Treatment -Basic, Clinical and Dental Public Health innovation for Better Oral Health, February 11-13, 2018, Jakarta, Indonesia.

43) Ramadhani R, Mashima I, Theodorea CF, Nakazawa F. Effects of oral Veillonella on Streptococcus biofilm formation. International Symposium on Development of Human Resources in Practical Oral health and Treatment -Basic, Clinical and Dental Public Health innovation for Better Oral Health, February 11-13, 2018, Jakarta, Indonesia.

44) Nakazawa F, Mashima I. The role of oral Veillonella in biofilm formation -Its significance and prospects-. Invitation lecture, 2nd Regional Oral Biology Scientific Meeting/PBOI, November 2-3, 2017, Bandung, Indonesia.

45) Ichioka Y, Kado T, Mashima I, Nakazawa F, Endo K, Furuichi Y. The effects of chemical treatments used following air-polishing on experimentally contaminated titanium surface. The 5th Lindhe International Symposium, May 5-6, 2017, Gothenburg, Sweden.

46) Mashima I, Theodorea CF, Nakazawa F. Exploring the microbiota in saliva from children. The 90th Annual Meeting of Japanese Society for Bacteriology, Select workshop, March 19-21, 2017, Sendai, Japan.

47) Tokuda K, Kuramitsu Y, Baron B, Teranishi S, Tokuda N, Kimura K. AHCC inhibits TGF-beta-induced EMT in ARPE-19. (The 25th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, July 8-9, 2017, Sapporo)

- 48) Baron B, Kuramitsu Y. Assessing cryopreservation of mesenchymal stem cells using Oligonol. (The 25th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, July 8-9, 2017, Sapporo)
- 49) Baron B, Kuramitsu Y. Determination of the effect of perilla extract on NRF2 activity using an ARE-luciferase sensor. (The 25th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, July 8-9, 2017, Sapporo)
- 50) 執行彩華、門 貴司、森 真理、加藤幸紀、白井 要、中塚侑子、清水伸太郎、早坂啓太、藤原恵里、金田研朗、松本光生、渡邊裕之、市岡勇輝、房川祐樹、長澤敏行、古市保志. 臨床歯科研修における豚下顎骨フラップ手術実習の有効性. (第 60 回春季日本歯周病学会学術大会, 平成 29 年 5 月 11 日、福岡.)
- 51) 房川祐樹、白井 要、門貴司、中塚侑子、清水伸太郎、藤原 潤、早坂啓太、藤原恵里、金田研郎、松本光生、渡邊裕之、市岡勇輝、執行彩華、山崎 厚、森 真理、加藤幸紀、長澤敏行、古市保志. (障がい者支援施設入居者における長期的な歯周治療とその効果. (第 60 回春季日本歯周病学会学術大会, 平成 29 年 5 月 11 日、福岡.) .
- 52) Sho Sakamoto, Takashi Kado, Shintaro Shimizu, Yuko Nakatsuka, Yuki Ichioka, Yasunori Kitayama, Yasushi Furuichi. Clinical and microbiological findings of failed implants with peri-implantitis. (Seoul 12th Asian Pacific Society of Periodontology Meeting. 2017, 9/22,23、Seoul.)
- 53)坂本 渉、門 貴司、清水伸太郎、中塚侑子、古市保志. インプラント周囲炎罹患撤去予定インプラント周囲の細菌叢解析. (京都 日本歯周病学会 60 周年記念京都大会, 平成 29 年 12 月 16 日、京都.)
- 54)高田鮎子、松下健二、堀岡悟、古市保志、角 保徳. 新しい歯周炎予防・治療法としての 310 nm UVB-LED の可能性-特に口腔細菌に対する殺菌作用の検討-. (日本歯周病学会 60 周年記念京都大会, 平成 29 年 12 月 16 日、京都.)
- 55)松本光生、中塚侑子、白井要、清水伸太郎、安彦善裕、古市保志. ナタマメエキスが関節リウマチと歯周炎の相互作用に対して与える効果について. (日本歯周病学会 60 周年記念京都大会, 平成 29 年 12 月 16 日、京都.)
- 56) 尾形美和, 白井 要, 古市保志. 多数の全身疾患を有する歯周病患者に非外科的歯周治療の著明な効果が認められた一症例. (第 60 回春季日本歯周病学会学術大会, 平成 29 年 5 月 12 日、福岡.)

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
口腔内細菌叢とがん，糖尿病など全身疾患との関わりとその予防戦略
分担研究報告書

マウスにおける歯周病原細菌 *P. gingivalis* 由来 LPS の全身投与が
腎臓に与える影響に関する研究

研究分担者 小林正伸 北海道医療大学 看護福祉学部 教授

研究分担者 安彦善裕 北海道医療大学 歯学部 教授

研究分担者 藏満保宏 北海道医療大学 がん予防研究所 教授

研究分担者 濱田淳一 北海道医療大学 看護福祉学部 教授

研究分担者 寺崎 将 北海道医療大学 薬学部 講師

研究要旨：

近年，歯周病は糖尿病，感染性心内膜炎，自己免疫疾患などの全身疾患に関連する危険因子となることが報告されている．腎臓疾患との関連を示唆する報告もあるが，そのメカニズムは明らかとっていない．本研究では，歯周病原菌の腎臓への影響を観察するために，これまでの先行研究を元に *P. gingivalis* 由来の LPS が諸臓器に急性炎症を引き越さないマウスのモデル系の確立を試みた．さらにこのモデルにおける腎臓の遺伝子発現を網羅的に検索した．

6～8 週齢のマウスに *P. gingivalis* 由来 LPS (5 mg/kg) を 1 ヶ月間腹腔内投与した．マウスの血中 LPS の濃度を確認，摘出した臓器の薄切標本作製，組織像の観察，Total RNA の抽出を行った．Total RNA から cDNA を作成し，マイクロアレイによる mRNA 発現の変化の網羅的解析を行い，合わせてパスウェイ解析を行った．

LPS 投与マウスは 1 ヶ月間の LPS 投与により死亡するものはみられず，腎臓の組織標本での観察では明らかな急性炎症所見は確認されなかった．マイクロアレイによる解析では，4 倍以上に発現上昇した遺伝子は 1,080 プローブ，0.5 倍以下に発現減少した遺伝子は 803 プローブであった．

本研究では PG-LPS 投与によって発現の変化した遺伝子を 5 つ同定した (*Saa3*, *Ticam2*, *Reg3b*, *Oxct2a* および *Xcr1*)．これらの遺伝子はマウス腎内皮細胞で発現上昇しており，腎臓での遺伝子発現上昇は KEC に由来すると考えられる．これらの遺伝子は慢性腎障害に関わっていると考えられるが，詳細な機構は明らかになっていないため今後の研究が必要とされる．

A．研究目的

近年、歯周病は糖尿病、感染性心内膜炎、自己免疫疾患などの全身疾患に関連する危険因子となることが報告されている。歯周病は炎症性サイトカインや種々の起炎物質が産生され、破壊された毛細血管を介して血流に入ることによって全身疾患に影響を与えられている。慢性腎障害が3ヶ月続いた状態を指し、世界的に加齢、糖尿病、高血圧、肥満および心臓血管疾患との相関が見られている。歯周病と腎臓疾患との関連を示唆する報告もあるが (Ricardo AC et al. 2015)、その機序は明らかとっていない。

尿路感染や腎盂炎を引き起こす大腸菌は特に尿路感染病原性大腸菌と呼ばれ、大腸菌由来LPSを用いて尿路細菌感染を引き起こすモデルが一般的に知られている。このLPSはグラム陰性菌としてTLR-4と結合する。一方で同じグラム陰性菌である*P. gingivalis*由来のLPS(PG-LPS)はTLR-4とTLR-2に結合する。近年、PG-LPSが糸球体内皮細胞のTLR-2の発現を亢進させ、糖尿病モデルマウスの腎障害を悪化させる事が報告された。CKDと歯周病は全身疾患を介して関連していると考えられるが、それらを介さず直接的に影響している可能性も考えられる。これまでに、動物に内毒素Lipopolysaccharide(LPS)を全身投与し諸臓器の変化を観察した報告はあるが (Ding SP et al. 2003)、歯周病を想定し歯周病原菌由来のLPSを全身投与した報告は少ない。また、LPSの全身投与による研究では局所に急性炎症を引き起こすことが多く、これらは慢性的な歯周炎の全身への影響を観察するモデルとしては相応しくない。

本研究では、PG-LPSの腎臓への影響を観察するために、これまでの先行研究を元にPG-LPSが諸臓器に急性炎症を引き越さないマウスのモデル系の確立を試みた。そしてこのモデルにおける腎臓の遺伝子発現を網羅的に検索し、その再現性を評価した。

B. 研究方法

【研究1】

6~8週齢のマウス (C57BL/J, 三協ラボ) に生理食塩水で調製したPG-LPSを5 mg/kgになるよう腹腔内投与し3日毎 (84h) に1回、1ヶ月間 (10回) 投与した。各群5匹飼育し、LPS溶液と同量の生理食塩水を投与した群を対照群とした。最終投与より3日後にマウスを屠殺し、腎臓を摘出した。摘出に先立ち、マウスより血液を採取し血中PG-LPS濃度をELISAで確認した。摘出した臓器より薄切標本作製し組織像の観察と炎症性変化を評価した。また摘出臓器よりTotal RNAを抽出し、cDNAを合成し、SurePrint G3 Rat GE 8x60K Ver.2.0 (Agilent) によるmRNA発現の変化の網羅的解析を行った。その後、発現増加が大きかった遺伝子発現の再現性をreal-time RT-PCRにて観察した。

【研究2】

マイクロアレイの再現性の確認および遺伝子発現変化の要因となる細胞を確認する為にマウス腎内皮細胞 (KEC) の培養を行った。KECを60mmシャーレに培養し (4.0×10^4 cells/ml), LPSを添加あるいは非添加で4日及び1ヶ月間培養した。添加したLPS濃度はそれぞれ0.1, 1, 10, 100, 1,000 ng/mlで、非添加群を対照群とした。PG-LPSの添加はそれぞれ3日 (48h) 毎に

行い、培養4日間および33日間培養を行った。培養後はTotal RNAを抽出し、cDNAを合成し real-time RT-PCRによるmRNA発現の変化の解析を行った。

C. 研究結果

【研究1】

1. LPS投与から15分後において、マウス血中のLPS濃度はPG-LPS投与群で 22.2 ± 8.94 ng/mL、対照群で 8.21 ± 2.65 ng/mLであり、両者には有意差を認めた(図1, $p < 0.05$)。

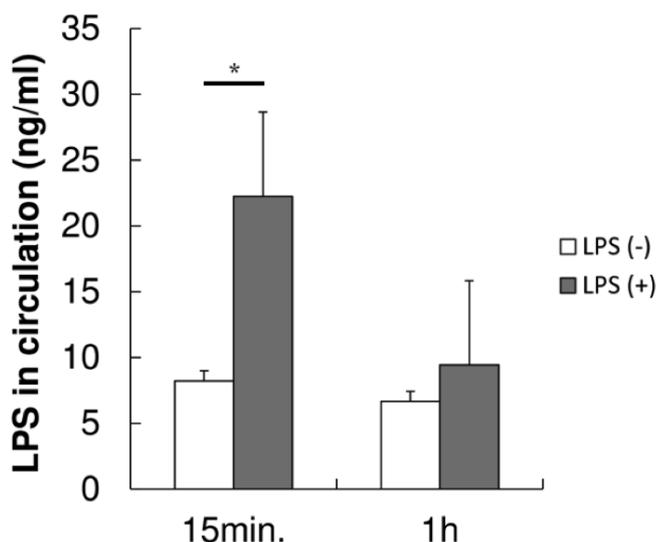
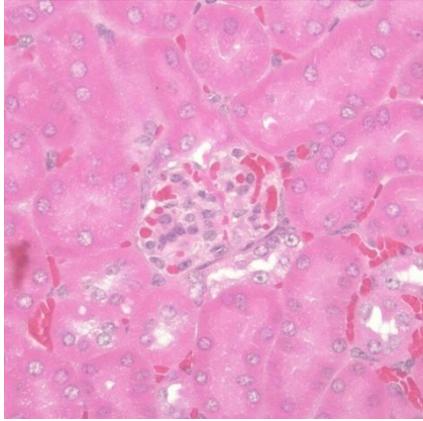


図1 LPSのマウス血中濃度

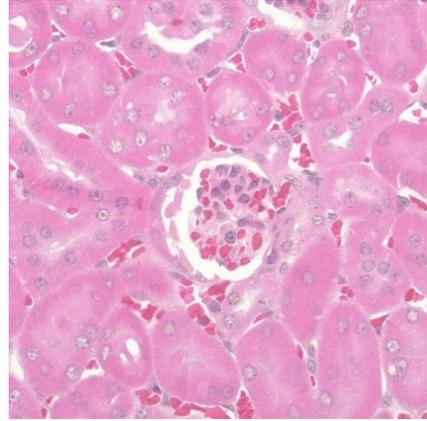
* LPS(-) : 対照群, LPS(+): PG-LPS 投与群

2. 腎臓の組織標本での観察では、PG-LPS投与群で糸球体の破壊やメサングウム細胞の増加などの明らかな急性炎症所見は確認されなかった(図2 a, b, c)。
3. 免疫染色の結果から、腎臓の糸球体細胞にPG-LPS投与群でTNF- α に弱陽性、eNOSに強陽性を示し、対照群ではいずれも弱い染色を認めただけであった(図3 a, b)。
4. マイクロアレイによる解析で、発現上昇の見られた上位10遺伝子のうち、既知の遺伝子はserum amyloid A3 (*Saa3*), toll-like receptor adaptor molecule 2 (*Ticam2*), regenerating islet-derived 3 beta (*Reg3b*), 3-oxoacid CoA transferase 2A (*Oxct2a*) and chemokine (*C motif*) receptor 1 (*Xcr1*)の5遺伝子であった(表1)。
5. マイクロアレイでの発現増加群の上位5遺伝子のmRNAは、腎組織においていずれもPG-LPS投与群で発現が増加しており、有意差を認めた(図4 a-e, $p < 0.05$)。

a

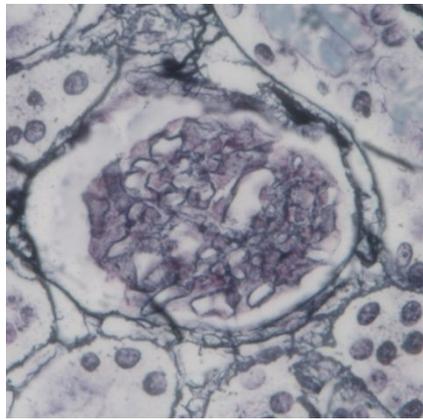


対照群

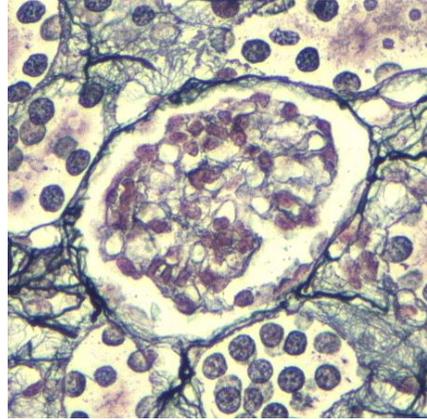


LPS 投与群

b

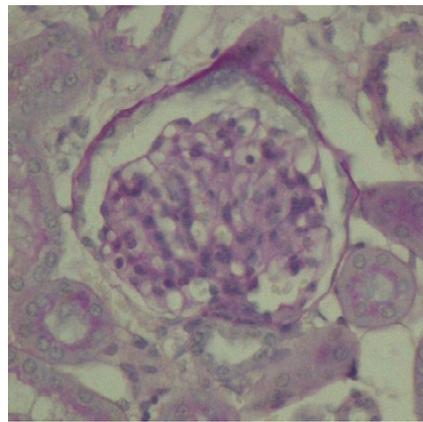


対照群

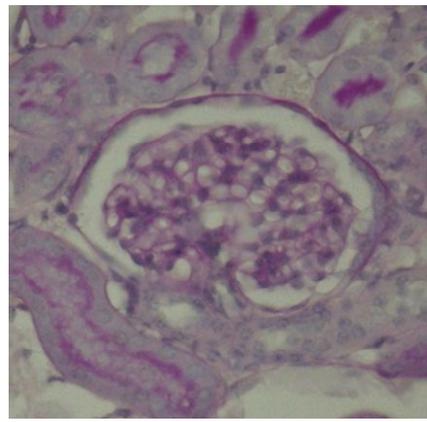


LPS 投与群

c



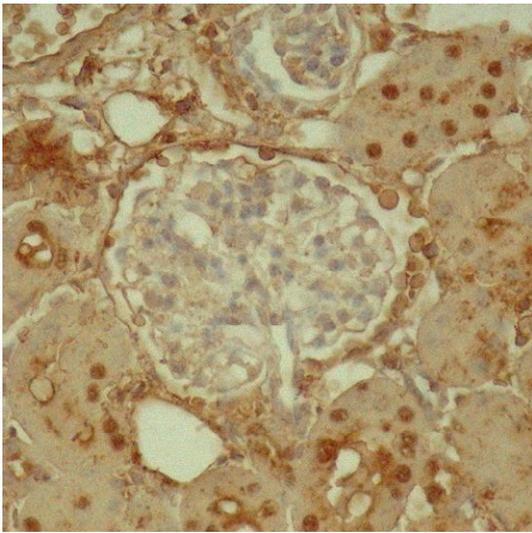
対照群



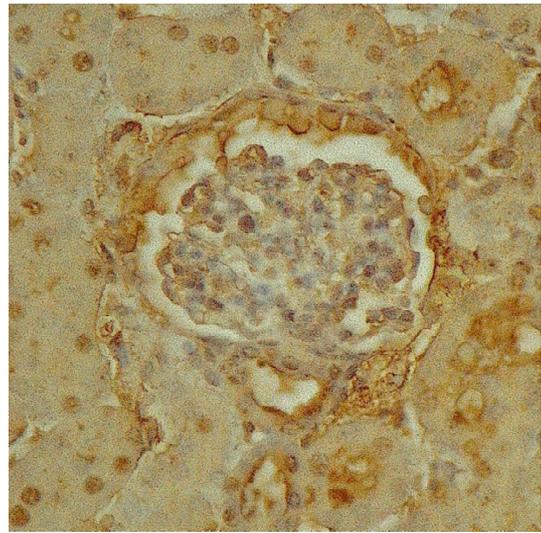
LPS 投与群

図2 腎臓の組織学的評価 (a HE 染色, b 鍍銀染色, c PAS 染色)

a

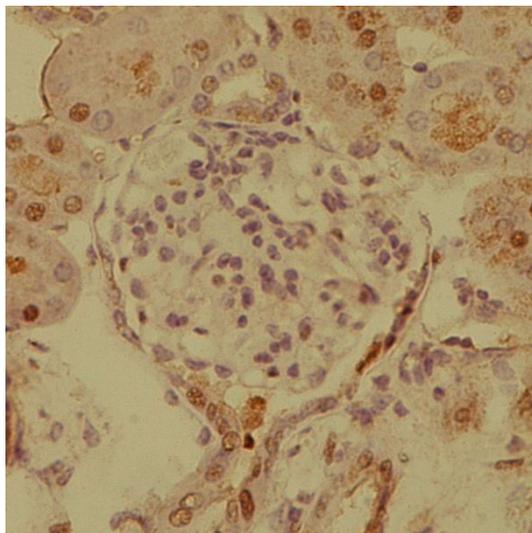


対照群

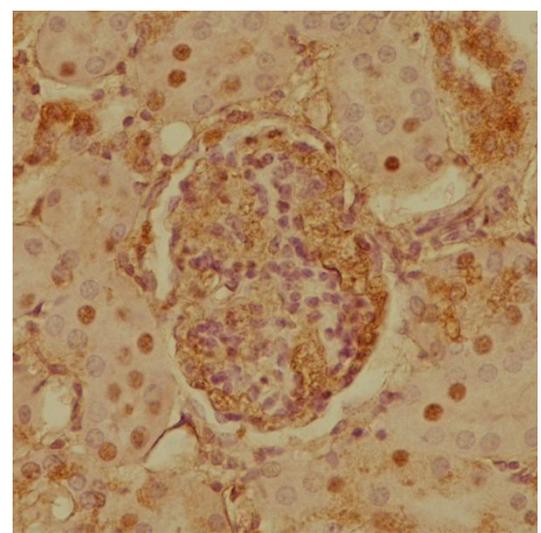


LPS 投与群

b



対照群



LPS 投与群

図3 免疫染色による TNF- α および eNOS の評価 (a TNF- α , b eNOS)

表1 マイクロアレイ解析（発現上昇遺伝子）

Gene symbol	Accession number	Description	Fold change
D830026I12Rik	NR_102304	Long non-coding RNA	193.67
C030017B01Rik	AK046738	Unclassifiable	190.13
<u>Saa3</u>	NM_011315	Serum amyloid A 3	162.39
<u>Ticam2</u>	NM_173394	Toll-like receptor adaptor molecule	90.66
<u>Reg3b</u>	NM_011036	Regenerating islet-derived 3 beta	84.00
<u>Oxct2a</u>	NM_022033	3-oxoacid CoA transferase 2A	81.63
Gm11710	NM_001101656	Predicted gene 11710	79.35
1520401A03Rik	XM_011238308	1520401A03 gene	78.32
<u>Xcr1</u>	NM_011798	Chemokine (C motif) receptor 1	76.70
AK078702	AK078702	Adult male eyeball cDNA	73.61

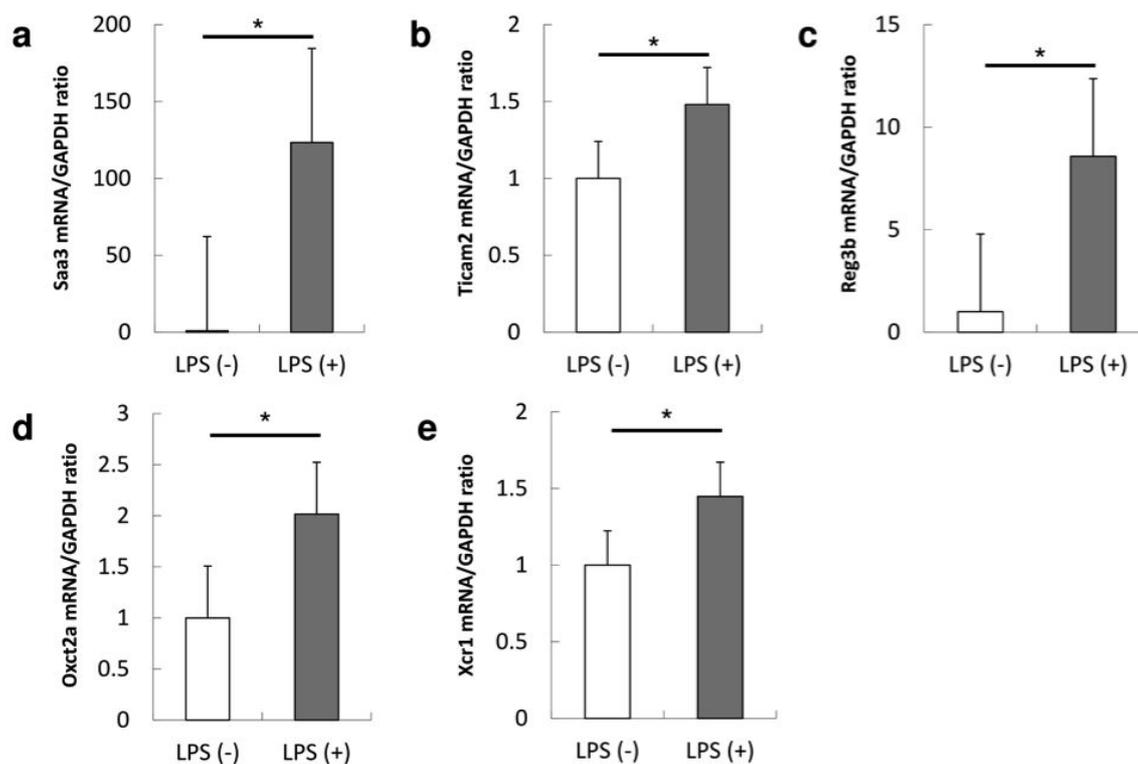


図4 マイクロアレイで発現上昇を認めた5遺伝子のmRNA発現

【研究2】

1. 培養4日目では1,000ng/ml添加群を除くすべての群で、5遺伝子の有意な発現変化は認めなかった。一方で1,000ng/ml添加群ではすべての遺伝子のmRNA発現の増加と有意差を認めた(図5 a, $p<0.05$)。
2. 培養33日目では*Saa3*, *Oxct2a*および*Xcr1*で*Saa3*の100ng/ml群を除くすべての濃度のPG-LPS投与群で各遺伝子の発現が増加し、有意差を認めた。また*Ticam2*および*Reg3b*の10, 100, 1,000ng/mlのPG-LPS投与群で各遺伝子の発現が増加し、有意差を認めた(図5 b, $p<0.05$)。

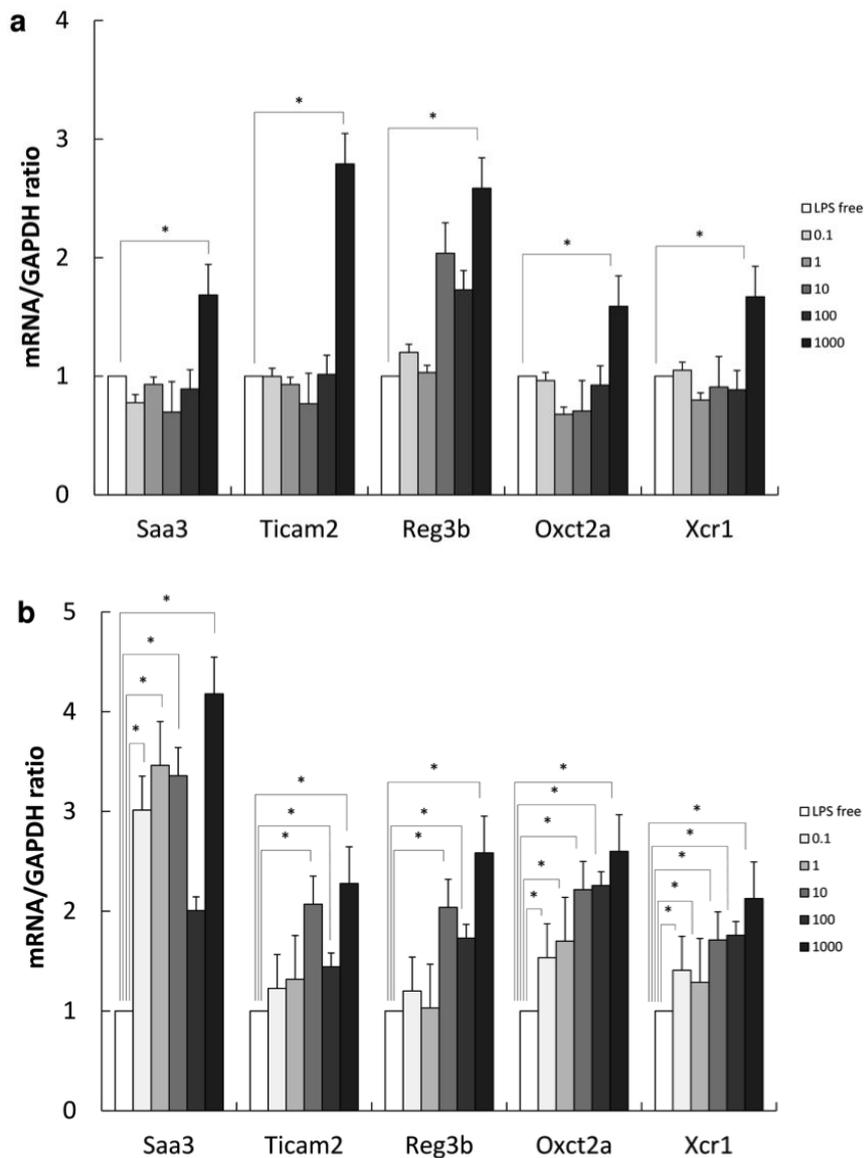


図5 KECにおけるPG-LPS投与による5遺伝子のmRNA発現の変化
(a 培養4日目, b 培養33日目)

D．考察

【研究1】の結果より，本研究におけるマウスモデルは腎臓において組織学的に明らかな急性炎症を引き起こさなかったが，免疫染色にて炎症性物質の発現がみられた．これらが遺伝子発現の変化を引き起こし，腎臓における発がんリスクの上昇，および脂質代謝に悪影響を及ぼす可能性が示唆された．

【研究2】の結果より，発現変化の見られた5遺伝子すべてがKECにおいて発現が増加しており，PG-LPSによる作用の標的細胞はKECである可能性が示唆された．

E．結論

本研究ではPG-LPS投与によって発現の変化した遺伝子を5つ同定した（*Saa3*, *Ticam2*, *Reg3b*, *Oxct2a*および*Xcr1*）．これらの遺伝子はKECで発現上昇しており，腎臓での遺伝子発現上昇はKECに由来すると考えられる．これらの遺伝子はCKD発症に関わっていると考えられるが，詳細な機構は明らかになっていないため今後の研究が必要とされる．

F．健康危険情報

（総括研究報告書において記載）

G．研究発表

（総括研究報告書において記載）

H．知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得

なし

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
口腔内細菌叢とがん，糖尿病など全身疾患との関わりとその予防戦略
分担研究報告書

口腔内細菌が膵臓に与える影響に関する研究

研究分担者 小林正伸 北海道医療大学 看護福祉学部 教授
研究分担者 古市保志 北海道医療大学 歯学部 教授
研究分担者 安彦善裕 北海道医療大学 歯学部 教授
研究分担者 高橋伸彦 北海道医療大学 歯学部 准教授
研究分担者 藏満保宏 北海道医療大学 がん予防研究所 教授
研究分担者 濱田淳一 北海道医療大学 看護福祉学部 教授
研究分担者 寺崎 将 北海道医療大学 薬学部 講師

研究要旨：

口腔内感染症である歯周病とがん，糖尿病などの全身の様々な疾患や状態との相関について多くの疫学研究結果が報告されるようになってきた。しかしながら，歯周病に伴う口腔内細菌叢の変化と全身疾患および全身の健康との関連性についての詳細は明らかではない。本研究の最終目標は，膵癌を有する患者から採取した検体のDNAに対して，次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌，細菌種および細菌叢の検索を行い，膵臓組織中の細菌叢を明らかにし，口腔衛生状態の適切な維持方法を提案し，口腔内細菌によって引き起こされる全身疾患の予防につなげることである。

本研究では，マウスに歯周病原性細菌のLPSを投与し，膵臓がんに関わる遺伝子の探索を行い，膵癌を有する患者から採取した検体のDNAに対して，次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行った。

で，膵臓がんに特異的に増加するReg3gの増加がマイクロアレイ認められたこと，で膵臓がんの検体から歯周病原細菌が認められたことから新たな知見が得られる可能性が高いと考えられる。

A．研究目的

口腔内感染症である歯周病とがん，糖尿病などの全身の様々な疾患や状態との相関について多くの疫学研究結果が報告されている。しかしながら，歯周病に伴う口腔内細菌叢の変化と全身疾患および全身の健康との関連性についての詳細は明らかではない。本研究の目的は，歯周病原細菌である*P. gingivalis*のLPS (PG-LPS) を全身投与するモデルを用いて，膵臓の遺伝子発現を網羅的に探索すること，膵臓がんを有する患者から採取した検体のDNAに対して，次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌，細菌種および

細菌叢の検索を行い、膵臓組織中の細菌叢を明らかにすることである。

B. 研究方法

【研究1】

6～8週齢のマウス（C57BL/J，三協ラボ）に生理食塩水で調製したPG-LPSを5 mg/kgになるよう腹腔内投与し3日毎（84h）に1回，1ヶ月間（10回）投与した。各群5匹飼育し，LPS溶液と同量の生理食塩水を投与した群を対照群（Control）とした。最終投与より3日後にマウスを屠殺し，膵臓を摘出した。摘出した膵臓よりTotal RNAを抽出し，cDNAを合成し，SurePrint G3 Rat GE 8x60K Ver.2.0（Agilent）によるmRNA発現の変化の網羅的解析を行った。その後，発現が上位であった遺伝子発現の再現性をreal-time RT-PCRにて観察した。また，薄切標本作製し組織像の観察，発現が上位であった遺伝子産物の免疫染色を行った。

【研究2】

膵臓への口腔内細菌の感染を明らかにするため，膵がんを有する患者から採取した検体のDNAに対して，次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行った。膵がんDNA検体は，札幌東徳洲会病院臨床研究センター（現，医学研究所）が代表機関となり倫理委員会の承認を得たプロトコールに基づいて（承認番号TGE00369-012，承認書添付），北海道大学医学部腫瘍病理学，旭川医科大学内科学および手稲溪仁会病院が保有する検体を用いた。これらの検体の二次利用はプロトコール上，許容されており，本学倫理委員会の承認も得た（北海道医療大学予防医療科学センター倫理委員会承認 第2017-011号）。

膵がんDNA検体を16s rRNAのV3-V4領域をPCRにて増幅し，そのアンプリコンをもとに次世代シーケンサーMiSeq（Illumina）を用い細菌叢解析を行った。

C. 研究結果

【研究1】

1. 網羅的解析の結果，Control群と比較しPG-LPS投与群ではRegenerating islet-derived 3g（Reg3g）の発現が73倍であった（図1）。
2. Real-time RT-PCRで遺伝子発現の解析においても再現性が認められた（図2，* $p < 0.05$ ）。
3. 免疫染色においてもLPS投与群では，ランゲルハンス島周辺部の細胞相当部にReg3g陽性細胞が確認された。（図3）

【研究2】

細菌叢解析の結果，膵がんDNA検体に*Fusobacterium nucleatum*，*Porphyromonas gingivalis* および*Prevotella intermedia*などの歯周病原細菌が検出された（図4）。

マイクロアレイ解析 表1 発現比の大きかった上位10種の遺伝子リスト*

1) 発現増加		2) 発現減少	
Exp Fold Change up-regulated		Exp Fold Change down-regulated	
Molecules	Exp. Value	Molecules	Exp. Value
Ighg3*	↑ 4123.958	Mup1 (includes others)*	↓ -223.764
S100A8	↑ 523.053	Mup-ps16*	↓ -210.653
S100A9	↑ 336.474	Mup-ps12*	↓ -134.820
LOC102642252	↑ 263.940	ALB	↓ -132.366
Igk*	↑ 241.758	FGG	↓ -84.304
Iglv1*	↑ 112.254	AHSG	↓ -70.595
REG3G	↑ 73.305	Mug1/Mug2	↓ -70.014
Igkv4-53*	↑ 66.337	HPX	↓ -58.280
Ighv10-3	↑ 51.897	Pzp*	↓ -57.446
Chil3/Chil4	↑ 48.847	CES3	↓ -54.789

図1 マウス脾臓mRNAのマイクロアレイ解析

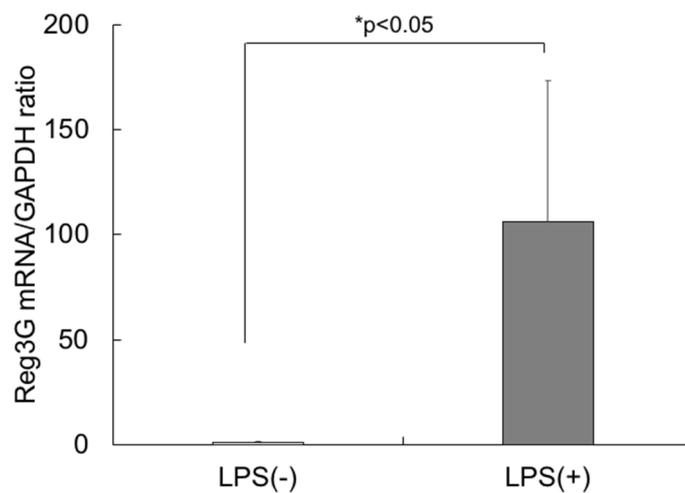
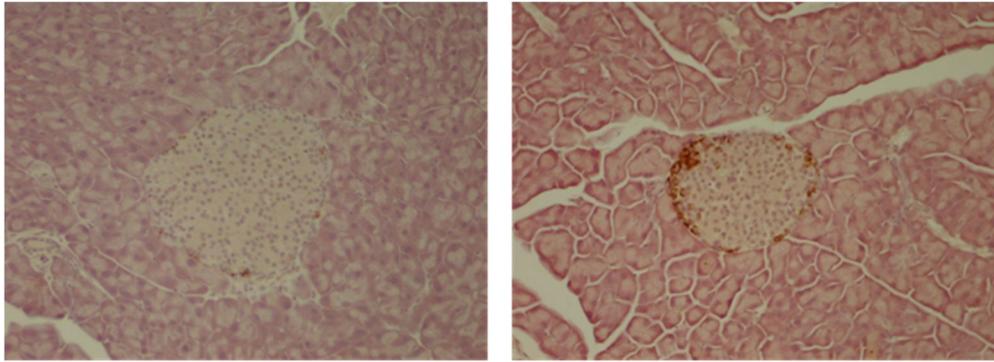


図2 Reg3g mRNAの発現



LPS(-)

LPS(+)

図3 Reg3gの免疫染色

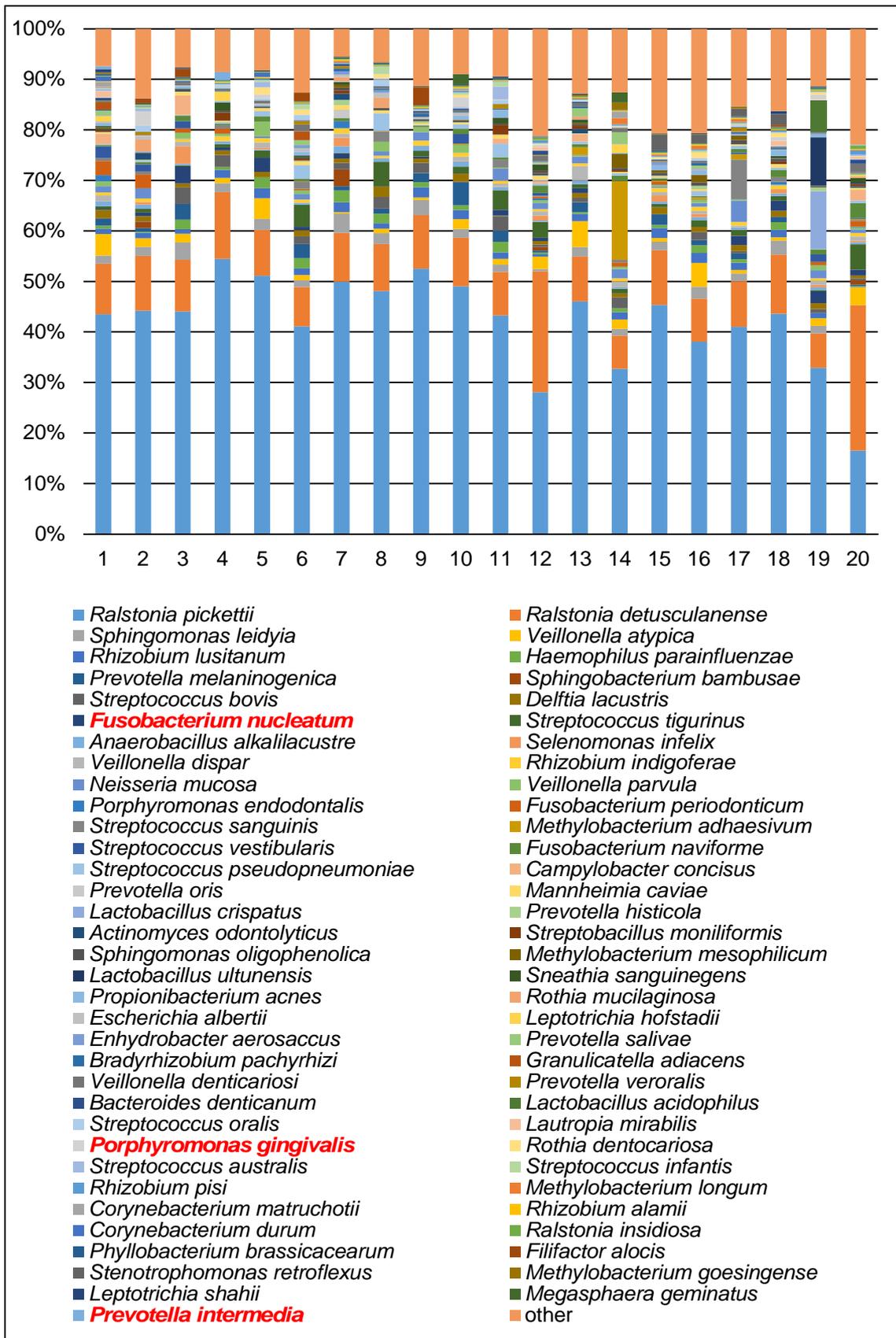


図4 膵癌を有する患者から採取した膵臓の細菌叢

D．考察

Reg3gは、膵臓腫瘍マーカーの転写の増強、抗腫瘍免疫の抑制および膵臓腫瘍マーカーの抑制を含む複数の機序を介してマウスの炎症関連がん進行を促進することが報告されている（Yin G et al., 2015）。また、Reg3gは、膵臓がんの特異的に増加が認められることが分かっている（<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000143954-REG3G/pathology>）。PG-LPS投与によりReg3g発現が増強され、炎症関連がん進行に関与する可能性が考えられる。

膵臓DNA検体に*Fusobacterium nucleatum*、*Porphyromonas gingivalis*および*Prevotella intermedia*などの歯周病原細菌が検出されたが、今後、健常者の膵臓DNAの細菌叢との比較を行い、さらなる検討が必要である。

E．結論

歯周病原細菌は、膵臓がん組織でReg3g発現を増強し、炎症関連癌進行に関与する可能性が示唆された。

F．健康危険情報

（総括研究報告書において記載）

G．研究発表

（総括研究報告書において記載）

H．知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
口腔内細菌叢とがん，糖尿病など全身疾患との関わりとその予防戦略
分担研究報告書

口腔細菌とベーチェット病発症の関係性に関する研究

研究分担者 北市伸義 北海道医療大学 予防医療科学センター 教授
研究分担者 長澤敏行 北海道医療大学 歯学部 教授

研究要旨：

ベーチェット病は口腔内アフタ性潰瘍，眼のぶどう膜炎，皮膚症状，外陰部潰瘍を4大主症状とする難治性炎症性全身疾患である．ベーチェット病の原因は未だ不明のままであるが，これまでの研究により遺伝要因と環境要因が疾患発症に関連していると考えられている．

本研究ではベーチェット病発症に先行し，ほぼ全例で口腔粘膜のアフタ性潰瘍が発症することに注目し，その環境要因解明のため次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって口腔細菌叢を調査し，疾患の原因を解明することを目的とする．

ベーチェット病，サルコイドーシス，Vogt-小柳-原田病の患者および健常者，計100名の唾液を採取し，採取した唾液からDNAを抽出し，16s rRNAのV3-V4領域をPCRにて増幅し，そのアンプリコンをもとに次世代シーケンスを行った．得られたデータを基にサンプル内菌種多様性，サンプル間の相関関係（主座標解析PCoA）および階層毎の菌種組成（Taxonomyプロット）を解析した．

PCoA解析では，各疾患群とも異なったクラスターを形成していたことから，さらに被験者数を増やし詳細な細菌叢解析を行うと共に，患者の口腔内の状態も把握することが必要であると考えられる．

A．研究目的

ベーチェット病は，1937年トルコのベーチェットによって提唱された疾患で，多臓器侵襲性の難治性の病気である．口腔粘膜のアフタ性潰瘍，眼のぶどう膜炎，皮膚症状，外陰部潰瘍を主症状とし，急性炎症性発作を繰り返すことを特徴とする．地域的な分布を見ても，世界的にはシルクロードに沿った帯状の地域に分布を示す．本症での失明率は高く，20歳代後半から40歳代にかけての働き盛りに発病が多い．腸管型や血管型，神経型などの特殊型ベーチェット病での死亡例が少なからずみられる．

病因は未だ不明であるが，疾患の発症には遺伝要因と環境要因（外因）の双方が重要であると考えられている．ベーチェット病ではHLA-B51の陽性率が高く，発病にHLA-B51そのもの，あるいはこれに連鎖する素因の役割が重視されている．2010年，日本およびトルコ・米国共

同研究チームが全ゲノム解析 (GWAS) により *IL23R/IL12RB2*, *IL10* が疾患感受性遺伝子であることが報告され, また, *IL-10* の産生不全による炎症制御低下がベーチェット病の炎症増幅につながっている可能性を示している. その後, さらに詳細な解析が加わり, *ERAP1*, *CCR1*, *STAT4*, *KLRC4*, *TLR4*, *NOD2*, *MEFV* などの疾患感受性遺伝子が次々と同定され, いずれも免疫応答や炎症に関わる分子をコードしていることが確認されている.

一方, 発症には外因も重要で, 遺伝要因に病原微生物をはじめとした外因が関わり, 自己免疫異常や好中球機能過剰をはじめとした自然免疫系の異常を引き起こし, 発症にいたると考えられている. 微生物の認識に関わる *TLR4*, *NOD2* やNK細胞受容体である *KLRC4* が疾患感受性遺伝子として同定されたことも, 疾患への微生物の関与を指示する所見である. 抜歯や扁桃炎があるとしばしば症状の増悪をみることがあることから, 口腔細菌の状態が病気に関わっているのではないかと考えられ, 特にプラークの初期付着に関与している連鎖球菌 *Streptococcus sanguinis* の役割が注目されてきたが, 調査対象数や口腔細菌の培養方法などに問題点があり, 特定の原因の同定には至っていない (Kaneko F et al. Eur J Dermatol 2008; Kurauchi K. et al. FEMS Immunol Med Microbiol 2005). おそらく単純な遺伝疾患や感染症ではなく, 遺伝要因と環境要因の両者の相互作用が病気の成り立ちに重要と考えられる.

近年, 口腔細菌の形成するバイオフィルム (プラーク) によって肺炎, 心疾患, 糖尿病, 高血圧など種々の基礎疾患が増悪することが報告されているが (de Melo Neto JP et al., 2013; Flores MF et al., 2013; Pralhad S et al., 2013), 口腔細菌による基礎疾病の増悪についての報告がある一方で, ベーチェット病などの眼疾患に係る報告は非常に少ない.

本研究ではベーチェット病発症に先行し, ほぼ全例で口腔粘膜のアフタ性潰瘍が発症することに注目し, その環境要因解明のため次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって口腔細菌叢を調査し, 疾患の原因解明, 将来的には予防および適切な治療法開発に結びつけることを目的とする.

B. 研究方法

1. 健常者とベーチェット病患者の唾液採取

本研究にともなう被験者の侵襲はなく, 事前に北海道医療大学の倫理委員会の承認を得た (北海道医療大学予防医療科学センター倫理委員会承認 第2015-010号). 口腔細菌の検体採取にあたっては, その目的と方法について被験者からの同意と協力を得た. 口腔細菌叢の細菌量は食事摂取・飲水・ブラッシングなどの外的要因に大きく影響されるため, 本研究での検体採取は食後2時間程度の時間帯とした. 唾液採取は, 健常者・患者唾液検体を採取した.

2. 唾液から細菌DNAの抽出

以前の報告では採取後培養された口腔細菌の量的違いが検討されているが, 培養による

バイアス（検体採取から培養開始までの時間や保存状態などの影響）を避けるため細菌DNAを用いた．唾液DNA抽出専用チューブ（OMNIGene・ORAL）に採取した．検体はDNA抽出キットDNeasy® Blood & Tissue Kit（QIAGEN）を用いてDNAを抽出した．

3. 口腔細菌叢のメタゲノム解析

16s rRNAのV3-V4領域をPCRにて増幅し，そのアンプリコンをもとに次世代シーケンスを行った（MiSeq, Illumina）．得られたデータを基にサンプル内菌種多様性，サンプル間の相関関係（主座標解析PCoA）および階層毎の菌種組成（Taxonomyプロット）を解析した．

4. 統計学分析

OTU（細菌種の数）およびShannon indexの比較には，Kruskal-Wallis検定による分散分析で有意差を認めたものに対して，Steel-Dwass法による多重検定を行った． $p < 0.05$ を有意差ありとした．

C. 研究結果

1. ベーチェット病患者27名，サルコイドーシス患者26名，Vogt-小柳-原田病患者17名および健常者30名から唾液の採取を行った．
2. ベーチェット病患者，サルコイドーシス患者，Vogt-小柳-原田病患者および健常者の唾液細菌叢を構成する細菌種数は，やや健常者のOTU（細菌種の数）の上昇を認めたが，すべての群間の細菌種の数に統計学的な有意差は認められなかった（図1）．
3. 多様性の指標であるShannon indexにおいても同様にすべての群間の細菌種の数に統計学的な有意差は認められなかった（図2）．
4. 続いて行ったPCoA解析では，各群とも異なったクラスターを形成していた（図3）．
5. 属レベルでの細菌種構成は，すべての群ともに *Veillonella*, *Streptococcus*, *Prevotella* が多く，属レベルでの大きな差は認められなかった（図4-7）．

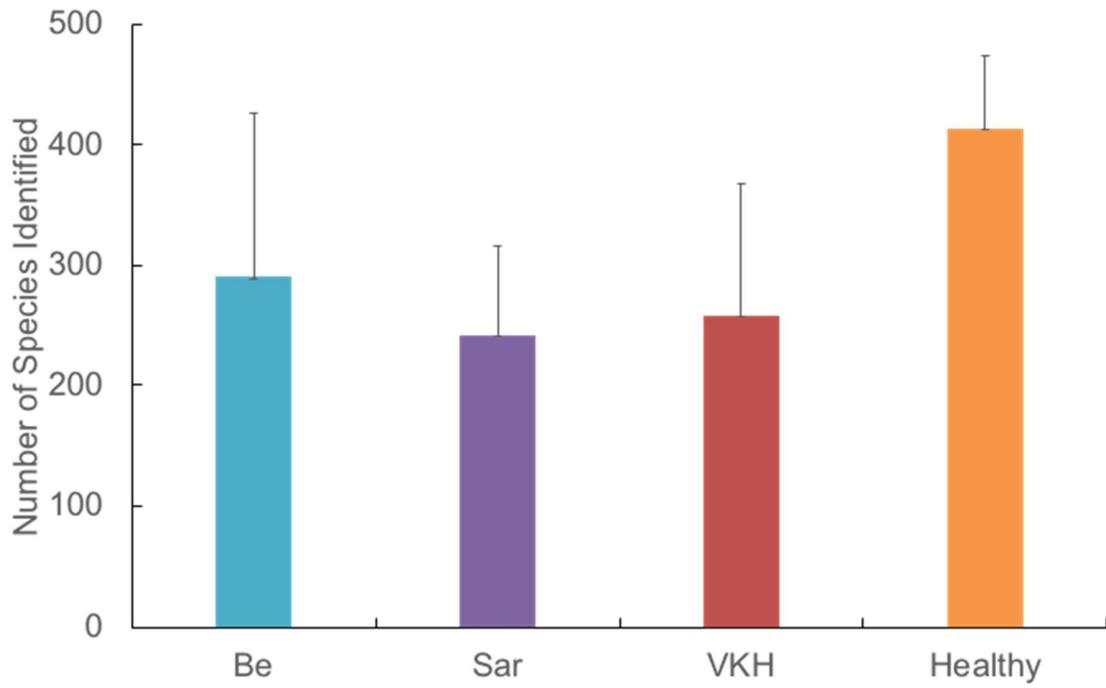


図1 OTU (Operational Taxonomic Unit) 解析

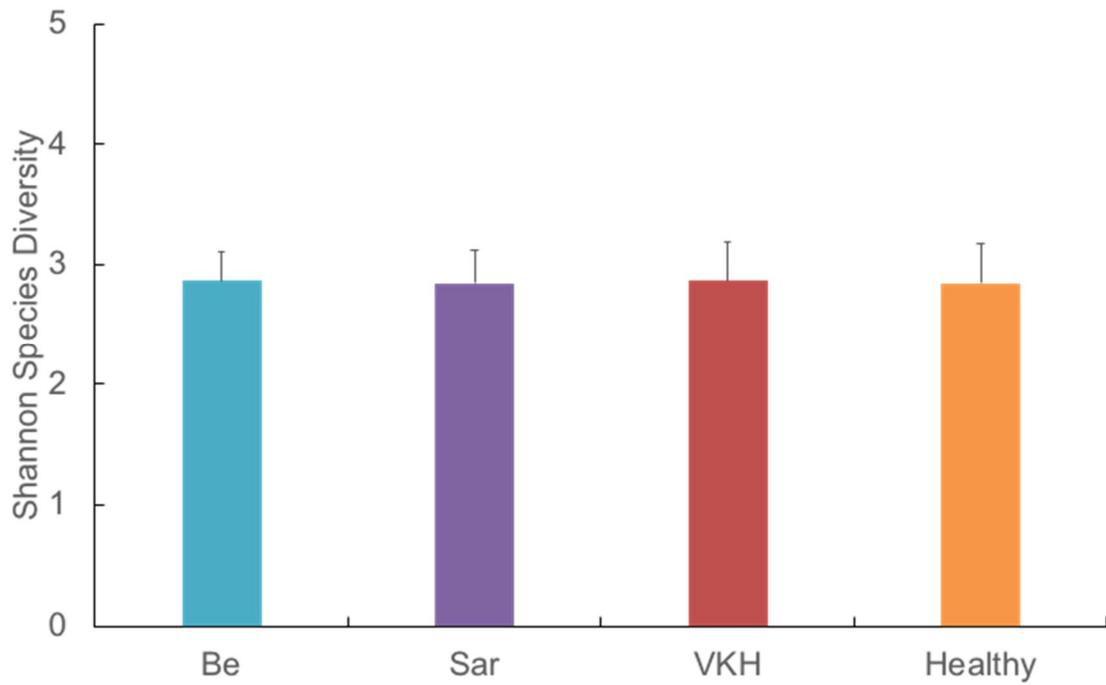


図2 Shannon index

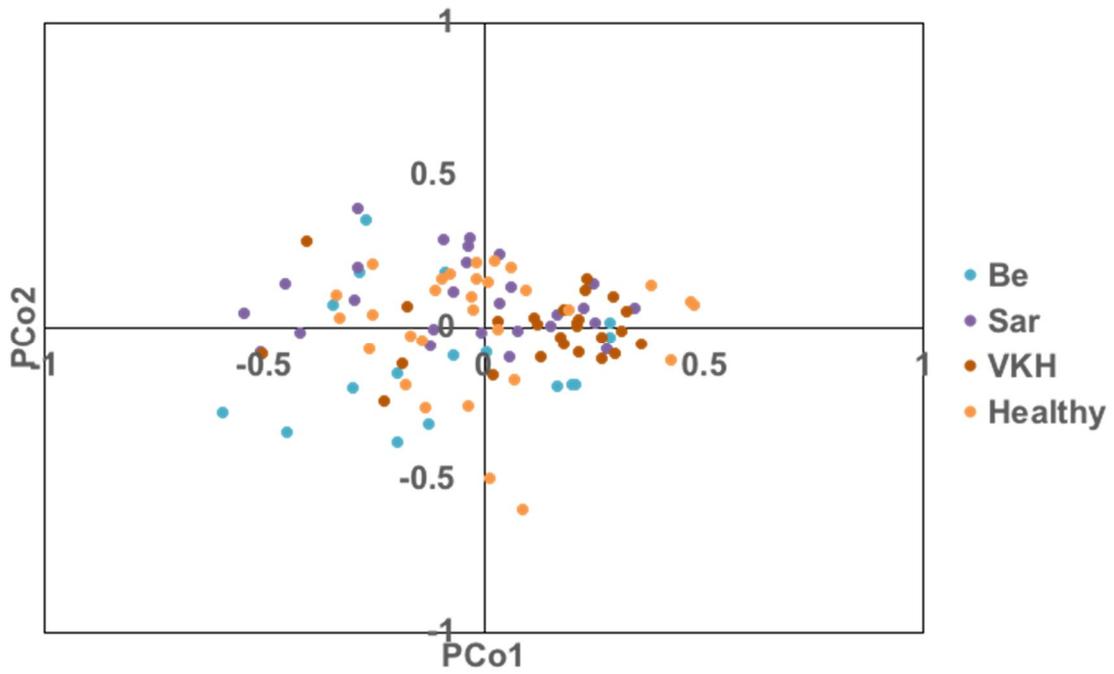


図3 PCoA (Principle Coordinates Analysis : 主座標分析)

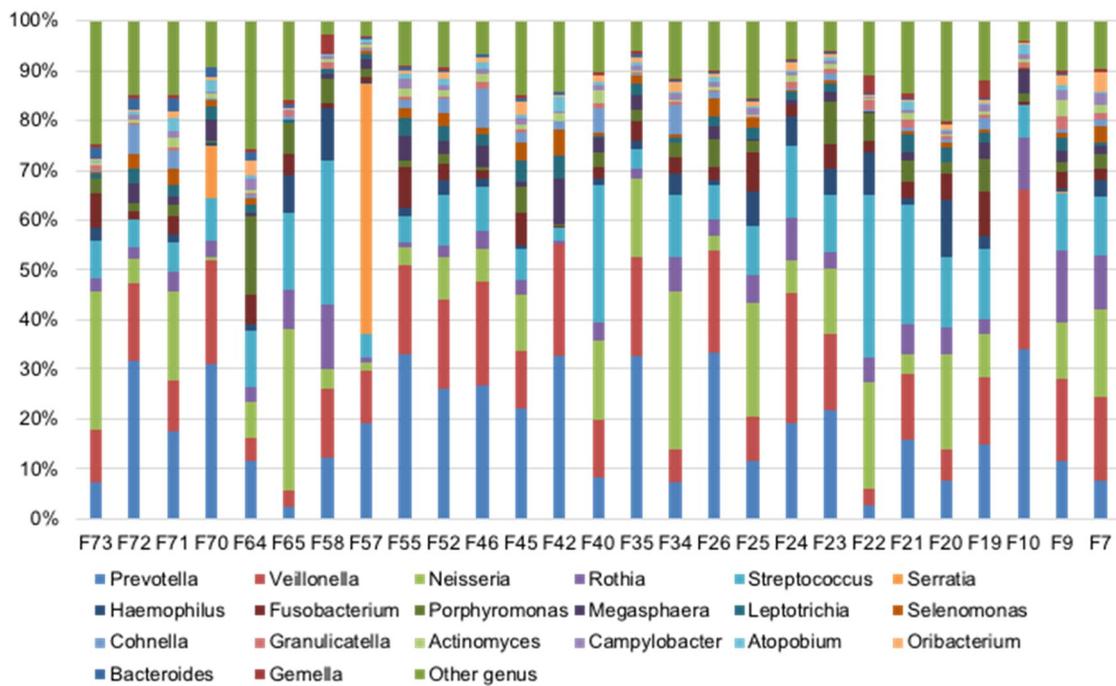


図4 ベーチェット病患者の唾液細菌叢

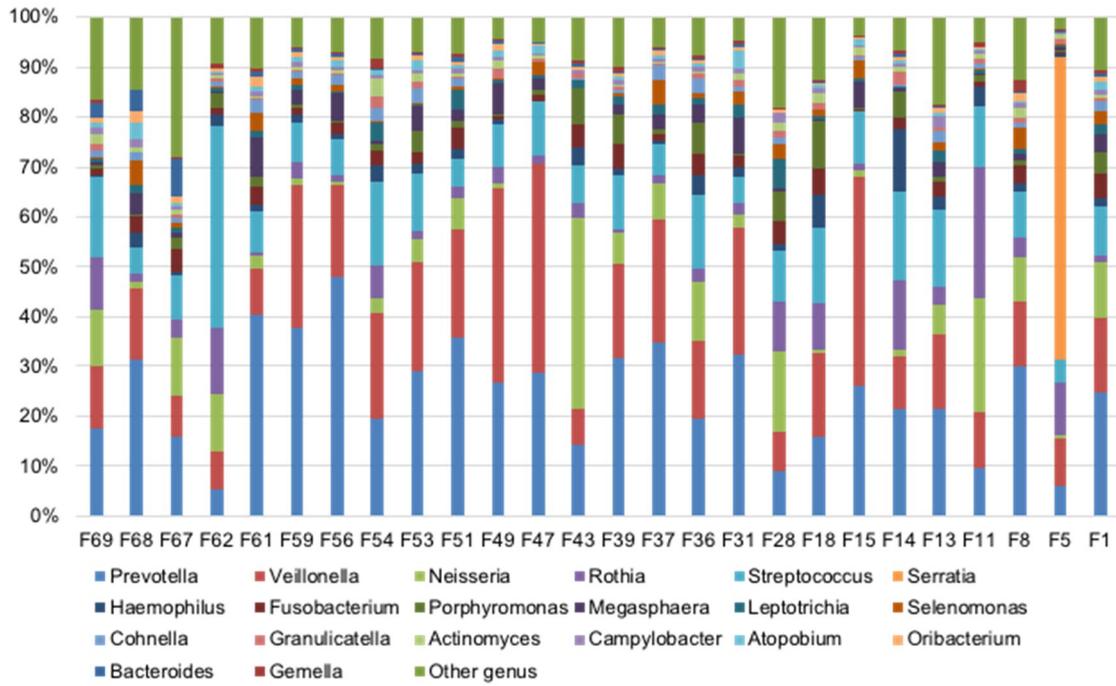


図5 サルコイドーシス患者の唾液細菌叢

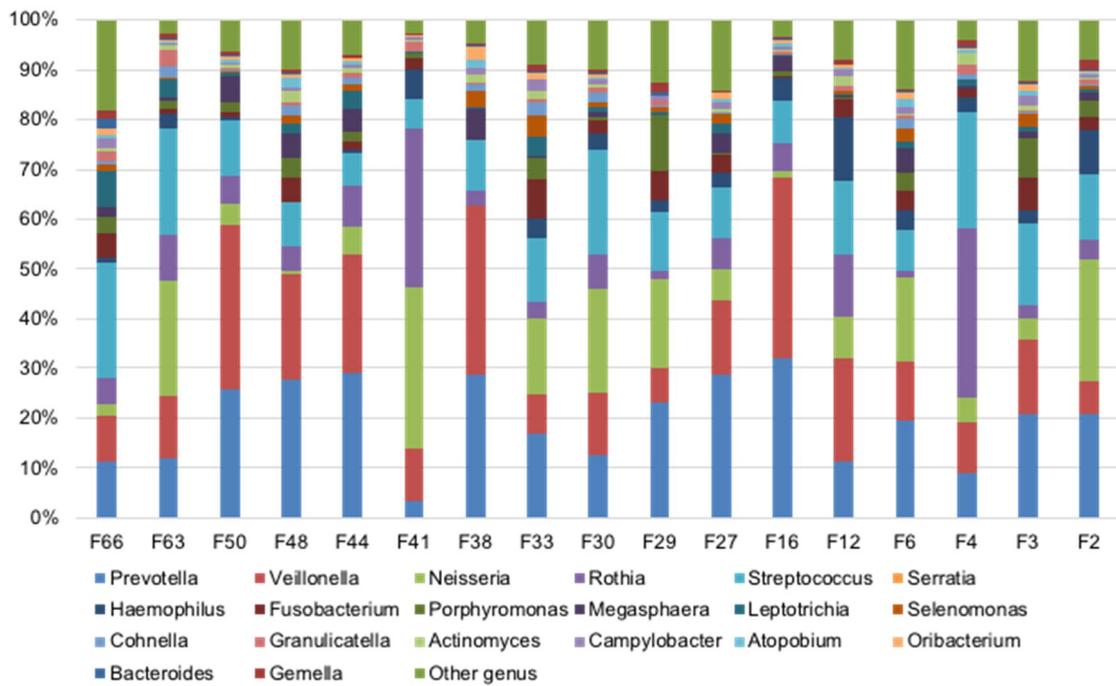


図6 Vogt-小柳-原田病患者の唾液細菌叢

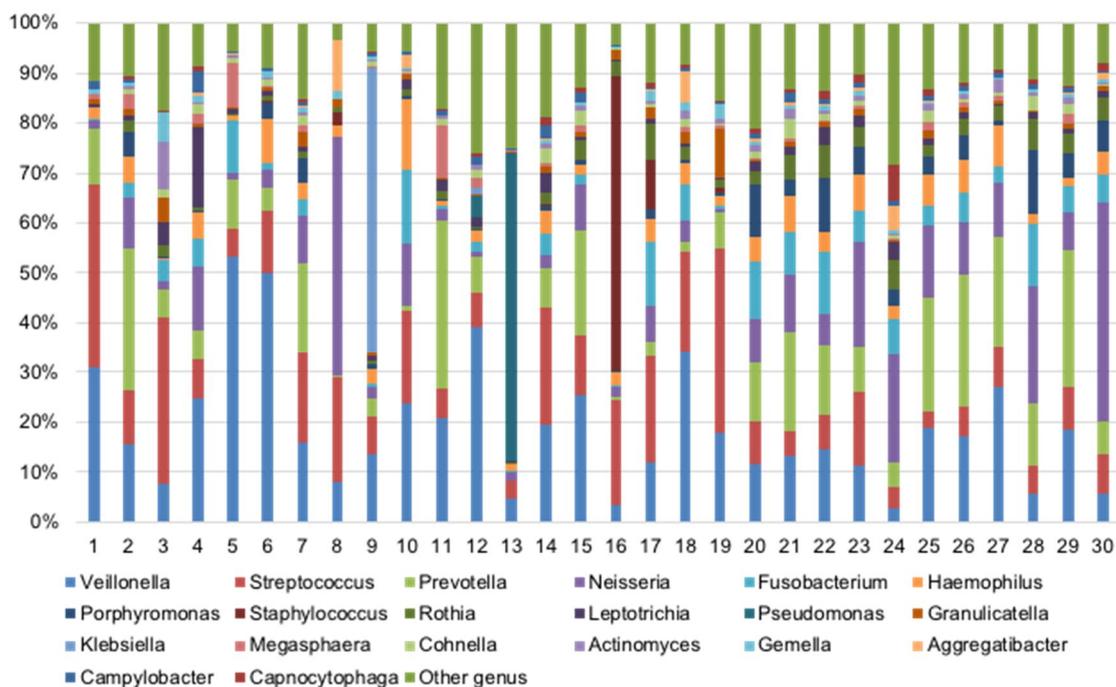


図7 健康者の唾液細菌叢

D . 考察

これまでの報告では、健康な成人の口腔内には、*Streptococcus*、*Haemophilus*、*Neisseria*、*Prevotella*、*Veillonella*、*Rothia*属の順に多い報告 (Bik EM et al., 2010)、また、健康者と比較して口腔潰瘍を有するベーチェット病患者には*Bifidobacterium concisus*、*Prevotella histicola*、*Clostridiales*および*Neisseria*種を含む細菌量に有意差があることが報告されている (Seoudi N et al., 2015)。本研究では、計100名の唾液を採取することができ、各群共に前述した報告のある細菌が多く含まれていた。PCoA解析では、各疾患群とも異なったクラスターを形成していたことから、さらに被験者数を増やし詳細な細菌叢解析を行うと共に、口腔内の状態を把握することが必要である。

今後、ベーチェット病における外因としての口腔細菌の具体的な関与について解明する必要があり、その解明は治療のみならず、予防にもつながる可能性がある。疾患の環境的発症要因があきらかになり、ベーチェット病高リスク患者においては発症前から歯科治療による事前介入あるいは疾患予防に貢献できる可能性がある。国民の健康にも医療経済的にも大きな意義を持つ重要なプロジェクトになると考えられる。

E . 結論

PCoA解析では、各疾患群とも異なったクラスターを形成することが示唆された。

F . 健康危険情報

(総括研究報告書において記載)

G. 研究発表

1. 論文発表

(総括研究報告書において記載)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
口腔内細菌叢とがん，糖尿病など全身疾患との関わりとその予防戦略
分担研究報告書

歯周疾患病患者における口腔内細菌が全身疾患に与える影響

研究分担者 古市保志 北海道医療大学 歯学部 教授

研究分担者 中澤 太 北海道医療大学 歯学部 教授

研究分担者 長澤敏行 北海道医療大学 歯学部 教授

研究分担者 野口圭士 北海道医療大学 予防医療科学センター 講師

研究分担者 秋田定伯 福岡大学 医学部 教授

研究要旨：

口腔内感染症である歯周病とがん、糖尿病などの全身の様々な疾患や状態との相関について多くの疫学研究結果が報告されるようになってきた。しかしながら、歯周病に伴う口腔内細菌叢の変化と全身疾患および全身の健康との関連性についての詳細は明らかではない。本研究の最終目標は、腭がんを有する患者から採取した検体のDNAに対して、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌、細菌種および細菌叢の検索を行い、腭臓組織中の細菌叢を明らかにし、口腔衛生状態の適切な維持方法を提案し、口腔内細菌によって引き起こされる全身疾患の予防につなげることである。

A．研究目的

口腔内感染症である歯周病とがん、糖尿病などの全身の様々な疾患や状態との相関について多くの疫学研究結果が報告されているようになってきた。しかしながら、歯周病に伴う口腔内細菌叢の変化と全身疾患および全身の健康との関連性についての詳細は明らかではない。本研究の最終目標は、各種疾患を有する被験者から採取した口腔内検体に対して、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって網羅的に細菌、細菌種および細菌叢の検索を行い、口腔内細菌叢と全身疾患との関連性を明らかにし、口腔衛生状態の適切な維持方法を提案し、口腔内細菌によって引き起こされる全身疾患の予防につなげることである。この目標を達成するためには、まず、歯周病の進行度と関連する口腔内細菌叢を構成する細菌組成を明らかにし、血中内へ侵入する口腔内細菌を同定する必要がある。そこで、今回の研究課題では、歯周病あるいは健常者の口腔より採取した臨床サンプルから口腔フローラのメタゲノム解析を行い、歯周病患者群に特異的な細菌叢を選定する。また、それらの被験者から得られた血液中の細菌組成を網羅的に解析し、歯周病と血中細菌叢の相関について検討することを目的とする。

B．研究方法

歯周病と口腔内細菌叢および血液侵入細菌叢を解析するため、唾液と採血に際し、事前に本学倫理委員会の承認を得た（北海道医療大学歯学部倫理委員会承認 第138号）。

北海道医療大学病院および歯科クリニックに来院した非歯周病患者および歯周病患者の唾液、デンタルプラークおよび血液を採取した。それぞれの被験者において歯周病の進行度を診断し、その状態について必要な情報および検査値*を収集した。

採取された唾液、デンタルプラークおよび血液に存在する細菌のプロファイリングを、次世代シーケンサー（イルミナ社、MiSeq）を用いて、メタゲノム解析を行った。

*非歯周病患者および歯周病患者の診療情報

患者基本情報：年齢、性別、喫煙歴、飲酒歴、既往歴。 疾患情報：疾患名、治療内容、治療効果、有害事象。 血液検査結果：肝機能、腎機能、電解質。 画像検査所見。

C．研究結果

現在，血液サンプルと診療情報を収集中である。

D．考察

いまだ血液サンプルと診療情報を収集中であるため、考察に至っていない。

E．結論

いまだ血液サンプルと診療情報を収集中であるため、結論に至っていない。

F．健康危険情報

（総括研究報告書において記載）

G．研究発表

（総括研究報告書において記載）

H．知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
岩田大樹、 北市伸義	ぶどう膜炎 ペーチ エット病	堀裕一	特集/眼科にお ける薬物療法 パーフェクト ガイド. Month ly Book OCULI STA 48	全日本病 院出版会	東京	2017	59-64
北市伸義、 青木功喜	流行性角結膜炎	猿田享男、北 村惣一郎	私の治療	日本医事 新報社	東京	2017	1263-1264
北市伸義	アデノウイルス角 結膜炎 多発性角 膜上皮下浸潤が見 られた流行性角結 膜炎	井上幸次、 大鹿哲郎、 大橋裕一	眼科ビジュア ルラーニング 1 角膜、結膜	中山書店	東京	2017	168-170
北市伸義	マイクロデンティ ストリーが知るべ き眼のケア - 眼か ら考える青色光の 影響	日本顕微鏡 歯科学会	マイクロデン ティストリー YEAR BOOK 201 7	クインテ ッセンス 出版	東京	2017	32-39
北市伸義、 石田 晋	眼科領域の食品因 子研究の現状	齋藤英胤	医学のあゆみ、 261	医歯薬出 版	東京	2017	613-618
北市伸義、 大野重昭	眼科用薬	高久史磨、 堀正二	治療薬ハンド ブック 2017	じほう	東京	2017	208-243
古市保志	妊産婦、性成熟期の 歯周病とう蝕	和泉雄一	母子にやさし い歯科医院 ” 女性のライフ ステージ”と口 腔管理	デンタル ダイヤモンド 社	東京	2017	45-59

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Neopane P, Nepal HP, Shrestha R, Un ehara O, Abiko Y.	In vitro biofilm formatio n by Staphylococcus aur eus isolated from wound s of hospital-admitted pa tients and their associatio n with antimicrobial resi stance.	Int J Gen Med	18 (11)	25-32	2018

Harada F, Uehara O, Morikawa T, Hiraki D, Onishi A, Toraya S, Adhikari BR, Takai R, Yoshida K, Sato J, Nishimura M, Chiba I, Wu CZ, <u>Abiko Y.</u>	Effect of systemic administration of lipopolysaccharides derived from <i>Porphyromonas gingivalis</i> on gene expression in mice kidney.	Med Mol Morphol	doi: 10.1007/s00795-018-0181-3. (in press)	(in press)	2018
Harada F, Morikawa T, Anton Lennikov, Anthony Mukwaya, Mira Schauder, Uehara O, Takai R, Yoshida K, Sato J, Horie Y, Sakaguchi H, Ching-Zong Wu, <u>Abiko Y</u> , Neil Lagali and <u>Kitaichi N.</u>	Protective effects of oral astaxanthin nano-powder against ultraviolet-induced photokeratitis in mice.	Oxid Med Cell Longev		1956104	2017
Lee DJ, Lee JM, Kim EJ, Takata T, <u>Abiko Y</u> , Okano T, Green DW, Shimono M, Jung HS.	Bio-implant as a novel restoration for tooth loss.	Sci Rep	7	7414	2017
Uehara O, Takimoto K, Morikawa T, Harada F, Takai R, Adhikari BR, Itatsu R, Nakamura T, Yoshida K, Matsuoka H, Nagayasu H, Saito I, Muthumala M, Chiba I, <u>Abiko Y.</u>	Upregulated expression of MMP-9 in gingival epithelial cells induced by prolonged stimulation with arecoline.	Oncol Lett,	14	1186-1192	2017
Adhikari BR, Uehara O, Matsuoka H, Takai R, Harada F, Utsunomiya M, Chujo T, Morikawa T, Shakya M, Yoshida K, Sato J, Arakawa T, Nishimura M, Nagayasu H, Chiba I, <u>Abiko Y.</u>	Immunohistochemical evaluation of Klotho and DNMT3A methyltransferase 3A in oral squamous cell carcinomas.	Med Mol Morphol	50	155-160	2017

Takahashi N, Kimura AP, Naito S, Yoshida M, Kumano O, Suzuki T, Itaya S, Moriya M, Tsuji M, Ieko M.	Sarcolipin expression is repressed by endoplasmic reticulum stress in C2C12 myotubes.	J Physiol Biochem	73	531-538	2017
Terasaki M, Mima M, Kudoh S, Endo T, Maeda H, Hamada J, Osada K, Miyashita K, Mutoh M.	Glycine and succinic acid are good indicators of the suppression of epithelial-mesenchymal transition by fucoxanthinol in colorectal cancer stem-like cells.	Oncol Rep	(in press)	(in press)	2018
Terasaki M, Ogawa Y, Endo T, Maeda H, Hamada J, Osada K, Miyashita K, Mutoh M.	Glycine is a predictor for a suppressive effect of fucoxanthinol on colonosphere formation under hypoxia.	Anticancer Res	38	2169-2179	2018
Abe T, Terasaki M.	Synthesis of Phaitanthrin E and tryptanthrin through amination/cyclization cascade.	Helv Chim Acta	101	e1700284	2018
Terasaki M, Maeda H, Miyashita K, Tanaka T, Miyamoto S, Mutoh M.	A marine bio-functional lipid, fucoxanthinol, attenuates human colorectal cancer stem-like cell tumorigenicity and sphere formation.	J Clin Biochem Nutr	61	25-32	2017
Terasaki M, Maeda H, Miyashita K, Mutoh M.	Induction of anoikis in human colorectal cancer cells by fucoxanthinol.	Nutr Cancer	69	1043-1052	2017
Endo T, Kimura O, Terasaki M, Fujii Y, Haraguchi K, Ohta C, Koga N, Kato Y.	Growth-related changes in Cd, Hg, Zn, Cu, Mn and Fe in the liver of star-spotted smooth-hounds (dogfish) <i>Mustelus manazo</i> from the northern region of Japan.	Marine Environ Res	131	156-161	2017
Higashi K, Meguro A, Takeuchi M, Yamane T, Kitaichi N, Horie Y, Nakamura K, Ohno S, Niikawa K, Sakamoto T, Sakai T, Tsunokawa H, Keino H, Okada AA, Takeda A, Fukuhara T, Mashimo H, Ohguro	Investigation of association between IL10 gene polymorphisms and Vogt-Koyanagi-Harada disease in a Japanese population.	Ophthalmic Genet	38	187-189	2017

Horie Y, Meguro A, Ohta T, Lee E, B, Namba K, Mizuuchi K, Iwata D, Mizuki N, Ota M, Inoko H, Ishida S, Ohno S, <u>Kitaichi N.</u>	HLA-B51 carriers are susceptible to ocular symptoms of Behcet disease and the association between the two becomes stronger towards the east along the Silk Road: a literature survey.	Ocul Immunol Inflamm doi: 10.3109/09273948.2015.1136422	25	37-40	2017
Iwata D, Mizuuchi K, Aoki K, Horie Y, Kase S, Namba K, Ohno S, Ishida S, <u>Kitaichi N.</u>	Serial observation and clinical features of uveitis in Hokkaido, Japan.	Ocul Immunol Inflamm doi: 10.1080/09273948.2016.1184286	25	S15-18	2017
Mashima I, Liao YC, Sabharwal A, Haase EM, <u>Nakazawa F</u> , Scannapieco FA.	Draft genome sequence of four strains of recently established novel <i>Veillonella</i> species isolated from human oral cavities.	Genome Announcements	6 (15)	e00259-18	2018
Mashima I, Liao YC, Miyakawa H, Theodorea FC, Thaweboon B, Thaweboon S, Scannapieco FA, <u>Nakazawa F.</u>	<i>Veillonella infantium</i> sp. nov., an anaerobic, Gram-stain-negative coccus isolated from tongue biofilms of Thai child.	Int J Syst Evol Microbiol	68 (4)	1101-1106	2018
<u>Nakazawa F.</u>	Prospects and significance of oral <i>Veillonella</i> .	The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido	36 (2)	75-89	2018
Theodorea CF, Mashima I, <u>Nakazawa F.</u>	Prospects of novel species of oral <i>Veillonella</i> in human saliva.	Advances in Biotechnology & Microbiology	5 (4)	001-003	2017
Mashima I, <u>Nakazawa F.</u>	Role of an autoinducer-2-like molecule from <i>Veillonella tobetsuensis</i> in <i>Streptococcus gordonii</i> biofilm formation.	J Oral Biosci	59	152-156	2017
Theodorea CF, Mashima I, Thaweboon B, Thaweboon S, <u>Nakazawa F.</u>	Molecular detection of oral <i>Veillonella</i> species in the saliva of children with different oral hygiene statuses.	Int J Curr Microbiol Appl Sci	6 (7)	449-461	2017
Fujita M, Mashima I, <u>Nakazawa F.</u>	Monitoring the decontamination efficacy of the novel Poseidon-S disinfectant system in dental unit water lines.	J Microbiol Immunol Infect	50 (3)	270-276	2017

Yamazaki K, Mashima I, Nakazawa F, Nakanishi Y, Ochi M.	Application of Dental Implants Coated with Titanium Nitride; The Experimental Study with Porphyromonas gingivalis Infection.	Int J Curr Microbiol Appl Sci	6 (1)	130-142	2017
Saeki A, Suzuki T, Hasebe A, Kambezaki R, Fujita M, Nakazawa F, Shibata K.	Activation of nucleotide-binding domain-like receptor containing protein 3 inflammasome in dendritic cells and macrophages by Streptococcus sanguinis.	Cellular Microbiology	19(3)	29:e12663	2017
Konno M, Iijima M, Kado T, Furuchi Y and Mizoguchi I.	Comprehensive periodontal/orthodontic treatment of bimaxillary dentoalveolar protrusion caused by posterior bite collapse due to periodontal disease.	Aust Orthod	33(1)	105-115.	2017
Kawaguchi K, Iijima M, Miyakawa H, Ohta M, Muguruma T, Endo K, Nakazawa F, Mizoguchi I.	Effects of chitosan fiber addition on the properties of polyurethane with thermo-responsive shape memory.	J Biomed Mater Res B Appl Biomater	105 (5)	1151-1156	2017
Tokuda K, Baron B, Kuramitsu Y, Kitagawa T, Tokuda N, Morishige N, Kobayashi M, Kimura K, Nakamura K, Sonoda K.	Optimization of fixative solution for retinal morphology: a comparison with Davidson's fixative and other fixation solutions.	Jpn J Ophthalmol	doi: 10.1007/s10384-018-0592-7.	(in press)	2018.
Shimada T, Nanimoto Y, Baron B, Kitagawa T, Tokuda K, Kuramitsu Y.	Enzyme treated asparagus extract down-regulates heat shock protein 27 of pancreatic cancer cells.	In Vivo	(in press)	(in press)	2018
Harada K, Takenawa T, Ferdous T, Kuramitsu Y, Ueyama Y.	Calreticulin is a novel independent prognostic factor for oral squamous cell carcinoma.	Oncol Lett	13(6)	4857-4862	2017
Wang Y, Kuramitsu Y, Baron B, Kitagawa T, Tokuda K, Akada J, Maehara S, Maehara Y, Nakamura K.	PI3K inhibitor LY294002, as opposed to wortmannin, enhances AKT phosphorylation in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells.	Int J Oncol	50 (2)	606-612	2017
			doi: 10.3892/ijco.2016.3804.		

Ito T, Shiromizu T, Ohnishi S, Suzuki S, Mabe K, Hasegawa A, Ujiie H, Fujita Y, Sato Y, Terai S, Kato M, <u>Asaka M</u> , Tomonaga T, Shimizu H, Abe R.	Potential role of extracellular vesicle-mediated antigen presentation in Helicobacter pylori hypersensitivity during eradication therapy.	J Allergy Clin Immunol	S0091-6749(18)30513-X. doi: 10.1016/j.jaci.2018.02.046.		2018
Mabe K, Okuda M, Kikuchi S, Amagai K, Yoshimura R, Kato M, Sakamoto N, <u>Asaka M</u> , Japan Gast Study Group	Randomized controlled trial: PPI-based triple therapy containing metronidazole versus clarithromycin as first-line treatment for Helicobacter pylori in adolescents and young adults in Japan.	J Infect Chemother	S1341-321X(18)30078-3. doi: 10.1016/j.jiac.2018.02.013.		2018
Lee YC, <u>Asaka M</u> , Graham DY.	Helicobacter pylori and gastric cancer in Alaskan Natives: Time to stop studying H. pylori and to eradicate it.	Helicobacter	(in press) doi: 10.1111/hel.12478.	(in press)	2018
Togo R, Ishihara K, Mabe K, Oizumi H, Ogawa T, M. Kato M, Sakamoto N, Nakajima S, <u>Asaka M</u> , Hasegawa M.	Preliminary study of automatic gastric cancer risk classification from photofluorography.	World J Gastrointest Oncol	10 (2) doi: 10.4251/wjgo.v10.i2.62.	62-70	2018
Tsuda M, <u>Asaka M</u> , Kato M, Matsuhashima R, Fujimori K, Akino K, Kikuchi S, Lin Y, Sakamoto N.	Effect on Helicobacter pylori eradication therapy against gastric cancer in Japan.	Helicobacter	22(5) doi: 10.1111/hel.12415.		2017
Ohnishi S, Watari H, Kanno M, Ohshiro Y, Takeuchi S, Miyaji T, Oyama S, Nomura E, Kato H, Sugiyama T, <u>Asaka M</u> , Sakurai N, Yamaguchi T, Uezono Y, Iwase S.	Additive effect of rikkunshito, an herbal medicine, on chemotherapy-induced nausea, vomiting, and anorexia in uterine cervical or corpus cancer patients treated with cisplatin and paclitaxel: results of a randomized phase I study (JORTC KMP-02).	J Gynecol Oncol	28(5) doi: 10.3802/jgo.2017.28.e44.	e44	2017

Kobayashi T, Ishida J, Shimizu Y, Kawakami H, Suda G, Muranaka T, Komatsu Y, Asaka M, Sakamoto N.	Decreased RNA-binding motif 5 expression is associated with tumor progression in gastric cancer.	Tumour Biol doi: 10.1177/1010428317694547.	39 (3)	1010428317694547.	2017
Mizushima T, Ohnishi S, Hosono H, Yamahara K, Tsuda M, Shimizu Y, Kato M, Asaka M, Sakamoto N.	Oral administration of conditioned medium obtained from mesenchymal stem cell culture prevents subsequent stricture formation after esophageal submucosal dissection in pigs.	Gastrointest Endosc doi: 10.1016/j.gie.2017.01.024.	86 (3)	542-552.e1.	2017
Takada A, Matsushita K, Horioka S, Furuichi Y, Sumiyama Y.	Bactericidal effects of 310 nm ultraviolet light-emitting diode irradiation on oral bacteria.	BMC Oral Health doi: 10.1186/s12903-017-0382-5.	17(1)	96	2017
Wang JY, Ighani A, Ayala AP, Akita S, Lara-Corrales I, Alavi A.	Medical, Surgical, and Wound Care Management of Ulcerated Infantile Hemangiomas: A Systematic Review.	J Cutan Med Surg doi: 10.1177/1203475418770570.	1203475418770570.		2018
Saijo H, Kilpadi DV, Akita S.	Evaluation of the use of recombinant human basic fibroblast growth factor in combination with negative pressure wound therapy with instillation and dwell time in porcine full-thickness wound model.	Wound Repair Regen doi: 10.1111/wrr.12609.	25(6)	972-975	2017
Ogata Y, Nakayama Y, Tatsumi J, Furuichi Y. et al.	Prevalence and risk factors for peri-implant diseases in Japanese adult dental patients.	J Oral Sci	59(1)	1-11	2017.
Akita S, Hayashida K, Yoshimoto H, Fujioka M, Senju C, Morooka S, Nishimura G, Mukae N, Kobayashi K, Anraku K, Murakami R, Hirano A, Oishi M, Ikenoya S, Amano N, Nakagawa H.	Novel Application of Cultured Epithelial Autografts (CEA) with Expanded Mesh Skin Grafting Over an Artificial Dermis for Dermal Wound Bed Preparation.	Int J Mol Sci doi: 10.3390/ijms19010057.	19(1)	pii: E57.	2017

堀江幸弘、片山詩野、所茉莉奈、董震宇、小齊平麻里衣、大野重昭、石田晋、北市伸義。	ビルベリーエキス含有食品摂取による眼精疲労改善効果 - ランダム化二重盲検プラセボ対照試験 -	あたらしい眼科	(in press)	(in press)	2018
品川真有子、南場研一、北市伸義、石田晋	春季カタルにおけるタクロリムス点眼薬の長期使用成績	臨床眼科	71	343-348	2017
堤 雅幸、堀江幸弘、加瀬諭、北市伸義	翼状片に対する新たな無切除Z型切開回転術の手術成績	臨床眼科	71	789-794	2017
白井 要、伊藤修一、中塚侑子、清水伸太郎、河野舞、斎藤隆史、長澤敏行、古市保志	S-PRGファイラー含有根管貼薬剤に関する in vitroでの検討	日本歯科保存学雑誌	60(2)	69-77	2017