口腔内バイオフィルム感染症の特徴

奥田克爾

東京歯科大学微生物学講座
口腔科学研究センター教授

Characteristic of oral biofilm infectious diseases

Katsuji Okuda

The review article shows the characteristic of oral biofilm infectious diseases. Oral bacterial species possess biofilm-forming activity on the surface of tooth, periodontal region, dorsum of tongue, buccal epithelium, dental implant, and denture as a unique ecosystem. Dental plaque is known as the typical biofilm consisting the community with various kinds of bacteria. Our studies have suggested that oral biofilm organisms may play a role in the etiology of various kinds of systemic diseases. We examined oral bacteria in samples from atherosclerotic lesions including cardiovascular disease. *Treponema denticola* 16S rRNA and the antigen were found in 6 out of 26 DNA samples from the formalin-fixed, paraffin-embedded atherosclerotic lesions obtained during surgery, but not in any of the 14 non-diseased aorta samples. We also detected periodontal disease-associated bacteria in samples of cardiovascular diseases. We found that oral bacteria are able to trap *Helicobacter pylori* that is known to cause gastritis and peptic ulcer disease, but inhibited *H. pylori* growth. Periodontopathic *Campylobacter rectus* strains possess cross-reactive antigens including heat shock proteins with *H. pylori* strains suggesting that antigens of *C. rectus* may be related to the induction of immunopathological responses. We also found the relationship between periodontal disease-associated bacterial heat shock proteins and pustulosis palmaris et plantaris. The significance of oral care for elderly requiring nursing care was demonstrated. We also discussed the denture and implant biofilms in the review.

口腔バイオフィルム感染症の特徴について解説した。口腔細菌は歯面、歯周組織、舌背、頬粘膜、義歯やインプラントなどに定着して、バイオフィルムとなって持続感染している。デンタルプラークは、複数の細菌がコミュニティをつくる特徴のあるバイオフィルムとなる。口腔内バイオフィルムからとびだす細菌は、全身性の疾患に密接にかかわっているという多くの証明がなされてきた。私たちは、動脈疾患部位に歯周病原菌が検出されるかを調べ、26人の動脈疾患部の6部位に*Treponema denticola*のDNAならびに抗原を見つけた。しかし、健康な動脈には歯周病原菌は検出されなかった。また、心臓冠状動脈疾患部位の材料中にも、歯周病原菌のDNAを検出した。胃潰瘍などのリスク因子である*Helicobacter pylori*と歯周病原菌との関係についても明らかにした。歯周病原性*Campylobacter rectus*は、*H. pylori*と共通する抗原を有することによって*H. pylori*感染胃疾患と関係することを指摘した。さらに、歯周病原菌の熱ショック蛋白質が掌蹠膿疱症に関与していることも示した。本解説では、要介護高齢者に対する口腔ケアの意義についても記載した。

Key words : バイオフィルム biofilm, 感染症 infectious diseases, デンタルプラーク dental plaque, 歯科臨床 dental clinic, 口腔ケア oral care, メカニカル清掃 mechanical cleansing

はじめに

多くの細菌学者は、パスツール以来、ある意味において間違った研究を積み重ねてきた。自然界に存在する細菌は、浮遊した planktonic cells として存在するのではなく、集団となって何かに付着して層状になったバイオフィーム (biofilm) として生存している。細菌学者は、試験管やフラスコで培養して浮遊した細菌を集めているいろいろ検討していたが、実際には多くの細菌はバイオフィームとなっていることを念頭に入れてこなかった^{1,2)}。

細菌は、自分たちが棲み着いて増殖できる環境では、シグナルを出して一定の数に達する。そして、自分たちの棲む環境が悪くなると、シグナルを出して増殖をストップさせている。細菌同士がそのような情報伝達に使うシグナルは、細菌性フェロモンあるいはホルモンともいえる。また、自分自身の形質を誘導することから自己誘導体 (autoinducer ; AI) といわれる^{3~6)}。遺伝子の受け渡し、菌が栄養源を求めて運動する走化性、菌の増殖の停止、菌の生き残り、毒素産生性、白血球の食菌や殺菌から逃れるための莢膜形成、蛋白質の分泌、抗菌剤に対する抵抗性など多くの因子が自己誘導される。

自己誘導で、最も早くから解明されてきたものが、菌の密度を調節する QS システム (quorum sensing system) といわれるものである。Quorum とは、会議に参加する定数のことで、sensing は、感知するということ

図1 デンタルプラークというバイオフィームは、複数の細菌種によって構成される。球菌が多く観察されるが、芯になる大型の長い細菌種もみられる。シグナルを出してコミュニケーションをつくっている

である。多くの細菌は、この QS シグナルを産生してそれぞれの増殖する場所で自分たちの密度を調節し、病原性にかかわる様々な因子の産生を調節している。

デンタルプラークは、複数の細菌が形成するバイオフィームの典型的なものである (図1)。デンタルプラークの多くの細菌は、細胞間情報伝達物質である QS シグナルをもっていることによって、それぞれの部位で縄張りを築き、バイオフィームである生態系 (ecosystem) を築いている。

バイオフィーム形成細菌のシグナル

細菌が産生する QS シグナル分子は、細菌の細胞質膜などを自由に通過するため周囲の細菌に伝達される。QS シグナルを出すものは、緑膿菌、セラチア菌、大腸菌、エルシニア菌、そして歯周病原性グラム陰性菌群などである。一方、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌などのグラム陽性菌群が産生する QS シグナルは、ペプチド・フェロモン (peptide pheromone) で、菌の密度に同調して産生される⁴⁾。したがって、これらの QS シグナルを産生する菌群は、菌の密度をあげてバイオフィームを形成する。そして、バイオフィームは菌の集団であるため持続感染となってしまう^{4,5)}。また、ICU などでは命のパイプとなるカテーテルなどにバイオフィームを形成し、院内感染を引き起こしてしまうこともある¹⁾。義歯に付着するバイオフィームは、主として *Candida albicans* などであり、いわゆるデンチャープラークを形成している。したがって、清掃のよくないレジン面では、*C. albicans* などがバイオフィームを形成するためヌルヌルしてしまう。

バイオフィーム形成プロセス

QS シグナルを産生する細菌は、それぞれの環境で自分たちが棲み着きやすくするためにバイオフィームを形成する。感染した部位で集団となり、宿主防御メカニズムや抗菌剤に抵抗して持続感染できる環境を築きあげる。

バイオフィーム形成の最初の段階は、浮遊菌が表面へ付着することである。次の段階は、小さな集落を形

図2 バイオフィーム形成プロセス。浮遊した細菌が付着してマイクロコロニーを形成後、きのこ状に細菌の集団となり、ヌルヌルしたバイオフィームになる。歯肉縁上デンタルプラークだけでなく、歯周ポケット内細菌もシグナルを出して菌塊となって持続感染する。歯周ポケット内のバイオフィームから流出した浮遊菌は、歯肉内縁上皮を貫通する。また、産生された内毒素（エンドトキシン）は、歯肉内縁上皮や滲出した細胞のレセプターに結びつき、血流に入り込む。抗菌剤はバイオフィームに滲透できない。そのため、ブラシや超音波処理などのメカニカルな除去が不可欠といえる

成することである。小さな集団となる際、集団の菌は運動を停止している。大きな集団となる場合には、細菌どうしが情報をやり取りするためにQSシグナルを産生する。バイオフィームは、図2に示したように、成熟すると、きのこ状になる。成熟したバイオフィームは均一ではなく、水を通すチャネルがつくられる^{4,5)}。チャネルを介して栄養源を取り入れたり、自分たちの環境を破壊するような老廃物を排出する。

バイオフィームは、産生するヌルヌルの本態は、菌体外に合成する多糖体で、glycocalyx（糖衣）と呼ばれる。緑膿菌がつくる多糖体はアルギネート（alginate）である。Glycocalyxは、ムコイド（mucoid）や菌体外多糖物質（extracellular polymeric substance；EPS）などとも呼ばれる¹⁾。

バイオフィームは生涯へばりつく

私たちの体には、生まれつきにもっている非特異的な、いわゆる自然免疫と生後成立する特異的な獲得免疫が働いており、外部から侵入する非自己を排除する防御機能が備わっている¹⁾。蛋白質抗原に対しては、速やかにT細胞やB細胞が反応する。ところが、バイオフィーム形成物質といえる多糖体抗原である glycocalyx に対しては、T細胞が関与しないため免疫学的応答が容易に起きてこない。そのため、glycocalyxを破

壊するような免疫応答はほとんど起こらない²⁾。

また、バイオフィーム排除に作用するような特異性のある抗体が産生されたとしても、バイオフィームの表面の細菌にしか作用しない。さらに、食細胞が関連する免疫学的応答は、バイオフィームの表面の菌体を駆逐することができても、集団となっているバイオフィーム菌体を食菌して殺菌することはできない。

口腔内では、唾液中の分泌型IgAが細菌の付着を阻止しようと作用している。唾液中に多い分泌型IgAは、蛋白質抗原に作用するIgA 1サブクラスである。バイオフィームのマトリックスなどの多糖体抗原に作用するIgA 2サブクラスは唾液中に少ないため、形成されたバイオフィームの破壊に作用する働きは弱い¹⁾。したがって、唾液の分泌型IgAの中心的役割は、バイオフィーム形成の初期段階である付着阻止である。

歯周病原性細菌がつくるバイオフィームの病原性

歯周病原性 *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* が、バイオフィーム形成に関連するシグナル分子を産生することが明らかにされた²⁾。また、*P. gingivalis* がバイオフィーム形成にかかわる遺伝子は、様々な病原性因子の発現を規制していることが解明された²⁾。さらに、歯周病原性 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* は、自己誘導物質を産生して外毒素である白血球毒素（leukotoxin）の産生を調節し、*P. gingivalis* のバイオフィーム形成遺伝子に作用する²⁾。すなわち、*A. actinomycetemcomitans* は、会話することによって産生する白血球毒素量を調整し、他菌種である *P. gingivalis* にも会話して影響を与えることが明らかにされた。デンタルプラーク細菌は、バイオフィーム形成などのために同一菌種だけでなく他菌種とも会話し、病原性因子の産生遺伝子を on にしたり off にさせる、一筋縄では排除できない賢い連中といえる。

歯周病原性バイオフィームは循環障害にかかわる

動脈硬化のような循環障害には、高脂血症、肥満、喫煙、遺伝的要素などきわめて複雑な因子が関与して

いる。近年、第三のクラミジアといわれ呼吸器感染症にかかわる *Chlamydia pneumoniae* などが血流中に入り込み、血管内皮細胞に侵入して、その部位の動脈硬化の引き金になっていることが明らかにされた⁶⁻⁸⁾。そのほか、human cytomegalovirus なども動脈硬化をもたらすものとして注目されてきた。すなわち、動脈硬化には、微生物感染が引き金となる炎症性疾患としてとらえられるようになってきた⁸⁾。

一方、疫学的な研究を中心にして、歯周病は心臓疾患に関与しているということが示唆された⁹⁻¹²⁾。しかしながら、必ずしも統計学的に相関関係が見いだされるわけではない、という反論もある¹³⁾。

以前から、細菌性心内膜症を引き起こすことで知られる *Streptococcus sanguis* (最近、*S. sanguinis* に変わった) の語源は、血液中找到するレンサ球菌ということに由来する。本菌種は、デンタルプラークに最も多いレンサ球菌としてバイオフィームを形成して存在している¹⁴⁾。すなわち、デンタルプラークというバイオフィームが、細菌性心内膜炎を引き起こす細菌の供給源であることがわかる。

私たちは、動脈疾患包埋材料から DNA を抽出し、そこに歯周病原性細菌固有の DNA が存在するか調べた。抽出した 26 名の患者材料中 6 名の動脈瘤部位に *Treponema denticola* の DNA を検出することができた。さらに、*T. denticola* に対する特異抗体で染色したところ、動脈瘤の泡沫細胞の周辺に本菌の抗原も検出することができた (図 3)¹⁵⁾。

さらに、心臓外科センターとの共同研究によって、心冠状動脈疾患部位や動脈狭窄部の動脈壁から DNA を抽出し、歯周ポケット細菌固有の DNA が検出されるか調べた。その結果、歯周病原性 *Porphyromonas gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Bacteroides forsythus*, *T. denticola* などの DNA が検出されることを明らかにすることができた¹⁶⁾。この事実は、歯周ポケット内細菌が血流中に入り込んでいることを明らかにするものであろう。また、これらの細菌は、血管上皮を含む細胞に侵入することができることが証明されている¹⁷⁾。さらに、動脈硬化促進動

図3 動脈瘤のHE染色(1Aおよび2A)泡沫細胞(foam cell)の周辺に、歯周病原性 *Treponema denticola* の抗原(1Bおよび2B)が検出される。両方の疾患部位から抽出した DNA サンプルには、*T. denticola* 固有の DNA が検出された

物として知られる ApoE ノックアウトマウスを高脂肪食で飼育し、*P. gingivalis* 菌体を接種すると動脈硬化がさらに促進されることが明らかにされた¹⁸⁾。

冠状動脈疾患は、死亡要因のトップに位置する。また、歯周炎患者はきわめて多い。歯周炎の動脈疾患のかかわりについて、さらに確かな証拠を積み上げていくことが大切である。すなわち、歯周病予防の大切さが的確に認識され、それがヘルスプロモーションになる根拠を積み重ねていかなければならない。

歯周病原性 *C. rectus* とピロリ菌感染胃疾患との関係

私たちは、歯周病原菌と、胃潰瘍や胃癌のリスク因子であるピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) 感染との思わぬ関連性について明らかにすることができた。私たちは最初、ピロリ菌がヒトの口腔内に常在するか否かを調べた。その結果、胃に感染しているヒトの口腔内にも、ピロリ菌固有の DNA をかなりの割合で検出することができた。しかしながら、ピロリ菌は培養法によって検出することができなかった。調べてみると、ヒト口腔内細菌の多くは、ピロリ菌の発育を抑えるバクテリオシンを産生することがわかった^{19, 20)}。したがって、ピロリ菌は、ヒトの口腔内では増殖などできないと考えられる。胃に感染しているものが逆流して、検出さ

図4 *Helicobacter pylori*と*Campylobacter rectus*は熱ショックタンパク質（HSP）を含む共通する抗原をもっている。左の図は、レーンの1から6までが*H. pylori*菌株、レーン8から11までが*C. rectus*菌株の抽出抗原、レーン7が分子量マーカで、*H. pylori*に対する抗体で処理したものである。右の図は、レーンの1から3までが*H. pylori*菌株、レーン5から12までが*C. rectus*菌株の抽出抗原、レーン4が分子量マーカで、*C. rectus*に対する抗体で処理したものである。したがって、両菌種に対する免疫応答は、抗原抗体複合物の生成に基づくアレルギー性の炎症を引き起こす可能性がある

図5 歯周病患者唾液中の*H. pylori*および*C. rectus*に対するIgG (a) 抗体価ならびにIgA (b) 抗体価には相関関係がみられる

れるにすぎないと思われる。

成人性歯周炎の局所では、運動性のある嫌気性のグラム陰性菌群が爆発的に増えている。その代表的なも

のが*C. rectus*である。この*C. rectus*菌種は、*H. pylori*と熱ショック蛋白質（HSP）を含む共通する抗原をもつことがわかった（図4）²¹⁾。さらに、私たちは歯周病患者を中心に、血清ならびに唾液中の*C. rectus*ならびに*H. pylori*に対する抗体価を調べた。その結果、図5に示したように、唾液中の両菌種に対するIgGならびにIgA抗体価には相関があることがわかった。したがって、両細菌はお互いに免疫応答を引き起こす。これらの共通抗原は、結果として胃粘膜や歯周組織で抗原抗体複合物の生成などによるアレルギー性の炎症をもたらす可能性が高いと考えている。

歯周病は一部の掌蹠膿疱症にかかわる

掌蹠膿疱症は、その原因がよくわかっていない。また、完治が簡単にみられない疾患でもある。歯科用金属による遅延型アレルギーに基づく場合もある。また、季節的な症状の憎悪もみられるし、特定のウイルス感染によるものもあるといわれている。私たちは、その原因に口腔内慢性感染症が少なからず関与していることを種々検討してきた。

最初に、歯周病原性グラム陰性菌群のHSPが掌蹠膿疱症に関与しているか否かを調べた²²⁾。その結果、大腸

図6 掌蹠膿疱症患者の *Escherichia coli* の熱ショックタンパク質 GroEL ならびに *Actinobacillus actinomycetemcomitans* の熱ショックタンパク質 Dna J に対する血清中の IgG 抗体価は対照者のそれらの値に比べ、有意に上昇している

菌 GroEL および *A. actinomycetemcomitans* Dna J 両方の HSP に対する歯周病患者血清中の IgG 抗体価は、歯周病のない対象グループに比べ有意に上昇していることがわかった (図6)²³⁾。また、私たちは、多くの歯周病原性細菌が HSP を産生することを明らかにしてきた。さらに、歯周病の治療後、GroEL に対する抗体価は有意に減少することを示すことができた (図7)。HSP に対する宿主応答の特色は、胸腺ホルモンの作用を受けない $\gamma\delta$ T 細胞が反応する点である。 $\gamma\delta$ T 細胞は掌や足の裏に、より多く存在する。したがって、歯周ポケット内縁上皮などを通り抜けた HSP が、掌や足の裏で免疫病理学的応答を引き起こし、それが掌蹠膿疱症の原因になっていることが考えられる。実際に、歯周病の治療によって症状の改善がみられた症例は少なくない。

義歯・インプラントのバイオフィーム

レジン義歯には、*C. albicans* などが中心となって、バイオフィームが形成されることは前述した。真菌である *C. albicans* は、細菌が発育に必要な様々なビタミ

図7 歯周病患者治療前後の熱ショックタンパク質に対する IgG 抗体価の変化。歯周病治療によって患者の抗体価が有意に低下した。この事実は、歯周局所からの種々の熱ショックタンパク質抗原の減少があったことを示すものであろう

ン類を産生する。そのため、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) を含むブドウ球菌が検出されることも発表している²³⁾。

私たちは、歯周病原性 *P. gingivalis* が、歯周ポケットから osseointegrated implant 局所に伝播することを明らかにした (図8)²⁴⁾。したがって、インプラント装着前に、歯周病を治療し、歯周病原性細菌を排除しておくべきであることなどを示唆した。

さらに、歯科インプラントにバイオフィーム形成が容易に起こらないようなチタン材の前処理には、どのような方法が適切なのか検討してきている^{25, 26)}。

定期的な口腔ケアの意義

近年、Periodontal medicineなどの言葉が、クローズアップされてきている。しかし、私たちはそれを新しいものとして認識しているわけではない。歯周病は、生活習慣に密接にかかわるものの、慢性経過をとるバイオフィーム感染症である。それは当然、全身の健康

図8 歯周病原性 *Porphyromonas gingivalis* は、osseointegrated implant 周囲に伝播される。No.1, No.4, No.8 および No.12 は、それぞれの患者である。I がインプラント周囲からの *P. gingivalis* 菌株で、N が天然歯の歯周ポケットからの分離菌株である。染色体 DNA を *Not I* や *Spe I* の制限酵素で切断しても、その切断パターンに違いがなく、天然歯の歯周ポケットからインプラント周囲に *P. gingivalis* が伝播したことがいえる

破綻をもたらす細菌の供給源でもある。Glycocalyx でヌルヌルした状態で頑固にへばりつくバイオフィルム形成を阻止する新しい薬剤の開発、およびバイオフィルムを破壊する免疫学的手段を確立することは難しい。したがって、メカニカルに取り除くこと以外に、現段階では適切な除去方法はない。

セルフケアで口腔清掃ができない要介護者に、歯科衛生士が毎週メカニカルな方法で口腔内バイオフィルムを除去してやると、口腔内のブドウ球菌や *C. albicans* の菌数を有意に減少させる効果のあることを示してきた (図9)²⁷⁾。さらに、毎週1回の2年間にわたるメカニカルな口腔清掃を中心とした口腔ケアは、肺炎による死亡率、発熱回数ならびに口臭を有意に減少させることについても発表してきた (図10)²⁸⁾。これらの事実、歯周病がバイオフィルム感染症であって、抗菌剤などの与薬などでの治療などができない疾患であることと軌を一にするものであろう。今後、歯周病と種々の全身性疾患とのかかわりや、歯周病の治療によって様々な疾患の改善がみられるという証拠を、さ

図9 要介護高齢者に毎週1回歯科衛生士による口腔清掃を中心とした口腔ケアを続けると、口腔内のブドウ球菌、(MRSA)、*P. aeruginosa* ならびに *C. albicans* が減少した

図10 要介護高齢者に毎週1回歯科衛生士による口腔清掃を中心とした口腔ケアを2年間続けると、その特別養護老人ホームの高齢者の発熱回数が減少した

らに積み重ねていくべきである。それらを基礎として、歯周病の予防や治療がいかに health promotion に大切であるかを明らかにするものである。

おわりに

デンタルプラークは、複数の細菌が会話しながら歯面に築き上げるバイオフィルムである。宿主防御メカニズムならびに抗菌剤では、立ち向かうことができない敵である。Glycocalyx でヌルヌルした状態で頑固にへばりつくバイオフィルム形成を阻止する新しい薬剤の開発、およびバイオフィルムを破壊する免疫学的手段を確立することは難しい。したがって、メカニカルに取り除くこと以外に、現段階では適切な除去方法はない。

デンタルプラーク感染症に対しては、スケーリングやルートプレーニングを基本とした治療を凌駕するものは見当たらない。実際には、セルフケアに加えた専門的ケアを組み込むことが、口腔内バイオフィーム感染症への最適な対応といえる。私たちは、口腔内バイオフィームとの戦いに勝利できる画期的な手段の開発に挑戦しなければならない。

参考文献

- 1) 奥田克爾：最新口腔微生物学—バイオフィーム感染症とアレルギー疾患。一世出版（東京），2002。
- 2) 奥田克爾：口腔内バイオフィーム感染症への新たな挑戦。歯界展望，99：1061-1068，2002。
- 3) Costerton, J.W., Cheng, K.J., Geesey, G.G., et al. : Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.*, 41 : 435-464, 1987.
- 4) Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P. : Bacterial biofilms : A common cause of persistent infections. *Science*, 284 : 1318-1322, 1999.
- 5) Kolenbrander, P.E. : Oral microbial communities : Biofilms, interactions, and genetic systems. *Ann. Rev. Microbiol.*, 54 : 413-437, 2000.
- 6) Daus, H., Ozbek, C., Saage, D., et al. : Lack of evidence for a pathogenic role of *Chlamydia pneumoniae* and cytomegalovirus infection in coronary atheroma formation. *Cardiology*, 90 : 83-88, 1998.
- 7) Parchure, N., Zouridakis, E.G., Kaski, J.C. : Effect of azithromycin treatment on endothelial function in patients with coronary artery disease and evidence of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Circulation*, 106 : 1298-1303, 2002.
- 8) Ross, R. : Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 340 : 115-126, 1999.
- 9) Mattila, K.J. : Dental infections as a risk factor for acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.*, 14 : 51-53, 1993.
- 10) Beck, J., Garcia, R., Heis, G., et al. : Periodontal disease and cardiovascular disease. *J. Periodontol.*, 67 : 1123-1137, 1996.
- 11) Bielanski, W. : Epidemiological study on *Helicobacter pylori* infection and extragastric disorders in Polish population. *J. Physiol. Pharmacol.*, 50 : 723-733, 1999.
- 12) Abou-Raya, S., Naeem, A., Abou-El, K.H., et al. : Coronary artery disease and periodontal disease : is there a link ? *Angiology*, 51 : 141-148, 2002.
- 13) Hujoel, P.P., Drangsholt, M., Spiekerman, C., et al. : Periodontal disease and coronary heart disease risk. *JAMA*, 284 : 1406-1410, 2000.
- 14) Larsen, T., Fiehn, N.E. : Resistance of *Streptococcus sanguis* biofilms to antimicrobial agents. *APMIS*, 104 : 280-284, 1996.
- 15) Okuda, K., Ishihara, K., Nakagawa, T., et al. : Detection of *Treponema denticola* in atherosclerotic lesions. *J. Clin. Microbiol.*, 39 : 1114-1117, 2001.
- 16) Ishihara, K., Ito, E., Miyachi, K., et al. : Detection of periodontopathic anaerobes in cardiovascular disease. (Unpublished data)
- 17) Rudney, J.D., Chen, R., Sedgewick, G.J. : Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects. *Infect Immun.*, 69 : 2700-2707, 2001.
- 18) Li, L., Messas, E., Batista, E.L. Jr., et al. : *Porphyromonas gingivalis* infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation*, 105 : 861-867, 2002.
- 19) Ishihara, K., Miura, T., Kimizuka, R., et al. : Oral bacteria inhibit the *Helicobacter pylori* growth. *FEMS Microbiol. Lett.*, 159 : 355-361, 1997.
- 20) Okuda, K., Ishihara, K., Miura, T., et al. : *Helicobacter pylori* may have only transient presence in the oral cavity and the surface of oral cancer. *Microbiol. Immun.*, 44 : 385-388, 2000.
- 21) Ishihara, K., Miura, T., Ebihara, Y., et al. : Shared antigenicity between *Helicobacter pylori* and periodontopathic *Campylobacter rectus* strain. *FEMS Microbiol. Lett.*, 197 : 23-27, 2001.
- 22) Ishihara, K., Ando, T., Kato, T., et al. : Relationship between the onset of pustulosis parmaris et plantaris, chronic oral infections, and heat shock proteins. *Oral Microbiol. Immun.*, 15 : 232-237, 2000.
- 23) Ando, T., Kato, T., Ishihara, K., et al. : Heat shock proteins in the human periodontal disease process. *Microbiol. Immunol.*, 39 : 321-327, 1995.
- 24) Honma, K., Tawara, Y., Okuda, K. : Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in human saliva and on denture surfaces. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 35 : 217-220, 1994.
- 25) Sumida, S., Ishihara, K., Kishi, M., et al. : Transmission of periodontal disease-associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. *Int. J. Oral Max. Implant.*, 17 : 696-702, 2002.
- 26) Yoshinari, M., Oda, Y., Kato, T., et al. : Influence of surface modification to titanium on oral bacterial adhesion *in vitro*. *J. Biomed. Mater. Res.*, 52 : 388-394, 2000.
- 27) Yoshinari, M., Oda, Y., Kato, T., et al. : Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity *in vitro*. *Biomaterials*, 22 : 2043-2048, 2001.
- 28) Abe, S., Ishihara, K., Okuda, K. : Prevalence of potential respiratory pathogens in the mouth of professional oral care. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 32 : 45-55, 2001.
- 28) Adachi, M., Ishihara, K., Abe, S., et al. : The effect of professional oral health care on elderly living in nursing homes. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 94 : 191-195, 2002.