総 説

 —日本歯周病学会学術賞受賞—

歯肉上皮の細胞機能制御に着目した新規歯周病予防法の基礎研究

藤 田 剛

広島大学病院 歯周診療科

Investigation of Preventive Method for Periodontal Disease by Regulating Gingival Epithelial Cell Function

Tsuyoshi Fujita

Department of Periodontal Medicine, Applied Life Sciences, Institute of Biomedical & Health Sciences,
Hiroshima University

はじめに

超高齢化社会を迎えるに当たり、高齢者の健康を守るには歯周病を含めた口腔感染症の予防は不可欠である。国民の健康意識の高まりとともに高齢者の残存歯数は年々増加している。一方で多数の歯が残存することによって、高齢者の齲蝕や歯周病の罹患歯が増加する傾向が明らかになり、治療・予防の新たな戦略が求められている。とりわけ歯周病は糖尿病をはじめ様々な全身疾患への影響が解明され、効果的で安全性の高い予防法の開発は全身の健康増進のために極めて重要である。歯周病は宿主寄生体相互作用によって成立する感染症であり、その予防法としては、①寄生体である歯周病原細菌をコントロールする方法と、②宿主機能を制御する方法が考えられる（図1）。最も安全で効

果的な予防法は、ブラッシングによる口腔細菌総数のコントロールであり、機械的にバイオフィルムを除去することである。しかしながら、高齢者においては、脳血管疾患の後遺症や認知症などの高次脳機能障害という身体的・精神的理由から、十分な口腔衛生管理を期待することが困難である。また介護労力不足という社会的理由からも十分な介入ができていないのが現状である。他に寄生体を制御する方法として、消毒薬・抗菌薬使用などの化学的方法、抗体投与やプロバイオティクスを利用した生物学的方法などが考案されているが、細菌バイオフィルム形成が原因である口腔感染症に対しては困難である。一方で、宿主の細胞機能を制御することを口腔細菌制御に組み合わせることが、高齢者にとって効果的で安全な歯周病予防法になる可能性がある。これは齲蝕予防においては、フッ素の歯面塗布が宿主の防御機能をあげること（歯質の耐酸性

連絡先：藤田 剛

〒 734-8553 広島市南区霞 1-2-3

広島大学大学院医歯薬保健学研究室応用生命科学部門歯周病態学研究室

Tsuyoshi Fujita

Department of Periodontal Medicine, Applied Life Sciences, Institute of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University
1-2-3, Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8553, Japan

E-mail : tfuji@hiroshima-u.ac.jp

歯周病の予防法

1. 寄生体(歯周病原細菌)の制御

- 1) 物理的 機械的プラークコントロールによるバイオフィルムの除去
- 2) 化学的 抗菌薬, 消毒薬
- 3) 生物学的 抗菌ペプチド, プロバイオテックス

* 機械的プラークコントロールによるバイオフィルムの除去が最も安全で効果的であるが、高齢者にとっては肉体的・精神的に困難であることが多い。
* 歯周病原細菌だけを特異的にコントロールすることは現在のところ困難である。

2. 宿主(細胞機能)の制御

* 口腔内においては、フッ素が宿主を強化することで、カリエスに対して有効であることが知られている。

図 1

の向上)によって罹患を減少させていることと同様のコンセプトを歯周病予防にも適応させようとするものである。宿主の細胞機能を制御して歯周病を予防する方法は、口腔内細菌のコントロールと組み合わせることで効果的で安全な予防法となる可能性があるが、本国や諸外国においてほとんど研究されていない。筆者らは、歯周病の成立の初期段階に注目し、歯肉上皮細胞の機能を制御することによって歯周病を予防するという新しい概念の歯周病予防法の確立に取り組んできた。

臨床的健康歯周組織と病理組織学健康歯周組織

プロービングによる歯周ポケットの測定が3 mm 以内であると、臨床的には健康な歯周組織であると考えられている。しかしながら、病理組織学的には、3 mm 以内のポケットであっても、軽度の炎症が持続していることが報告されている。この軽度な持続的な炎症の存在は、口腔内という特殊な環境では常に口腔内細菌に暴露されていることによって説明される¹⁾。したがって、3 mm 以内のポケットを維持することを目的とするのではなく、軽度の炎症をコントロールして健康な歯周組織を確立し、維持することが歯周病予防法につながる。従来の口腔内細菌のコントロールに加えて、宿主細胞の機能を制御することで、新しいコンセプトの歯周病予防法の確立が期待できる。

歯肉接合上皮

歯肉上皮は、歯周病原細菌と宿主が最初に遭遇する場であることから、歯周病の発症に重要な役割を果たしていると考えられている。歯肉上皮は細菌感染に対して物理的バリアーとして機能するとともに、炎症性サイトカインや抗菌物質などを産生する²⁻⁴⁾。歯肉上

上皮細胞において細胞間接着を構成する因子

図 2

皮には、歯肉接合上皮 (gingival junctional epithelium), 口腔上皮 (gingival oral epithelium), 歯肉溝上皮 (gingival sulcus epithelium) が存在するが、歯周炎の発症には、歯肉接合上皮が深く関与していると考えられている。一般的に上皮細胞の細胞間接着は4つの接着装置, tight junction, adherens junction, gap junction, desmosome があることが知られているが、臨床的に健康な歯肉接合上皮には、gap junction や desmosome が認められるものの、細胞間の接着は非常にルーズであり、多くの空隙が認められている^{5,6)} (図2)。tight junction は、claudin, occludin などの様々な接着タンパクによって構成されるバリアー機能に関与する細胞間接着装置であるが、接合上皮においてはほとんど存在しないと考えられてきた。しかしながら、筆者らは、ラットの歯肉接合上皮において tight junction 構成タンパクである claudin-1 が発現することを報告した⁷⁾。さらに、LPS で刺激して歯周炎を起こすことで claudin-1 の接合上皮における発現は有意に減少することを報告した⁸⁾ (図3)。このことは、無菌状態である健康歯肉接合上皮においては、claudin-1 が存在することが正常である可能性を示唆するが、歯肉接合上皮に tight junction が存在することには直結しない。また、ヒト歯肉上皮細胞 (HGEC) 培養系において、HGEC に発現していた claudin-1 が、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor (TNF)- α 刺激で構造的に崩壊し、同時に同培養系において、細胞間バリアー機能が TNF- α 刺激によって低下し、細胞間の透過性が亢進することを報告した⁹⁾。接合上皮が実際に上皮間バリアー機能を持っているかどうかは未だ不明であるが、少なくとも上皮細胞としての機能が炎症性刺激で低下することは示唆される。今後、歯肉接合上皮の機能、病態を解明するためには、歯肉接合上皮における claudin-1 を含めたタイトジャンクション構成タンパク質の発現、機能に関する研究が必要である。

図3 LPSで誘導した歯周炎モデルにおける claudin-1 の発現

(A, B)ヘマトキシリン・エオジン染色 (A:コントロール, B:歯周炎モデル) (C, D, E, F) ラット歯周組織における claudin-1 の免疫染色 (C:コントロール, E:(C)の拡大像), (D:歯周炎モデルにおける claudin-1 の発現減少, F:(D)の拡大像) (G) claudin-1 染色の digital density コントロール群 $n=6$, LPS 群 $n=5$ mean $\pm$ standard deviation (SD), * $P<0.01$ (t -test) claudin-1 は有意に LPS 歯周炎モデル群で減少した。文献 8) から引用

歯周炎の発症機序

歯周炎の発症と深く関わりがあると考えられているポケット形成は、歯面から接合上皮がすぐに剥がれるのではなく、接合上皮の細胞間接着の寛解に伴う潰瘍形成と深化拡大、さらに好中球の浸潤などを伴い、好中球が分泌する酵素などによって組織破壊がおこり、深部増殖が起こる (図 4, 5)。実際に歯周ポケットのプロビングデプスを測定する時、プローブの先端は、歯面と接合上皮の間に入り測定しているのではなく、細胞と細胞の間隙を貫通して測定していると考えられている。このことから歯周炎の発症は、細胞が歯面から剥がれるのではなく、細胞間接着が寛解することによって開始すると考えられる^{6,10}。

(1) 細胞間接着の寛解

細胞間接着の寛解は、細胞間接着タンパクの発現低下、細胞間接着装置の機能低下によって引き起こされる。歯肉接合上皮には細胞間接着タンパクとして E-cadherin が発現しており、接合上皮の機能維持に深く関わっていると考えられている¹¹。ラットの歯肉溝に歯周病原細菌である *Aggregatibacter actinomyc-*

図 4

図 5

cetemcomitans (Aa) を塗布し、歯肉炎を誘発させたところ、接合上皮における E-cadherin 発現陽性細胞の数が減少した¹²。また、HGEC 培養系においても、Aa 刺激によって細胞膜上の E-cadherin の発現が減少した¹²。さらに同培養系において、gap junction が関与する細胞間連絡能についての検討を行った。gap junction は接合上皮に存在し、細胞間連絡能を担い、上皮細胞の恒常性維持に関与する。細胞間連絡能は、カルシウムイオンなど 1,200 kDa 以下の分子の細胞間輸送する機能である。細胞間連絡能の分析法として、細胞への蛍光色素のマイクロインジェクションを行う Dye transfer 法がある。Aa の全菌体あるいはその外膜タンパクである outer membrane protein (OMP) 29 は HGEC の細胞間連絡能を低下させ、gap junction 構成タンパクである connexin 43 の発現も mRNA, タンパクレベルで低下させた^{13,14}。前述した TNF- α による細胞間バリアー機能の低下も含めて、細菌または炎症性サイトカイン刺激によって、上皮機能の細胞間接着が低下することが示唆された。

図6 HGEC 培養上清に対するヒト好中球の遊走能
Aa を 12 時間作用させた HGEC の培養上清を回収し、transwell chamber の下段に入れる。上段にヒト末梢血から分離した好中球を播種し遊走能を比較した。さらに、培養上清に CXCR-1, CXCR-2 中和抗体を作用させ、inhibition assay を行った。n=3, mean±SD, **P<0.01 (t-test) 抗 CXCR-1, 抗 CXCR-2 抗体は、Aa 作用下の培養上清への好中球の遊走を抑制した。文献 12) から引用

(2) 好中球の浸潤

Aa を塗布したラット歯肉炎モデルにおいて、上皮組織に炎症細胞浸潤が認められ、その細胞浸潤に一致して、好中球走化因子 CINC-2α の発現陽性細胞が増加した¹²⁾。さらに、好中球接着因子として知られる ICAM-1 も同様に、ラット歯肉炎モデルの接合上皮において ICAM-1 陽性細胞の数が増加した¹⁵⁾。HGEC 培養系においても、HGEC が産生する IL-8, ICAM-1 の発現は、Aa 刺激によって増加した^{4, 15)}。さらに Aa 刺激した HGEC 培養上清に対して好中球が遊走し、CXC ケモカインのレセプターである CXCR-1, CXCR-2 の中和抗体は、この遊走を抑制した¹²⁾ (図 6)。したがって、HGEC 培養上清中に分泌された IL-8 を主体とした CXC ケモカインが好中球の遊走に関与することを明らかとした。以上のことから、歯肉上皮において細菌刺激によって IL-8, ICAM-1 が増加することで好中球の遊走が誘導され、それに伴い炎症が増悪していく可能性が示唆された。

イルソグラジンマレイン酸による 上皮細胞機能制御による予防

これまでに、上皮細胞が細菌の刺激によって、種々の細胞間接着因子、サイトカイン発現が制御されることを明らかにしてきた。このことは、上皮細胞の機能を積極的に制御することで、歯周病の進行を予防する

図7 HGEC の細胞間連絡能

Dye transfer 法を用いて、gap junction を介した細胞間連絡能の分析を行った。色素注入 5 分後の蛍光顕微鏡像である。OMP29 を作用させた HGEC は細胞間連絡能の低下を示したが、IM で前処理した HGEC は OMP による低下を回復した。文献 14) から引用

ことが可能と考えられる。上皮細胞の機能制御を詳細に検討するために、胃粘膜防護薬として臨床応用されているイルソグラジンマレイン酸 (IM) に着目した^{16, 17)}。この胃粘膜防御機構は、上皮細胞におけるムスカリン・アセチルコリン受容体の活性化や cAMP の蓄積による gap junction 細胞間連絡能の強化によるものと考えられている¹⁸⁻²¹⁾。

(1) 細胞間接着

IM は胃粘膜上皮細胞の gap junction を強化することが知られている。まず、HGEC 培養系において gap junction を介した細胞間連絡能について、Aa または OMP29 刺激下で検討した。IM は、細菌刺激によって低下した connexin43 の発現を回復し、細胞間連絡能を回復することが明らかとなった^{13, 14)} (図 7)。さらに、同培養系で、IM は Aa, TNF-α 刺激で低下した E-cadherin の発現低下を回復し、それに伴い、TNF-α による細胞間のバリアー機能の低下を回復させた^{9, 12)} (図 8)。一方、ラット歯肉炎モデルにおいても、IM の前処理群では細菌刺激による E-cadherin の発現低下を認めなかった¹²⁾。(図 9)

(2) 好中球の浸潤

HGEC 培養系において、Aa 刺激によって誘導された IL-8 の発現は、IM の前処理によって抑制された^{14, 22)}。また、その培養上清への好中球の遊走は、IM 処理によって抑制傾向が認められた¹²⁾。さらに、同培養系において、ICAM-1 の発現も抑制された¹⁵⁾。

Transepithelial electrical resistance

図8 HGEcの細胞間バリアー機能

Transepithelial electrical resistance (TER)法を用いて、HGEcの上皮細胞間バリアー機能について検討した。HGEcの細胞間の電気抵抗値はTNF- α の時間依存的(A)、濃度依存的(B)に低下傾向が認められた。しかしながら、IMはTNF- α 刺激による電気抵抗値の低下を回復した。n=3, mean $\pm$ SD, **P<0.01 (t-test) 文献9)から引用

E-cadherin

図9 ラット歯肉組織におけるE-cadherinの免疫染色像

左 A.a非塗布, IM非投与群
中 A.a塗布, IM非投与群
右 A.a塗布, IM投与群
A.a塗布後3時間。IMはA.a塗布1時間前に皮下注射した。文献12)から引用

ラット歯肉炎モデルにおいても、IMを前処理することによって、A.a塗布によって誘導されたICAM-1, CINC-2 α の発現陽性細胞数の増加は抑制され、炎症細胞浸潤も抑制傾向を示した^{12,15)}。(図10)

(3) その他の炎症関連遺伝子の制御

DNAマイクロアレイを用いて、A.a刺激下のHGEcに対し、IMが抑制する遺伝子を網羅的に解析した。その結果、CCL20, CXCL3, MMP-3, CXCL2, IL-6, IL-8, MMP1, ICAM1など炎症に関連する遺伝子が検出された。その中で、MMP-3, IL-6に関しては、

CINC-2 α

図10 ラット歯肉組織におけるCINC-2 α の免疫染色像。

左 A.a非塗布, IM非投与群
中 A.a塗布, IM非投与群
右 A.a塗布, IM投与群
A.a塗布後3時間。IMはA.a塗布1時間前に皮下注射した。文献12)から引用

培養HGEcでタンパク発現においても同様の傾向があった¹⁵⁾。

(4) イルソグラジンマレイン酸が制御するシグナル経路の検討

A.a刺激によって歯肉上皮細胞のp38 MAP kinase, ERK(p44/42MAPK)のリン酸化が誘導されたが、IMは、A.a刺激によって誘導されたp38 MAPK, ERKのリン酸化を抑制した。また、IL-8, ICAM-1の発現増加はERKカスケード、IL-6の発現増加はp38 MAPKを介し、E-cadherinの発現低下およびMMP-3の発現増加はp38MAPK, ERKの両カスケードを介することから、IMによる両カスケードのリン酸化抑制が、これらのタンパク発現の制御に関わることが示唆された^{12,15,22)}。さらに、A.aまたはOMP29刺激はcAMPを低下させ、その結果gap junctionの細胞間連絡能の低下につながる。IMはcAMPの低下を回復し、その結果、細胞間連絡能を回復させると考えられる^{13,14)}。

(5) まとめ

IMは、A.aによって誘導される歯肉上皮細胞の細胞間接着タンパクの発現低下、それに伴う細胞間接着能、細胞間連絡能の機能低下を回復することが明らかになった。さらに、A.a刺激によって歯肉上皮細胞から産生されるIL-8, ICAM-1などの好中球関連因子の発現を制御し、好中球の上皮組織への浸潤を抑制することが示唆された。これらの結果から、IMは歯肉上

図 11

皮細胞の機能制御を行うことで歯周病予防薬として有用であることが示唆された (図 11)。

おわりに

超高齢化社会においては、安全で効果的な新たな歯周病の予防法の開発は急務である。これまでに歯周病予防法に関する研究は、寄生体である細菌のコントロールを中心に試みられてきたが、安全で有効な予防法は細菌バイオフィルムの機械的除去法のみである。本研究は、従来の研究とは全く異なったコンセプトによる歯周病予防法を目指したものである。抗菌薬であるアジスロマイシンやアンフォテリシン B でも上皮細胞への類似した効果が確認されたが、これらの薬剤を長期的に予防薬として用いることは不可能である。IM を用いた歯肉上皮細胞機能制御に関する基礎的研究で得られた結果から、作用部位、作用メカニズムをさらに詳細に解明することにより、同様の作用を持つ宿主への為害性が弱い natural product あるいは分子標的治療薬などの臨床応用を目指したい。

謝 辞

稿を終えるに当たり、大学院時代からご指導を頂いている栗原英見教授、柴 秀樹准教授に深く感謝の意を表します。また、本実験の遂行に当たり、協力して頂いた広島大学 歯周病態学研究室の皆様、学外ならびに国外の多くの研究者に厚くお礼申し上げます。さらに、イルソグラジンマレイン酸を供与して頂いた (株) 日本新薬に深謝いたします。

本論文の要旨は第 56 回春季日本歯周病学会学術大会 (2013 年 5 月 31 日東京) において発表した。

文 献

- 1) Darveau, RP : The oral microbial consortium's interaction with the periodontal innate defense system. *DNA Cell Biol*, 28 : 389-395, 2009.
- 2) Katz, J, Sambandam, V, Wu, JH, Michalek, SM, Balkovetz, DF : Characterization of *Porphyromonas gingivalis*-induced degradation of epithelial cell junctional complexes. *Infect Immun*, 68 : 1441-1449, 2000.
- 3) Noguchi, T, Shiba, H, Komatsuzawa, H, Mizuno, N, Uchida, Y, Ouhara, K, Asakawa, R, Kudo, S, Kawaguchi, H, Sugai, M, Kurihara, H : Syntheses of prostaglandin E2 and E-cadherin and gene expression of beta-defensin-2 by human gingival epithelial cells in response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Inflammation*, 27 : 341-349, 2003.
- 4) Uchida, Y, Shiba, H, Komatsuzawa, H, Takemoto, T, Sakata, M, Fujita, T, Kawaguchi, H, Sugai, M, Kurihara, H : Expression of IL-1 beta and IL-8 by human gingival epithelial cells in response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Cytokine*, 14 : 152-161, 2001.
- 5) Shimono, M, Ishikawa, T, Enokiya, Y, Muramatsu, T, Matsuzaka, K, Inoue, T, Abiko, Y, Yamaza, T, Kido, MA, Tanaka, T, Hashimoto, S : Biological characteristics of the junctional epithelium. *J Electron Microsc (Tokyo)*, 52 : 627-639, 2003.
- 6) Bosshardt, DD, Lang, NP : The junctional epithelium : from health to disease. *J Dent Res*, 84 : 9-20, 2005.
- 7) Fujita, T, Hayashida, K, Shiba, H, Kishimoto, A, Matsuda, S, Takeda, K, Kawaguchi, H, Kurihara, H : The expressions of claudin-1 and E-cadherin in junctional epithelium. *J Periodontal Res*, 45 : 579-582, 2010.
- 8) Fujita, T, Firth, JD, Kittaka, M, Ekuni, D, Kurihara, H, Putnins, EE : Loss of claudin-1 in lipopolysaccharide-treated periodontal epithelium. *J Periodontal Res*, 47 : 222-227, 2012.
- 9) Fujita, T, Yumoto, H, Shiba, H, Ouhara, K, Miyagawa, T, Nagahara, T, Matsuda, S, Kawaguchi, H, Matsuo, T, Murakami, S, Kurihara, H : Irsogladine maleate regulates epithelial barrier function in tumor necrosis factor- α -stimulated human gingival epithelial cells. *J Periodontal Res*, 2011.
- 10) Takata, T, Donath, K : The mechanism of pocket formation. A light microscopic study on undecalcified human material. *J Periodontol*, 59 : 215-221, 1988.
- 11) Ye, P, Chapple, CC, Kumar, RK, Hunter, N :

- Expression patterns of E-cadherin, involucrin, and connexin gap junction proteins in the lining epithelia of inflamed gingiva. *J Pathol*, 192 : 58-66, 2000.
- 12) Fujita, T, Kishimoto, A, Shiba, H, Hayashida, K, Kajiya, M, Uchida, Y, Matsuda, S, Takeda, K, Ouhara, K, Kawaguchi, H, Abiko, Y, Kurihara, H : Irsogladine maleate regulates neutrophil migration and E-cadherin expression in gingival epithelium stimulated by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Biochem Pharmacol*, 79 : 1496-1505, 2010.
- 13) Fujita, T, Ashikaga, A, Shiba, H, Uchida, Y, Hirono, C, Iwata, T, Takeda, K, Kishimoto, A, Hirata, R, Kawaguchi, H, Shiba, Y, Kurihara, H : Regulation of IL-8 by Irsogladine maleate is involved in abolishment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced reduction of gap-junctional intercellular communication. *Cytokine*, 34 : 271-277, 2006.
- 14) Uchida, Y, Shiba, H, Komatsuzawa, H, Hirono, C, Ashikaga, A, Fujita, T, Kawaguchi, H, Sugai, M, Shiba, Y, Kurihara, H : Irsogladine maleate influences the response of gap junctional intercellular communication and IL-8 of human gingival epithelial cells following periodontopathogenic bacterial challenge. *Biochem Biophys Res Commun*, 333 : 502-507, 2005.
- 15) Miyagawa, T, Fujita, T, Ouhara, K, Matsuda, S, Kajiya, M, Hayashida, K, Imai, H, Yoshimoto, T, Iwata, T, Shiba, H, Abiko, Y, Kurihara, H : Irsogladine maleate regulates the inflammatory related genes in human gingival epithelial cells stimulated by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Int Immunopharmacol*, 15 : 340-347, 2013.
- 16) Hiraishi, H, Haruma, K, Miwa, H, Goto, H : Clinical trial : irsogladine maleate, a mucosal protective drug, accelerates gastric ulcer healing after treatment for eradication of *Helicobacter pylori* infection--the results of a multicentre, double-blind, randomized clinical trial (IMPACT study). *Aliment Pharmacol Ther*, 31 : 824-833, 2010.
- 17) Murakami, K, Okimoto, T, Kodama, M, Tanahashi, J, Mizukami, K, Shuto, M, Abe, H, Arita, T, Fujioka, T : Comparison of the efficacy of irsogladine maleate and famotidine for the healing of gastric ulcers after *Helicobacter pylori* eradication therapy : a randomized, controlled, prospective study. *Scand J Gastroenterol*, 46 : 287-292, 2011.
- 18) Iwata, F, Joh, T, Ueda, F, Yokoyama, Y, Itoh, M : Role of gap junctions in inhibiting ischemia-reperfusion injury of rat gastric mucosa. *Am J Physiol*, 275 : G883-888, 1998.
- 19) Ueda, F, Watanabe, M, Hirata, Y, Kyo, T, Kimura, K : Changes in cyclic AMP content of rat gastric mucosa induced by ulcerogenic stimuli--in relation to the antiulcer activity of irsogladine maleate. *Jpn J Pharmacol*, 55 : 493-499, 1991.
- 20) Ueda, F, Kyo, T, Mimura, K, Kimura, K, Yamamoto, M : Intercellular communication in cultured rabbit gastric epithelial cells. *Jpn J Pharmacol*, 57 : 321-328, 1991.
- 21) Ueda, F, Ban, K, Ishima, T : Irsogladine activates gap-junctional intercellular communication through M1 muscarinic acetylcholine receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 274 : 815-819, 1995.
- 22) Kishimoto, A, Fujita, T, Shiba, H, Komatsuzawa, H, Takeda, K, Kajiya, M, Hayashida, K, Kawaguchi, H, Kurihara, H : Irsogladine maleate abolishes the increase in interleukin-8 levels caused by outer membrane protein 29 from *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* through the ERK pathway in human gingival epithelial cells. *J Periodontal Res*, 43 : 508-513, 2008.