

口腔の老化制御を基盤とした新しい口腔機能の維持・向上法の開発（21-6）

主任研究者 松下 健二 国立長寿医療研究センター 部長

研究要旨

口腔の老化に伴う咀嚼機能や摂食・嚥下機能の低下は栄養障害や転倒リスクの増加に繋がり、全身のフレイルに多大な影響を及ぼす。したがって、口腔の老化を制御し口腔機能を維持あるいは回復することは、高齢者の健康を増進し健康寿命を延伸するための重要な方策となりえる。本研究では菌周組織および唾液腺の老化が歯周病および口腔乾燥症の病態に及ぼす影響を明らかにするとともに、それらの老化制御を基盤とした、新しい口腔機能の維持・向上法の開発を目指す。加えて、咀嚼刺激の伝達経路である三叉神経を賦活化することによる脳老化の抑制の可能性について検討した。現在までに、以下のような結果が得られた。**<歯周病> 老齢マウスへの歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* (P.g) の投与は、歯肉の細胞接着因子 (Claudin-1, Claudin-2, E-cadherin, connexin) 等の遺伝子発現や口腔内・腸内マイクロバイオーームを変化させ、歯周病変と共に全身状態に影響を及ぼす可能性が示唆された。糖アルコール (エリスリトールおよびソルビトール) が、歯周組織の老化を抑制することを歯周細胞培養系およびマウス実験系で確認した。**現在、本発明に関する**知財化を進めると共に製品化**について製薬メーカーと協議中である。***P.g* 菌の産生するトリプシン様プロテアーゼ・ジンジパインが脳における neutrophil extracellular traps (NETs) 形成を介して、脳機能に影響を及ぼす可能性が明らかとなった。****<口腔乾燥症> 老齢マウスの唾液腺では、Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) 2 の発現が有意に増加しており、その発現は、AMPK activator である AICAR および Metformin 添加により濃度依存的に抑制された。**今後、同分子と唾液腺障害および口腔乾燥との関連性を検討していく予定である。**<咀嚼機能低下> 臼歯抜歯老齢マウスにカプサイシンを経口投与することで、脳の老化抑制、運動機能および平衡感覚の賦活化等が観察された。**現在、その応用について製薬会社と協議中である。

主任研究者

松下 健二 国立長寿医療研究センター 部長

分担研究者

四釜 洋介 国立長寿医療研究センター 副部長

山田 匡恵 国立長寿医療研究センター 外来研究員

古市 保志 北海道医療大学 教授

多田 浩之 東北大学 講師

## A. 研究目的

口腔の老化に伴う咀嚼機能や摂食・嚥下機能の低下は栄養障害や転倒リスクの増加に繋がり、全身のフレイルに多大な影響を及ぼす。したがって、口腔の老化を制御し口腔機能を維持あるいは回復することは、高齢者の健康を増進し健康寿命を延伸するための重要な方策となりえる。本研究では菌周組織および唾液腺の老化が歯周病および口腔乾燥症の病態に及ぼす影響を明らかにするとともに、それらの老化制御を基盤とした、新しい口腔機能の維持・向上法の開発を目指す。加えて、咀嚼刺激の伝達経路である三叉神経を賦活化することによる脳老化の抑制の可能性について検討することを目的とする。

## B. 研究方法

### 1. 歯周炎モデル加齢マウスにおける口腔内バリア因子変化と口腔および腸内のマイクロバイオーーム変化の分析

#### 1) *P. gingivalis* の加齢マウスへの経口投与

4週齢（若齢）および76週齢（加齢）のC57BL/6Jマウスを若齢群（n=8）、加齢群（n=7）、若齢 *P.gingivalis* 投与群（n=8）、加齢 *P.gingivalis* 投与群（n=8）の4群に分けた。*P.gingivalis* を2%のカルボキシメチルセルロース（CMC）を混和した後、マウスの口腔内に投与した。非投与群には2%CMC/PBSを投与した。投与は週に3回、5週間続け、最後の投与から30日後にマウスを屠殺し、口腔スワブ、唾液、腸内便、歯肉および下顎骨を採取した。また、歯肉切片の免疫染色を行った。

#### 2) RNA シーケンス

RNA-seq解析には、各群からそれぞれ3個体のデータを使用した。歯肉からtRNAを抽出した後、ストランド特異的RNAライブラリーを調製した。その後、Illumina Nova6000 plate High Output ModelでRNAシーケンスを行った。

### 2. 歯周病原細菌と好中球による脳機能障害に関する研究

C57BL/6野生型若齢マウス臼歯に絹糸を結紮することで歯周炎を惹起させるligature-induced periodontitis (LIP)モデル（*P.gingivalis*感染なし）と *P.gingivalis* を歯肉に塗布し感染させるモデルの2つを併用し、歯周病惹起3か月後のマウスの学習・認知機能を新規物体認識試験と強制水泳試験を実施して評価した。

### 3. 老齢マウスの歯周組織における各種因子の比較検討について

老齢マウスの歯周組織における老化関連因子、細胞接着因子、炎症関連因子等の遺伝子発現プロファイルを若齢マウスのそれと比較検討するとともに、口腔細菌叢やその毒素の変動との関連性についても合わせて検討した。ついで、歯周組織の脆弱化との関連性が明らかとなった宿主および細菌因子（*P.gingivalis* 菌）について、それらの相互の関連性を歯肉線維芽細胞および歯肉上皮細胞培養系で解析した。

#### 4. 歯周組織の老化を制御する化合物の探索とその効果の検討

以前に実施した化合物の探索から、歯周病原菌の毒素を中和し、かつ歯周由来細胞の老化を抑制できる可能性がある物質の候補を見出すことができた。特に糖アルコール類のエリスリトールとソルビトールについて、その老化抑制機序を細胞培養系およびマウスモデルにおいて解析した。

#### 5. 唾液中 sACE2 及び sIgA 量に及ぼす加齢・代謝障害の影響

C57BL/6N (6 週齢) マウスを 2 群に分け、一方にはメトホルミン水溶液、他方には水を経口投与した。老齢マウスは 18-24 か月齢を用いた。刺激唾液は三種混合麻酔後、0.02%ピロカルピン溶液を腹腔内投与し、唾液分泌確認後、5 分間回収した。唾液回収後、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）を摘出し、組織学的解析に用いるため 4%PFA 保存、または western blot による解析に用いるため液体窒素で凍結した。唾液腺上皮細胞の単離は、Multi Tissue Dissociation Kit 1（ミルテニー）を用い分散後、CD326 (EpCAM) MicroBeads を用い positive selection にて回収した。western blot で解析を行う際には、BCA protein assay kit (Thermo)にて総タンパク量を測定後、タンパク量を調整し、実験に用いた。

#### 6. 三叉神経賦活による脳老化抑制の解析

申請者らは、老齢マウスの大臼歯を抜去することにより、認知機能の低下や夜間行動変容などが出現することを確認した。加えて、マウスの海馬や視床下部において老化関連分子や炎症関連分子の発現が増加することを見出した(doi:10.1038/s41598-022-10321-w)。歯を喪失したマウスが認知機能の低下を示すのは、抜歯による三叉神経の感覚入力の減弱により、前脳基底部コリン作動性ニューロンが脱落し、その投射先の海馬や視床下部にも影響が及んだことで起こると考えた。そこで、三叉神経賦活作用のあるカプサイシンを投与することによって脳機能の回復が可能かどうかを検討した。具体的には、若齢および老齢マウスをコントロール群、抜歯群に分け、両群の半数のマウスについてカプサイシン含有水を飲料水として飼育し、同マウスの認知機能や異常行動の有無についてカプサイシン非投与群と比較する。また、実験開始 3 ヶ月後に脳組織を採取し、脳各部位の老化および認知・学習関連因子の発現変化について検討した。得られた脳サンプルから各種細胞を分離・培養し、これらの細胞の機能や老化に関連する分子の発現レベルを比較検討した。さらに、これらの培養細胞にカプサイシンを添加することによって、先の分子発現を正常な方向へ改善できるかを確認した。

#### (倫理面への配慮)

1. 本実験は、北海道医療大学歯学部研究倫理委員会の承認を得て実施した。また、実験中はマウスへの苦痛は最小限にとどめ、必要最小限の数匹を使用して行った。
2. 歯周病原細菌の使用は、国立大学法人東北大学研究用微生物安全管理規程により定め

る微生物安全主任者の審査および承認を経ており、歯周病原細菌の取扱ならびに動物感染実験は、東北大学研究用微生物安全管理規程により定める審査および承認を経て、BSL2 に準拠した P2 実験室にて保管および使用した。動物実験（マウス行動試験を含む）は東北大学動物実験専門委員会の審査および承認を経ている。*P. gingivalis* ジンジパイン欠損株を用いた遺伝子組換え実験に関しては、東北大学遺伝子組換え実験安全管理規定により定める委員会の審査および承認を経ており、組換え体の取り扱いについては「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(通称「カルタヘナ法」)に従って実施した。

- 3.4. 本研究で行う動物実験については、国立長寿医療研究センターの動物実験規程に則り、動物実験倫理委員会の承認を得た上で実施した。(動 4-11-R2)
5. 本研究での動物実験に関しては、「国立長寿医療研究センター動物実験取扱規程」を遵守し、倫理面においては「国立長寿医療研究センター動物実験倫理委員会」の承認を得ている。
6. 本研究で行う動物実験については、国立長寿医療研究センターの動物実験規程に則り、動物実験倫理委員会の承認を得た上で実施した。(動 4-10-R1)

## C. 研究結果

1. 歯周炎モデル加齢マウスにおける口腔内バリア因子変化と口腔および腸内のマイクロバイオーーム変化の分析

*P. gingivalis* の投与は、歯肉の細胞接着因子 (Claudin-1, Claudin-2, E-cadherin, connexin) の発現や口腔内・腸内マイクロバイオーームを変化させ、進行中の加齢性歯周病変を悪化させることが明らかとなった。RNA シーケンス解析により、各群の遺伝子発現プロファイルを明らかにした。ヒートマップ解析の結果、各群で 25 の遺伝子が増加していることが明らかになった。

腸内細菌叢の ANCOM 解析では、属レベルで *Bacteroides*、*Akkermansia*、*Alistipes*、科レベルで *Coriobacteriaceae*、*Clostridiaceae*、*Ruminococcaceae* などの細菌が各グループで有意に変化していることが示された。

2. 歯周病原細菌と好中球による脳機能障害に関する研究

LIP と *P. gingivalis* 口腔感染の併用により、歯周組織において著明な歯槽骨破壊と歯肉の炎症性サイトカイン (interleukin [IL]-1 $\beta$ , IL-17A および macrophage migration inhibitory factor [MIF]) mRNA レベルの亢進を確認した。同マウスの脳組織は、口腔に接種した *P. gingivalis* の脳への移行と、炎症性サイトカイン(IL-1 $\beta$ , MIF) mRNA レベル亢進が見られた。また、同マウスにおいて新規物体認識試験における新規物体接触時間の減少と、強制水泳試験における不動時間の延長がみられた。一方、*P. gingivalis* ジンジパイン欠損株およびジンジパイン阻害剤を両感染マウスに投与することで、歯肉および脳の炎症性サイトカイン発現の減少とともに、*P.*

*gingivalis* の脳移行および認知機能低下が消失した。以上の結果から、歯周病はジンジパインを介して脳機能を低下させる可能性が考えられた。次に、*P. gingivalis* ジンジパインを介した脳機能低下の機序について、NETs の関与を検討した。LIP と *P. gingivalis* 口腔感染を併用すると、マウス脳に NETs 発現の指標となるシトルリン化ヒストン H3 発現が確認された。今後、歯周病による脳機能低下におけるジンジパインと NETs のクロストーク作用について検討を進める予定である。

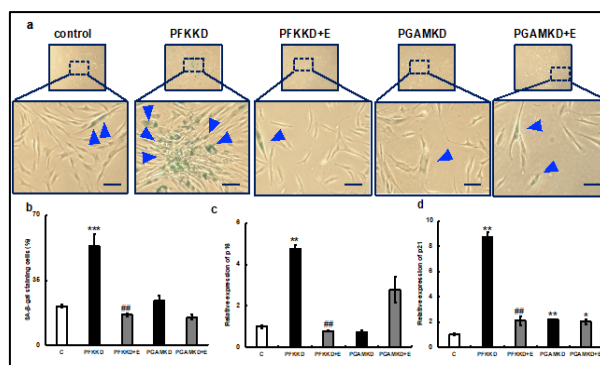
### 3. 老齢マウスの歯周組織における各種因子の比較検討について

老齢マウスの歯周組織における老化関連因子、細胞接着因子、炎症関連因子等の遺伝子発現プロファイルを若齢マウスのそれと比較検討した。その結果、老齢マウス歯肉では、若齢マウス歯肉に比べ、老化関連マーカー (p16・p21 関連) とともに、免疫グロブリン関連、炎症関連、微生物受容体 (TLR 関連) およびケモカイン関連遺伝子の増強が確認された。また、その上流因子として NF- $\kappa$ Bp65 が存在することが明らかになった。

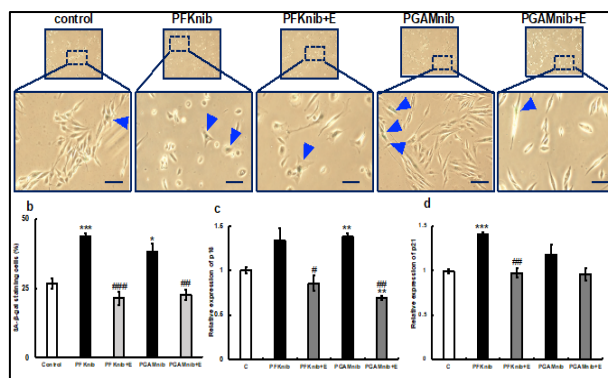
歯肉線維芽細胞に過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) および LPS を添加することによって、先の遺伝子発現プロファイルに類似の遺伝子発現の変化が観察された。また発現は、Senolytic drug の一種である ABT-263 によって抑制されることが確認された。本研究成果の一部はすでに「Analysis of senescence in gingival tissues and gingival fibroblast cultures」のタイトルで、*Clinical and Experimental Dental Research* に 2022 年 4 月 3 日に受理、5 月 2 日に掲載されている (doi: 10.1002/cre2.581.)。

### 4. 歯周組織の老化を制御する化合物の探索とその効果の検討

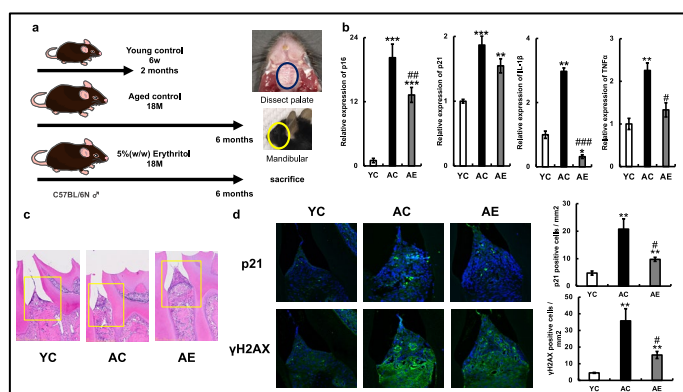
LPS および  $H_2O_2$  で誘導された歯肉線維芽細胞 (hGF) の老化が、糖アルコール (ソルビトール、エリスリトール) の事前添加により抑制された。細胞毒性の低いエリスリトールに焦点を絞り、同分子の老化抑制機序を検討した。解糖系の酵素の中から、特に PFK(ホスホフルクトキナーゼ)と PGAM(ホスホグリセリン酸ムターゼ)の 2 つの酵素に注目し、それらを siRNA でノックダウンや抑制剤を使って抑制した時の老化マーカーの動態を観察した。PFK の発現を siRNA 用いて同分子の発現をブロックしたところ、老化マーカー SA- $\beta$ gal、p16、p21 の発現が著しく増加した。一方、同実験系にエリスリトールを添加した結果 それらの老化マーカーの発現が有意に抑制された。PGAM のノックダウンでも老化マーカーの増加が観察されたが、エリスリトール添加によってその発現は抑制された。



PFK 阻害剤の添加により、老化マーカー SA- $\beta$ gal, p16, p21 の発現が著しく増加した。一方、同実験系にエリスリトールを添加した結果それらの老化マーカーの発現が有意に抑制された。また、PGAM 阻害剤の添加においても老化マーカーの増加が観察されたが、エリスリトール添加によってその発現は抑制された。これらのことから、エリスリトールは老化抑制に有効であり、その機序には PFK および PGAM への作用が関与していることが示唆された。



次に、生体内でのエリスリトールの老化抑制効果を老齡モデルマウスで検討した。マウスは 6 週齡または 18 週齡の C57BL/6Nslc マウスを用意し、若齡コントロール (YC)、老齡コントロール (AC)、老齡エリスリトール投与 (AE) 群の 3 群に分け



た。同マウスを半年間飼育し、安樂殺後、上顎口蓋部歯肉を回収し、同部位の遺伝子発現の解析とともに、H&E 染色、p21、 $\gamma$ H2AX 染色をおこなった。

老齡マウスでは、歯肉において p16、p21 の発現が増加していたが、エリスリトール投与群ではその発現が抑制された。SASP 因子である IL-18、TNF $\alpha$  の発現も同様の抑制効果が観察された(下図 b)。H&E 染色では、若齡マウスと比較し、老齡マウスでは歯肉が肥厚し、炎症性細胞浸潤が確認できたが、老齡マウスのエリスリトール投与群では歯周組織の炎症性細胞浸潤ほとんど見られなかった。免疫染色では、p21 の発現が老齡マウス歯肉で増加していたが、エリスリトール投与群ではその発現が抑制されていた。 $\gamma$ H2AX も同様の結果であった。現在、その他の分子の解析を実施するとともに、論文投稿の準備を行っている。

## 5. 唾液中 sACE2 及び sIgA 量に及ぼす加齢・代謝障害の影響

唾液中 sACE2 及び sIgA を western blot を用い評価した結果、メトホルミン投与群でそれら唾液中の sACE2 及び sIgA タンパク量が増加した。一方、 $\alpha$ -amylase は投与による影響は確認されなかった。メトホルミン投与群において、IgA 陽性面積が広くなり、染色強度も強くなる傾向を示した。特にその陽性像は腺房細胞基底側で顕著であった。老齡マウスにおいては、若齡マウスと比較し、顕著な差は確認されな

った。唾液腺における老化マーカー発現 (beta-galactosidase) の発現は、メトホルミン投与群において腺房細胞、導管上皮細胞で減少する傾向を示した。一方、単離した唾液腺上皮細胞における IgA 量を western blot を用い評価した結果、メトホルミン投与群で増加した。

## 6. 三叉神経賦活による脳老化抑制の解析

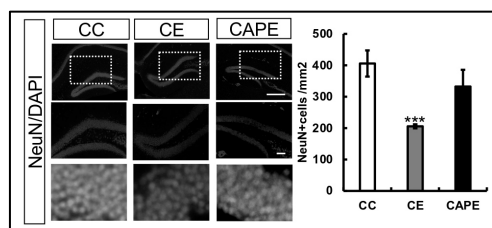
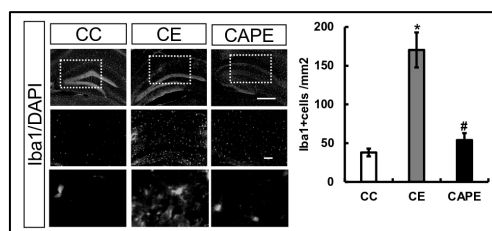
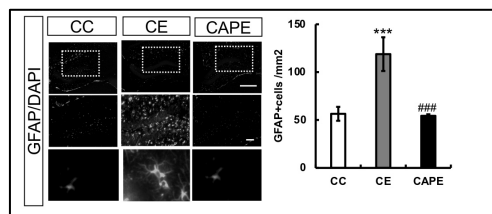
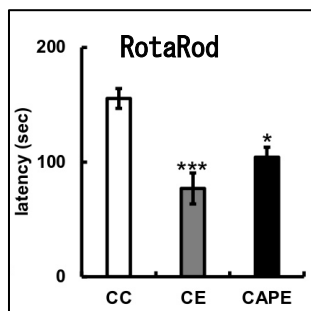
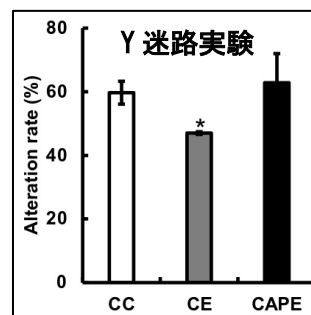
本研究では三叉神経賦活作用のあるカプサイシンを投与することによって脳機能の回復が可能かどうかを検討した。具体的には、若齢および老齢マウスをコントロール群、抜歯群に分け、両群の半数のマウスについてカプサイシン含有水を飲料水として飼育し、同マウスの認知機能や異常行動の有無をカプサイシン非投与群と比較した。

マウスの学習・認知機能の検定のために Y 迷路実験を実施した。その結果、抜歯群 (CE 群) でコントロール群 (CC 群) と比較して認知機能の低下が見られたが、抜歯後カプサイシンを投与した群 (CAPE) ではコントロールと同程度の回復が見られた。次に、運動機能の評価のために RotaRod 試験を実施した。その結果、CE 群のマウスにおいて著しく運動平衡性が低下していたが、CAPE 群では回復した。

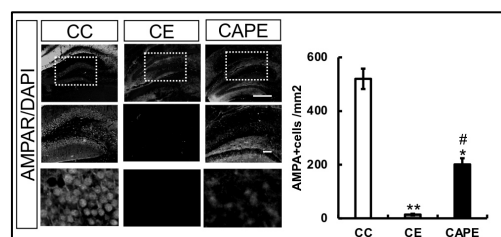
海馬における遺伝子発現の変化について免疫染色で検討した (同様の結果が得られたため、PCR の結果については省略する)。アストロサイトの老化マーカーである GFAP は抜歯により著しく上昇したが、CAPE 群ではその発現が抑制された (右図上)。

ミクログリアマーカー Iba1 の発現は CE 群で増加したが、CAPE 群でその発現は抑制された (右図中)。

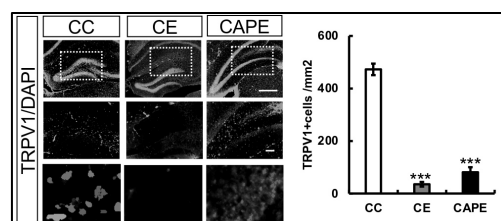
神経細胞のマーカー NeuN は CE 群で減少し、CAPE 群で増加した (右図下)。



視床下部や海馬の脳機能に関わる分子である AMPA 受容体の発現を調べた。CE 群では陽性細胞数が減少し、CAPE 群では陽性細胞数が回復した (右図上)。



カプサイシンの受容体である TRPV1 の発現は、CE 群では TRPV1 陽性細胞が著しく減少し、CAPE 群ではわずかに回復した (右図下)。CC 群と比較して CE 群は、海馬や視床下部における老化関連マーカーの発現に影響が出る他、認知機能の著しい低下が認められたが、カプサイシンの投与によって老化関連マーカー等の発現が減弱する傾向が見られた。



#### D. 考察と結論

##### 1. 歯周炎モデル加齢マウスにおける口腔内バリア因子変化と口腔および腸内のマイクロバイオーーム変化の分析

これまでの研究によって加齢マウスへの *P. gingivalis* の投与は、歯肉の細胞接着因子 (Claudin-1, Claudin-2, E-cadherin, connexin) の発現や口腔内・腸内マイクロバイオーームを変化させ、進行中の加齢性歯周病変を悪化させることが明らかとなった。これらの知見は、*P. gingivalis* 感染と加齢に伴う歯周組織破壊の関連性を理解する上で有用であると思われる。加齢に伴う病態生理の変化や炎症との関連について、エビデンスに基づいた解明が必要であると思われる。今後は得られた RNA シーケンスから、変化した 25 遺伝子をさらに解析し、その機能を検証する。*P. gingivalis* を投与した老齢マウスでは、*Akkermansia muciniphila* や *Clostridiaceae* などの腸内有益菌が著しく減少していることも明らかとなった。今後、これらの細菌の減少と全身状態との関連についてさらにマウスで解析していく予定である。

##### 2. 歯周病原細菌と好中球による脳機能障害に関する研究

歯周病は青年期から壮年期を経て老年期に至る長期間にわたり慢性炎症が持続して徐々に悪化することが特徴であるが、歯周病とアルツハイマー病に関する研究は高齢者に着目した研究が多く、青年期から壮年期における歯周病の慢性炎症が脳機能に影響を及ぼすことに着目した研究は少ない。そのようなことから、マウスを用いた実験でも老齢マウスを用いたものがほとんどである。本実験結果から、老齢期に限らず青年期から壮年期でも歯周病が増悪すると脳機能に影響を及ぼす可能性が明らかとなり、その原因として *P. gingivalis* ジンジパインと好中球 NETs のクロストーク作用が関与する可能性が強く示唆された。本研究結果から、*P. gingivalis* 感染により NETs 誘導が促進させることで歯周病の増悪とともに脳機能の低下が見られたことから、好



中球が歯周病原細菌の全身への感染伝播に大きな役割を担う可能性が考えられた。

### 3.4. 歯周組織および歯周細胞の老化と歯周病病態との関連性と歯周組織の老化を制御する化合物の探索とその効果の検討

本研究により、歯周組織の老化に関連する重要因子をエリスリトールの添加あるいは接種によって抑制できることを *in vitro* および *in vivo* の実験系で明らかにした世界初の研究成果である。本化合物は、すでに食品添加物やダイエット食品として利用されており、安全性も担保されていることから、実用化の可能性が高い物質である。本研究ではさらに、同物質の分子標的として解糖系の PFK が関与することが明らかとなった。主要なグルコース分解酵素である PFK は、培養細胞を **multiple passage** した際に発現が増加する分子として知られているが、この増加の意義はまだ明らかにされていない。エリスリトールは PFK の発現や活性を高めることで老化を制御している可能性があるため、今後この点についても解析を進めたい。エリスリトールの口腔内への使用は、口腔粘膜の老化を抑制して歯周病をはじめとする口腔粘膜疾患の発症予防に有効である可能性が明らかとなった。今後、臨床応用を目標とした口腔ケア製品の開発を企業とともに進めていくことにしている。

### 5. 唾液中 sACE2 及び sIgA 量に及ぼす加齢・代謝障害の影響

本研究により、マウスにおいて唾液 sACE2 及び sIgA 分泌に AMPK が関与する可能性が示唆された。メトホルミンによる唾液 sIgA の増加は、唾液腺に IgA 陽性細胞の集積が誘導されたためと考えられる。単離した唾液腺上皮においても、メトホルミン投与により IgA 量が増加していたので、分泌された IgA が唾液腺上皮を通り、唾液中に分泌されていると考えられる。今後、抗原特異的 sIgA 分泌も増加させることができるかも検討する予定である。ACE2 sheddase として ADAM17 (TNF- $\alpha$  converting enzyme) が知られているが、唾液腺組織を抗 ADAM17 抗体で組織学的解析を行った結果、投与・非投与群で顕著な差は確認されなかった。AMPK 活性化により ACE2 発現が上昇するという報告もある (Am J Respir Crit Care Med. 2018;198:509) ため、唾液腺においても同様の変化が確認されるか検討する予定である。In vivo におけるメトホルミンの免疫細胞に対する影響に関する報告は多数あるが、唾液腺上皮細胞に対する影響は明らかになっていないため、単離した上皮細胞の DNA マイクロアレイ解析により、その遺伝子発現プロファイルの解析をすすめる。また、加齢による唾液 sACE2 量の変化、その変化に対するメトホルミンの影響も解析予定である。さらに、AMPK を活性化させる食品等も知られているため、それら食品摂取量と唾液 sACE2 及び sIgA 量の相関関係も解析していきたい。

### 6. 三叉神経賦活による脳老化抑制の解析

咀嚼機能の低下に起因する脳機能障害の原因として、歯根膜の侵害受容器への刺激が弱まることが考えられている。そのため、三叉神経を介して大脳皮質や海馬に投射される信号が弱まることで、脳機能に変化が生じる可能性がある。TRPV1 は口腔粘

膜を含む消化管粘膜に広く分布しているため、口腔から摂取されたカプサイシンは粘膜表面の受容体を活性化する。そして、その刺激は脊髄、延髄を経て視床、視床下部、中脳に伝わり、海馬、大脳皮質に投射され、遺伝子発現や脳機能に反映される。したがって、今回観察されたカプサイシンの効果は、歯根膜の刺激性の低下をカプサイシンの刺激で補ったことに起因する可能性が考えられる。

従来、臼歯の喪失後の咀嚼機能の維持には補綴治療、すなわち義歯の装着やインプラント埋入によって行われる。しかし、認知症患者や寝たきり患者は年々増加しており、補綴治療が困難なケースが多い。カプサイシンの応用は、このような補綴困難者の認知・運動機能低下の予防法として有望である可能性がある。今後、応用の可能性をさらに模索したいと考えている。

#### E. 健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Furukawa M, Matsuda K, Aoki Y, Yamada M, Wang J, Watanabe M, Kurosawa M, Shikama Y, Matsushita K  
Analysis of senescence in gingival tissues and gingival fibroblast cultures.  
Clin Exp Dent Res, 8(4):939-949, 2022.
- 2) Furukawa M, Tada H, Wang J, Yamada M, Kurosawa M, Satoh A, Ogiso N, Shikama Y, Matsushita K  
Molar loss induces hypothalamic and hippocampal astrogliosis in aged mice.  
Sci Rep, 12(1):6409, 2022.
- 3) Tada H, Kawahara K, Osawa H, Song LT, Numazaki K, Kawai J, Onoue S, Nishioka T, Nemoto E, Matsushita K, Sugawara S  
Hericium erinaceus ethanol extract and ergosterol exert anti-inflammatory activities by neutralizing lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine production in human monocytes.  
Biochem Biophys Res Commun, 636(Pt 2):1-9, 2022.

##### 2. 学会発表

- 1) 石原裕一、伊土美南海、新明桃、湯之上志保、武儀山みさき、細久保和美、與那覇佳織、内山章、古川匡恵、佐治 直樹、松下健二  
認知機能低下および認知症と歯周病病態との関連性 -もの忘れ外来患者を対象とした観察研究 (1) -

- 第 65 回春季日本歯周病学会学術大会, 2022 年 6 月 3~4 日, 東京
- 2) 伊土美南海、石原裕一、新明桃、湯之上志保、武儀山みさき、細久保和美、與那覇佳織、内山章、古川匡恵、佐治 直樹、松下健二  
歯周病病態と口腔機能低下との関連性 -もの忘れ外来患者を対象とした観察研究(2)-  
第 65 回春季日本歯周病学会学術大会, 2022 年 6 月 3~4 日, 東京
- 3) 新明桃、石原裕一、伊土美南海、湯之上志保、武儀山みさき、細久保和美、與那覇佳織、内山章、古川匡恵、佐治 直樹、松下健二  
口腔機能低下と認知機能の関連性 -もの忘れ外来患者を対象とした観察研究(3)-  
第 65 回春季日本歯周病学会学術大会, 2022 年 6 月 3~4 日, 東京
- 4) 山田 (古川) 匡恵、松下健二  
歯の喪失は APPKI マウスの認知症の行動・心理症状を悪化させる。  
第 22 回抗加齢医学会総会, 2022 年 6 月 17~19 日, 大阪
- 5) 松下健二  
歯周病原細菌と認知症. 基礎研究シンポジウム「ここまでわかった、口腔機能と認知症の関係—基礎研究からのアプローチ」  
第 3 回認知症と口腔機能研究会学術集会, 2022 年 8 月 7~8 日, web 開催
- 6) 多田浩之、西岡貴志、松下健二、菅原俊二  
*Porphyromonas gingivalis* ジンジパインはヒト血管内皮細胞の PAI-1 を分解し、血管内皮の創傷治癒を遅延させる。  
第 64 回歯科基礎医学会学術大会, 2022 年 9 月 17~19 日, 徳島
- 7) 沼崎研人、多田浩之、松下健二、溝口到、菅原俊二  
Neutrophil extracellular traps による RANKL 誘導性破骨細胞の分化制御。  
第 64 回歯科基礎医学会学術大会, 2022 年 9 月 17~19 日, 徳島
- 8) 遠山学、多田浩之、沼崎研人、松下健二、溝口到、菅原俊二  
*Porphyromonas gingivalis* 線毛は、LPS によるヒト単球のインターロイキン-6 産生を相乗的に誘導する。  
第 64 回歯科基礎医学会学術大会, 2022 年 9 月 17~19 日, 徳島
- 9) 四釜洋介、古川匡恵、松下健二  
唾液腺および口腔粘膜上皮細胞における ACE2 発現 : AMPK の役割。  
第 64 回歯科基礎医学会学術大会, 2022 年 9 月 17~19 日, 徳島
- 1 0) Matsushita K  
Exploring the Association Between Oral Health and Dementia.  
The 17th International Symposium on Geriatrics and Gerontology, Dec 3, 2022, Obu.
- 1 1) 萩原真、永野忠聖、松下健二  
玄米中に含まれる LPS によるファゴサイトーシス活性化機構の解析。

第 45 回日本分子生物学会年会, 2022 年 12 月 2 日, 千葉

1 2) 萩原真、松下健二 (口腔疾患研究部)

オルニチンによる免疫力活性化機構の解析.

日本農芸化学会 2023 年広島大会, 2023 年 3 月 14 日, 広島

G. 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