

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22390399

研究課題名(和文) 口腔バイオフィルム・唾液のメタボローム解析で拓く「口腔疾患リスク指標」

研究課題名(英文) Metabolomic approach to oral biofilm and saliva: possible risk indicator for oral diseases

研究代表者

高橋 信博 (Takahashi, Nobuhiro)

東北大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60183852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円、(間接経費) 4,260,000円

研究成果の概要(和文)：口腔バイオフィルムおよび唾液を対象としたCE-TOFMS分析計を用いたメタボローム解析法を確立した。本手法によって、糖代謝系に加え、これまで不明であったアミノ酸代謝系の解析が可能となった。また、口腔バイオフィルムに比べ代謝物濃度が1/100程度の唾液においても測定が可能となった。さらに糖アルコールやフッ化物の影響の解析を通して、口腔バイオフィルムにおける糖代謝とアミノ酸代謝の連携が示唆された。齲蝕においては糖代謝プロファイル、歯周炎・口臭においてはアミノ酸代謝プロファイルを比較検討することで、メタボローム解析結果を口腔疾患リスク指標に応用できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Metabolome analysis for oral biofilm and saliva using CE-TOFMS was established. This method made it possible to analyze not only sugar metabolism but also amino acid metabolism in oral biofilm and even in saliva, where only small amount of metabolites (about 1/100 of oral biofilm) was contained. In addition, the analyses of the effect of sugar alcohols and fluorides on the biofilm metabolism suggested close coordination between sugar and amino acid metabolisms. Metabolome profiles of sugar and amino acid metabolisms can be used for risk indicators of dental caries and periodontitis/oral malodor, respectively.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：社会系歯学

キーワード：口腔バイオフィルム 唾液 メタボローム 微生物 糖代謝 アミノ酸代謝 糖アルコール

## 1. 研究開始当初の背景

21世紀の国民の健康維持・増進を定めた「健康増進法」には、「歯の健康の保持」が明記された。その達成のためには、齲蝕、歯周炎、口臭という発症頻度の高い「口腔バイオフィルム性疾患」の生涯にわたる予防が不可欠である。

口腔バイオフィルム研究は、構成細菌叢の解析が先行し、500種を越す細菌種からなる多様な細菌叢、すなわち「何がしているのか？」を明らかにした。さらに細菌叢の詳細な解析は、齲蝕や歯周炎は単一細菌で発症するのではなく、「疾患発症プロセス」の中で種々の細菌群が段階的に関与することを示しつつある。これらの研究は、特定の細菌を病原菌と捉える「特異的プラーク説」から口腔バイオフィルムを生態系と捉え構成菌の変遷に伴い病原性が高まるとする「生態学的プラーク説」へと「パラダイムの転換」をもたらしつつある。

「疾患発症プロセス」に関与するのは、「何がしているのか？」だけではなく、口腔バイオフィルムの生物活性、すなわち「何をしているのか？」である。齲蝕、歯周炎及び口臭に関連する個々の細菌の代謝は、申請者を含め *in vitro* において詳細に研究されてきたが、*in vivo* における実際の口腔バイオフィルム全体の代謝活性は、未だ推測の域を出ない。「疾患発症プロセス」をモニターし、リスク評価や病原性をコントロールするためには、実際の口腔バイオフィルムの代謝活性、すなわち「何をしているのか？」を知ることが不可欠である。

代謝中間体や代謝産物を網羅的に解析することを「メタボローム解析」という。これまでのメタボローム解析は、ガスクロマトグラフィーあるいは高速液体クロマトグラフィーを質量分析計に連結したものが主流であり、口腔バイオフィルムのようにイオン性低分子を主体とする場合には、前者ではガス化が困難であることから、後者では異性体の区別が困難であることから対象物質の分離には限界があった。しかし、申請者のこれまでの研究から、キャピラリー電気泳動 (CE) を用いることでイオン性低分子物質を電荷とイオン半径に基づき厳密に分離可能であることが、さらに飛行時間型質量分析計 (TOFMS) に連結し CE-TOFMS システムとすることで、口腔バイオフィルムの「メタボローム解析」が可能となってきた。

## 2. 研究の目的

CE-TOFMS を用いて、口腔バイオフィルム及び唾液中の代謝関連物質の網羅的解析、すなわちメタボローム解析法を確立する。

対象とする代謝関連物質として、これまでにある程度確立できた糖代謝のメインフレーム (解糖系、ペントースリン酸回路、クエン酸回路) に、新たにアミノ酸代謝系を加える。

また、糖アルコールやフッ化物の影響を解析することで、口腔バイオフィルム代謝の特徴を

討する。

さらに、メタボローム解析結果が齲蝕、歯周炎、口臭の臨床指標となり得るかについて検討する。

## 3. 研究の方法

(1) キャピラリー電気泳動 (CE) - 飛行時間型質量分析計 (TOFMS) を用いた糖代謝・アミノ酸代謝メタボローム解析法の確立

CE-TOFMS は Agilent Technologies (Waldbronn, Germany) の機器を、測定に要する泳動用 buffer、シース液、キャピラリーカラムなどは Human Metabolome Technologies (HMT) 社 (鶴岡) のものを用いた。

アミノ酸代謝の重要な代謝産物の一つでありながら CE-TOFMS では測定不可能なアンモニアを対象に、Arkray 社 (京都) のアミチェックメーターを用いて定量を試みた。

(2) 口腔バイオフィルムおよび唾液を用いたメタボローム解析法の確立

被験者より種々に条件を変えた口腔バイオフィルム (歯肉縁上プラーク) を、それぞれ採取し計量した (約 10 mg)。

被験者には前日より歯面清掃の停止によるプラーク蓄積を依頼した。また、採取前 2 時間は、飲食を控えてもらった。

唾液は、通法に則り安静時と刺激時に採取した。

以上の口腔バイオフィルム、唾液試料を上記(1)の方法にて分析した。

(3) 口腔疾患指標となる可能性についての検討

(2)で得られた結果から、齲蝕については、主に糖代謝経路すなわち、解糖系、クエン酸回路およびペントースリン酸回路の代謝物を対象に、歯周炎・口臭については、主にアミノ酸代謝経路の代謝物を対象に、口腔疾患指標となる可能性を検討した。

さらに、糖アルコールやフッ化物の影響を解析することで、口腔バイオフィルム内の代謝制御について考察した。

プロファイルの比較には、Agilent Technologies 社の専用のソフトウェア (MassHunter Workstation Software Qualitative Analysis) を用いた。

## 4. 研究成果

(1) キャピラリー電気泳動 (CE) - 飛行時間型質量分析計 (TOFMS) を用いた糖代謝・アミノ酸代謝メタボローム解析法の確立

泳動極性を反転させることで、アミノ酸等のカチオンの分析が可能となった。これにより、解糖系、ペントースリン酸回路、クエン酸回路を含む糖代謝経路、および各種アミノ酸とその関連代謝物のメタボローム一斉分析が

可能となった。

Arkray 社 (京都) のアミチェックメーターを用いることで、アンモニアの微量定量が可能となった。

#### (2) 口腔バイオフィルムおよび唾液を用いたメタボローム解析法の確立

口腔バイオフィルム中の糖代謝物およびアミノ酸代謝物の一斉微量定量解析が可能となり、個々の試料におけるメタボロームプロファイルを得ることができた。

口腔バイオフィルム内ではグルタミン酸が多く、またグルタミンやグルタミン酸からのアンモニア産生量が高く、その際の代謝関連物質も増加したことから、これらのアミノ酸が口腔バイオフィルム内で利用されやすいことが示唆された。

唾液においても、糖代謝およびアミノ酸代謝物の一斉微量定量解析は可能であった。しかし、口腔バイオフィルムと較べて単位体積当たりの量は 100 分の 1 程度と低く、また唾液に含まれる塩濃度によって測定が妨げられる物質の存在が示唆されたことから、測定対象物に応じた脱塩、濃縮あるいは希釈を行う必要があることが分かった。

#### (3) 口腔疾患指標となる可能性についての検討 得られた結果から、齲蝕については、糖代謝経路すなわち、解糖系、クエン酸回路およびペントースリン酸回路の代謝物を対象にすることで、歯周炎・口臭については、アミノ酸代謝経路の代謝物を対象にすることで、口腔疾患指標となる可能性が示された。

さらに、糖アルコールやフッ化物の影響を解析することで、口腔バイオフィルム内の代謝制御について考察した。フッ化物 (フッ化ナトリウム) ではエノラーゼ阻害が見られるとともに酸産生が有意に減少するなど、これまで *in vitro* で得られた糖代謝阻害現象が *in vivo* でも生じていることが確認された。一方、キシリトール洗口では、酸産生の減少はもとより糖代謝阻害はまったく見られず、これまでのミュータンスレンサ球菌を用いた *in vitro* 研究で推測されてきた糖代謝阻害は、*in vivo* ではほとんど生じないものと考えられた。しかし、アミノ酸代謝に関しては、これまでない知見が得られ、口腔バイオフィルム細菌あるいは細菌叢における糖代謝とアミノ酸代謝の緊密な連携が示唆された。

#### (4) 今後の研究について

一連の研究を通して、口腔バイオフィルム構成細菌は糖代謝とアミノ酸代謝の相互作用等、これまで考えられていたよりも遙かに複雑な代謝を行っていることが示唆されたことから、個々の構成細菌の代謝について、もう一度、網羅的かつ詳細な検討が必要となってきた。

現在、代表的な糖代謝優位菌、アミノ酸代謝優位菌、二次代謝優位菌を対象とした、メ

タボローム解析プラットフォームの構築を急ぎつつ、口腔バイオフィルムのメタボローム解析研究を鋭意推進中である。

#### 5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 58 件)

1. Sato T, Kenmotsu S, Nakakura-Ohshima K, Takahashi N, Ohshima H: Responses of infected dental pulp to TCP containing antimicrobials in rat molars. Arch Histol Cytol 75: in press, 2014. <http://www.ishc.net/> (査読有)
2. Fukushima A, Mayanagi G, Nakajo K, Sasaki K, Takahashi N: Microbiologically induced corrosive properties of the titanium surface. J Dent Res 93(5): 525-529, 2014. doi:10.1177/0022034514524782. (査読有)
3. Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Domon-Tawaraya H, Takahashi N: Effect of fluoride-releasing restorative materials on bacteria-induced pH fall at the bacteria-material interface: An *in vitro* model study. J Dent 42(1): 15-20, 2014. doi: 10.1016/j.jdent.2013.11.006. (査読有)
4. Kawashima J, Nakajo K, Washio J, Mayanagi G, Shimauchi H, Takahashi N: Fluoride-sensitivity of growth and acid production of oral *Actinomyces*: comparison with oral *Streptococcus*. Microbiol Immunol 57(12): 797-804, 2013. doi: 10.1111/1348-0421.12098. (査読有)
5. Sakuma Y, Washio J, Sasaki K, Takahashi N: A high-sensitive and non-radioisotopic fluorescence dye method for evaluating bacterial adhesion to denture materials. Dent Mater J 32(4): 585-591, 2013. <https://www.jstage.jst.go.jp/browse/dmj> (査読有)
6. Domon-Tawaraya H, Nakajo K, Washio J, Ashizawa T, Ichino T, Sugawara H, Fukumoto S, Takahashi N: Divalent cations enhance fluoride binding to *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* cells and subsequently inhibit bacterial acid production. Caries Res 47(2): 141-149, 2013. doi: 10.1159/000344014. (査読有)
7. Nyvad B, Crielaard W, Mira A, Takahashi N, Beighton D: Dental caries from a molecular microbiological perspective. Caries Res 47(2): 89-102, 2013. doi: 10.1159/000345367. (査読有)
8. Ma S, Imazato S, Chen J-H, Mayanagi G, Takahashi N, Ishimoto T, Nakano T: Effects of a coating resin containing S-PRG filler to prevent demineralization of root surfaces. Dent Mater J 31(6): 909-915, 2012. <https://www.jstage.jst.go.jp/browse/dmj> (査読有)

9. Takahashi N, Washio J, Mayanagi G: Metabolomic approach to oral biofilm characterization - A future direction of biofilm research. *J Oral Biosci* 54(3): 138-143, 2012. <http://www.journals.elsevier.com/journal-of-oral-biosciences/> (査読有)
10. Takeuchi Y, Nakajo K, Sato T, Koyama S, Sasaki K, Takahashi N: Quantification and identification of bacteria in acrylic resin denture bases and dento-maxillary obturator-prostheses. *Am J Dent* 25(3): 171-175, 2012. <http://www.amjdent.com/> (査読有)
11. Komori R, Sato T, Takano-Yamamoto T, Takahashi N: Microbial composition of dental plaque microflora on first molars with orthodontic bands and brackets, and the acidogenic potential of these bacteria. *J Oral Biosci* 54(2): 107-112, 2012. <http://www.journals.elsevier.com/journal-of-oral-biosciences/> (査読有)
12. Sato T, Yamaki K, Ishida N, Shoji M, Sato E, Abiko Y, Hashimoto K, Takeuchi Y, Matsuyama J, Shimauchi H, Takahashi N: Rapid quantification of bacteria in infected root canals using fluorescence filter: A pilot study on its clinical application to the evaluation of the outcomes of endodontic treatment. *Int J Dent Volume 2012, Article ID 172935, 4 pages*, 2012. doi: 10.1155/2012/172935. (査読有)
13. Sato T, Yamaki K, Ishida N, Hashimoto K, Takeuchi Y, Shoji M, Sato E, Matsuyama J, Shimauchi H, Takahashi N: Cultivable anaerobic microbiota of infected root canals. *Int J Dent Volume 2012, Article ID 609689, 5 pages*, 2012. doi: 10.1155/2012/609689. (査読有)
14. Ito Y, Sato T, Yamaki K, Mayanagi G, Hashimoto K, Shimauchi H, Takahashi N: Microflora profiling of infected root canal before and after treatment using culture-independent methods. *J Microbiol* 50(1): 58-62, 2012. doi: 10.1007/s12275-012-0459-4. (査読有)
15. Hashimoto K, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N: Profiling of dental plaque microflora on root caries lesions and the protein-denaturing activity of these bacteria. *Am J Dent* 24(5): 295-299, 2011. <http://www.amjdent.com/> (査読有)
16. Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Nakajo K, Domon-Tawaraya H, Takahashi N: Evaluation of pH at the bacteria-dental cement interface. *J Dent Res* 90(12): 1446-1450, 2011. doi: 10.1177/0022034511423392. (査読有)
17. Takahashi N, Washio J: Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm *in vivo*. *J Dent Res* 90(12): 1463-1468, 2011. doi: 10.1177/0022034511423395. (査読有)
18. Izutani N, Imazato S, Nakajo K, Takahashi N, Takahashi Y, Ebisu S, Russell RRB: Effects of the antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) on bacterial viability and metabolism. *Eur J Oral Sci* 119(2): 175-181, 2011. doi: 10.1111/j.1600-0722.2011.00817.x. (査読有)
19. Takahashi N, Nyvad B: The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res* 90(3): 294-303, 2011. doi: 10.1177/0022034510379602. (査読有)
20. Masaki M, Sato T, Sugawara Y, Sasano T, Takahashi N: Detection and identification of non-*Candida albicans* species in human oral lichen planus. *Microbiol Immunol* 55(1): 66-70, 2011. doi: 10.1111/j.1348-0421.2010.00285.x. (査読有)
21. Takahashi N, Washio J, Mayanagi G: Metabolomics of supragingival plaque and oral bacteria. *J Dent Res* 89(12): 1383-1388, 2010. doi: 10.1177/0022034510377792. (査読有)
22. Miyoshi Y, Watanabe M, Takahashi N: Autoactivation of proteolytic activity in human whole saliva. *J Oral Biosci* 52(4): 402-408, 2010. <http://www.journals.elsevier.com/journal-of-oral-biosciences/> (査読有)
23. Kumagami T, Shimizu K, Igarashi K, Takahashi N: Ammonia concentration and pH-lowering activity of marginal dental plaque from teeth with and without periodontitis. *J Dent Hlth* 60(5): 563-568, 2010. <http://www.kokuhoken.or.jp/jsdh/journal.html> (査読有)
24. Nakajo K, Takahashi N, Beighton D: Resistance to acidic environments of caries-associated bacteria: *Bifidobacterium dentium* and *Bifidobacterium longum*. *Caries Res* 44(5): 431-437, 2010. doi: 10.1159/000318582. (査読有)
25. Washio J, Mayanagi G, Takahashi N: (Review: New strategy of study for oral microbiology) Challenge to metabolomics of oral biofilm -from "what are they?" to "what are they doing?" - *J Oral Biosci* 52(3): 225-232, 2010. <http://www.journals.elsevier.com/journal-of-oral-biosciences/> (査読有)
26. Abiko Y, Sato T, Mayanagi G, Takahashi N: Profiling of subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects and from subjects with periodontitis using quantitative real-time PCR. *J Periodont Res* 45(3): 389-395, 2010. doi:

10.1111/j.1600-0765.2009.01250.x. (査読有)

(学会発表) (計 81 件)

1. 鷺尾純平, 高橋信博: ヒト・プラークの糖アルコール代謝: メタボロミクス的アプローチ 第55回歯科基礎医学会学術大会 2013年9月22日, 岡山 J Oral Biosci Supplement: p. 221, 2013. (Abstract #P2-150).
2. 小川珠生, 鷺尾純平, 高橋 哲, 高橋信博: メタボローム解析による口腔扁平上皮癌のエネルギー代謝特性の解明とバイオマーカーの探索 第55回歯科基礎医学会学術大会 2013年9月21日, 岡山 J Oral Biosci Supplement: p. 158, 2013. (Abstract #P1-86).
3. Ogawa T, Washio J, Takahashi T, Takahashi N: Pathognomonic Glutamine Metabolism in Oral Squamous Cell Carcinoma -Metabolomic Approach- The 2nd IADR-APR (Asia Pacific Region) 21 August, 2013, Bangkok, Thailand J Dent Res 92 Spec Iss B: 336, 2013 (www.dentalresearch.org).
4. Takahashi N: Overview: Parasite: Oral biofilm in health and disease-holistic approach by "Omics". Peking-Tohoku Dental Symposium: Innovative Research for Biosis-Abiosis Intelligent Interface 26 July, 2013, Beijing, China.
5. 高橋信博: 口腔生態系から見た口臭~生化学的、生態学的アプローチ~ 第4回日本口臭学会学術大会 教育講演 1 2013年7月13日, 鶴見.
6. 鈴木啓佑, 月星陽介, 渡邊基博, 小川珠生, 鷺尾純平, 高橋信博: プラークと唾液のメタボローム解析 - 口腔内でのアミノ酸の利用に注目して -, 第22回日本歯科医学会総会, 2012年11月11日, 大阪, 日本歯科医師会雑誌 65(5): 686, 2012 (Abstract #DSP013).
7. 鷺尾純平, 真柳弦, 小川珠生, 高橋信博: メタボローム解析で見えてきた口腔バイオフィルムの機能 - 「何がいるか」から「何をしているか」 -, 第22回日本歯科医学会総会, 2012年11月10日, 大阪, 日本歯科医師会雑誌 65(5): 616, 2012 (Abstract #P025).
8. 鷺尾純平, 高橋信博: Dental plaque biofilm中のアミノ酸の代謝機構 - CE-TOFMSを用いたメタボロミクスの観点から -, The composition and the utilization of amino acids in dental plaque biofilm -Metabolomics approach with CE-TOFMS-, 第54回歯科基礎医学会学術大会, 2012年9月16日, 郡山, J Oral Biosci Supplement: p. 141, 2012. (Abstract #P2-15).
9. Washio J, Ogawa T, Suzuki K, Tsukiboshi Y, Watanabe M, Takahashi N: Amino acid composition and amino-acid degrading activity of dental plaque. June 21, 2012, Iguacu Falls, Brazil, J Dent Res 91(Special Issue B): 586, 2012.
10. 鷺尾純平, 小川珠生, 真柳 弦, 高橋信博: CE-TOFMSを用いた口腔プラークバイオフィルムの糖代謝メタボローム解析~フッ化物やキシリトールによる影響を in vivo で探る~. キャピラリー電気泳動シンポジウム (鶴岡), 2011年11月9-11日.
11. 鷺尾純平, 高橋信博: ヒト・プラークの糖代謝に対するフッ化物およびキシリトールの影響~CE-TOFMSを用いたメタボロミクスアプローチ~. 第53回歯科基礎医学会学術大会 (岐阜), 2011年10月1日, J Oral Biosci 53(S): 139, 2011.
12. Takahashi N: Metabolomic approach to oral biofilm characterization. Satellite Symposium "Leading edge of oral biofilm research - Challenge for correct understanding of oral disease caused by biofilm-" on The 53rd Annual Meeting of Japanese Association for Oral Biology (Gifu, Japan), September 30, 2011, J Oral Biosci 53(S): 91, 2011.
13. 鷺尾純平, 高橋信博: ヒトプラークとう蝕関連口腔細菌 Streptococcus mutans の糖代謝に対するキシリトールの影響の相違. 第84回日本生化学大会 (京都), 2011年9月24日.
14. Takahashi N: Recent discoveries about the metabolism of microbial communities and caries-associated microorganisms. ORCA symposium (Kaunas, Lithuania), July 6-9, 2011.
15. Washio J, Mayanagi G, Takahashi N: Metabolome analysis of oral plaque biofilm using CE-TOFMS. The 4th International Symposium for Interface Oral Health Science (Sendai) 8 March, 2011 Program and Abstracts of the International Symposium for Interface Oral Health Science, p. 75.
16. Takahashi N: Metabolomic approach to oral microbiota. Harvard-Forsyth-Tohoku Research Workshop (Boston, USA) 5 January, 2011.
17. 高橋信博: 超個体としてのプラーク細菌叢とその機能異常としてのう蝕と歯周炎 口腔感染症フォーラム2010(鶴見)2010年12月19日.
18. Takahashi N: A metabolic approach to oral microbial ecosystem in health and disease. KADR (Seoul, Korea) 25 November, 2010 Program and Abstract, Special Lecture 2, p. 17, 2010.
19. 鷺尾純平, 真柳 弦, 高橋信博: プラークバイオフィルムのメタボローム解析 -糖代謝からアミノ酸代謝まで-Metabolome analysis of oral plaque biofilm -sugar metabolism and amino acid metabolism- 第52回歯科基

礎医学会学術大会 2010 年 9 月 21 日, 東京 J Oral Biosci 52(S): 135, 2010.  
(Abstract #P-38).

20. Washio J, Mayanagi G, Katsuda Y, Hata T, Sakurada K, Sato K, Tsuji N, Takahashi N: Metabolome analysis of glucose fermentation by dental plaque using CE-TOFMS. The 88th IADR (Barcelona, Spain) July 16, 2010 J Dent Res 89(Special Issue B): 3382, 2010.

(図書) (計18件)

1. 高橋信博, 恵比須繁之 (監訳) 「デンタルカリエス その病態と臨床マネジメント」(560頁) 原著第2版 (Dental Caries - The Disease and its Clinical Management) 医歯薬出版, 東京, 2013 年 10 月 10 日発行.
2. Takahashi N, Washio J, Mayanagi G: Metabolomic approach to oral microbiota. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 334-340, 2012. February.
3. Washio J, Mayanagi G, Takahashi N: Metabolome analysis of oral plaque biofilm using CE-TOFMS. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 218-220, 2012. February.
4. Takeuchi Y, Nakajo K, Sato T, Sakuma Y, Koyama S, Sasaki K, Takahashi N: Quantification and identification of bacteria in the maxillary obturator-prostheses. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 209-211, 2012. February.
5. Sakuma Y, Washio J, Takeuchi Y, Sasaki K, Takahashi N: A high-sensitive alamarBlue® method for evaluating bacterial adhesion to biomaterials. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 201-203, 2012. February.
6. Nakajo K, Beighton D, Takahashi N: Acid-tolerance and endogenous acid-production of oral *Bifidobacteria*. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 195-197, 2012. February.
7. Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Nakajo K, Domon-Tawaraya H, Takahashi N: Evaluation of pH at the interface between bacteria and restorative materials. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 192-194, 2012. February.
8. Kawashima J, Nakajo K, Washio J, Shimauchi H, Takahashi N: Actinomyces acid production: Effects on bicarbonate and fluoride at neutral and acid pH. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface

Oral Health Science 2011, Springer, New York, 189-191, 2012. February.

9. Hasegawa A, Sato T, Hoshikawa Y, Kondo T, Takahashi N: Silent aspiration of oral bacteria - Microbiological analysis of intraoperative bronchial fluids from patients with pulmonary carcinoma. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 181-182, 2012. February.
10. Domon-Tawaraya H, Nakajo K, Washio J, Fukumoto S, Takahashi N: Divalent cations enhance short-time fluoride exposure-induced inhibition on acid production by oral streptococci. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 178-180, 2012. February.
11. Abiko Y, Sato T, Sakashita R, Takahashi N: Subgingival plaque biofilm microflora of elderly subjects: quantitative analysis of *Porphyromonas gingivalis* and genotyping of its virulence-associated *fimA*. In: K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.) Interface Oral Health Science 2011, Springer, New York, 176-177, 2012. February.

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

高橋 信博 (TAKAHASHI, NOBUHIRO)  
東北大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号: 60183852

##### (2)研究分担者

小関 健由 (KOSEKI, TAKEYOSHI)  
東北大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号: 80291128

泉福 英信 (SENPUKU, HIDENOBU)  
国立感染症研究所・細菌第一部・部長  
研究者番号: 20250186

坂本 光央 (SAKAMOATO, MITSUO)  
独立行政法人理化学研究所・微生物材料開発室・協力研究員  
研究者番号: 50321766

鷺尾 純平 (WASHIO, JUMPEI)  
東北大学・大学院歯学研究科・助教  
研究者番号: 20400260