

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23792498

研究課題名(和文)メタボロミクスで紐解く口腔バイオフィルムの病原活性～in vivoでの解明～

研究課題名(英文)The elucidation of the pathogenic activity of oral biofilm by Metabolomics approach

研究代表者

鷲尾 純平(Washio, Jumpei)

東北大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：20400260

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：口腔バイオフィルム(OB)内の諸基質の代謝及び薬物や代用糖などによる実際の影響を、CE-TOFMSを用いたメタボローム解析手法でin vivoで解明することを試みた。

その結果、OB中では、糖以外にグルタミン、グルタミン酸などが実際に基質として利用されること、また、各種アミノ酸は、各々特徴的な代謝で分解されることが示唆された。また、実際のOBにおいても、フッ化物は糖代謝(エノラーゼ阻害及び乳酸産生抑制)に影響することが観察され、さらに他の代謝反応にも影響することが示唆された。一方、キシリトールは、洗口後にキシリトール5リン酸の蓄積が見られたが、OB内の糖代謝はほとんど抑制しないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to elucidate, in vivo, the metabolism of several substrates in the oral biofilm and the actual influences of medicines such as fluoride and sugar substitutes such as xylitol to them through the metabolomic analysis approach using CE-TOFMS.

Consequently, it showed that, as well as sugar, the amino acids, especially glutamine and glutamate, are actually used as substrates in the oral biofilm. Moreover, it suggested that each amino acid is fermented by its respectively characteristic metabolism. The study also showed that fluoride can influence the sugar metabolism, including the inhibition of enolase and acid production, in the real oral biofilm as well, and suggested that fluoride affects some other metabolic reactions. In contrast, xylitol was suggested to have almost no effect on acid production and the metabolome profile in the oral biofilm, although xylitol 5-phosphate was produced.

研究分野：口腔生化学、予防歯科学

キーワード：メタボローム バイオフィルム 代謝 細菌 糖質 代用糖 アミノ酸

1. 研究開始当初の背景

生物は代謝活性を通じてエネルギーを獲得する際に、多様な代謝産物を産生する。口腔バイオフィルムの大半を形成する細菌も生物であり、その代謝活性は、う蝕、歯周病などの口腔疾患や口臭の発生・増悪等に直接関与していると考えられている。しかし、実際の口腔バイオフィルムが、“何を”、“どのように代謝し”、またその結果産生された“どんな代謝産物”が疾患発生に関与しているのか?については、ほとんど知見がない。

そのメカニズムの全容解明のためには、これらの多様な代謝産物の網羅的な解析(メタボローム解析)を行い、代謝の全体像を捉えることが必要である。しかしこれまで、口腔バイオフィルムの代謝については、サンプル量が微量に限られるため、技術的制限から研究されてこなかった。また、フッ化物などの薬物やキシリトールなどの代用糖による影響についても、*Streptococcus* 属等の代表的な単菌を用いた *in vitro* のモデル研究結果を基に推測され、実際の口腔バイオフィルムにおける効果はほとんどわかっていない。近年、キャピラリー電気泳動と飛行時間型質量分析計を組み合わせた装置(CE-TOFMS)が開発され、微量サンプル中のメタボローム解析技術が飛躍的に向上した。本装置では、これまで解析が難しかったリン酸化合物なども含む代謝産物の大多数の検索が可能である。そこで我々は本装置を用いて、糖代謝時の口腔バイオフィルム中の糖代謝関連代謝中間体(解糖系、クエン酸回路、ペントースリン酸経路)のメタボローム解析技術の確立を試み、その成果を報告した(Takahashi et al, J Dent Res, 2010)。しかし実際には、共存するアミノ酸やヌクレオチドなどの代謝も同時に活性化することが予測され、さらに幅広い代謝産物を対象とした検討を通し、代謝の全容を解明し口腔バイオフィルムの持つ真の病原性をさらに探ることが重要だと考えている。また、代用糖や薬剤等による影響などを、実際の口腔バイオフィルムを用いて *in vivo* で検証・解明することで様々な新知見が期待されるほか、本技術の確立・システム化は新たな予防方法の検証・開発時にも大きく寄与する可能性が期待できる。このような CE-TOFMS によるメタボローム解析を用いた口腔バイオフィルムに関する研究は、国内外にまだなく、極めて独創性が高いと考えている。

2. 研究の目的

口腔バイオフィルムの病原性はそれを構成する微生物の種類と数だけで決まるのではなく、構成細菌叢のもつ代謝活性(代謝産物や代謝に関する酵素活性)と密接に関係する。しかしサンプル量が微量であることから、そ

の代謝活性の全容は、これまで検討することが難しかった。近年、キャピラリー電気泳動・飛行時間測定型質量分析計(CE-TOFMS)を用いたメタボローム解析法が確立し、微量サンプル中の代謝産物の網羅的解析が可能となった。そこで本研究では、これまで *in vitro* のモデル実験で推定せざるをえなかった口腔バイオフィルムの代謝の全容を *in vivo* で検証・解明し、口腔バイオフィルムの真の病原活性や、口腔バイオフィルムに対する薬物(フッ化物など)や代用糖などによる影響を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) CE-TOFMS を用いた口腔バイオフィルム内のアミノ酸解析

インフォームドコンセントを得た被験者より、微量(10 mg程度)の口腔バイオフィルムを採取した。

速やかに含有代謝産物をメタノール抽出、さらにクロロホルム、milliQを加え、メタボローム測定の際の夾雑物質となるリン脂質を液液分配で除去し、さらに限外濾過フィルターを用いた長時間冷却遠心で除タンパク処理したものを測定資料とした。次いで CE-TOFMS を用いて、特にアミノ酸を対象としたメタボローム解析を行った。

(2) 口腔バイオフィルムのアミノ酸代謝に関する解析

インフォームドコンセントを得た被験者より得たプラークに、各種アミノ酸を添加し、一定時間 37℃にて反応させた際の含有代謝産物量の変化を、同様に処理した試料を用いて解析した。また、上記の反応時に産生されるアンモニア量も合わせて測定した。

(3) 薬剤(フッ化物)や代用糖(キシリトール)による口腔バイオフィルム内糖代謝への影響

これまで単菌を用いた *in vitro* のモデル実験結果で推測されてきた、キシリトールなどの代用糖やフッ化物などの薬剤による糖代謝抑制効果を、本手法を用いて実際の口腔バイオフィルムを用いた *in vivo* の実験で検証した。

被験者より、グルコース溶液、キシリトール溶液及びグルコース・キシリトール混合溶液の洗口前後、またフッ化物洗口 10 分後に行ったグルコース溶液洗口の前後にプラークバイオフィルムを採取し、糖代謝経路(解糖系、ペントースリン酸回路、TCA 回路)の代謝中間体・代謝産物、及びキシリトール 5 リン酸を対象とした CE-TOFMS によるメタボローム解析を行った。

(4) 代用糖の代謝及び、糖及び代用糖代謝時のアミノ酸の挙動

被験者より、グルコース、ソルビトール及びキシリトール溶液洗口の前後にプラークバイオフィルムを採取し、糖代謝経路（解糖系、ペントースリン酸回路、TCA 回路）の代謝中間体・代謝産物および各種アミノ酸を対象とした CE-TOFMS によるメタボローム解析を行った。

4. 研究成果

(1)CE-TOFMS を用いた口腔バイオフィルム内のアミノ酸解析

歯垢中には各種アミノ酸やアミノ酸代謝関連物質が検出された。中でも glutamate (3.30 ± 0.60 nmol/mg plaque) が最も多く、valine、aspartate、glycine と続いた。

一方、唾液中のアミノ酸についても同様の解析を行ったところ、その主たる組成が、大きく異なった。

口腔内細菌のエネルギー代謝には、アミノ酸も関与しているが、それらのアミノ酸は唾液中より取り入れるだけではないことが示唆された。

(2)口腔バイオフィルムのアミノ酸代謝に関する解析

特にどのようなアミノ酸を代謝するのかに関する知見を得るため、で検出したアミノ酸のうち、口腔バイオフィルム内に特に多く検出されたアミノ酸をプラークに代謝させた際のアンモニア産生量を測定したところ、glutamine から最も多く、asparagine、arginine、glutamate などが続いた。特に glutamine および glutamate が口腔バイオフィルム中のアンモニア産生の主な産生源であることが示唆された。

また、同時に口腔バイオフィルム内の他の代謝物質の変動についてもメタボローム解析を用いて確認したところ、アンモニアの産生と共に glutamine から glutamate が、glutamate から 2-oxoglutarate が、aspartate から fumarate が、arginine から citrulline や ornithine が、各々特徴的に産生されることが確認された。

以上の結果より、各種アミノ酸は、口腔バイオフィルム中でそれぞれ特徴的な代謝によって分解・利用されアンモニアが産生されていることが明らかとなった。

(3)薬剤（フッ化物）や代用糖（キシリトール、ソルビトール）による口腔バイオフィルム内代謝への影響

キシリトール洗口後の口腔バイオフィルム内には、キシリトール5リン酸が検出されたものの、乳酸は産生されなかった。一方、

グルコース・キシリトール混合溶液で洗口後のプラークではキシリトール5リン酸が蓄積したが、グルコース単独洗口時と比べ、他の代謝中間体、乳酸量に特に有意な差は見られなかった。

以上から、キシリトールは口腔バイオフィルムの酸産生基質にはならないが、グルコース代謝を殆ど抑制していないことが示された。これまで *Streptococcus mutans* などの単菌を用いて行われてきた研究と知見が異なったが、口腔バイオフィルム内に実際に存在する *S.mutans* の比率は低いことから、このような相違が観察された可能性が考えられた。

一方、フッ化物洗口により各種代謝中間体の増減及び乳酸の減少が観察されたことから、フッ化物は口腔バイオフィルムの糖代謝に影響し酸産生を抑制することが示された。代謝中間体の変動解析から、*in vitro* で観察されてきたエノラーゼ阻害を含め、F は種々の代謝反応に影響することが示唆された。

(4)代用糖の代謝及び、糖及び代用糖代謝時のアミノ酸の挙動

糖アルコールの一つであるソルビトールは、いくつかの口腔内細菌によって代謝されることが示唆されているが、実際の口腔バイオフィルム内でも洗口後に、ソルビトール 6-リン酸や各種糖代謝関連中間体が確認され、口腔バイオフィルムによってソルビトールが代謝されることが示されたが、乳酸産生量はグルコース洗口時の 9.7% と僅かであった。

一方、ピルビン酸は 25%、アセチル CoA は 65% であったことから、ソルビトールから解糖系を経て産生されるピルビン酸の大部分は乳酸へ代謝されるのではなく、アセチル CoA を経由して代謝されることが示唆された。

また、糖及び代用糖代謝時のアミノ酸の挙動を解析したところ、グルコース洗口時にはほとんどのアミノ酸が減少（平均 25%）したのに対し、ソルビトール洗口時には増加（平均 46%）した。キシリトール洗口時には糖代謝経路がほぼ機能しておらず、アミノ酸はグルコース洗口時と同様の減少傾向を示した。

糖及び代用との代謝時には、アミノ酸代謝の挙動にも大きな影響が及んでいることが示唆された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計9件)

Tanda N, Hinokio Y, Washio J, Takahashi N, Koseki T: Analysis of ketone bodies in exhaled breath and blood of ten healthy Japanese at OGTT using a portable gas chromatograph. J

Breath Res 8(4): 046008, 9 pages, 2014. doi: 10.1088/1752-7155/8/4/046008、査読有

Ogawa T, Washio J, Takahashi T, Echigo S, Takahashi N: Glucose and glutamine metabolism in oral squamous cell carcinoma: insight from a quantitative metabolomic approach. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 118(2): 218-225, 2014. Aug. doi: 10.1016/j.oooo.2014.04.003.、査読有

Washio J, Shimada Y, Yamada M, Sakamaki R, Takahashi N: Hydrogen sulfide production by oral Veillonella: effect of pH and lactate. Appl Environ Microbiol 80(14): 4184-4188, 2014. May 2. doi:10.1128/AEM.00606-14、査読有

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. January. doi: 10.1016/j.jdent.2013.11.006、査読有

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

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. July 31.、査読有

<http://dx.doi.org/10.4012/dmj.2013-060>

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

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. December、査読有

Takahashi N, Washio J: Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm in vivo. J Dent Res 90(12): 1463-1468, 2011. December、査読有

Ishiguro K, Washio J, Sasaki K, Takahashi N: A novel method for real-time monitoring of bacterial metabolic activity. The 93rd IADR General Session & Exhibition, 13 March, 2015, Boston, USA

Washio J, Yamamoto Y, Takahashi N: Nitrite inhibition on streptococcal acid-production and its biochemical mechanism. The 93rd IADR General Session & Exhibition, 12 March, 2015, Boston, USA

鷺尾純平, 山本祐慈, 高橋信博: 亜硝酸塩の Streptococcus mutans 酸産生抑制機構をメタボロミクスで解明する, 第 56 回歯科基礎医学会学術大会, 2014 年 9 月 27 日, 福岡

石黒和子, 鷺尾純平, 佐々木啓一, 高橋信博: 蛍光色素を用いた細菌の代謝活性リアルタイム・モニター法の確立, 第 56 回歯科基礎医学会学術大会, 2014 年 9 月 26 日, 福岡

鷺尾純平, 高橋信博: ヒト・プラークの糖アルコール代謝: メタボロミクスのアプローチ, 第 55 回歯科基礎医学会学術大会, 2013 年 9 月 22 日, 岡山

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

Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Takahashi N: Involvement of tooth surface solubility in Stephan curve. The 2nd IADR-APR (Asia Pacific Region), 22 August, 2013, Bangkok, Thailand

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

Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Takahashi N: Stephan curve and tooth surface solubility at tooth-bacteria interface. 91st IADR, March 23, 2013, Seattle, USA

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

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

小川珠生, 鷺尾純平, 高橋 哲, 高橋信博: メタボローム解析から見た口腔扁平上皮癌の糖・アミノ酸代謝の特徴, 第 57 回日本口

腔外科学会総会・学術大会, 2012年10月19-21日, 横浜
鷺尾純平, 月星陽介, 渡邊基博, 鈴木啓佑, 高橋信博: 口腔プラークバイオフィルム中のアミノ酸組成およびその代謝に伴うアンモニア産生に関するメタボロミクス的考察, 第7回メタボロームシンポジウム, 2012年10月10-12日, 鶴岡
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 -, 第54回歯科基礎医学会学術大会, 2012年9月16日, 郡山
石黒和子, 鷺尾純平, 佐久間陽子, 竹内裕尚, 佐々木啓一, 高橋信博: 蛍光色素 alamar Blue® を用いたバイオマテリアル付着歯周病関連細菌定量法, 第54回歯科基礎医学会学術大会, 2012年9月15日, 郡山
Ogawa T, Washio J, Echigo S, Takahashi N: Metabolome analysis of oral squamous cell carcinoma using CE-TOFMS. The 90th IADR, June 22, 2012, Iguazu Falls, Brazil
Washio J, Ogawa T, Suzuki K, Tsukiboshi Y, Watanabe M, Takahashi N: Amino acid composition and amino-acid degrading activity of dental plaque. The 90th IADR, June 21, 2012, Iguazu Falls, Brazil
高橋信博, 真柳 弦, 中條和子, 鷺尾純平, 佐藤拓一, 竹内裕尚, 佐久間陽子, 松尾 洋, 末永華子, 鈴木 治, 佐々木啓一: バイオマテリアル - パラサイト・インターフェイスへの挑戦 - バイオマテリアルの生物学的劣化の理解へ -. 九州大学応用力学研究所平成23年度共同利用研究集会「力学適応能、自己組織化能を有するバイオマテリアル - 生体インターフェイスの創製 (福岡) 2012年3月2日
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
真柳 弦, 五十嵐公英, 鷺尾純平, 中條和子, 土門-依谷ひと美, 高橋信博: イオン感受性電界効果型トランジスタ微小 pH 電極による細菌 - 歯科修復材料・インターフェイス pH 測定, 粉体粉末冶金協会 平成23年度秋季大会 (第108回講演大会) (大阪), 2011年10月26-28日
②④Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Nakajo K, Domon-Tawaraya H, Takahashi N: Evaluation of pH at the bacteria-restorative material interface. 第59回 JADR 学術大会, 2011年10月8日, 広島
②②Kawashima J, Nakajo K, Washio J, Shimauchi H, Takahashi N:

Fluoride-tolerance of Actinomyces acid production and its enhancement by bicarbonate. 第59回 JADR 学術大会, 2011年10月8日, 広島
②③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, 2011年10月1日, 岐阜
②④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, 2011年9月24日, 京都
②⑤Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Nakajo K, Domon-Tawaraya H, Takahashi N: Evaluation of pH using an ISFET at the interface between bacteria and restorative materials. The 6th International Workshop on Nano-, Bio- and Amorphous Materials (Zao, Miyagi, Japan), August 8-9, 2011.
②⑥川嶋順子, 中條和子, 鷺尾純平, 島内英俊, 高橋信博: 根面齲蝕関連菌 Actinomyces の酸産生活性とそれに及ぼす環境 pH、重炭酸、フッ化物の影響. 日本歯科保存学会第134回学術大会 (千葉), 2011年6月9-10日
②⑦丹田奈緒子, 檜尾好徳, 由浪有希子, 鷺尾純平, 高橋信博, 小関健由: 口腔環境を考慮した糖負荷試験時呼気中アセトン測定と血中ケトン体との関連. 第54回日本糖尿病学会年次学術集会 (札幌), 2011年5月19-21日

〔図書〕(計10件)

(翻訳担当) 鷺尾純平: 第14章 齲蝕進行のコントロール: 非修復的処置 (The control of disease progression: non-operative treatment) pp. 228-231, 第15章 口腔衛生の役割 (Role of oral hygiene) pp. 232-239, 第19章 食事指導の役割 (The role of dietary control) pp. 300-325, 医歯薬出版株式会社, 2014.
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」 - , 歯界展望特別号, 190, 医歯薬出版株式会社, 2013 (#025)
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 - , 歯界展望特別号, 294, 医歯薬出版株式会社, 2013 (#013)
Hitomi Domon-Tawaraya, Kazuko Nakajo, Jumpei Washio, Satoshi Fukumoto, Nobuhiro Takahashi: 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, pp. 178-180, 2012.
February

Junko Kawashima, Kazuko Nakajo,
Jumpei Washio, Hidetoshi Shimauchi,
Nobuhiro Takahashi: Actinomyces acid
production: Effects on bicarbonate and
fluoride at neural and acid pH. In: K.
Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.)
Interface Oral Health Science 2011,
Springer, New York, pp. 189-191, 2012.
February

Gen Mayanagi, Koei Igarashi, Jumpei
Washio, Kazuko Nakajo, Hitomi
Domon-Tawaraya, Nobuhiro Takahashi:
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, pp. 192-194, 2012.
February

Yoko Sakuma, Jumpei Washio, Yasuhisa
Takeuchi, Keiichi Sasaki, Nobuhiro
Takahashi: 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, pp.
201-203, 2012. February

Tanda N, Hinokio Y, Washio J,
Takahashi N, Koseki T: Breath acetone in
type 1 and type 2 diabetes mellitus. In: K.
Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi (eds.)
Interface Oral Health Science 2011,
Springer, New York, pp. 212-214, 2012.
February

Jumpei Washio, Gen Mayanagi,
Nobuhiro Takahashi: 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, pp.
218-220, 2012. February

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, pp. 334-340, 2012.
February

〔産業財産権〕

特になし

〔その他〕

ホームページ等なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鷲尾 純平 (Washio, Jumpei)

東北大学大学院歯学研究科・助教