

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K11698

研究課題名(和文) 感染根管フローラの構造と機能解析 - バイオインフォマティクスの歯内治療への応用

研究課題名(英文) Structure and functional potential of intracanal microbiome: Bioinformatics for endodontic therapy

研究代表者

八巻 恵子 (Yamaki, Keiko)

東北大学・歯学研究科・非常勤講師

研究者番号：90182419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、唾液やプラークと比較した根管内細菌叢の特徴を把握することである。根尖性歯周炎に罹患した歯を有する患者13名から同意を得て、唾液、プラーク、患歯の根管壁象牙質切片を収集し、細菌DNAを抽出、16S rRNA遺伝子のV3-V4領域をターゲットに増幅、標識し、イルミナMiSeq上でシーケンシングを行い、QIIME2を用いて多角的に解析した。その結果、唾液やプラークの細菌叢に比べ、根管内細菌叢はより嫌気的で、Firmicutes門が多く、ActinobacteriotaおよびProteobacteria門が少ないこと、同一個人でも差を生じることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

根尖性歯周炎は歯科臨床現場において高頻度で遭遇する歯内疾患であり、その原因は根管に侵入定着した口腔細菌である。約1000種とされるヒト口腔細菌のうち一人が保有するのは100-200種のため、感染根管から検出される細菌はレポートにより大きく異なる。現在、根尖性歯周炎の病因は特定の菌ではなく、細菌叢すなわち多種多様な細菌の集合体と考えられており、次世代シーケンサー(NGS)を利用した細菌叢の解析が進行中である。本研究を通じて明らかとなった感染根管内の細菌叢の特徴を踏まえ、従来の標準治療法より普遍的かつ効率的な根管治療法が開発され、国民の健康増進に資することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Microbial composition of infected root canals varies consistently among reports. To determine the characteristics of the endodontic microbiome, the intracanal flora of apical periodontitis in 13 patients were profiled and compared with the profiles of their saliva and plaque. Infected root canal wall dentin was harvested from the involved teeth and their saliva and plaque were collected. Bacterial DNA was extracted from the samples and 16S rRNA gene analysis targeting the V3-V4 region was conducted on the Illumina MiSeq platform using QIIME2. The functional potential of the microbiomes was inferred using PICRUSt2. The endodontic microbiomes were more anaerobic, rich in Firmicutes, and scarce in Actinobacteriota and Proteobacteria, compared with saliva and plaque microbiomes. Despite their difference in structure and membership, the nine most abundant metabolic pathways were common among them. The intra-individual variance in endodontic microbiome was also found.

研究分野：歯内治療学

キーワード：根尖性歯周炎 根管内細菌叢 16S rRNA遺伝子 メタ16S解析

1. 研究開始当初の背景

根尖性歯周炎は日常の歯科臨床で遭遇することの多い歯内疾患である。原因は根管内の細菌感染で、その主たるものは口腔細菌である。根管内の感染は複合感染で、う蝕における *Streptococcus mutans*、あるいは歯周病における Red group に該当するような「根尖歯周組織に対する病原性の強い菌」というものはまだ特定されていない。むしろ細菌の検出・同定手法の進化により、根管から検出される細菌種は増大する一方で、症例により大きく異なる。

これまで、ヒト口腔細菌として 700-1000 種以上の細菌が報告されている。一人が保有する細菌種は 100-200 種以内とされており、口腔内細菌叢にはそもそも大きな個人差が存在する。さらに患歯の条件、すなわち、根管治療歴の有無 (primary/secondary) や口腔との交通の有無なども、根管内で定着・増殖できる細菌種を限定・選択する要因となる。

さまざまな研究を通じて、根管内の細菌の種類やその存在比率が異なってもその結果発現する病態は似通っていることが明らかになり、近年では細菌叢そのものを根尖性歯周炎の病原と捉えるようになり、個々の特定細菌ではなく、細菌叢全体の機能特性が注目されるようになった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、根管内の細菌叢を遺伝子集団パンゲノムとしてとらえ、メタゲノム解析を含む分子生物学的手法によるプロファイリングを試み、根尖性歯周炎の病態にかかわる細菌群およびその代謝産物を明らかにすることである。個人の保有する口腔細菌のうち、どの細菌が根管に侵入、定着しやすいのか、その選択圧を追究するため、根尖性歯周炎に罹患した歯の根管壁象牙質だけでなく、患歯を保有する当人の唾液および歯肉縁上プラークを採取し、メタ 16S 解析により 3 者のプロフィールを比較する。得られたプロフィールを基に、根管内細菌叢で営まれている機能を予測し、根尖性歯周炎の臨床症状との相関について検討する。

3. 研究の方法

(1) 対象および試料の採取法

東北大学大学院歯学研究科研究倫理専門委員会の承認のもとに、東北大学病院歯周病科を受診した根尖性歯周炎を有する患者 13 名から、インフォームドコンセントを取得、患歯の臨床診査を行ってから感染根管壁象牙質、唾液、プラークを採取、解析するまで -80 で冷凍保存した。患歯には、試料採取後、通法に従い感染根管治療を施した。

象牙質：滅菌器具を用い、術野の消毒と無菌操作を徹底して収集した。primary の場合は髓腔開拓後、secondary の場合は根充材除去後、手用の H / K ファイルを根管に挿入し根管壁を削去し、象牙質削片の付着した刃部を生理食塩水 500 μ L の入ったサンプルチューブに投入した。十分量の削片が採取できるまで、ファイルサイズを順次増大させながらこの操作を繰り返した。

唾液：患者が 50mL チューブに吐出した全唾液から 1 mL をピペットで採取し、サンプルチューブに移送した。

プラーク：グレーシーキュレットを用いて歯肉縁上プラークを採取し、サンプルチューブ内の生理食塩水 1 mL に懸濁させた。

(2) DNA 抽出

各サンプルから QIAamp UCP Pathogen Mini Kit を用いて DNA を抽出、精製した。

(3) メタ 16S 解析

ユニバーサルプライマーを用いて 16S rRNA V3-V4 領域を増幅、標識したのちイルミナ MiSeq でシーケンシングを行い、SILVA を参照データベースとし QIIME2 を用いて解析、属レベルまで同定、多様性指標の推定、PCoA その他の多重解析、PICRUST2 による機能推計を行った。

4. 研究成果

(1) 13 名における結果

唾液、プラーク、根管試料 (RC) のいずれも大きな個人差を認めた。平均的な傾向として、唾液は Actinobacteriota および Proteobacteria 門が多く、プラークは Actinobacteriota と Fusobacteriota 門が多かった。唾液やプラークと比較すると、RC 中には Firmicutes 門に属する細菌が多く、Actinobacteriota および Proteobacteria 門に属する細菌が少なかった。13 例の平均的な細菌構成を図 1 に示す。

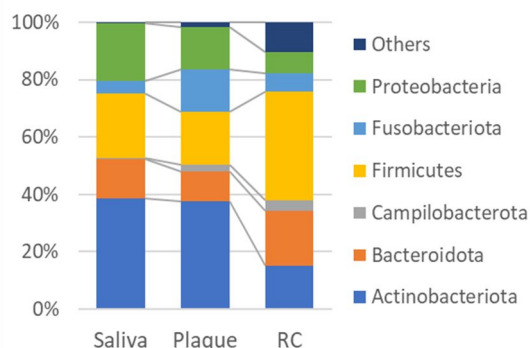


図 1. 菌叢内の門別占有率

サンプル中に含まれる taxon 数の平均は、唾液で 30.8、プラークで 30.1、RC で 23.5 であった (図 2)。

各菌叢を代表する細菌として、検出例数が多くかつ菌叢内に占める割合も高い属を抽出すると、唾液における代表的な細菌は、*Rothia*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Veillonella*, *Porphyromonas* などが該当した。同様にプラークでは *Rothia*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Neisseria*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Prevotella*, *Corynebacterium* が菌叢内に高頻度で、かつ優勢に存在する代表的菌種であった。これら 8 菌種より占有率はやや

劣るものの、*Campylobacter*, *Campylobacter*, *Veillonella* もほぼ全例のプラークから検出され、少数ながらプラーク構成細菌の常連と思われた。この結果は、唾液やプラーク中の構成細菌を調べた過去の研究とも一致している。RC では、*Pseudoramibacter* および *Fusobacterium* が高頻度かつ高占有率で検出された。唾液やプラーク中の頻出菌である *Streptococcus*, *Rothia*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Leptotrichia* も RC から高頻度で検出されたが、菌叢中の占有率は唾液やプラークに比し低かった。感染根管からの検出報告の多い *Olsenella* と *Mogibacterium* は RC の 7 例で検出され、検出率、占有率、ともに唾液やプラークより高かった。*Campylobacter* は唾液 10 例、プラーク 11 例から検出されたが、RC から検出されたのは 4 例のみであった。しかしその 4 例における *Campylobacter* の占有率は唾液やプラークにおけるより著しく高かった。RC 中には唾液やプラークと共通する細菌も存在するものの、その占有率は唾液やプラーク中とは大きく異なり、偏性嫌気性菌である *Pseudoramibacter* および *Fusobacterium*, *Olsenella*, *Mogibacterium* が優勢であるなど、RC は唾液やプラークとは系統的に菌叢構造が異なることが判明した。

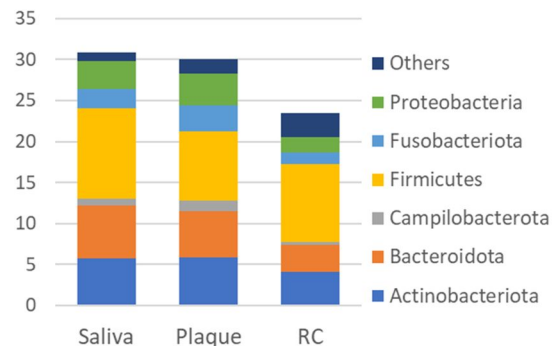


図 2. サンプル中の taxon 数

(2) 同一人における 2 例の比較

根尖性歯周炎に罹患した歯を 2 本有する患者があり、唾液やプラークと比較するだけでなく、相互比較を通じて同一個人に発症した 2 例の根管内細菌叢を比較することができた。

患者は 58 歳男性、降圧剤服用中の非喫煙者であった。下顎右側側切歯 (FDI 表記で 42) に根尖部圧痛、下顎左側中切歯 (FDI 表記で 31) に水平打診痛があり、デンタル写真でともにアンダー根充と根尖部透過像が確認された。いずれも適合良好な歯冠補綴物が装着されており、瘻孔は存在せず、臨床所見は非常に似通っていた。しかしメタ 16S 解析の結果、42 と 31 の根管内細菌叢の構造は唾液やプラークと異なるだけでなく、図 3、4 に示すように互いに異なることが判明した。

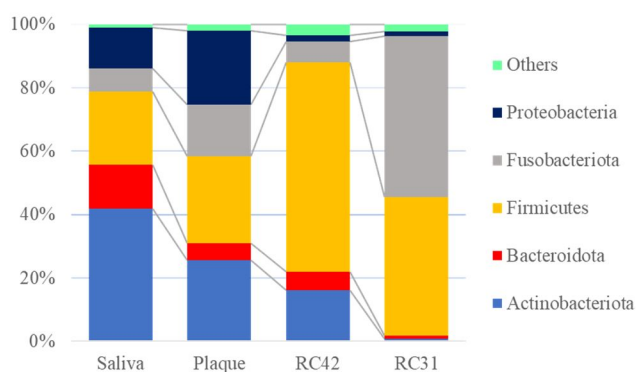


図 3. 門別占有率

42 および 31 の根管内細菌叢 (RC42 と RC31) は、唾液 (Saliva) やプラーク (Plaque) と比べ Firmicutes 門が多く、Actinobacteriota 門と Proteobacteria 門が少ないのが共通した特徴である。

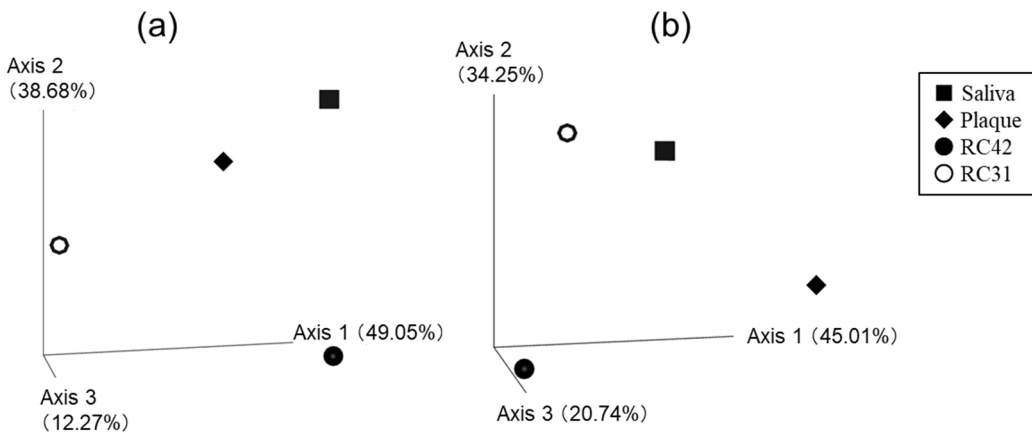


図4. 三次元主座標分析 (PCoA)
UniFrac 距離を定量的に加味 (a: weighted) または定性的に加味 (b: unweighted) した主座標分析。(a)、(b)いずれにおいても4つの細菌叢のプロット位置が離れており、菌叢構造が異なることが示された。

各サンプルの上位6菌属を集計すると全部で15となり、多い順に *Fusobacterium*, *Rothia*, *Pseudoramibacter*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Dialister*, *Actinomyces*, *Anaeroglobus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Leptotrichia*, *Stomatobaculum*, *Campylobacter*, *F0332*, *Capnocytophaga* であった。いずれも唾液やプラークの代表的な構成細菌であり、根管からの検出例も多い。このうち根管から高頻度で検出され歯内疾患の病原菌候補と目されているのは *Dialister*, *Pseudoramibacter*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Campylobacter*, *Prevotella* であり、本研究の根管からも検出された。

菌叢中の通性/偏性嫌気性菌の割合は、唾液が50.0%、プラークが67.6%、RC42が89.0%、RC31が98.0%で、根管内の菌叢はより嫌气的であることが示された。特にRC31はいずれも偏性嫌気性菌である *Pseudoramibacter* が41.5%、*Fusobacterium* が50.7%を占め、嫌気度が極めて高く、PICRUSt2による機能予測で他のサンプルに比べ嫌気呼吸が際立っていた。嫌気性菌が約90%のRC42においても、好気呼吸がエネルギー効率の悪い嫌気呼吸に勝っていた(図5)。

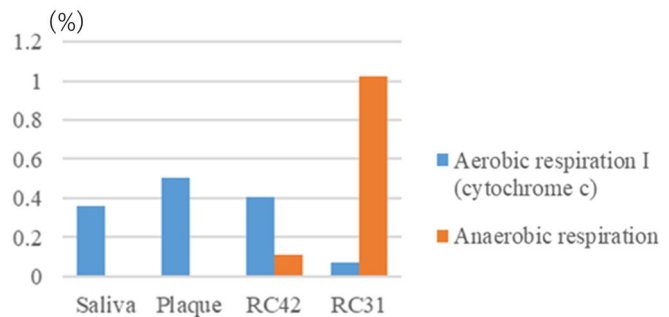


図5 好気呼吸と嫌気呼吸

PICRUSt2による機能予測では、菌叢構造が異なるにもかかわらず、4つのサンプルの上位機能(1~9位)は共通していた。多種多様な細菌の複合体 = microbiome が営む機能は、その細菌構成や菌叢構造が異なっても相関性が高いと推測された。下位ながら、RC42とRC31間に比較的大きな差を認めた代謝機能を図6に示した。

RC31でGlycolysis、すなわち嫌气的解糖が顕著なのは、偏性嫌気性菌が圧倒的優位を占める菌叢構造から説明できる事象である。緊縮応答の指標であるppGpp代謝がRC31で高いのは、31の根管環境が細菌生育にとって厳しいことを示しており、過去の根管治療、つまり根管の拡大、清掃、消毒等により栄養源となる有機物が極端に乏しいこと

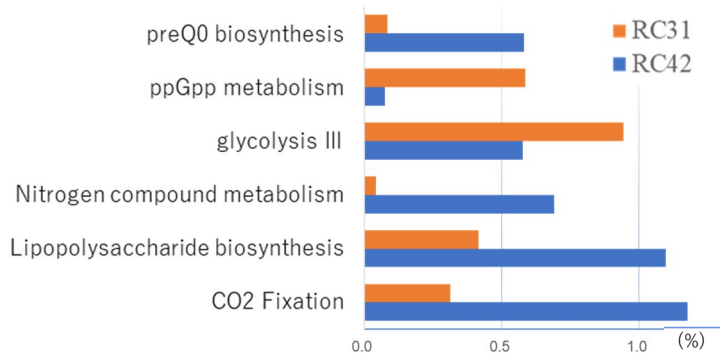


図6. RC42とRC31間に差を認めた予測機能

がつかがわれた。緊縮応答を示している、すなわちストレス下にある細菌は生菌状態の維持を優先するために、細胞の成長生育・分裂を抑制することが知られており、RC31でpreQ0生成や窒

素化合物代謝、LPS 産生などが RC42 に比して低いのは、緊縮応答の影響と解釈できる。また、RC31 中のグラム陰性菌の割合が 55.4%と RC42 における 78.2%より低いことも、RC31 で LPS 産生が低い一因と思われる。こうした根管内環境の差、すなわち今回の場合は嫌気度と栄養条件の差が、RC42 と RC31 における下位の予測機能に差を生じたと考えられる。

(3) 結論

唾液やプラークと比較すると、根管内細菌叢はより嫌気的で、Firmicutes 門に属する菌が多く、Actinobacteriota および Proteobacteria 門に属する菌は少ない。根管内の菌叢構造は、唾液やプラークの菌叢構造と系統的に異なる。根管内菌叢における予測機能の上位は、唾液やプラークと共通している。同一個人であっても、根管内菌叢は症例によって大きく異なる。

<引用文献>

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germfree and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20(3): 340-9.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26(2): 255-73.

Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol* 2000 2006; 42: 80-7.

Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* 2019; 37(8): 852-7.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(Database issue): D590-6.

Douglas GM, Maffei VJ, Zaneveld JR et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nat Biotechnol* 2020; 38(6): 685-8.

Lee E, Park S, Um S et al. Microbiome of Saliva and Plaque in Children According to Age and Dental Caries Experience. *Diagnostics* 2021; 11(8): 1324.

Özok AR, Persoon IF, Huse SM et al. Ecology of the microbiome of the infected root canal system: a comparison between apical and coronal root segments. *Int Endod J* 2012; 45(6): 530-41.

Martinho FC, Leite FRM, Arruda-Vasconcelos R, Louzada LM, Darveau RP, Gomes BPF. Influence of Bacterial Profiles in Cytokine and Clinical Features of Endodontic Disease. *J Endod* 2021; 47(8): 1265-71.

Irving SE, Choudhury NR, Corrigan RM. The stringent response and physiological roles of (pp)pGpp in bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2021; 19(4): 256-71.

McCarty RM, Somogyi A, Lin G, Jacobsen NE, Bandarian V. The deazapurine biosynthetic pathway revealed: in vitro enzymatic synthesis of PreQ(0) from guanosine 5'-triphosphate in four steps. *Biochemistry* 2009; 48(18): 3847-52.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Wakui Anna, Sano Hiroto, Kawachi Miho, Aida Ayaka, Takenaka Yuta, Yonezawa Akane, Nakahata Nana, Moriyama Sachie, Nishikata Mayumi, Washio Jumpei, Abiko Yuki, Mayanagi Gen, Yamaki Keiko, Sakashita Reiko, Tanaka Kaori, Takahashi Nobuhiro, Sato Takuichi	4. 巻 63
2. 論文標題 Bacterial concentration and composition in liquid baby formula and a baby drink consumed with an artificial nipple	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 161 ~ 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2021.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Wakui Anna, Sano Hiroto, Hirabuki Yuka, Kawachi Miho, Aida Ayaka, Washio Jumpei, Abiko Yuki, Mayanagi Gen, Yamaki Keiko, Tanaka Kaori, Takahashi Nobuhiro, Sato Takuichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Profiling of Microbiota at the Mouth of Bottles and in Remaining Tea after Drinking Directly from Plastic Bottles of Tea	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dentistry Journal	6. 最初と最後の頁 58 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/dj9060058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sano Hiroto, Wakui Anna, Kawachi Miho, Washio Jumpei, Abiko Yuki, Mayanagi Gen, Yamaki Keiko, Tanaka Kaori, Takahashi Nobuhiro, Sato Takuichi	4. 巻 63
2. 論文標題 Profiling system of oral microbiota utilizing polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 292 ~ 297
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2021.05.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 SANO Hiroto, WAKUI Anna, KAWACHI Miho, KATO Rito, MORIYAMA Sachie, NISHIKATA Mayumi, WASHIO Jumpei, ABIKO Yuki, MAYANAGI Gen, YAMAKI Keiko, SAKASHITA Reiko, TOMIDA Junko, KAWAMURA Yoshiaki, TANAKA Kaori, TAKAHASHI Nobuhiro, SATO Takuichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Profiling of microbiota in liquid baby formula consumed with an artificial nipple	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 163 ~ 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.40.163	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Keiko Yamaki, Jumpei Washio, Toru Tamahara, Takuichi Sato
2. 発表標題 The composition and structure of oral microbiome: 16S rRNA gene analysis on saliva, plaque, infected root canals obtained from a patient.
3. 学会等名 The 69th annual meeting of Japanese Association for Dental Research
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wakui A, Sano H, Kawachi M, Maruyama S, Masuda N, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Yamaki K, Takahashi N, Okada Y, Sato T.
2. 発表標題 Profiling of microbiota of baby-drinks after drinking with artificial nipples.
3. 学会等名 The Update Symposium 7 in the 62nd Annual Meeting of Japanese Association for Oral Biology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kawachi M, Maruyama S, Masuda N, Sano H, Wakui A, Yamaki K, Washio J, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Oral microbiota analyzing system: Profiling by PCR-RFLP method.
3. 学会等名 The 62nd Annual Meeting of Japanese Association for Oral Biology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sano H, Wakui A, Washio J, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling system of oral microbiota utilizing PCR-RFLP analysis.
3. 学会等名 The 4th Asia Pacific Regional Congress of the International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakui A, Sano H, Kawachi M, Kato R, Moriyama S, Nishikata M, Washio J, Yamaki K, Sakashita R, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling of microbiota of liquid baby formula after drinking with artificial nipples.
3. 学会等名 The 4th Asia Pacific Regional Congress of the International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakui A, Sano H, Kawachi M, Kato R, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling of microbiota in baby-drinks and liquid baby formula consumed with an artificial nipple.
3. 学会等名 The Update Symposium 2 in the 61st Annual Meeting of Japanese Association for Oral Biology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sano H, Wakui A, Washio J, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling system of oral microbiota using PCR-RFLP method.
3. 学会等名 The 61st Annual Meeting of Japanese Association for Oral Biology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakui A, Sano H, Aihara H, Kawachi M, Takahashi A, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Ishiguro K, Yamaki K, N. Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling of microbiota of baby-drinks after drinking with artificial nipples.
3. 学会等名 第66回国際歯科研究学会日本部会 (JADR) 学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Wakui A, Sano H, Washio J, Yamaki K, Tomida J, Tanaka K, Kawamura Y, Sato T.
2. 発表標題 Oral anaerobes in saliva and intraoperative bronchial fluids of elderly patients with pulmonary carcinoma.
3. 学会等名 The Inaugural Forsyth Symposium - The Uncultivable Bacteria (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相原 瞳、涌井杏奈、佐野拓人、河内美帆、鷺尾純平、安彦友希、真柳 弦、八巻恵子、高橋信博、佐藤拓一.
2. 発表標題 ニブルを通して飲んだ際の、ペビー飲料内への口腔細菌の流入
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sano H, Wakui A, Aida A, Takenaka Y, Yonezawa A, Nakahata N, Aihara H, Kawachi M, Vidanapathirana GU, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Ishiguro K, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling of microbiota in plastic bottles after drinking straight from bottles.
3. 学会等名 The 6th Conference on SLJCR (Sri Lanka-Japan Collaborative Research) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sano H, Wakui A, Aida A, Takenaka Y, Yonezawa A, Nakahata N, Aihara H, Kawachi M, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Ishiguro K, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Profiling of microbiota at the mouth of plastic bottles.
3. 学会等名 The 96th IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sano H, Aida A, Vidanapathirana GU, Wakui A, Hirabuki Y, Takenaka Y, Kawachi M, Aihara H, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Ishiguro K, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Microbiota profiling at the mouth of plastic bottles after drinking straight from bottles.
3. 学会等名 International Symposium for Multimodal Research and Education in IOHS-Liaison 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Aida A, Sano H, Wakui A, Hirabuki Y, Takenaka Y, Kawachi M, Vidanapathirana GU, Washio J, Abiko Y, Mayanagi G, Ishiguro K, Yamaki K, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 A microbiological study on bacteria in the PET bottles after drinking.
3. 学会等名 第65回JADR総会・学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sano H, Hirabuki Y, Wakui A, Aida A, Abiko Y, Yamaki K, Mayanagi G, Washio J, Takahashi N, Sato T.
2. 発表標題 Quantification and composition of remaining bacteria in plastic bottles after drinking.
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	佐藤 拓一 (Sato Takuichi) (10303132)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	鷺尾 純平 (Washio Jumpei) (20400260)	東北大学・歯学研究科・准教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関