

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390424

研究課題名(和文) 実験病理学的難治性根尖性歯周炎モデルの開発とその化学的制御法の検討

研究課題名(英文) Development of experimental pathologic refractory periapical periodontitis model and investigation of its chemical supplemental methods

研究代表者

野杣 由一郎 (Noiri, Yuichiro)

大阪大学・歯学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50218286

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、未解明である難治性根尖性歯周炎の病態と根尖孔外バイオフィームの関係を開発するモデル上で検索し、さらにその難治性疾患の化学的制御法の有用性を検討することを目的とした。開発したモデル上で、根尖孔外バイオフィームの存在が根尖病巣の増大に関与することをin vivoで初めて解明した。化学的制御法の開発は、単一細菌種根尖孔外バイオフィームモデルの開発が困難で方向転換し、根管治療モデルの開発にほぼ成功した為、将来その成果を発表する予定である。一方、バイオフィームに伴う高病原化細菌の検索では、*Eikenella corrodens*が、普遍的に高病原化しLuxSが深く関与していることを発表した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research challenge is to search on the model to develop a relationship of pathology and extraradicular biofilm of refractory periapical periodontitis and to evaluate the usefulness of chemical control method against this intractable diseases. We revealed for the first time that the presence of extraradicular biofilm is involved in the increase of apical lesions by using the developed model in vivo. We began the development of the root canal treatment (RCT) model instead of the development of the single bacterial species extraradicular biofilm model, because of the difficulty of infection by single bacterial species, and the RCT model almost succeeded. Thus, we will publish the results in the future. On the other hand, in search of highly pathogenic bacterium associated with biofilms, we reported that the pathogenicity of *Eikenella corrodens* become highly universally and LuxS affects biofilm maturation and detachment.

研究分野：歯科保存学

 キーワード：バイオフィーム 難治性根尖性歯周炎 根尖孔外 マイロCT 抗バイオフィーム薬 ラット 高病原化細菌 *Eikenella corrodens*

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは一連のデンタルバイオフィルム研究から、根尖性歯周炎の難治化に根尖孔外バイオフィルムが関与していることを報告した。そして、その実態解明を行うとともに種々のバイオフィルム評価系を確立した。一方、機械的コントロールに偏重したバイオフィルムの制御・抑制法に対し、クオラムセンシングなど新規の概念に基づいて化学療法剤の開発研究を行い、いくつかの化学物質や薬剤がバイオフィルムに有効であることを *in vitro* で解明した。

2. 研究の目的

上記した背景のもと、本研究では、根尖孔外バイオフィルムと難治性根尖性歯周炎に焦点を当て、その病態モデルを実験動物で作製し、得られるモデル上で化学療法の有効性を検討する。他方でバイオフィルム形成時に高い病原活性を示す細菌種とバイオフィルム形成時の関連遺伝子等を探究することを目的として行われた。

3. 研究の方法

(1). 過剰根管充填材を利用したラットにおける根尖孔外バイオフィルムモデルの開発

下記の研究は全て、大阪大学歯学研究科および工学研究科の動物実験委員会の承認を得て実施した。(承認番号: 22-003-2, 23-2-1)

実験には 5 週齢雄性 Wistar 系ラット (日本クレア, 東京) 24 匹を用いた。実験的根尖病巣の形成は、Kawahara らの方法に準じて行った。実験動物に全身麻酔を施し、下顎両側第一臼歯を露髄させ、実験的に根尖性歯周炎を惹起した。その後、ガッタパーチャポイント (以下、GP と略す) を下顎右側第一臼歯の近心根に、根尖孔を越えた位置まで挿入し、被験歯とした。GP が根尖孔から 1 mm 越えることを想定し、GP はあらかじめ全長 5 mm の長さに切断し、近心頬側咬頭を基準点として挿入した。下顎左側第一臼歯には GP を挿入せず対照歯とした。露髄 6 および 8 週後に組織学的観察、微細形態学的観察および遺伝子学的分析によって根尖孔外バイオフィルムを検索した。

組織学的観察

露髄 6 および 8 週後にペントバルビタールナトリウムの過剰投与により屠殺した (各期間 4 匹)。下顎第一臼歯を含む下顎骨を摘出し、軟組織を除去したうえで、浸漬固定 (4°C) 後、低温脱灰を施した。脱灰終了後、0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄し、OCT コンパウンドに包埋した。凍結ブロック中の試料を、クリオスタット (CM3050S, Leica, Germany) を用いて薄切し、厚さ 8 μm の連続凍結切片を作製した。

得られた切片は染色時まで凍結保存し、細菌バイオフィルムを観察するため、切片に Taylor の Brown - Brenn 染色²⁰⁾を施した後、光学顕微鏡 (ECLIPSE Ni-U, Nikon, 東

京) 下の観察に供した。

微細形態学的観察

露髄 6 および 8 週後に屠殺し (各期間 4 匹)、下顎両側第一臼歯をスプーンエキスカベータを用いて抜去した。得られた抜去歯試料を、生理食塩水と 0.1 M カコジル酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) にて洗浄後、Asahi 5 の方法に準じて調整し、白金蒸着を施した。調整した試料は、走査型電子顕微鏡 (以下、SEM と略す) (JSM 6390 LV, 日本電子) 観察に供した。

遺伝子学的分析

露髄 6 および 8 週後に屠殺し (各期間 4 匹)、下顎両側第一臼歯を抜去した。抜去後、被験歯からは根尖孔外の GP と、根尖から 1 mm 歯冠側部までのセメント質表層をスプーンエキスカベータにて全周搔把し採取した。対照歯においては根尖から 1 mm 歯冠側部までのセメント質表層を全周搔把し採取した。採取したものを根尖孔外試料とし InstaGene matrix を使用して遺伝子を抽出し、ユニバーサルプライマー (63f: CAGGCCTAACACA TGCAAGTC, 1387r: GGGCGGWGTGTAC AAGGC) を用いて DNA を増幅した。PCR 産物をアガロース - RE にエチジウムブロマイドを含有させ作製した 1% アガロースゲル上に電気泳動後、分子量約 1300 bp に相当するバンドを 16S rRNA の配列が正しく増殖された PCR 産物と判断した。

(2). ラットにおける根尖孔外バイオフィルム細菌の同定・定量

前述の (1) 項と同一の方法で 5 週齢雄性 Wistar 系ラット 30 匹の下顎両側第一臼歯に根尖性歯周炎を惹起させ、露髄 4 週後に下顎右側第一臼歯の近心根に、全長 5 mm の長さに切断した GP を、近心頬側咬頭を基準点として根尖孔を越えた位置まで挿入し、これを被験歯とした。下顎左側第一臼歯には GP を挿入せず対照歯とした。

根管内・根尖孔外バイオフィルム形成細菌の同定

実験方法の詳細は、発表論文番号 を参照。

リアルタイム PCR による根尖孔外バイオフィルム細菌の定量

露髄 6, 8, 12, 16 および 20 週後に、前述の (1) 項と同一の方法で被験歯と対照歯から根尖孔外試料を採取し (各期間 4 匹) 同一の方法で DNA を増幅した。増幅中の蛍光シグナルの検出は各サイクルの終了後に行った。更に増幅終了後、60°C から 95°C へ温度を上昇させ、この間 0.5°C の間隔で蛍光シグナルを検出して融解曲線を作製し、増幅産物の特異性を確認した。

検量線を作成するための標準試料には *Enterococcus faecalis* SS497 を用いた。データは 7500 System SDS Software Version 2.0.2 を用いて解析した。

(3). マイクロ CT による根尖病巣体積の経時的三次元計測

前述の 1. 項と同一の方法で GP を、近心頬

側咬頭を基準点として根尖孔を越えた位置まで挿入し、これを被験歯とした。下顎左側第一臼歯には GP を挿入せず対照歯とした。露髄1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, および 20 週後の各時点において、全身麻酔後、マイクロ CT (R_mCT 2, RIGAKU, 東京) にて顎骨を撮影した。撮影条件は管電圧 90 kV、管電流 160 μ A、スライス幅 20 μ m に設定し、画像解析ソフトは TRI 3D-BON (RATOK, 東京) を使用した。CT 値を BMD 値に変換する検量線を作製し、病巣体積を算出し被験歯と対照歯の病巣体積を比較検討した。また被験歯においては、露髄 4 週後に GP を挿入した後、根尖孔外の GP の長さを、前述の画像解析ソフトを用いて計測した。

(4) 統計学的解析

前述の (2), (3) 項において、被験歯と対照歯における細菌量・病巣体積の統計学的有意差の検定は Student's *t* test を用いて、危険率 5% で評価した。また、各期間の細菌量の差については、一元配置分散分析を用いて危険率 5% にて統計学的有意差を検討した。

(1)-(4) 項の実験の方法とその結果の詳細は、発表論文番号 を参照頂きたい。

・続いて、根尖孔外バイオフィームと難治化との関連を解明するために、根尖孔外バイオフィームを形成した後に根管治療を行うモデルが必要である。そこで、根尖孔外バイオフィーム形成の足場である GP をバイオフィーム形成後に除去するモデルの開発と、根管治療モデルの開発に着手した。

(5) ラット根尖孔外バイオフィームモデルの改良

5 週齢雄性 Wistar 系ラットを実験に用いた。ラットの顎両側第一臼歯をラウンドバーにて露髄させ、露髄後 4 週に GP を根尖孔外まで挿入し、2 週後に GP を引き抜く実験群、GP を引き抜かない陽性対照 (PC) 群、GP を挿入しない陰性対照 (NC) 群の 3 群に群分けした。露髄後 4 週から 8 週までそれぞれの群の根尖病巣をマイクロ CT で撮影し、骨形態解析ソフトを用いて根尖病巣体積を前項(3)と同一の方法で経時的・三次元的に計測した。また、露髄後 8 週にラットを屠殺した後、下顎第一臼歯を抜去し、全ての群で根尖孔外バイオフィームの存在を前項(1)- 項と同一の方法で SEM にて確認した。

(6) ラット根管治療モデルの開発

5 週齢雄性 Wistar 系ラットを実験に用いて前項(1)項と同一の方法で、根尖性歯周炎を惹起させた。露髄 4 週後に、特別発注したラット用クランプを用いてラバーダム防湿を行い、右側は手用 K ファイル、Ni Ti ローターファイルを用いて根管拡大、根管形成を行った後、シングルポイント法および垂直加圧充填法にて根管充填し、仮封を行い治療群とした。左側は根管治療を行わず根管を開放し対照群とした。治療群および対照群への処置はすべて実体顕微鏡下にて行った。根管治療直後および 2, 4, 6 週後にマイクロ CT で撮

影を行い、骨形態計測ソフト (TRI 3D-BON) を用いて根尖病変体積の測定を行った。また、根管治療での細菌除去を確認するために、根管治療直後の歯牙を抜去し、凍結破砕後 DNA を抽出し、ユニバーサルプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い根管内の細菌量を定量した。治療群と対照群の統計学的有意差の検定は Student's *t*-test を用いて危険率 5% で評価した。

4. 研究成果

(1) 過剰根管充填材を利用したラットにおける根尖孔外バイオフィームモデルの開発

組織学的検索

露髄 8 週後の被験歯と対照歯の根尖孔付近の Brown-Brenn 染色像では、全ての被験歯で根尖孔外にグラム陰性菌を中心としたバイオフィーム形成が観察されたが、全ての対照歯において炎症性細胞浸潤は認めるものの根尖孔外にバイオフィームは観察されなかった。露髄 6 週後の試料においても、同様に被験歯においてのみ根尖孔外バイオフィームが観察された。

微細形態学的検索

露髄 6 週後の全ての試料において、被験歯では根尖孔外の GP 表面、根尖付近セメント質にまばらに細菌バイオフィーム様構造が観察された一方、対照歯では根尖孔外に細菌は観察されなかった。露髄 8 週後の試料においても、同様に被験歯では根尖孔外の GP 表面や根尖付近セメント質にバイオフィーム様構造が観察されたが、対照歯では観察されなかった。

遺伝子学的解析

アガロースゲル電気泳動の結果、被験歯では露髄6 および 8 週後の全ての根尖孔外試料において 1300bp 付近に明瞭なバンドがみられた。一方、対照歯では露髄 6 および 8 週後の全ての根尖孔外試料においてバンドは検出されなかった。

(2) ラットにおける根尖孔外バイオフィーム細菌の同定・定量

根管内・根尖孔外バイオフィーム形成細菌の同定

結果は、発表論文 を参照頂きたい。

リアルタイム PCR による根尖孔外細菌の定量

各期間における根尖孔外に存在する細菌量は、全ての期間において被験歯の細菌量は対照歯に比べ有意に多く検出された ($p < 0.05$)。また、被験歯の細菌量は、露髄 20 週後まで経時的な増加傾向を示した。

(3) マイクロ CT による根尖病巣体積の経時的三次元計測

露髄 4 週後の被験歯における、根尖孔外の GP の長さを計測した際の画像では、GP の長さの平均は 0.996 mm、標準偏差は 0.0779 mm であった。GP は想定した深さ (根尖孔を越えて約 1 mm) まで均一に挿入

されていることが確認された。各期間における根尖病巣体積を示した(図1)。被験歯、対照歯ともに根尖病巣体積は露髄 4 週後にピークを迎え、その後わずかに減少傾向を示した。被験歯に GP を挿入した後は、露髄 6 週後には有意差はなかったものの、露髄 8 週後から 20 週後まで被験歯の根尖病巣体積は対照歯に比べ有意に大きかった ($p < 0.05$)。

* (4)ラット根尖孔外バイオフィームモデルの改良

実験的根尖性歯周炎の根尖病巣は実験群、陽性・陰性対象群(PC・NC)とも露髄 4 週後にピークに達し、その後減少傾向を認めた。露髄後 8 週において実験群の根尖病巣は両対照群に比べ増大した(図1)($p < 0.05$)。SEM 像の観察結果より、露髄 6, 8 週後に実験群では根尖孔外バイオフィームの存在を確認した。

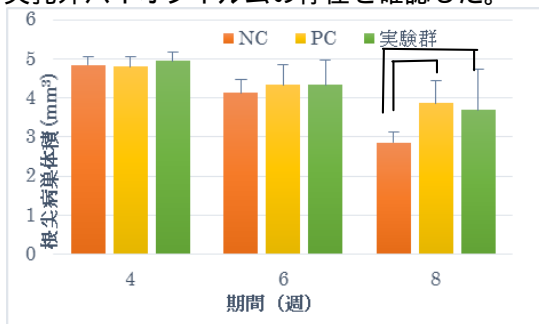


図1 . 根尖病巣体積の変化

アガロース電気泳動法においても実験群で根尖孔外サンプルより細菌遺伝子が検出され、今回解析した根尖病巣には根尖孔外バイオフィームが関与していることが示された。

・上記(1)-(4)項の結果の詳細は、**発表論文を参照頂きたい。**

(5) ラット根管治療モデルの開発

根管充填後のマイクロ CT 画像より、ラット下顎第一臼歯の 4 根管に根管充填が良好に行えていることが確認された。そして確認された治療群の根尖病巣はすべてが縮小傾向を示し、6週目以降病巣体積は対照群と比較して有意に減少した(図2)($p < 0.05$)。

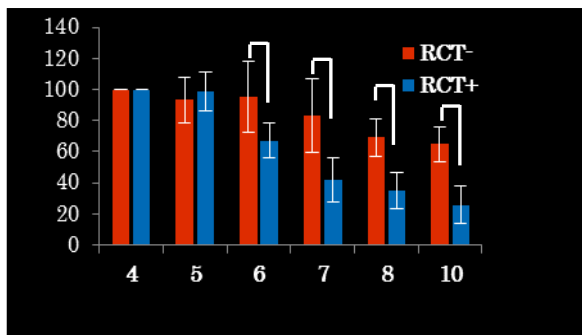


図2 . 感染根管治療後の根尖病巣体積の変化

また、リアルタイムPCRの結果から治療群の細菌量は対照群と比較して有意に減少した($p < 0.05$)。以上より、今回用いた手技により根尖性歯周炎を治癒させうる量まで根管内細

菌を除去できており、ラットにおいてもヒトでの治療に近い成功率で感染根管治療できることを目指して実験を行っている。

このラット感染根管治療モデルを応用することにより、計画したが実施不可能であった化学的制御法の *in vivo*での評価が可能になると思われる。

一方、高病原化細菌のバイオフィーム関連遺伝子の検索の方法と結果については、発表論文番号 を参照頂きたい。

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 15 件) *

Asahi Y, Miura J, Tsuda T, Kawabata S, Tsunashima K, Noiri Y, Sakata T, Ebisu S, Hayashi M. (2015): Simple observation of *Streptococcus mutans* biofilm by scanning electron microscopy using ionic liquids. *AMB Express* 5:6(査読有). 10.1186/s13568-015-0097-4

Yamamoto R, Noiri Y, Yamaguchi M, Asahi Y, Maezono H, Ebisu S, Hayashi M. (2015): Inhibition of polysaccharide synthesis by the *sinR* orthologue PGN0088 is indirectly associated with the penetration of *Porphyromonas gingivalis* biofilms by macrolide antibiotics. *Microbiology* 161:422-429 (査読有). 10.1099/mic.0.000013

Kuremoto K, Noiri Y, Ishimoto T, Yoneda N, Yamamoto R, Maezono H, Nakano Y, Hayashi M, Ebisu S. (2014): Promotion of endodontic lesions in rats by a novel extraradicular biofilm model using obturation materials. *Applied Environmental microbiology* 80: 3804-3810 (査読有). 10.1128/AEM00421-14

Asahi Y, Noiri Y, Miura J, Maezono H, Yamaguchi M, Yamamoto R, Azakami H, Hayashi M, Ebisu S. (2014): Effects of the tea catechin Epigallocatechin Gallate on *Porphyromonas gingivalis* biofilms. *J Appl Microbiol*113: 1164-1171(査読有). 10.1111/jam.12458

Azakami H, Uehara M, Matsuo R, Yamashita Y, Usui M, Kato A (2014): Unstable mutant lysozymes are degraded though the interaction with calnexin homologue *cnelp* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 78: 1263-1269(査読有). 10.1080/09168451.2014.918486

Karim MM, Nagao A, Mansur FJ, Matsunaga T, Akakabe Y, Noiri Y, Ebisu S, Kato A, Azakami H. (2013): The periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens* produces an autoinducer-2-inactivating enzyme. *Biosci Biotechnol Biochem.* 77: 1080-1085(査読有). 10.1271/bbb.130047

Karim MM, Nagao Y, Mansur FJ, Matsunaga T,

Akakabe Y, **Noiri Y**, Ebisu S, Kato A, Azakami H. (2013): LuxS Affects Biofilm Maturation and Detachment of the Periodontopathogenic Bacterium *Eikenella corrodens*. J Biosci Bioeng 116: 313-318(査読有).

10.1016/j.jbiosc.2013.03.013

Yamaguchi M, **Noiri Y**, Yamamoto R, Asahi Y, Maezono H, Kuramoto K, Hayashi M, Ebisu S. (2013): *Porphyromonas gingivalis* biofilms persist after chlorhexidine treatment. Euro J Oral Sci 121: 162-168(査読有).

10.1111/eos.12050

Yamamoto R, **Noiri Y**, Yamaguchi M, sahi , Maezono H, Kuboniwa M, Hayashi M, Ebisu S. (2013): The sinR ortholog PGN_0088 encodes a transcriptional regulator that inhibits polysaccharide synthesis in *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 biofilms. PLOS one 8: e-56017 (査読有).

10.1371/journal.pone.0056017

Asahi Y, **Noiri Y**, Igarashi J, Suga H, Azakami H, Ebisu S. (2012): Synergistic effects of antibiotics and an N-acyl homoserine lactone analogue on *Porphyromonas gingivalis* biofilm. J Appl Microbiol112: 404-411(査読有).

10.1111/j.1365-2672.2011.05194x

朝日陽子, **野杣由一郎** (2014) : 新時代の歯内療法 ビデンスとアートの融合 2. 難治症例の実態と対応 バイオフィーム感染症にフォーカスして . 歯科医療 28 : 12-19(査読無).

野杣由一郎(2014) : 巻頭 SCIENCE 1 枚の写真から 第 7 回歯内療法の夜明け . ザ・クインテッセンス 33: 3-5(査読無).

山口幹代, **野杣由一郎**(2013) : 根尖歯周組織における免疫防御のメカニズムとその治療 4. 根尖性歯周炎と細菌 バイオフィーム形成を中心に . 歯科医療 27: 27-34(査読無).

山口幹代, **野杣由一郎**(2013) : 根尖病変への対応を再考する 根尖孔外バイオフィームと根尖性歯周炎の難治化 . 歯科評論 72: 27-34 (査読無).

高橋雄介, 吉岡靖介, 朝日陽子, 永山智崇, **野杣由一郎**, 林美加子(2013): う蝕象牙質除去後の残存細菌に Er:YAG レーザーが与える影響. 日歯保存誌 56: 1-8(査読有).

[学会発表](計 21 件)

松井沙織, **野杣由一郎**, 呉本勝隆, 米田直道, 恵比須繁之, 林 美加子: 実験病理学的根尖孔外バイオフィームモデルの開発 . 第 12 回日本顕微鏡歯科学会学術大会, 2015, 4, 18, 東京 .

Mansur FJ, 森重なつみ, **野杣由一郎**, 阿座上弘行 : Autoinducer-2 inactivation by outer membrane porin in periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens*. 日本農芸化学会, 2015, 3, 29, 岡山 .

高原沙里, 下川床愛, **野杣由一郎**, 阿座上

弘行 : 歯周病原性細菌 *Eikenella corrodens* におけるゲノム再編による溶血活性の発現. 日本農芸化学会, 2015, 3, 27, 岡山 .

Wake N, Asahi Y, **Noiri Y**, Machi H, Ebisu S, Hayashi M.: Time-dependent analysis of dental biofilms by novel in situ model. The 93th International Association for Dental Research, 2015,3,14, Boston, USA.

Noiri Y, Asahi Y, Takahashi Y, **Ebisu S**, Hayashi M: A study on the control of residual dental biofilm by the dental laser. Devision of Photon Science and Technology the institute for Academic Initiatives Osaka University-100 Opto Researches of Osaka University, 2015,1,14, Osaka, Japan.

Wake N, Asahi Y, **Noiri Y**, Machi H, Ebisu S, Hayashi M.: Quantitative analysis of human dental biofilms by new in situ model. The 62nd Japanese Association for Dental Research, 2014,12,4 大阪 .

呉本勝隆, **野杣由一郎**, 米田直道, 松井沙織, 石本卓也, 中野豊由, 林 美加子, 恵比須繁之: ラット根尖孔外バイオフィームモデルの改良 . 第 140 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2014,10,31, 山形 .

米田直道, **野杣由一郎**, 呉本勝隆, 松井沙織, 石本卓也, 中野豊由, 林 美加子, 恵比須繁之: ラット感染根管治療モデルの開発 . 第 140 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2014,10,31, 山形 .

住岡龍一, 中田匡宣, **野杣由一郎**, 川端重忠, 林美加子 : *Streptococcus sanguinis* が産生する過酸化水素は好中球の細胞死を誘導する . 第 140 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2014,10,30, 山形 .

北川蘭奈, 北川晴朗, **野杣由一郎**, 林 美加子 : MTA を用いて歯根尖切除術と同時に穿孔部閉鎖術を施した症例 : 症例報告 . 日本歯内療法学会西日本支部会第 14 回研修会, 2014,9,7, 大阪 .

Manusr F, Karim M, **Noiri Y**, Azakami H : Purification and characterization of autoinducer-2 inactivating enzyme in periodontopathogenic bacterium *Eikenella corrodens*. IUMS 2014,7,30, Montreal, Canada.

野杣由一郎 : 『新時代の歯内療法 : エビデンスとアートの融和』難治症例の実態と対応: バイオフィーム感染症にフォーカスして . 第 35 回日本歯内療法学会学術大会, 2014,7,12, 新潟 .

朝日陽子, 栗木菜々子, 三浦治郎, 町 博之, **野杣由一郎**, 林 美加子, 恵比須繁之 : デンタルバイオフィーム形成に関する in situ 解析~微細形態学的観察~ . 第 139 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2013,10,18, 秋田.

恵比須繁之, **野杣由一郎** : - バイオフィーム 私たちをとりまく環境と健康との関わり デンタルバイオフィームを探求す

る。第 27 回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会, 2013,7,12, 東京。

Yamaguchi M, Noiri Y, Ito Y, Komichi S, Hayashi M: Investigation on factors causing refractory periapical periodontitis in general practices. 9th International Federation of Endodontic Association, 2013,5,26, Tokyo.

Furuya Y, Takeda Y, Noiri Y, Hayashi M: Effectiveness of CT and MTA for endodontic surgery: A case report. 9th International Federation of Endodontic Association, 2013,5,25, Tokyo.

Kuremoto K, Noiri Y, Ishimoto T, Yoneda N, Maezono H, Nakano T, Hayashi M, Ebisu S: Time course micro-CT analysis of periapical lesions using extraradicular biofilm model in rat. 9th International Federation of Endodontic Association, 2013,5,25, Tokyo.

Asahi Y, Noiri Y, Maezono H, Yamaguchi M, Sakiyama R, Hayashi M, Ebisu S: Effects of sub-MIC green tea catechin on *Porphyromonas gingivalis* Biofilm. The 91th International Association for Dental Research, 2013,3,22, Siattle, USA.

Maezono H, Noiri Y, Asahi Y, Yamaguchi M, Yamamoto R, Kuremoto K, Hayashi M, Ebisu S: Altered protein expressions by subminimum inhibitory concentrations of azithromycin on *Porphyromonas gingivalis* biofilms. 6th American Society of Microbiology Conference on Biofilms, 2012,10,3, Miami, USA.

Yamaguchi M, Noiri Y, Asahi Y, Maezono H, Yamamoto R, Kuremoto K, Hayashi M, Ebisu S: Dispersal of *Porphyromonas gingivalis* biofilm induced by environmental factors and proteases. 6th American Society of Microbiology Conference on Biofilms, 2012,10,3, Miami, USA.

②① Yamamoto R, Noiri Y, Yamaguchi M, Asahi Y, Maezono H, Yamamoto R, Kuremoto K, Hayashi M, Ebisu S: Role of PGN_0088 of *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation and antibiofilm effect of macrolide antibiotics. 6th American Society of Microbiology Conference on Biofilms, 2012,10,3, Miami, USA.

②② 呉本勝隆, 野杵由一郎, 石本卓也, 永山智崇, 騎馬和歌子, 前園葉月, 山本れいこ, 米田直道, 中野貴由, 林 美加子, 恵比須 繁之: 根尖孔外バイオフィルムモデルにおけるラット根尖病巣のマイクロCT解析。第 136 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2012,11,23.

②③ 藪根敏晃, 野杵由一郎, 山本れいこ, 山口幹代, 朝日陽子, 前園葉月, 永山智崇, 呉本勝隆, 騎馬和歌子, 林 美加子, 恵比須 繁之: 難治性根尖性歯周炎に関わるバイオフィルム構成細菌種と臨床症状との関係。第 136 回日本歯科保存学会春季学術大会,

平成 24 年 6 月 29 日, 沖縄。

②④ 吉岡靖介, 野杵由一郎, 高橋雄介, 藪根敏晃, 朝日陽子, 永山智崇, 古谷 優, 栗本絵里子, 北川蘭奈, 武田侑子, 大嶋 淳, 山本由美子, 住岡龍一, 永井真澄, 坂東秀典, 林 美加子: 軟化象牙質除去後の残存細菌に対して Er:YAG レーザーが与える影響。第 136 回日本歯科保存学会春季学術大会, 平成 24 年 6 月 29 日, 沖縄。

〔図書〕(計 1 件)

興地隆史, 野杵由一郎, 村松 敬(2015): 第 5 章根尖性歯周組織疾患; エンドドンテックス (興地隆史, 須田英明, 中村洋編集主幹, 阿南壽, 五十嵐 勝, 石井信之, 勝海一郎, 林 美加子, 松島 潔), 第 4 版永末書店, 東京, 48-61.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

記載事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野杵 由一郎 (NOIRI YUICHIRO)

大阪大学・大学院歯学研究科・准教授

研究者番号: 50218286

(2) 研究分担者

・ 恵比須 繁之 (EBISU SHIGEYUKI)

大阪大学・大学院歯学研究科・理事・副学長

研究者番号: 50116000

・ 阿座上 弘行 (AZAKAMI HIROYUKI)

山口大学・農学部・准教授

研究者番号: 40263850

・ 前園葉月 (MAEZONO HAZUKI)

平成 24 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 7 月 15 日

・ 大阪大学・大学院歯学研究科・医員

研究者番号: 0613390

・ 朝日陽子 (ASAHI YOUKO)

大阪大学・学院歯学研究科・助教

研究者番号: 50456943

(3) 連携研究者

・ 中野貴由 (NAKANO TAKAYOSHI)

大阪大学・大学院工学系研究科・教授

研究者番号: 30243182