

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390471

研究課題名(和文) 漢方薬を応用した口腔保健管理による入院患者への医療支援の確立

研究課題名(英文) Establishment of the medical support to inpatients by oral health management applied with Kampo medicine

研究代表者

日野出 大輔 (HINODE, Daisuke)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：70189801

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：基礎研究にて、抗がん剤5-FUは活性酸素増生により細胞死を促進し、大黄甘草湯(TJ-84)は5-FUが誘導する細胞死の抑制効果を認めた。臨床研究では、食道がん化学療法患者への専門的口腔ケア介入にて重傷口腔粘膜炎発症を軽減し、TJ-84は薬剤効果により歯周病関連細菌のF. nucleatum及びC. rectusに作用して有意に細菌数を減少させ、歯肉の炎症を軽減した。本知見は、漢方薬を応用した口腔保健管理によるがん患者への医療支援の有用性を示すものである。

研究成果の概要(英文)：The results of basic research indicated that the increase of reactive oxygen species production was considered to be associated with the cell death induced by 5-FU and TJ-84 may attenuate 5-FU-induced cell death. The results of clinical research showed that the onset of severe oral mucositis was reduced by intervention of professional oral health care for esophagus cancer patients during chemotherapy. TJ-84 acted as a drug effect on periodontopathogenic bacteria, F. nucleatum and C. rectus and significantly decreased a number of these bacteria in addition to reduced gingival inflammation. These findings suggest that it may be useful for cancer patients in supportive cure by oral health management applied with Kampo medicine.

研究分野：予防歯科学

キーワード：漢方薬 歯周病原細菌 専門的口腔ケア 抗がん剤 口腔粘膜炎 食道がん 口腔保健管理 大黄甘草湯

## 1. 研究開始当初の背景

### 【基礎研究】

抗癌剤 5-fluorouracil (5-FU)は、副作用として口腔粘膜の細胞死を促進させ、口腔粘膜炎を引き起こす。これまでに我々は、大黃甘草湯(TJ-84)の漢方薬成分が歯周病原菌の付着を抑制することや、歯肉由来の細胞での炎症性サイトカイン産生を抑制することを明らかにしている。しかし、TJ-84が抗癌剤による口腔粘膜炎に有効であるかは不明である。また、5-FUによりミトコンドリアから放出される ROS が、口腔粘膜を傷害し細胞死を誘導することがわかっている。近年、ミトコンドリア由来の ROS により、インフラマソーム NLRP3 が活性化するという報告がされた。しかし、NLRP3 が、口腔粘膜において 5-FU が誘導する細胞死に関与するかは不明である。

### 【臨床研究】

近年、入院患者の QOL を高めると同時に早期の回復にも寄与できる包括医療の観点から、入院患者への歯科医療介入が求められている。がん化学療法患者では重篤な口腔粘膜炎を併発することが多く、専門的な対応が必須である。口腔粘膜炎発症時には口腔内に常在するグラム陰性桿菌が潰瘍部位から血行性に広がり、局所的または全身的な感染症を引き起こすリスクを高めると考えられている。専門的口腔ケアは、より質の高いがん治療を提供させるための重要ながん支持療法であるとされているが、専門的口腔ケアの効果の更なる検証が求められている。また、化学療法中の口腔粘膜炎予防として漢方薬を応用した効果に関して報告はされているが、その詳細は明らかではない。

## 2. 研究の目的

### 【基礎研究】

5-FU が口腔粘膜において細胞死を誘導する機序を ROS や NLRP3 に着目して解明し、TJ-84 の効果について検討する。

### 【臨床研究】

食道がん化学療法患者に対するがん支持療法としての専門的口腔ケアの効果明らかにする。更に、食道がん化学療法患者に対して通常の専門的口腔ケアに加え、TJ-84 を含む漢方薬を応用した口腔保健管理を行う。口腔粘膜炎の発症に加えて口腔内の病態や口腔細菌の変化を調べることで、漢方薬の有効性を検討することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### 【基礎研究】

- (1) 細胞：ヒト歯肉癌由来細胞株 Sa3 細胞 (RIKEN Bio Resource Center から譲与) を、10% FBS 含有 DMEM 培地にて、通法に従い培養し実験に用いた。
- (2) 薬剤：大黃甘草湯は TJ-84 顆粒 (Tsumura & Co) を熱湯で各濃度に溶解して使用した。抗癌剤の 5-fluorouracil (5-FU) は Injection 250 Kyowa (協和発酵) を細胞培養液中に、各濃

度となるように添加した。

### (3) 細胞死の判定

WST-8 Cell Counting Kit-8 assays を用いて細胞の生存率を測定した。培養上清中の Lactate dehydrogenase (LDH) 活性を、LDH cytotoxicity assay kits により測定した。細胞膜ポアの有無を 1  $\mu\text{g/mL}$  Propidium iodide (PI) 及び 1  $\mu\text{g/mL}$  Hoechst33342 の染色にて判定した。

### (4) NLRP3 経路活性化の判定

培養細胞から蛋白質を調整し、Western blot 法により NLRP3 や caspase-1 の発現変化を解析した。Quantikine ELISA (R&D systems) を用いて IL-1 $\beta$  の分泌量を測定した。siRNA (5'-GUUGCAAGAUCUCUCAGCA-3') により NLRP3 発現を抑制し、各現象における NLRP3 の関与について検討した。

### (5) ミトコンドリア膜電位差の変化

培養細胞内のミトコンドリア膜電位の変化を 5, 5', 6, 6'-tetrachloro-1, 1', 3, 3'-tetraethyl-benzimidazol-carbocyanin iodide (JC-1) を作用させて蛍光顕微鏡下で観察し、細胞内の蛍光強度を NIH ImageJ software により定量化した。

(6) ROS の測定：ミトコンドリアの局在を MitoTracker® Green FM、surperoxide の存在を MitoSOX™ Red で検出して、細胞内の蛍光強度を NIH ImageJ software により定量化した。

### 【臨床研究】

#### (1) 対象

##### ① 専門的口腔ケアの有用性

平成 24 年 11 月から平成 27 年 7 月までの期間に、徳島大学病院食道・乳腺甲状腺外科にて初回 DFP 療法を行った食道がん患者のうち、初回 DFP 療法期間中の口腔内状態が確認できた 26 名 (男性 25 名、女性 1 名、平均年齢 67.2 $\pm$ 9.30 歳) を対象とした。専門的口腔ケア介入群 (口腔ケア介入群) は 9 名、非介入群 (コントロール群) は 17 名であった。

##### ② 漢方薬の有効性の検討

本研究への同意の得られた 23 名 (男性 20 名、女性 3 名、平均年齢 64.7 $\pm$ 7.7 歳) を対象とした。対象患者を無作為に介入群① (専門的口腔ケアのみ)、介入群② (専門的口腔ケア+大黃甘草湯)、介入群③ (専門的口腔ケア+半夏瀉心湯) に分けた。

#### (2) 専門的口腔ケア介入および漢方摂取

専門的口腔ケア介入群では、DFP 療法開始直前および観察期間中は週に 1 回、口腔内状態の評価終了後に専門的口腔ケアを実施した。専門的口腔ケアは、歯科医師・歯科衛生士による歯ブラシ・歯間ブラシを用いた口腔清掃、手用スクレーラーを用いたスクレーリング、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 綿球等による口腔内清拭を一連の流れとした。観察期間は、初回 DFP 療法開始から 1 コース終了時点までとした。漢方摂取群に対して、DFP 療法期間中は 1 日 3 回、食間に漢方シャーベット (大黃甘草湯 TJ-84 または半夏瀉心湯) を摂取させた。

#### (3) 調査項目

口腔粘膜炎の状態は NCI-CTCAE Ver.4.0 に

よる評価を行い、歯肉の状態は GI (Gingival Index)、口腔衛生状態は PII (Plaque Index)、舌苔沈着は TCI (Tongue Coating Index)、口腔乾燥度は口腔水分計を用いて評価した。薬剤の種類、休薬の状況や発熱などの全身状態のデータはカルテから抽出した。介入方法の違いによる口腔への影響を詳細に分析するため、舌苔の細菌数を細菌カウンタ (Panasonic, 大阪) にてモニタリングした。また採取した舌苔サンプルはリアルタイム PCR 法により、歯周病関連細菌 (Pg: *Porphyromonas gingivalis*, Pi: *Prevotella intermedia*, Fn: *Fusobacterium nucleatum*, Cr: *Campylobacter rectus*) 数を測定し、log 対数化して分析に用いた。

#### (4) 統計学的分析

統計学的分析には IBM SPSS Statistics ver. 20.0 を用いた。検定の有意水準は 5% とした。

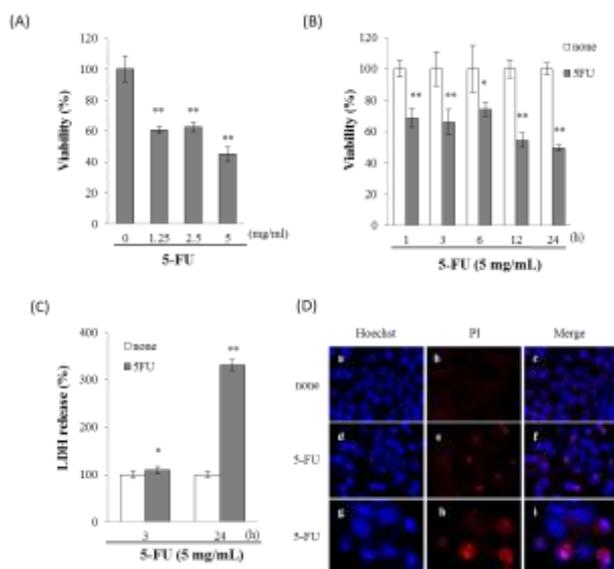
### 4. 研究成果

#### 【基礎研究】

##### (1) 細胞死:

歯肉由来細胞である Sa3 細胞に、抗がん剤 5-FU を 1.25-5 mg/mL の各濃度で 24 時間作用させた。どの濃度においても 5-FU は有意に細胞の生存率を低下させた (図 1, A)。また、5 mg/mL 5-FU は、添加後 1 時間から 24 時間において細胞生存率を低下させた (図 1, B)。5-FU を添加して 3 時間以内に、LDH の培養上清中への放出が認められ、添加後 24 時間後には顕著となった (図 1, C)。5-FU 添加 24 時間後の培養細胞は、無添加群と同様に膜透過性色素である Hoechst33342 により染色された (図 1D, a-f)。一方で、無添加群と比較して、5-FU 添加群の培養細胞では PI による染色が確認された。以上の結果より、5-FU は Sa3 cells において細胞死を促進すること、その細胞死は LDH 放出や細胞膜ポアを伴うピロトーシスの特徴を有することがわかった。

図 1



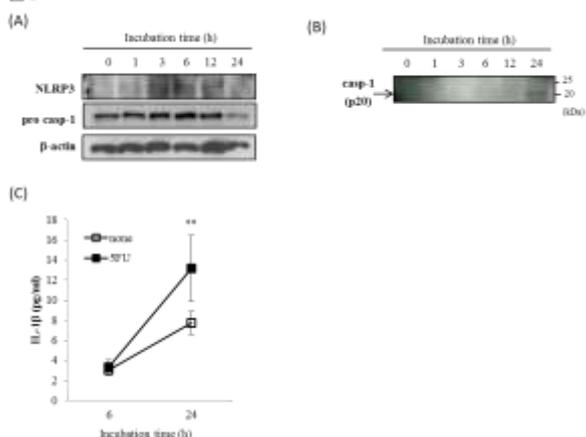
(2) 5-FU 誘導細胞死における NLRP3 の関与  
インフラサーム NLRP3 がピロトーシス経路を制御する報告があるため、5-FU が誘導

する細胞死に NLRP3 が関与するかを調べた。

NLRP3 は、pro-caspase-1 を切断し、活性をもつ caspase-1 とする。活性型 caspase-1 は interleukin (IL)-1 $\beta$  を切断し、サイトカインとして細胞外へ放出させる。5 mg/mL の 5-FU を 24 時間作用させた細胞を回収し、各時点における NLRP3 蛋白質の発現を解析した。

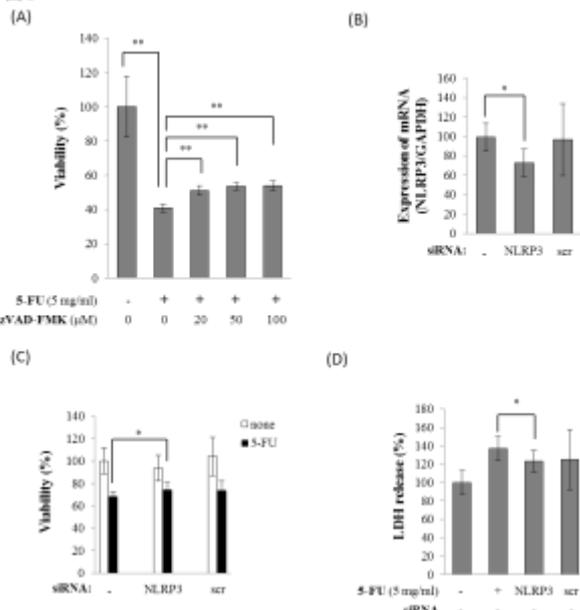
5-FU 添加後 3 時間から 12 時間後に NLRP3 蛋白質、6 時間後に pro-caspase-1 蛋白質の発現が亢進した (図 2, A)。5-FU 添加後 2 4 時間には、細胞培養上清中の caspase-1 蛋白質量が増加した (図 2, B)。5-FU は添加後 2 時間において、細胞培養上清中 IL-1 $\beta$  分泌量を有意に亢進させた (図 2, C)。

図 2



次に NLRP3 が 5-FU 誘導細胞死に関与するかを調べた。一般的なカスパーゼ阻害剤 zVAD-FMK を前処理すると、5-FU により誘導された細胞死の一部が回復した (図 3, A)。

図 3



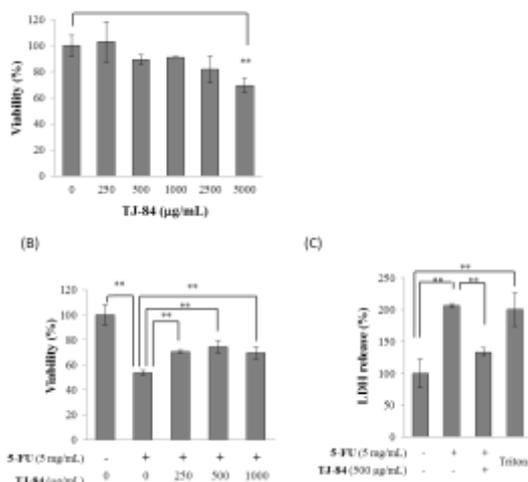
siRNA により NLRP3 発現を抑制すると、5-FU が亢進する細胞死や IL-1 $\beta$  分泌量は、有意に低下した (図 3, B, C, D)。

図 1 から図 3 までの結果より、5-FU は細胞死を誘導し、NLRP3 経路を活性化するが、NLRP3 の関与は軽度であると考えられた。

(3) 5-FU 誘導細胞死への TJ-84 の効果

漢方薬 TJ-84 が、5-FU が誘導する細胞死にどう影響するかを調べるために、まず Sa3 細胞に対する TJ-84 の細胞毒性を検討した。Sa3 細胞各濃度の TJ-84 を 24 時間作用させた後、細胞の生存率を測定した。2500  $\mu\text{g/mL}$  までの濃度において TJ-84 は、細胞の生存率に影響せず、細胞毒性がないと判断された (図 4, A)。

図 4



TJ-84 は 250~1000  $\mu\text{g/mL}$  の各濃度において、5-FU により低下した細胞生存率の一部を、有意に回復させた (図 4, B)。また、500  $\mu\text{g/mL}$  の TJ-84 は、5-FU による LDH 放出を有意に抑制した (図 4, C)。以上より、TJ-84 が Sa3 細胞において 5-FU が誘導する細胞死を抑制する効果があることが判明した。

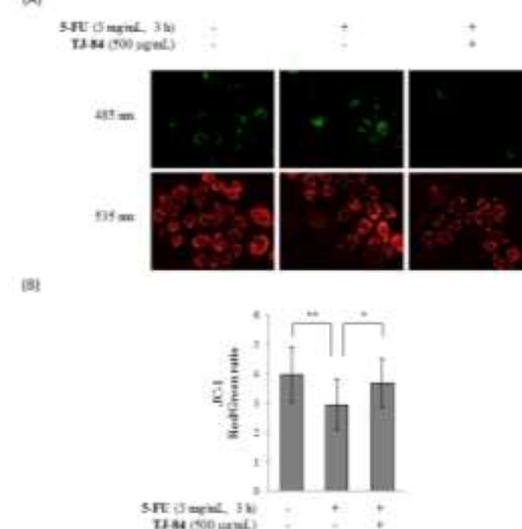
#### (4) TJ-84 が 5-FU 誘導細胞死を阻害する機序

5-FU によりミトコンドリアから放出される ROS が、口腔粘膜を傷害し細胞死を誘導することがわかっているため、TJ-84 が ROS 産生に及ぼす影響について検討した。

ミトコンドリア膜電位の脱分極は、細胞死の初期に生じる。膜透過性 JC-1 色素を用いて、ミトコンドリアの細胞膜電位の変化を検出した。5-FU を 3 時間処理すると、赤色蛍光 (535 nm) で示される JC-1 色素の膜電位依存的な蓄積は減少して蛍光波長は緑色 (485 nm) へとシフトした結果 (図 5, A)、赤色/緑色蛍光強度比は減少し (図 5, B)、ミトコンドリアの脱分極が認められた。5-FU により誘導されたミトコンドリア脱分極は、TJ-84 処理により回復した (図 5, A, B)。また、5-FU を作用させた細胞では、ミトコンドリア特異的な ROS により MitoSOX が酸化され、赤色蛍光が増強された。細胞内のミトコンドリアを Mitotracker で緑色蛍光に染色し、MitoSOX による赤色蛍光とマージさせて、5-FU による ROS 産生亢進が、ミトコンドリア特異的であることを併せて確認した。TJ-84 を前処理すると、5-FU により亢進していたミトコンドリアでの ROS 産生は、有意に抑制された。これらの結果より、5-FU がミトコンドリアの膜電位を脱分極し ROS 産生を亢進すること、TJ-84 が以上の 5-FU の作用を阻害することが明らかになった。

抗がん剤による細胞死を引き起こす因子として従来提唱されている ROS は、Sa3 細胞においても 5-FU により誘導された。また、TJ-84 はミトコンドリアの膜電位の変化自体に影響し ROS 産生をほぼ完全に抑制したことから、TJ-84 が 5-FU による細胞死を抑制する機序に ROS が関与すると考えられた。今回の研究では、TJ-84 が 5-FU による細胞死を抑制する機序の全容は明らかにならなかったが、TJ-84 が抗がん剤による口腔粘膜炎の治療に有効である可能性が示された。

図 5



#### 【臨床研究】

##### ① 専門的口腔ケアの有用性

コントロール群 (17 名) と口腔ケア介入群 (9 名) との間で、重症口腔粘膜炎発症率に差があるか否かを Kaplan-Meier 法を用いて分析した結果、図 6 に示すように、口腔ケア介入群はコントロール群と比較して、重症口腔粘膜炎未発症率は有意に高い ( $p < 0.05$ ) が確認できた。

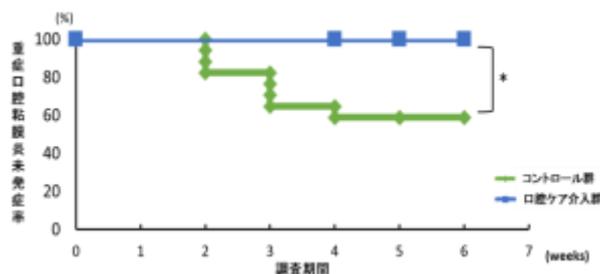


図 6 調査期間中の重症口腔粘膜炎未発症率 (\* :  $p < 0.05$ )

一方、図 6 に示すように、重症口腔粘膜炎は化学療法開始後 2 週目以降に出現する割合が高く、重症口腔粘膜炎を発症した群は DFP 療法の中絶 (休薬) に至った割合が有意に高いことが明らかとなった ( $p < 0.05$ )。

##### ② 漢方薬の有効性の検討

対象者 23 名のうち、介入群① (専門的口腔ケアのみ) は 9 名、介入群② (専門的口腔ケア+大黄甘草湯) は 7 名、介入群③ (専門的口腔ケア+半夏瀉心湯) は 7 名である。

表 1 口腔粘膜炎の発症状況

	口腔粘膜炎 Grade Max			
	G0	G1	G2	G3
介入群①	6(1)	2	1	0
介入群②	1	5(3)	1(1)	0
介入群③	2	2	2(1)	1
計	9	9	4	1

( )は未完遂者数を示す

表 1 に示すように口腔粘膜炎を発症した者は 14 名 (未完遂者 5 名を含む) であった。化学療法開始から 2 週目、3 週目にそのピークが認められ、好発部位は、下唇粘膜に最も多く、次いで口角、口蓋、舌の順であった。Grade 2 以上となった症例は、5 症例で、Grade 3 は 1 症例のみであった。しかし、介入群①、介入群②および介入群③の 3 群間において、重症口腔粘膜炎発症での有意な差は認められなかった。

0 週から 2 週までは介入中止に至らずに全ての対象者から細菌数のデータが得られた。分散分析により大黃甘草湯では、総菌数、Fn 菌数および Cr 菌数において「期間」に主効果が認められたことから、これらの細菌では 0 週～2 週までに細菌数が有意に減少していると考えられた。更に Fn 菌数および Cr 菌数では「漢方薬の有無×期間」において交互作用が認められた (p<0.05)。

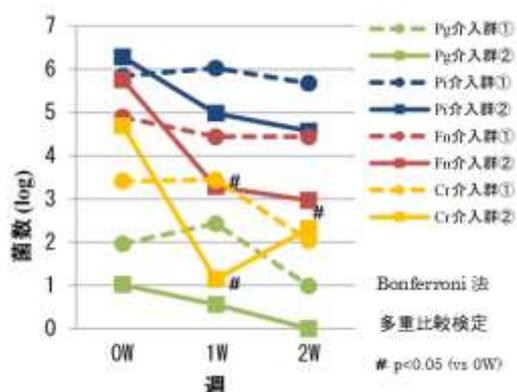


図 7 菌別菌数の変化 (大黃甘草湯)

図 7 に示すように多重比較の結果からも、大黃甘草湯は Fn 菌、Cr 菌の歯周病関連細菌に作用し、専門的口腔ケア介入に加えてその薬剤効果から観察期間中に有意に細菌数を減少させることが示された。一方、半夏瀉心湯では、Fn 菌数において「期間」に主効果が認められたが、他の指標では有意な差は認められなかった。

表 2 に示すように大黃甘草湯では、TCI, GI および PII において「期間」に主効果が認められたことから、0 週～2 週の観察期間で舌苔、歯肉の炎症および歯垢が有意に減少していると考えられた。更に GI では「漢方薬の有無×期間」において交互作用が認められ (p<0.05)、薬剤効果から観察期間中に有意に歯肉の炎症を軽減する効果が示された。

表 2 漢方薬別の各指標の分散分析表

指標		大黃甘草湯			半夏瀉心湯		
		F値	自由度	P値	F値	自由度	P値
TCI	漢方薬の有無	0.01	1	0.92	0.6	1	0.45
	期間	33	2	<0.01**	18	2	<0.01*
	漢方薬の有無×期間	1.72	2	0.26	0.93	2	0.27
GI	漢方薬の有無	0.04	1	0.84	0.47	1	0.51
	期間	22.2	2	<0.01**	7.35	1.19	0.02*
	漢方薬の有無×期間	3.74	2	0.04*	0.93	1.19	0.61
PII	漢方薬の有無	0.18	1	0.68	1.39	1	0.27
	期間	4.29	2	0.03*	1.32	1.34	0.29
	漢方薬の有無×期間	0.95	2	0.4	0.21	1.34	0.73
ムーカス	漢方薬の有無	0.29	1	0.6	4.04	1	0.07
	期間	0.08	2	0.92	0.7	1.17	0.44
	漢方薬の有無×期間	0.88	2	0.43	0.77	1.17	0.42
舌	漢方薬の有無	3.52	1	0.09	0.03	1	0.86
	期間	0.39	2	0.68	0.1	2	0.9
	漢方薬の有無×期間	1.73	2	0.2	1.52	2	0.24

反復測定二元配置分散分析, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

本研究において、漢方薬の薬剤効果による口腔粘膜炎の発症予防への効果を認めることはできなかったが、専門的口腔ケア介入により重傷口腔粘膜炎発症の軽減に加え、口腔総菌数、Fn 菌数および Cr 菌数の減少が認められた。また、大黃甘草湯は薬剤効果により Fn 菌および Cr 菌に作用して有意に細菌数を減少させ、歯肉の炎症を軽減した。本研究で得られた知見は、がん化学療法患者への専門的口腔ケアの有効性を示す基礎資料となり、漢方薬を応用した口腔保健管理による同患者への医療支援の可能性を示すものである。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Fournier-Larente J, Azelmat J, Yoshioka M, Hinode D, Grenier D: The Daiokanzoto (TJ-84) Kampo formulation reduces virulence factor gene expression in *Porphyromonas gingivalis* and possesses anti-inflammatory and anti-protease activities, PLoS One. 2016 Feb 9;11(2):e0148860. 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0148860. eCollection 2016.
- ② Yoshida K, Yoshioka M, Okamura H, Moriyama S, Kawazoe K, Grenier D, Hinode D: Preventive effect of Daiokanzoto (TJ-84) on 5-fluorouracil-induced human gingival cell death through the inhibition of reactive oxygen species production. PLoS One. 2014 Nov 12;9(11):e112689. 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0112689. eCollection 2014.
- ③ Liao J, Azelmat J, Zhao L, Yoshioka M, Hinode D, Grenier D: The Kampo medicine Rokumigan possesses anti-biofilm, anti-inflammatory and wound healing properties. Biomed Res Int. 2014. 査読有, doi: 10.1155/2014/436206. Epub 2014 Apr 30.
- ④ Amou T, Hinode D, Yoshioka M, Grenier D: Relationship between halitosis and periodontal disease-associated oral bacteria in tongue coatings, Int J Dent Hyg. 2014 12(2): 145-151. 査読有, doi: 10.1111/ijdh.12046. Epub 2013 Jul 26.
- ⑤ Liao J, Zhao L, Yoshioka M, Hinode D,

Grenier D: Effects of Japanese traditional herbal medicines (Kampo) on growth and virulence properties of Porphyromonas gingivalis and viability of oral epithelial cells, Pharm Biol. 2013 Dec;51(12):1538-1544. 査読有 doi: 10.3109/13880209.2013.801995. Epub 2013 Aug 29.

- ⑥ Yoshioka M., Hinode D., Yamamoto Y, Furukita Y, Tangoku A. Alteration of the oral environment in patients undergoing esophagectomy during the perioperative period. J Appl Oral Sci. 2013, 21(2):183-189. 査読有 doi: 10.1590/1678-7757201302338.

[学会発表] (計9件)

- ① 森山 聡美, 吉岡 昌美, 十川 悠香, 中江 弘美, 土井 登紀子, 伊賀 弘起, 日野出 大輔: 食道がん化学療法患者に対するがん支持療法としての専門的口腔ケアの効果, 第26回 近畿・中国・四国口腔衛生学会総会 (2015年9月27日, 山口県歯科医師会館・山口県山口市)
- ② 十川 悠香, 吉岡 昌美, 日野出 大輔: 自家末梢血幹細胞移植患者の口腔粘膜炎に対する専門的口腔ケアの効果, 第12回 日本口腔ケア学会総会・学術大会 (2015年6月27-28日, 海峡メッセ下関, 山口県下関市)
- ③ 森山 聡美, 吉岡 昌美, 村上 愛由, 十川 悠香, 中江 弘美, 土井 登紀子, 日野出 大輔, 伊賀 弘起: 食道がん周術期患者の口腔内状態について, 平成25年度四国公衆衛生研究発表会 (2015年2月6日, サポート高松, 香川県高松市)
- ④ 吉田 賀弥, 吉岡 昌美, 岡村裕彦, 日野出 大輔: 大黃甘草湯は活性酸素やインフラマソームを介して5-fluorouracilが誘導する細胞死を改善させる, 第56回 歯科基礎医学会学術大会・総会, (2014年9月26日, 福岡国際会議場, 福岡県福岡市)
- ⑤ Yoshioka M., Hinode D.: Subjective oral symptom of patient with lung cancer during chemotherapy, 10th IADR World congress on Preventive Dentistry (October 9-12, 2013, Budapest Congress Center, Budapest, Hungary).
- ⑥ 吉岡 昌美, 玉谷 香奈子, 十川 悠香, 横山 正明, 日野出 大輔: 入院患者の口腔乾燥状態の評価とこれに関連する因子の解析, 第62回 日本口腔衛生学会・総会 (2013年5月17日, キッセイ文化ホール, 長野県松本市)
- ⑦ Hinode D., Aou T, Yoshioka M.: Relationship between halitosis and periodontopathogenic bacteria in tongue coating, 91th General session of the International Association for Dental Research. (March 20-23, 2013, Seattle Convention Center, Seattle, USA).
- ⑧ 天羽 崇, 平島 美穂, 吉岡 昌美, 福井 誠,

片岡 宏介, 日野出 大輔: 舌苔沈着, 唾液中の歯周病原細菌と口臭との関連性, 第61回 日本口腔衛生学会・総会 (2012年5月27日, 神奈川歯科大学, 神奈川県横須賀市)

- ⑨ 吉岡 昌美, 中江 弘美, 一宮 斉子, 天羽 崇, 高橋 侑子, 十川 悠香, 日野出 大輔: トロミ調整水やゼリー摂取が食品の口腔内残留に及ぼす影響, 第61回 日本口腔衛生学会・総会 (2012年5月26日, 神奈川歯科大学, 神奈川県横須賀市)

[図書] (計1件)

- ① 日野出 大輔 (分担執筆), 末高 武彦, 米満 正美, 廣瀬 晃子, 佐藤 勉, 新庄 文明, 葭原 明弘, 日高 勝美: 7章 生活習慣と健康, デンタルスタッフの衛生学・公衆衛生学, 末高 武彦他編集, 医歯薬出版, 2016年2月, 201頁 (p94-105).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

日野出 大輔 (HINODE, Daisuke)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授  
研究者番号: 70189801

### (2) 研究分担者

伊賀 弘起 (IGA, Hiroki)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授  
研究者番号: 40175188

吉岡 昌美 (YOSHIOKA, Masami)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・准教授  
研究者番号: 90243708

川添 和義 (KAWAZOE, Kazuyoshi)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授  
研究者番号: 00248296

吉田 賀弥 (YOSHIDA, Kaya)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・講師  
研究者番号: 60363157

土井 登紀子 (DOI, Tokiko)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教  
研究者番号: 70747683