

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K11721

研究課題名(和文) 抗菌剤処理後のう蝕，歯周病モデルポリマイクロバイアルバイオフィーム群集構造の解析

研究課題名(英文) The effects of antimicrobial treatment on biofilm activity and component using caries and periodontitis biofilm model

研究代表者

富山 潔 (TOMIYAMA, KIYOSHI)

神奈川県立歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：90237131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ex vivo多菌種バイオフィームを用いて、根面齲蝕治療や予防を目的とした歯磨材および洗口液の研究を行なった。S-PRGフィラーは、フッ化物、ストロンチウムおよびホウ酸などのイオンを放出し、歯質の脱灰抑制や抗菌性効果を発揮する。S-PRGフィラー含有歯磨材および洗口液は、バイオフィーム細菌数、活性に対して有効であるという成果を得ることができた(Am J Dent 2019;32:245-250, Am J Dent 2023;36:91-94)。また、根面齲蝕誘発環境下における細菌叢の網羅的分析(Am J Dent 2020;33:55-58)により、その発症メカニズムを解き明かす一助を担った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人の高齢化が進み、歯科分野での様々な対策が実を結び、残存歯は増加したが、一方で、根面齲蝕の発症が増加している。歯周病に罹患した場合、高確率で根面齲蝕が発症することも指摘されており、歯科分野での高齢化社会対策として、重要な課題となっている。歯冠部齲蝕とは異なるバイオフィーム細菌叢の問題や、エナメル質と根面象牙質の臨界pHの違い、加えて脱灰メカニズムの違い(象牙質はミネラルの溶出に加えてコラーゲンの分解が生じる)にも関係の深いことが指摘されており、歯質側とバイオフィーム側から分析した、様々な報告はされているものの、理論的かつ有効な歯根面象牙質齲蝕の治療法および予防法の開発には至っていない。

研究成果の概要(英文)：Using ex vivo polymicrobial biofilms, We studied effects of novel toothpastes and mouthwashes on oral biofilms for the purpose of treatment and prevention of root caries. S-PRG filler releases ions such as fluoride, strontium and borate ion, which inhibits demineralization of dentine and exerts antibacterial effects. S-PRG filler-containing toothpastes and mouthwashes were found to be effective against biofilm bacterial count and activity (Am J Dent 2019;32:245-250, Am J Dent 2023;36:91-94). In addition, our results as for analysis of bacterial community in polymicrobial biofilms which was grown simulating root caries would be helpful for elucidation of root caries pathogenic mechanism (Am J Dent 2020;33:55-58).

研究分野：保存修復学

キーワード：biofilm polymicrobial dentin demineralization remineralization root caries next generation sequence TMR

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔内には 700 種類を超える細菌が生息し、浮遊菌やバイオフィルムの形をとっている。バイオフィルム内の細菌は菌体外多糖体により覆われているため、浮遊菌に比較して殺菌効果が低い。またバイオフィルム内の一部の細菌は休止状態にあり、代謝活動を停止しているような菌もいる。Marsh は¹⁾、生態学的プラーク説 (Ecological plaque hypothesis) を唱え、乳酸産生量の増加、pH の低下などの環境変化がバイオフィルムの病原性を増加させつつ、常在細菌叢を病原細菌叢にシフトさせ、結果として齲蝕や歯周病を引き起こすのだとしている。Nybad と Takahashi によれば²⁾、バイオフィルムが病原性を獲得していく 3 つのステップは、最初のステップとして、non mutans Streptococci による酸産生により歯面が影響を受けることにより始まる。齲窩が生じると Streptococcus mutans や Lactobacillus 属の菌も増加してくるが、齲窩が生じる段階の前に、このような口腔バイオフィルム中における常在菌の割合を生体に害を及ぼさず、かつ持続的に抑制できる抗菌薬あるいは予防法を Highthrough put モデルなどを用いて開発することは重要である³⁾。

2. 研究の目的

S-PRG 溶出液および S-PRG フィラー含有歯磨材が、PM バイオフィルムの代謝および群集構造にどのような影響を与えるのかを CFU、バイオフィルム周囲環境の pH 測定、次世代シーケンス・アンプリコン解析などの手法を用い、バイオフィルム代謝および構造の解析を行なう。

3. 研究の方法

(1) 試料ならびに試験培養液の作製

直径 12 mm、厚さ 0.15 mm のガラス円板を 24 well culture plate に適合する Lid に取り付けたクランプに固定後、オートクレーブによる滅菌を行ない、PM バイオフィルム形成用試料とした。

S-PRG フィラー溶出液のバイオフィルムに対する効果

S-PRG フィラーを蒸留水に懸濁して各種イオンを溶出させた上清の S-PRG 溶出液 (110.5 ppm F 含有) S-PRG フィラー溶出液含有培養液 (50mM PIPES, 0.2% sucrose 含有) を作製した (PRG 群)。また、S-PRG フィラー溶出液と同濃度のフッ化物 (110.5 ppm F) を含む NaF 含有培養液 (50mM PIPES, 0.2% sucrose 含有) を作製した (F 群)。

SPRG 歯磨剤のバイオフィルムに対する効果

SPRG 歯磨剤の 4 倍希釈液を実験群の処理液として使用した。

(2) 各種試験培養液による PM バイオフィルムの培養

健全な被験者 1 名から採取した刺激唾液を 50 倍希釈となるよう Buffered McBair (50mM PIPES, 0.2% sucrose 含有) 培養液に加えて 24 well 中に分注した後、培養液中にガラス円板を懸架し、嫌気条件下 (37°C , $\text{CO}_2: 10\%$, $\text{H}_2: 10\%$, $\text{N}_2: 80\%$) で 10 時間、培養を行なった。その後、14 時間、10 時間のタイムスケジュールで培養液 (唾液非含有) を交換し、継続して 48 時間まで嫌気培養を行なった。培養開始から 24 時間および 34 時間の時点で、各種試験培養液に交換して、培養開始から 48 時間後まで嫌気培養を行なった。コントロール群には標準培養液を用い、他群と同様に嫌気培養を行なった (Cont 群)。なお、本実験はヘルシンキ宣言に則って行ない、刺激唾液は神奈川歯科大学の倫理委員会の承認を得て使用した (No.206)。

(3) 実験群および薬液処理

SPRG 溶出液のバイオフィルムに対する効果

24 時間嫌気培養によりバイオフィルムを形成した。実験群は 脱イオン水処理群 (cont), 0.2% グルコン酸クオールヘキシジン群 (0.2C), S-PRG 溶出液処理群 (SPRG) の 3 群とした。ガラス円板上に形成された 12 時間培養後の PM バイオフィルムに対し 5 分間の各処理を行なった後、12 時間培養を継続し、再び 5 分間の各処理を行なった。12 時間培養後の PM バイオフィルムに対し 5 分間の各処理を行なった時点および、その後 12 時間培養を継続した時点で、総細菌数 (CFU/ml) の分析を行なうことにより、抗菌剤による 1 回あるいは 2 回処理が PM バイオフィルムの増殖を持続的に抑制できるかどうかを分析した ($n=10$)。総細菌数は、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% にて統計学的分析を行ない、各処理剤がポリマイクロバイアルバイオフィルムの増殖に与える影響を比較検討した。

SPRG 歯磨剤のバイオフィルムに対する効果

被験材料にはウシ下顎中切歯の歯根部の歯頸部直下から直径 6 mm 厚さ 1 mm の円盤状象牙質を用い、試料 2 枚の表面が両側となるように耐熱性の接着剤にて貼りわせ、バイオフィルム形成用試片とした。また、スタンダード被験材料としてガラスを用いた。本実験に使用した歯磨材は粒径 $1\mu\text{m}$ の SPRG フィラーを 5% の割合で含有する歯磨材および 950ppmF 含有歯磨材 (製品 A) の 2 種類である。実験群は、ガラス群 (G), 950 ppm F 含有歯磨材・ガラス群 (950G) SPRG フィラー含有歯磨材・ガラス群 (SPG) 対照象牙質群 (D), 950 ppm F 含有歯磨材・象牙質群 (950D), S-PRG フィラー含有歯磨材・象牙質群 (SPD) の 6 群とした ($n=6$)。バイオフィルムの培養には、1 被験者から採取した刺激唾液を用いたマイクロコスモバイオフィルムモデルを使用した。培養液には McBain 2005 (0.2% スクロース含有) を用い、培養液の交換

を 10 時間, 14 時間の間隔で 1 日 2 回行なう連続嫌気培養を 8 日間行なった。バイオフィルムの培養 3 日目において, 3 倍希釈した歯磨材に 5 分間浸漬後, バイオフィルムを CPW 液により十分に洗浄してから 8 日目まで培養を続けた。交換済みの培養液に対しては pH の測定 (9618-10D, F-71, Horiba) を行なった。その後, 実験終了時に血液寒天培地を用いて生菌数測定を行なった, さらに培養終了後の象牙質試片より厚さ 300 μm の薄切切片を作製し, Transversal Microradiography (TMR) を撮影後 (PW3830, PANalytical), ミネラル喪失量 (IML) および病巣深度 (LD) を測定 (TMR2000, Inspektor) した後, One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% にて統計学的分析を行ない, 各群の脱灰様相を比較検討した。

(4) 培養液の pH 測定

使用後の培養液の pH 測定を行なった。

(5) CFU 分析

各処理後, バイオフィルムを剥離, 段階希釈した後に, 血液寒天培地上に塗抹して嫌気培養を行ない, 生菌数の算定 (CFU/ml) を行なった。

(6) バイオフィルム群集構造の次世代シーケンス・アンプリコン解析

円盤状ガラス試片に付着している試験培養液を使用しての培養後か, あるいは Buffered McBain 培養液により培養後の PM バイオフィルムを次世代シーケンサー (MiSeqTM, Illumina, USA) を用いて, 各サンプル由来の 16S rRNA からシーケンスデータを得て部分塩基配列を決定し, 次世代シーケンス・アンプリコン解析を行なうことにより, PM バイオフィルムサンプルに由来する菌群の帰属分類群を推定した。サンプル間の比較解析は, Metagenome@KIN software (WorldFusion) を用いて, 二次元主成分分析およびクラスター解析 (クラスタリング手法: 群平均法, 距離関数: ピアソンの相関係数) により, 各群のバイオフィルム構造にどのような変動が生じているのかを比較, 検討した。

4. 研究成果

(1) SPRG 溶出液のバイオフィルムに対する効果

[実験 1]: 使用済み培養液の pH は, 培養 12 時間および 24 時間の処理直後において, cont に比較し 0.2C および SPRG は有意に高く, 0.2C および SPRG の培養 12 時間での処理後の pH は培養 24 時間での処理後の pH より有意に高かった (cont 12h : 4.3, cont 24h : 4.2, 0.2C 12h : 5.4, 0.2C 24h : 4.9, SPRG 12h : 5.5, SPRG 24h : 4.9) ($p < 0.05$)。

[実験 2]: 処理後の細菌数 (CFU/ml) は, 培養 12 時間および 24 時間の処理直後ともに cont に比較し 0.2C および SPRG は有意に低く (cont 12h : 1.47×10^7 , cont 24h : 8.50×10^7 , 0.2C 12h : 2.20×10^6 , 0.2C 24h : 2.90×10^6 , SPRG 12h : 2.13×10^6 , SPRG 24h : 2.80×10^6), 0.2C および SPRG の培養 12 時間での処理後の細菌数と培養 24 時間での処理後の細菌数との間に有意差は認められなかった ($p < 0.05$)。

SPRG 処理は, 形成初期の PM バイオフィルムの pH の下降を抑制していることが細菌数の抑制効果の一因となっていると考えられた。SPRG 処理による細菌数の抑制は口腔内プラークの抑制のみならず口臭抑制にも寄与する可能性があると考えられる。

【結論】

S-PRG 溶出液で 5 分間処理することによりバイオフィルムの初期形成に対して顕著な抑制効果が発揮されることが示された。

本研究は, 神奈川歯科大学 倫理委員会の承認を得て遂行された【研究倫理 審査番号 445】。

本研究内容及び発表に際しての開示すべき利益相反関係にある企業などはない。

(2) SPRG 歯磨剤のバイオフィルムに対する効果

象牙質上バイオフィルムに対して両歯磨材処理 (950D, SPD) を行った後の培養液 pH は, 培養終了時まで一貫して D 群に比較して有意に低かったが ($p < 0.05$), 歯磨材間で有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また, 培養終了時における生菌数は, SPD が 950D に比較し低い傾向を示した。TMR 分析において, D 群のミネラルプロファイルでは表層はほとんど認められず, 脱灰も顕著であった。950D 群においても表層は認めるものの明らかな病巣が認められた。一方 SPD 群は, D 群および 950D 群に比較し表層および病巣体部のミネラル密度は高く維持されていた。SPD 群の IML および LD は D 群および 950D 群に比較し有意に低い値となった ($p < 0.05$)。

象牙質試料において 2 種類の歯磨材処理間には培養液 pH の差は認められなかったが, 生菌数では SPD 群が低い傾向を示し, また IML および LD の比較においても SPD 群が 950D 群に比較し有意に低くなったという本結果は, S-PRG フィラーがストロンチウムイオンやホウ酸イオンを徐放し, これらが緩衝作用あるいは抗菌作用を表すとともに, 同時に徐放されるフッ化物イオンと相まって優れた脱灰抑制を誘導した可能性を示唆している。

【結論】ポリマイクロバイアルバイオフィルムに SPRG フィラー含有歯磨材による処理を行なうことにより, 顕著に脱灰を抑制することが確認されたことから, 本歯磨材が齲蝕予防に関して優れた効果を有する可能性が示唆された。また, 本モデルは齲蝕予防を目的とした歯磨材, 抗菌剤および充填材料などの評価に有用であることが示された。

(3) バイオフィルム群集構造の次世代シーケンス・アンプリコン解析

結果を未公表のため記載を控えさせていただきます。

【参考文献】

1. Marsh PD, Møller A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology* 2000; 55:16-35.
2. Takahashi N, Nyvad B. Ecological hypothesis of dentin and root caries. *Caries Res* 2016; 50: 422-431.
3. Exterkate RAM, Crielaard W, ten cate JM. Different response to amine fluoride by streptococcus mutans and polymicrobial biofilms in a novel high-throughput active attachment model. *Caries Res* 2010; 44: 372-379.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Masato Ishizawa, Kiyoshi Tomiyama, Haruhiko Hsegawa, Nobushiro Hamada, Yoshiharu Mukai	4. 巻 33
2. 論文標題 Comprehensive analysis of bacterial flora of a biofilm model in initial caries-inducing environment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Dentistry	6. 最初と最後の頁 55 - 58
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toru Shiiya, Aiko Kataoka, Kiyoshi Tomiyama, Fukue Fujino, Yoshiharu Mukai.	4. 巻 40
2. 論文標題 Anti-demineralization characteristics of surface pre-reacted glass-ionomer(S-PRG) filler-containing varnishes.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 416-421
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2019-396	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Katsura Ohashi, Tsuyoshi Sugahara, Yuta Katayama, Kaori Aoki, Tota Shimizu, Kiyoshi Tomiyama, Yoshiharu Mukai, Tomotaro Nihei	4. 巻 A10(7-8)
2. 論文標題 Effect of calcium phosphate glass on dentinal tubule sealing after irradiation with the carbon dioxide laser.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Materials Science and Engineering.	6. 最初と最後の頁 124-131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kiyoshi Tomiyama, Toru Shiiya, Kiyoko Watanabe, Nobushiro Hamada, Yoshiharu Mukai	4. 巻 32
2. 論文標題 Effect of toothpaste containing multiple ion releasing filler on polymicrobial biofilm regrowth and dentin demineralization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American journal of dentistry	6. 最初と最後の頁 245 - 250
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teranaka A, Tomiyama K, Miyake K, Ohashi K, Shimizu T, Iwai H, Hamada H, Yoshino N, Mukai Y, Teranaka T, Hirayama S, Nihei T	4. 巻 9
2. 論文標題 Detachment of polymicrobial biofilms on glass surface treated with surface modifiers containing fluorocarbon chain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 journal of current research	6. 最初と最後の頁 57249, 57253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ohashi K, Miyake K, Tomiyama K, Shimizu T, Yoshino N, Mukai Y, Hamada N, Teranaka T,	4. 巻 7
2. 論文標題 Antimicrobial activity of a novel silane coupling agent consisting of a	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Dent Health Oral Disord Ther	6. 最初と最後の頁 1, 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15406/jdhodt.2017.07.00246.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ayako Teranaka, Kiyoshi Tomiyama, Katsura Ohashi, Kaori Miyake, Tota Shimizu, Nobushiro Hamada, Yoshiharu Mukai, Satoshi Hirayama, and Tomotaro Nihei	4. 巻 60
2. 論文標題 Relevance of surface characteristics in the adhesiveness of polymicrobial biofilms to crown restoration materials	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Oral Science	6. 最初と最後の頁 129, 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnugd.16-0758	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13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 ポリマイクロバイアルバイオフィルム初期形成過程へのS-PRG溶出液の抗菌効果
3. 学会等名 第154回日本歯科保存学会2021年度春季学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 浜田信城 , Exterkate R.A.M , 向井義晴
2. 発表標題 カキタンニンの濃度がポリマイクロバイアルバイオフィルム への抗菌効果に与える影響
3. 学会等名 第155回日本歯科保存学会2021年度秋季学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 渡辺清子, 浜田信城 , Exterkate R.A.M , 向井義晴
2. 発表標題 銀イオンのポリマイクロバイアルバイオフィルムの再増殖抑制効果 .
3. 学会等名 第153回日本歯科保存学会2020年度春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 渡辺清子, 河田 亮, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 S-PRG溶出液の濃度が多菌種バイオフィルムへの抗菌性に与える影響 .
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会2020年度秋季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 渡辺清子, 河田 亮, 浜田信城, 向井義晴
2. 発表標題 S-PRG溶出液の濃度の違いが多菌種バイオフィルムの代謝および生菌数に与える影響 .
3. 学会等名 神奈川歯科大学学会第55回総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 渡辺清子, 河田 亮, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 Streptococcus mutansレベルが異なるバイオフィルムに対する緑茶の抗菌効果
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019秋季大会(福岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 渡辺清子, 河田 亮, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 多菌種入りバイオフィルムに対する緑茶の抗菌効果 - Streptococcus mutansレベルの違いによる影響 -
3. 学会等名 神奈川歯科大学総会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 長谷川晴彦, 渡辺清子, 河田 亮, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 形成初期ポリマイクロバイアルバイオフィルムへのS-PRG溶出液の抗菌効果
3. 学会等名 日本歯科保存学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 渡辺清子, 河田 亮, 高橋 理, 浜田信城, 齋藤正寛, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 病原性の異なるポリマイクロバイアルバイオフィルムへのカキタンニンの抗菌効果
3. 学会等名 日本歯科保存学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Tomiyama, M. Ishizawa, A. Kawata, K. Watanabe, H. Hasegawa,
2. 発表標題 Effects of astringent persimmon tannin on bacterial diversity of biofilms
3. 学会等名 CED- IADR NOF (Vienna, IADR European division) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 長谷川晴彦 ¹ , 渡辺清子, 河田 亮, 二瓶智太郎, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 細菌叢が異なるバイオフィルムに対するS-PRG溶出液の抗菌効果
3. 学会等名 日本歯科保存学会2017年度春季大会 (青森市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 長谷川晴彦, 渡辺清子, 河田 亮 ² , 二瓶智太郎, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 アミノ酸系人工甘味料が多種菌からなるバイオフィルムのう蝕原生に与える影響
3. 学会等名 日本歯科保存学会2017年度秋季大会 (盛岡市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富山 潔, 石澤将人, 長谷川晴彦, 渡辺清子, 河田 亮, 二瓶智太郎, 齋藤正寛, 高橋 理, 浜田信城, Exterkate R.A.M, 向井義晴
2. 発表標題 柿タンニン処理を行ったポリマイクロバイアルバイオフィルム細菌叢の網羅的解析
3. 学会等名 2017年度神奈川歯科大学学内総会
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	向井 義晴 (MUKAI YOSHIHARU) (40247317)	神奈川歯科大学・歯学部・教授 (32703)	

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
---------	---------