

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月20日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659986

研究課題名（和文） 経管栄養が口腔フローラの攪乱に及ぼす影響の解明

研究課題名（英文） Study of the effect of enteral tube feeding on oral flora

研究代表者

山下 喜久 (YAMASHITA YOSHIHISA)

九州大学・歯学研究院・教授

研究者番号：20192403

研究成果の概要（和文）：

寝たきりの高齢者98名を経管栄養摂取者群と経口栄養摂取者群に分けて、T-RFLP解析により舌苔細菌叢の比較を行った。HaeIII消化の簡易T-RFLP解析パターンが、両群で大きく異なることから、細菌種構成比率の違いが推察された。そこで、より詳細な細菌叢の違いを明らかにするため、HaeIII以外のRsaI, MspIおよびHhaIの制限酵素の消化で得られた複数のT-RFLPピークパターンの組み合わせで独自に開発したコンピュータソフトによりデータを再解析した。しかし、経管栄養摂取者に特異的に認められたTRFはいずれもHOMDに登録された口腔細菌種に対応しないことから、これらのTRFは通常の口腔細菌種に由来しないものと考えられた。

そこで、パイロシーケンスによる経管栄養摂取者の舌苔細菌構成の解明を試みた。パイロシーケンス解析の対象者には経管栄養摂取者から17名、寝たきりの経口栄養摂取者から17名を選んだ。得られたDNAシーケンスを解析した結果、経管栄養摂取者の口腔には健康な口腔において通常検出されることのない*Streptococcus agalactiae*や*Corynebacterium striatum*が高い比率で検出されることが明らかになった。さらに呼吸器系疾患の病原性細菌と言われる*Haemophilus influenzae*や*Pseudomonas aeruginosa*も経管栄養群にのみ検出されたことから、経管栄養摂取を行うことで、口腔細菌叢が大きく破綻していることが確認できた。

さらに、経管栄養摂取者に特徴的な菌種と全身状態との関連性についての検討を進め、パイロシーケンスから推定される菌種の中で経管栄養摂取者に特異的に認められるものについて、それぞれの菌種量と、サンプル採取前後一年間の発熱日数、肺炎の発症との間の関連を検討したが、単独で臨床症状に有意に関連性を示した細菌種は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：

Bedridden elderly subjects (n=98) were divided into the tube feeding ingestion subject group and the oral nutrition ingestion subject group and composition of microbiota of their tongue coating was analyzed. Since the T-RFLP analysis patterns by HaeIII digestion differed greatly between the tube feeding ingestion group and the oral nutrition ingestion group, the distinct difference in microbiota composition between two groups was assumed.

Then, two or more T-RFLP peak patterns obtained by digestion of the restriction enzyme of RsaI, MspI and HhaI other than HaeIII constructed, and bacterial composition was re-analyzed with the combination of peak patterns by using the computer software uniquely developed beforehand. However, since TRFs which were specifically detected in the tube feeding ingestion subjects as compared with the oral nutrition ingestion subjects all did not correspond to the oral bacterial species registered into HOMD.

Therefore, 17 tube feeding ingestion subjects and 17 oral nutrition ingestion subjects were selected among bedridden oral nutrition ingestion subjects as the candidates of pyro sequence analysis. As the result of having analyzed the obtained DNA sequence, it became clear that *Streptococcus agalactiae* and *Corynebacterium striatum* which are not usually detected in the healthy oral cavity were detected by a high ratio in the tube feeding ingestion subjects. Furthermore, since *Haemophilus influenzae* and *Pseudomonas aeruginosa* which are pathogenic bacteria of pulmonary problems were also detected by only the tube feeding group, oral microbiota is thought to be greatly disturbed by the tube feeding ingestion.

Furthermore, examination about the relevance of bacterial species characteristic of tube feeding ingestion subjects to systemic health was progressed. However, the bacterial species which showed independent relevance to clinical symptoms intentionally was not found.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：口腔細菌叢、舌苔、経管栄養、寝たきり高齢者、パイロシーケンス

### 1. 研究開始当初の背景

嚥下障害のある高齢者に誤嚥を予防して確実な栄養管理を行うため、胃瘻をはじめとする経管栄養法の適用が近年急増している。実際、上記研究の嚥下障害者もそのほとんどが、経管栄養を施行されていた。しかし、経済効率の側面から、十分な摂食訓練を行わず安易に経管栄養が導入されている例も少なくないという。経管栄養では唾液や食物による物理的な自浄作用や唾液に含まれる抗菌物質の作用が低下することを考えると、経管栄養施行者の口腔常在細菌の構成は通常の口腔とは著しく異なっていると考えられる。実際、誤嚥を防ぐ経管栄養を施行しても嚥下性肺炎を予防できないとの報告もあり、口腔の生理機能の喪失が口腔環境の衛生状態の悪化を招くことが示唆されている。

申請者らは、高齢者における発熱・肺炎と口腔フローラとの関連を調べるため、介護老人福祉施設および療養型医療施設に入所・入院する高齢者 343 名について、舌苔サンプルの分析を行い、Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) 法を用いて、各

細菌構成をピークパターンとし、2次元平面にプロットしたところ、図1のように嚥下障害のある高齢者が独特のパターンを示した (*J Am Geriatr Soc* 2010, 58:1050-1057)。

嚥下障害のある高齢者では経管栄養施行者が多く、このような細菌叢の違いが経管栄養の施行に起因していることが考えられる。しかし、経管栄養施行高齢者の口腔内に定着している細菌の構成について、その特徴を明らかにした報告は未だ皆無であり、本研究結果は嚥下障害のある高齢者の口腔管理方法のガイドラインの策定において科学的根拠に基づく客観的判断基準となることが期待される。

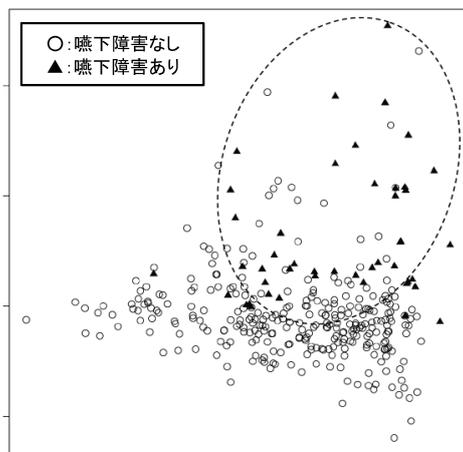
### 2. 研究の目的

嚥下・咳反射の低下によって誤嚥を繰り返す高齢者では、口からの摂食を止めて胃瘻等の経管栄養法を施行する例が近年急増している。一方で、咀嚼・嚥下等の生理作用が失われた口腔では、唾液や食物による物理的な自浄作用や唾液に含まれる抗菌物質の作用が低下することで、口腔常在細菌種の構成が大きく変化すると考えられる。しかし、経管栄養が口腔フローラに及ぼす影響に着目した研究はこれまでのところ見あたらない。本研究では経管栄養法施行を受けている高齢者の口腔フローラの特徴を解明し、さらにその全身の健康状態に及ぼす影響の解明を目指す。

### 3. 研究の方法

#### 調査対象者

本研究は、福岡県大牟田市の療養型医療施設 (2 施設) および高齢者施設 (1 施設) に過去半年以上入院・入所歴のある 65 歳以上の寝たきり高齢者 98 名 (男性 12 名、女性 86 名、平均年齢  $86.4 \pm 6.9$  歳) を対象とした。本研究の遂行にあたっては九州大学大学院歯学研究院生命倫理委員会の承認 (許可番号 19B-2) を受けた。



T-RFLPパターンの類似度関係に基づいて343名を二次元平面にプロットした。嚥下障害者(▲)が右上に偏って存在しているのが確認できる。

図1 嚥下障害による T-RFLP パターンの比較

## 全身健康状態の調査

認知症の程度について、認知症老人の日常生活自立度（認知症度）の分類（老健第135号厚生省老人保健福祉局1993）を参考にし、5群に分類し、Ⅰ、Ⅱを「軽度認知症」、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴを「重度認知症」と分類した。

肺炎の診断は、胸部レントゲン検査による診断を行った。レントゲン撮影が行えない場合は内科医の検査の下、38度以上の発熱、長期にわたる咳、呼吸困難、1分間に24回以上の頻呼吸、聴診による呼吸音の異常、褐痰の有無の6個の臨床所見のうち1つでも認められれば肺炎と診断した。

発熱状態の調査として、1日1回の定時検温（腋下にて測定）において37.5度以上の発熱があった日を発熱日とし、口腔診査後6か月間の発熱日数を調べた。

## 口腔診査

現在歯については視診によりWHOの診査基準に準じて診査し、健全歯、未処置歯、処置歯の判定を行った。舌苔付着の程度は視診により「無しまたは少量の舌苔」、「中程度以上の舌苔」の2群に分類した。舌の湿潤度は、安静時に湿潤度検査紙（湿潤度検査紙、キソウエット KISO-Wet Tester、KISOサイエンス株式会社、横浜；図1）を舌尖から約1cmの舌背部に垂直に立て10秒保持し、吸収した唾液によって検査紙が湿潤した長さにより、「0-0.9mm」、「1.0mm-4.9mm」、「5.0mm以上」の3群に分類した（Kakinoki et al. 2004）。

義歯の使用は、食事の際に義歯を使用している場合は「使用」、使用していない場合は「未使用」と定義した。

## 舌苔細菌叢の分析

### ①舌苔試料からのDNAの調製

舌苔試料中に含まれるDNAの抽出は懸濁液を15分間超音波処理して均一に拡散させ、zirconia-silica beadsとtungsten-carbide beadを加えて90°Cで10分間加温した後、Disruptor Genieを用いて菌体を震盪、破碎し、SDS溶液を加えて、70°Cで10分間加温して行った。続いて、フェノール（v/v）による抽出、フェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール（25:24:1, v/v）混合溶液で蛋白質成分を除去した後、エタノール沈殿処理を行い、生じた沈殿物をTE溶液に溶解し、分析時まで-30°Cで凍結保存した。

### ②PCR法を用いた16S rRNA遺伝子断片の網

## 羅的増幅と精製

抽出したDNAから、PCR法を用いて16S rRNA遺伝子の増幅を行い、Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP)法およびPyrosequence法を用いて増幅断片の解析を行った。

PCR法は、同遺伝子においてほとんどの細菌に共通な塩基配列部位である8F、806Rをプライマーとして使用した。T-RFLP法においては、5'末端を蛍光色素6-carboxyfluorescein (6-FAM)によって標識した8Fとhexachlorofluorescein (HEX)によって標識した806Rを用いた一方で、Pyrosequence法においては454 Life Sciences adapter A配列と6塩基のバーコード配列を5'末端側に追加した8Fと454 Life Sciences adapter B配列を5'末端側に追加した806Rを用いた。

### ③T-RFLP法を用いた16S rRNA遺伝子群の構成パターン解析

精製した16S rRNA遺伝子増幅断片を含む溶液を制限酵素を用いて37°Cで3時間消化した後、ABI3130 Genetic analyzer (Applied Biosystems, USA)を用いキャピラリー電気泳動を行った。それぞれの細菌叢の構成は横軸に細菌種、縦軸に細菌の量を反映した波形パターンとして表した。

98名の波形パターンは、統計ソフトRを用いて主成分分析 (Principal Component Analysis: PCA)を行い、相互の類似度関係を第一、第二主成分を示す散布図として視覚化した。

### ④Pyrosequence法を用いた16S rRNA遺伝子の塩基配列の決定と細菌群集構成の解析

Pyrosequence法を用いた解析は、胃瘻経管栄養及び経口摂食の高齢者からそれぞれ無作為に抽出した17名ずつ、計34名の被験者に対して行った。34名の被験者の抽出DNAはそれぞれバーコード配列の異なる8Fプライマーを用いて16S rRNA遺伝子を増幅した後、等濃度になるよう混合した。混合検体は454 Life Sciences Genome Sequencer FLX instrument (Roche, Basel, Switzerland)を用いて、adapter A配列からの塩基配列を決定した。

得られた塩基配列データは、180塩基以下のもの、プライマー配列が検出されないもの、適切なバーコード配列の検出されないもの、quality scoreの平均が25以下のもの、解読不能な部分を含むものを除去した。

これらの塩基配列データを用い、まず被験者間の舌苔細菌叢の類似度の算出を行った。

細菌群集間の類似度には、検出された代表塩基配列の有無に加え配列同士の系統学的距離を考慮した指標 Unifracを用いた。全代表配列データについて解析ソフトウェアNASTでアラインメントを行い、解析ソフトウェアClearcutを用いて塩基配列の系統樹を作成した後、解析ソフトウェアFast Unifracを用いて34名の被験者全ての組み合わせについて各被験者間の代表配列群の類似度を算出した。統計ソフトRを用いて主座標分析 (Principal Coordinate Analysis: PCoA) を行い、第一、第二主座標を示す散布図において各被験者間の細菌叢の類似度を表す代表配列群の類似度関係を視覚化した。

さらに、それぞれの被験者の舌苔中の細菌種の構成の詳細を明らかにするため、代表配列を解析ソフトウェア RDP classifierを用いて細菌属レベルまでの特定を行った。confidence threshold が60%以上であれば該当細菌属とみなした。さらに各細菌属に該当する塩基配列について、解析ソフトウェアBLAST+を用いてGreengenes データベースに登録されている「キメラ配列の可能性がない」かつ「environmental sample 由来でない」細菌種の塩基配列の中から最も相同性が高いものを検索し、該当細菌種とみなした。

#### 統計学的分析

有意差の検定にはFisherの正確確率検定、t検定、Wilcoxon符号不順位検定、Analysis of similarities (ANOSIM)をそれぞれ目的に合わせて用いた。有意水準は5%とし、分析にはすべて統計ソフトRを使用した。

#### 4. 研究成果

##### 試料採取時の健康状態

本研究の対象とした3施設に入居する98名の高齢者のうち、44名が経管栄養を施行されており、残りの54名が経口摂食を行っていた。44名の経管栄養施行者のうち31名が胃瘻栄養を、13名が経鼻経管栄養を受けていた。両群の被験者の試料採取時の健康状態を表1に示す。経管栄養群では、男性と重度認知症の者が有意に多く認められたが、その他の全身の診査項目では差はみられなかった。口腔状態については2群間で舌苔の付着量に有意な差が認められた。また、経管栄養群では義歯を使用している者はいなかった。

表1 試料採取時の被験者の健康状態

	経管栄養 (N=44)	経口摂取 (N=54)	P 値
全身症状			
年齢	85.1±7.5	87.4±6.3	0.10
性別 (女性)	35 (79.5)	51 (94.4)	0.03
施設 - 人 (%)			0.06
病院 A	27 (61.3)	40 (74.0)	
病院 B	14 (21.6)	7 (12.9)	
介護施設 A	3 (6.8)	7 (12.9)	
認知症 - 人 (%)			<0.001
軽度	5 (11.3)	29 (53.7)	
重度	39 (88.6)	25 (46.2)	
全身疾患 - 人 (%)			
糖尿病	5 (11.3)	5 (9.2)	0.7
脳卒中	38 (86.3)	37 (68.5)	0.05
悪性腫瘍	5 (11.3)	9 (16.6)	0.56
慢性胃腸炎	3 (6.8)	4 (7.4)	1.00
循環器系疾患	18 (40.9)	24 (44.4)	0.83
腎疾患	2 (4.5)	3 (5.5)	1.00
肝疾患	6 (13.6)	8 (14.8)	1.00
口腔症状			
現在歯数	8.4±9.3	7.8±7.6	0.70
う蝕歯数	1.7±3.3	2.1±3.6	0.53
義歯の有無 - 人 (%)	0 (0)	16 (29.6)	<0.001
舌苔の量			0.004
なし及び少量	15 (34.0)	35 (64.8)	
普通及び多量	29 (65.9)	19 (35.1)	
舌の湿潤度			1.00
≥ 5.0	13 (29.5)	13 (24.0)	
1.0-4.9	14 (31.8)	22 (40.7)	
< 1.0	17 (38.6)	19 (35.1)	

##### T-RFLP ピークパターンの比較

まず98名の被験者全員について、それぞれの舌苔細菌叢の構成をT-RFLP法を用いて波形パターンとして得た。これらの波形パターンの類似度関係を主成分分析法により比較すると、経管栄養者の波形パターンは左上方に偏り経口摂食者の波形パターンは右下に偏ってプロットされる傾向が認められた。そこで、ANOSIMを用いて経口摂食者群と経管栄養者群間での波形パターンの類似性の検定を行ったところ両群の波形パターンが有意に異なることが確認できた (P=0.002)。一方、経管栄養者群には胃瘻経管栄養者と経鼻経管栄養者の波形パターンに有意な差は認められなかった (P=0.778)。

##### Pyrosequence法を用いた細菌叢構成の比較

両群の細菌叢の構成をより詳細に比較検討するため、胃瘻経管栄養者と経口摂食者を17名ずつ無作為に抽出し、それぞれの被験者内の16S rRNA 遺伝子断片群の塩基配列についてPyrosequence法を用いて、計123,479リ

ード、被験者一人当たり  $3,631 \pm 2,464$  リードの 16S rRNA の塩基配列を解読し、舌苔細菌叢の構成についてより詳細な解析を行った。

得られた塩基配列データを用いて各被験者間の細菌叢構成の類似度 Unifrac を算出し、それぞれの代表配列の検出数を加味してその結果を主座標分析によって、第一、第二主座標を示す散布図として示すと図 1 のように経管栄養者群の舌苔細菌叢の構成は経口摂食者群のものと明らかに異なることが示された。

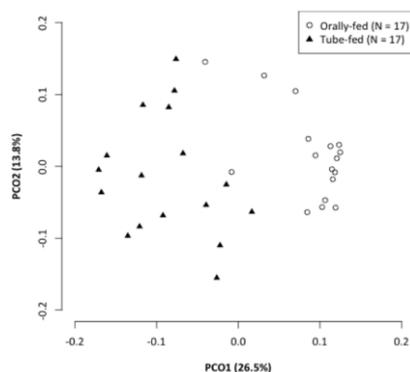


図 1 塩基配列に基づく各細菌叢類似度の Unifrac 分析結果に各代表配列の総検出数を加味した場合の主座標分析による散布図

経管栄養群と経口摂食群のいずれにおいても、舌苔細菌叢は、主に 5 つの細菌門 (Actinobacteria 門, Bacteroidetes 門, Fusobacteria 門, Firmicutes 門, Proteobacteria 門) から構成されているが、これらの門が各被験者の舌苔細菌叢に占める構成比率は両群で大きく異なっていた。経口摂食群では Firmicutes 門が圧倒的に優勢であったのに対し、経管栄養群ではその割合は低く、反対に経口摂食群では劣勢であった Proteobacteria 門と Actinobacteria 門が経口摂食者に比較して有意に高率で検出された。また、菌叢に占める割合はそれほど高くはなかったが、Synergistetes 門と SR1 門も経口摂食者に比較して経管栄養者に有意に高率で検出された。

また、両群の細菌叢の違いを細菌属レベルで見ると、*Veillonella*, *Streptococcus*, *Leptotrichia*, *Megasphaera*, *Granulicatella*, *Selenomonas*, *Moryella* が経管栄養群では経口摂食群に比べ各被験者の細菌叢における構成比率が有意に少なかった。逆に、経管栄養群では *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Parvimonas*, *Gemella*, *Porphyromonas*, *Actinobaculum*, *Aggregatibacter*, *Ottowia*, *Dialister*, *Sneathia*, *Peptoniphilus*, *Mobiluncus*,

*Kingella*, *Helcococcus*, *Bifidobacterium*, *Arcanobacterium*, *Anaerococcus*, *Aerococcus* が有意により多くを占めていた (図 2)。

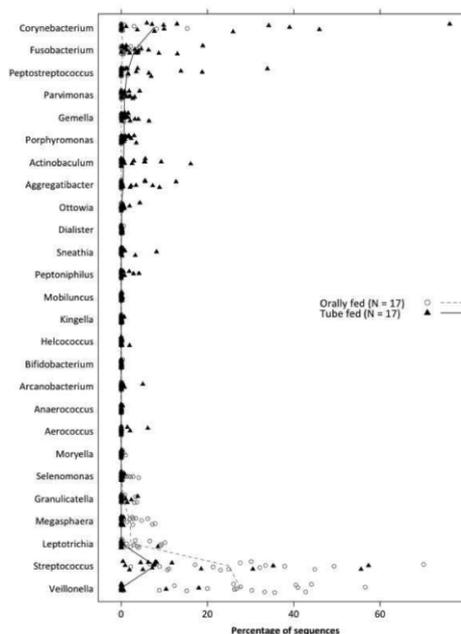


図 2 細菌属レベルでの細菌構成比率の比較

さらに、2 群間で特に大きな有意差 ( $P < 0.001$ ) が認められた細菌種を検討したところ、胃瘻栄養群では、健康な口腔において通常検出されることのない *Streptococcus agalactiae* や *Corynebacterium striatum* が高い比率で検出されることが明らかになった。さらに呼吸器系疾患の病原性細菌と言われる *Haemophilus influenza* (4 名) や *Pseudomonas aeruginosa* (2 名) も経管栄養群にのみ検出された。それに対して、経口摂食群で大多数を占める口腔常在細菌 *Streptococcus salivarius* や *Veillonella parvula* などの常在細菌の比率が経管栄養群では劇的に減少していた。

#### 試料採取後の 6 ヶ月間の健康状態

試料採取後 6 ヶ月の間、被験者の健康状態について経過を追ったところ、経管栄養群では経口摂食群に比べて有意に高頻度で発熱、肺炎の罹患、死亡が認められた。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① [Takeshita Toru](#), Yasui Masaki, Tomioka Mikiko, Nakano Yoshio, Shimazaki Yoshihiro, [Yamashita Yoshihisa](#), Enteral tube feeding alters the oral indigenous microbiota in elderly adults, *Appl Environ Microbiol*, 査読有り, 77 (11):6739-6745, 2011, doi: 10.1128/AEM.00651-11.
- ② [Yamashita Yoshihisa](#), [Takeshita Toru](#), Oral

flora composition and its connection to oral health, *J Oral Biosci*, 査読有り, 53 (3):206-212, 2011.

- ③ 山下喜久, 誤嚥性肺炎と口腔ケア、呼吸器内科, 査読なし, 21 (5):476-482, 2012.
- ④ Takeshita Toru, Yamashita Yoshihisa, Evaluation of Salivary microbiota from an ecological perspective, *J Oral Biosci*, 査読有り, 54 (3):128-131, 2012.
- ⑤ Takeshita Toru, Suzuki Nao, Nakano Yoshio, Yasui Masaki, Yoneda Masahiro, Shimazaki Yoshio, Hirofujii Takuo, Yamashita Yoshihisa, Discrimination of the oral microbiota associated with high hydrogen sulfide and methyl mercaptan production, *Sci Rep*, 査読有り, 2:215, 2012, doi: 10.1038/srep00215.
- ⑥ Yamanaka Wataru, Takeshita Toru, Shibata Yukie, Eshima Nobuoki, Yokoyama Takeshi, Yamashita Yoshihisa, Compositional stability of a salivary bacterial population against supragingival microbiota shift following periodontal therapy, *PLoS One*, 査読有り, 7 (8): e42806, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0042806.

[学会発表] (計 10 件)

- ① Yamashita Yoshihisa, Yamanaka Wataru, Takeshita Toru, Matsuo Kazuki, Yokoyama Takeshi, Bacterial composition in saliva and its connection to oral biofilm, *Eurobiofilms 2011, 2nd European Congress on Microbial Biofilms - Basic and Clinical Aspects*, Copenhagen (Denmark), July 7, 2011.
- ② 竹下徹, 鈴木奈央, 中野善夫, 米田雅裕, 廣藤卓雄, 山下喜久, 硫化水素およびメチルメルカプタン高産生常在フローラの細菌構成, 第 53 回歯科基礎医学会学術大会, 岐阜市, 10 月 1 日, 2011 年.
- ③ Obata Junko, Takeshita Toru, Unemori Masako, Shibata Yukie, Akamine Akifumi, Yamashita Yoshihisa, Molecular analysis of bacterial community inhabiting in carious dentin lesion, 59th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, Hiroshima (Japan), Oct 9, 2011.
- ④ 竹下徹, 山中渉, 松尾和樹, 柴田幸江, 江島伸興, 山下喜久, 歯周治療に伴う歯肉縁上プラークおよび唾液の細菌構成変化の比較, 第 61 回日本口腔衛生学会, 横須賀市, 5 月 27 日.
- ⑤ 小幡純子, 竹下徹, 柴田幸江, 山下喜久, 分子生物学手法を用いた乳歯および永久歯のう蝕象牙質病変に含まれる細菌構成, 第 61 回日本口腔衛生学会, 横須賀市, 5 月 27 日.
- ⑥ Matsuo Kazuki, Yamanaka Wataru, Takeshita Toru, Yukie Shibata, Eshima Nobuoki,

Yokoyama Takeshi, Yamashita Yoshihisa, Structural stability of a salivary bacterial population against supragingival microbiota shift following periodontal therapy, *International Symposium of Microbial Ecology 13*, Copenhagen (Denmark), Aug 20, 2012.

- ⑦ Takeshita Toru, Yasui Masaki, Saeki Yuji, Shibata Yukie, Yamashita Yoshihisa, Bacterial community succession on a hydroxyapatite disk in oral cavity in caries-active and caries-free subjects, *International Symposium of Microbial Ecology 13*, Copenhagen (Denmark), Aug 20, 2012.
- ⑧ Yamashita Yoshihisa, Takeshita Toru, Yasui Masaki, Shibata Yukie, Saeki Yuji, Ito Hiro, Structural shift of microbiota in dental plaque formed on a hydroxyapatite disk surfaces in vivo, 6th ASM Conference on Biofilms, Miami (USA), Sep 30, 2012.
- ⑨ 山下喜久, Individual variance of dental plaque maturation process related with oral health, 第 54 回歯科基礎医学会学術大会, 郡山市, 9 月 15 日, 2012 年.
- ⑩ Yamashita Yoshihisa, Comparison of oral health environment between Korean and Japanese adult population, The 2012 Annual Meeting of Korean Academy of Oral Health, Seoul (Korea), Oct 26, 2012.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: デンタルプラークの細菌叢の解析方法  
発明者: 山下喜久、竹下徹、佐伯洋二  
権利者: 国立大学法人九州大学、株式会社ロッテ  
種類: C12N  
番号: 2012-163813  
出願年月日: 平成 24 年 7 月 24 日  
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

山下喜久 (YAMASHITA YOSHIHISA)  
九州大学・大学院歯学研究院・教授  
研究者番号: 20192403

(2)研究分担者

竹下徹 (TAKESHITA TORU)  
九州大学・大学院歯学研究院・助教  
研究者番号: 50546471

(3)連携研究者

なし