

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H01598

研究課題名(和文) iPS細胞を用いた3次元的歯根膜作製法の確立と人工歯根開発への応用

研究課題名(英文) Establishment of the the method to develop 3D-periodontal ligament from iPS cells, and its application for artificial tooth root

研究代表者

前田 英史(MAEDA, HIDEFUMI)

九州大学・歯学研究院・教授

研究者番号：10284514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,800,000円

研究成果の概要(和文)：iPS細胞から歯根膜幹細胞様細胞(iPDLSC)への分化誘導法を明らかにし、分化に関わる因子として、転写因子PAX9およびFibrillin 2を検出した。また、ヒト歯根膜幹細胞株から作製したスフェロイドを、バイオ3Dプリンターを用いてチューブ状の構造体を作製した。この構造体は、ハイドロキシアパタイト(HAp)棒を内部に挿入することで、歯根膜様の特性の獲得に加えてセメント質、血管および骨の特性を示すことを確認した。そこで、iPDLSCのスフェロイドを用いて同様にチューブ状構造体を作製し、HAp棒を挿入して生体内に移植を行い、骨への生着を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、歯の喪失後に実施されるインプラント治療は、概ね予後が把握できるようになったものの、歯根膜がないために噛む感覚が本来の歯とは異なることや定期的なメンテナンスが必要であることが欠点である。本研究は、個人から作製できるiPS細胞の費用が安価になることを見据えて、iPS細胞から作製した人工歯根膜を用いて、歯根膜を保有したバイオインプラントの確立に向けた研究に道筋をつけるものである。これは、歯科界に新しい治療の選択肢を増やすイノベティブな研究である。

研究成果の概要(英文)：We clarified the method to induce periodontal ligament (PDL) stem cell-like cells (iPDLSC) from iPS cells, and identified the transcription factor, PAX9, and Fibrillin 2 as the factors to induce the differentiation of iPS cells to iPDLSC.

We also developed the tube-like structure from the spheroids derived from human PDL stem-like cell line that we produced. This structure exhibited not only the PDL-like properties, but the features of cementum, blood vessels, and bone by inserting a hydroxyapatite (HAp) cylinder into the structure.

Finally, we prepared the tube-like structure made of iPDLSC spheroids, and observed the engraftment of this structure including the HAp cylinder.

研究分野：保存治療系歯学

キーワード：iPS細胞 歯根膜幹細胞 人工歯根 バイオ3Dプリンター スフェロイド

## 1. 研究開始当初の背景

私たちは、歯および咬合の長期保存のため、歯根膜組織の再生の観点から研究を進めてきた。歯根膜組織の再生において枢軸的役割を持つ歯根膜幹細胞は、日本人の正常なヒト歯根膜組織中には、0.07%程度存在するといわれており( )、非常に稀少であることから、臨床や研究に用いるのに十分な細胞数を確保することは極めて困難である。そのため私たちは、当時注目されていなかった iPS 細胞に着目し、これを歯根膜幹細胞に誘導する方法について研究を進めてきた。iPS 細胞から歯根膜幹細胞様細胞を誘導するために、一旦、神経堤細胞への分化誘導を行い、この中から神経堤細胞マーカーである CD271 に対して陽性の細胞を抽出し(iNC 細胞)、これをプライマリーのヒト歯根膜細胞の細胞外基質(PDL-ECM)上で培養し歯根膜幹細胞への誘導を図ることを計画した。さらに、培養日数を短縮し、誘導方法の効率化を図るために、PDL-ECM に含まれる誘導促進因子の同定が必要であった。

一方、歯根膜を有したインプラント(バイオインプラント)については、当時、研究が進んでおらず、そのような中で、私たちは、バイオ 3D プリンターを用いて、私たちの研究室で樹立したヒト歯根膜幹細胞株のスフェロイドからチューブ状の人工歯根膜の作製に着手していた。しかしながら、その機能解析、そして iPS 細胞を用いた研究については実施されていなかった。

## 2. 研究の目的

歯の喪失後に、現状のインプラントでは得られない、天然の歯と同様の歯根膜感覚のあるインプラント体の作製は、患者の満足度の高い QOL の回復に繋がる、画期的な再生歯科医療であると考えられる。そこで、本研究では、iPS 細胞から歯根膜幹細胞(iPDLSC)への効率のよい誘導方法を明らかにし、さらに誘導された iPDLSC のスフェロイドを用いて、バイオ 3D プリンターでチューブ状構造体を構築し、この内部にハイドロキシアパタイトを挿入した次世代バイオインプラントを作製することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では、以下のような解析を行った。

(1) PDL-ECM 上で培養した iNC 細胞の歯根膜幹細胞特性について解析した。

(2) CAGE シークエンス法を用いて PDL-ECM に関する網羅的解析を行い、歯根膜細胞に発現の高い ECM および転写因子を候補因子としてピックアップし、それぞれの siRNA を作製して、iPDLSC への誘導能について評価した。

(3) iPDLSC への分化誘導能を示す因子の発現ベクターを作製し、その効果を検証した。

(4) バイオ 3D プリンターを用いて、ヒト歯根膜幹細胞株のスフェロイドからチューブ状構造体構築の条件を決定し、さらにその内部にチタンまたはハイドロキシアパタイトの芯棒(コア)を挿入して、人工歯根膜としての特性について解析した。

(5) iPDLSC を用いた人工歯根膜の作製法を確立した。

## 4. 研究成果

(1) iPS 細胞を Lee ら( )の報告に従って iNC 細胞へ分化誘導し、さらにこの細胞を PDL-ECM 上で培養した。iPS 細胞から iNC 細胞そして iPDLSC へ分化が進むについて、各々の分化段階に合ったマーカーが発現することを確認した(図1)。iPDLSC について解析を進めた結果、自己増殖能が高く、間葉系幹細胞の表面抗原である

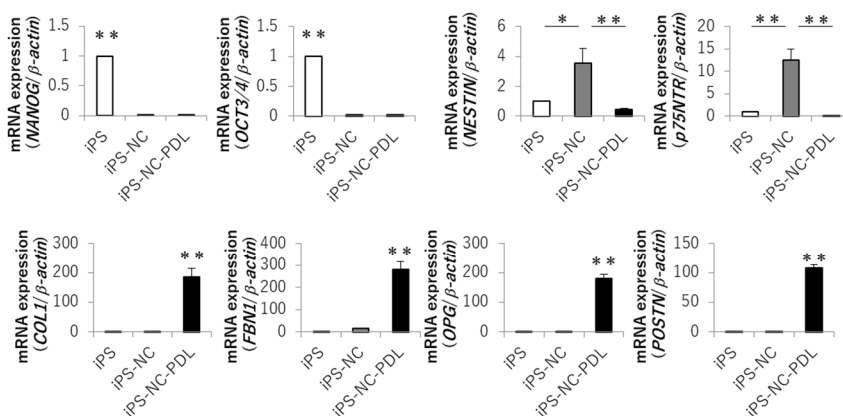


図1 iPS細胞、iNC細胞、iPDLSCの分化段階の違いによる各種マーカー発現 (Hamano et al. Stem Cells Dev. 2018)

CD90 および CD105 陽性細胞数を多く含み、骨芽細胞および脂肪細胞への分化能を持ち、歯根膜細胞マーカー(Periostin, Osteoprotegerin, Type I Collagen)を発現する iPDLSC 細胞への分化が誘導されることを明らかにした。またヒト皮膚線維芽細胞(SF)のECMやフィブロネクチン+ラミニン(FL)コートでは、このような活性はみられず(図2)、また同じヒト歯根膜

細胞であっても誘導能が低いものと高いものがあることが判明した。さらに iPDLSC 細胞を TCP およびハイドロキシアパタイトの複合物と共に、免疫不全マウスの背部皮下に移植したところ、iPDLSC 由来の歯根膜様線維が形成されることを明らかにした。以上より、私たちが今回用いた方法で誘導された iPDLSC は、歯根膜幹細胞の特徴を有した細胞であることがわかった。

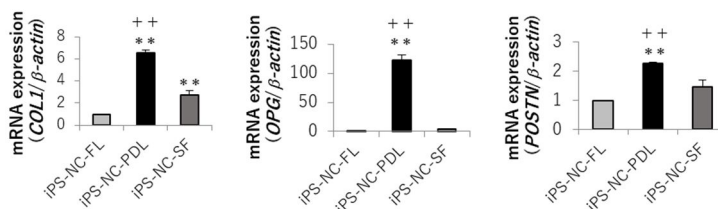


図2 dishのコーティングの違いによる誘導の違い (Hamano et al. Stem Cells Dev. 2018)

(2) PDL-ECM 解析のため、ヒト皮膚線維芽細胞、および iPDLSC への誘導能の異なる ECM を発現する 2 種のヒト歯根膜細胞の計 3 種の細胞から RNA を抽出して、CAGE 法解析を行った。その結果、iPDLSC への誘導能の高い歯根膜細胞に発現が高い 5 つの転写因子および 15 の細胞外基質をピックアップした。これら 20 の因子のそれぞれについて siRNA を作製し、各々を導入したヒト歯根膜細胞の ECM 上で iNC 細胞を培養した。その結果、転写因子 PAX9 の siRNA を導入した歯根膜細胞の ECM 上で培養した iNC 細胞は、歯根膜細胞マーカーの発現が促進しなかった。さらに、多分化能について解析した結果、骨芽細胞への分化に影響は見られなかったが、脂肪細胞への分化が抑制された。

一方、細胞外基質の Fibrillin 2 の siRNA を導入した歯根膜細胞の ECM 上で培養した iNC 細胞は、増殖および間葉系幹細胞マーカーの CD105 陽性細胞数が減少し、さらに骨芽細胞ならびに脂肪細胞への分化能が阻害された。加えて、歯根膜細胞マーカーの発現も低下したことから、Fibrillin 2 は iPDLSC への誘導に深くかかわる ECM であることが明らかになった。しかしながら、Fibrillin 2 のリコンビナントタンパクでコートした dish 上で iNC 細胞を培養しても、iPDLSC には誘導されなかったため、Fibrillin 2 はその誘導に部分的に働くか、あるいは複合体として作用する可能性が考えられた。

(3) PAX9 の発現ベクターを作製し、これを導入した歯根膜細胞上で iNC 細胞を培養した。その結果、歯根膜細胞マーカー (Periostin, Osteoprotegerin, Type I Collagen, PLAP1) がいずれも有意に亢進することが明らかになった。したがって、PAX9 によって転写される ECM には、iNC 細胞の iPDLSC 誘導を細かに制御する因子が含まれることが判明した。

(4) まずヒト歯根膜幹細胞株からスフェロイドの培養条件を決定した。1 ウェルに細胞数が 2400 個になるように、計 384 ウェルに播種した。培養期間は、2 日間で、直径および真円度が最大になり、表面粗造度も 0% になることを確認した (図 3)。

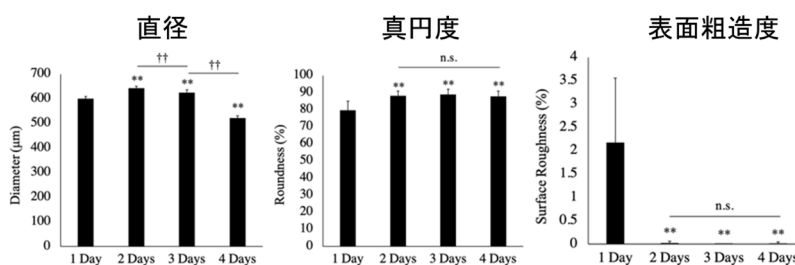


図3 スフェロイドの経時的形態変化 (Ono et al. J Cell Physiol. 2021)

そこで、作製したスフェロ

イドをバイオ 3D プリンターを用いて積層し、還流培養器内にて 10 日間培養後、チューブ状の構造体 (外径 3.14 mm、内径 1.76 mm、高さ 2.6 mm) を作製し、人工歯根膜として用いた。次にその内部にハイドロキシアパタイトまたはチタンのコアを挿入して (図 4)、さらに 7 日間培養した。その結果、コアの有無や種類にかかわらず、細胞の生存に影響はなかった。人工歯根膜内には、いずれも Type I および Type III コラーゲンが密に形成されており、また歯根膜関連因子 (Type III Collagen, PLAP1, Syndecan-1)、血管関連因子 (Vascular Endothelial Growth Factor A, Hepatocyte Growth Factor)、骨・セメント質関連因子 (Osteocalcin, Cementum Protein 1) の遺伝子発現がいずれも同等に亢進することが明らかになった。しかしながら、これらの因子について免疫染色を行った結果、ハイドロキシアパタイトのコア挿入群において、Syndecan-1, Hepatocyte Growth Factor, Vascular Endothelial Growth Factor, Cementum Protein 1 の発現が他の群よりも増加していた。

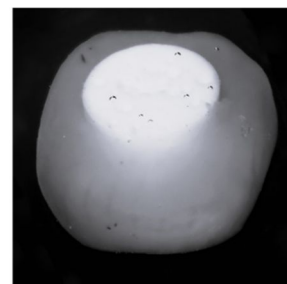


図4 チューブ状構造体の内部にハイドロキシアパタイトコアを挿入

したがって、歯根膜幹細胞株から作製した人工歯根膜は、ハイドロキシアパタイトをコアとすることで、歯根膜様の特性の獲得に加えてセメント質、血管および骨の特性を示すようになったことから、歯根膜として有用であることが示唆された。

次に、人工歯根膜にチタンコアを挿入し、バイオインプラントしてラットの骨内に埋入した。その結果、生体に生着することが判明した。

(5)(4)の結果に基づいて、iPDLSC から同様にスフェロイド作製を試みたが、直径はヒト歯根膜幹細胞株と同等であったものの、真円度は低く、表面粗造度は非常に高く、細胞間の結合は弱かったため、バイオ 3D プリンターの操作に耐えられる強度を有していないことが判明した。この問題解決のため、低濃度のアスコルビン酸をスフェロイド培地に添加した結果、細胞増殖および細胞外基質の産生が向上し、真円度および表面粗造度は改善して、バイオ 3D プリンターの操作にも耐えられる強度を持つようになった。

<引用文献>

Hidaka et al. Arch Oral Biol. 2012

Lee G et al. Nat Protoc. 2010.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計32件（うち査読付論文 32件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yasunaga M, Ishikawa H, Tamaoki S, Maeda H, Ohno J.	4. 巻 23
2. 論文標題 Embedded human periodontal ligament stem cells spheroids enhance cementogenic differentiation via plasminogen activator inhibitor 1.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23042340	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 Tomokiyo A, Hasegawa D, Ono T, Nagano R, Ipposhi K, Yamashita K, Alhasan MA, Maeda H.	4. 巻 110
2. 論文標題 Characterization of a clonal human periodontal ligament stem cell line exposed to methacrylate resin-, bioactive glass-, or silicon-based root canal sealers.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 127-137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10266-021-00648-7	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 Sugii H, Albougha MS, Adachi O, Tomita H, Tomokiyo A, Hamano S, Hasegawa D, Yoshida S, Itoyama T, Maeda H.	4. 巻 22
2. 論文標題 Activin A promotes osteoblastic differentiation of human pre-osteoblasts through the ALK1-Smad1/5/9 pathway.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222413491	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 Kaneko H, Hasegawa D, Itoyama T, Yoshida S, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Maeda H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Inhibition of c-Jun N-terminal kinase signaling promotes osteoblastic differentiation of periodontal ligament stem cells and induces regeneration of periodontal tissues.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arch Oral Biol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.archoralbio.2021.105323	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 Ipposhi K, Tomokiyo A, Ono T, Yamashita K, Alhasan MA, Hasegawa D, Hamano S, Yoshida S, Sugii H, Itoyama T, Ogawa M, Maeda H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Secreted frizzled-related protein 1 promotes odontoblastic differentiation and reparative dentin formation by regulating Notch signaling in dental pulp cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10092491	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 Yoshida S, Sugii H, Itoyama T, Kadowaki M, Hasegawa D, Tomokiyo A, Hamano S, Ipposhi K, Yamashita K, Maeda H.	4. 巻 130
2. 論文標題 Development of a novel direct dental pulp-capping material using 4-META/MMA-TBB resin with nano hydroxyapatite.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.msec.2021.112426	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 Yamashita K, Tomokiyo A, Ono T, Ipposhi K, Alhasan MA, Tsuchiya A, Hamano S, Sigii H, Yoshida S, Itoyama T, Maeda H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Mineral trioxide aggregate immersed in sodium hypochlorite reduce the osteoblastic differentiation of human periodontal ligament stem cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-01545-3.	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 Fujino S, Hamano S, Tomokiyo A, Itoyama T, Hasegawa D, Sugii H, Yoshida S, Washio A, Nozu A, Ono T, Wada N, Kitamura C, Maeda H.	4. 巻 235
2. 論文標題 Expression and function of dopamine in odontoblasts.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 4376-4387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.29314	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 Hamano S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Yuda A, Sugii H, Yoshida S, Mitarai H, Wada N, Maeda H.	4. 巻 121
2. 論文標題 Functions of beta2-adrenergic receptor in human periodontal ligament cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cell Biochem	6. 最初と最後の頁 4798-4808
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.29706	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 Hasegawa D, Hasegawa K, Kaneko H, Yoshida S, Mitarai H, Arima M, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Wada N, Kiyoshima H, Maeda H.	4. 巻 -
2. 論文標題 MEST Regulates the Stemness of Human Periodontal Ligament Stem Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cells Int.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/9672673	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 Itoyama T, Yoshida S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Hamano S, Sugii H, Ono T, Fujino S, Maeda H.	4. 巻 55
2. 論文標題 Possible function of GDNF and Schwann cells in wound healing of periodontal tissue.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Periodont Res.	6. 最初と最後の頁 830-839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.12774	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 Yoshida S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Hamano S, Sugii H, Maeda H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Insight into the Role of Dental Pulp Stem Cells in Regenerative Therapy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology-Basel.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biology9070160	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 Maeda H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Mass acquisition of human periodontal ligament stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World J Stem Cells.	6. 最初と最後の頁 1023-1031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4252/wjsc.v12.i9.1023	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 Maeda H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Aging and senescence of dental pulp and hard tissues of the tooth.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Cell Dev Biol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.605996	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 Ono T, Tomokiyo A, Ipposhi K, Yamashita K, Alhasan MA, Miyazaki Y, Kunitomi Y, Tsuchiya A, Ishikawa K, Maeda H.	4. 巻 236
2. 論文標題 Generation of biohybrid implants using a multipotent human periodontal ligament cell line and bioactive core materials.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 6742-6753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.30336	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 Yasunaga M, Kajiya H, Toshimitsu T, Nakashima H, Tamaoki S, Ishikawa H, Maeda H, Ohno J.	4. 巻 28
2. 論文標題 The Early Autophagic Pathway Contributes to Osteogenic Differentiation of Human Periodontal Ligament Stem Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Hard Tissue Biol	6. 最初と最後の頁 63-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2485/jhtb.28.63	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 Hosoya N, Takigawa T, Horie T, Maeda H, Yamamoto Y, Momoi Y, Yamamoto K, Okiji T.	4. 巻 38
2. 論文標題 A review of the literature on the efficacy of mineral trioxide aggregate in conservative dentistry.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dent Mater J.	6. 最初と最後の頁 693-700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2018-193	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 Tomokiyo A, Wada N, Maeda H.	4. 巻 28
2. 論文標題 Periodontal Ligament Stem Cells: Regenerative Potency in Periodontium.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cells Dev.	6. 最初と最後の頁 974-985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2019.0031	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 Nozu A, Hamano S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Sugii H, Yoshida S, Mitarai H, Taniguchi S, Wada N, Maeda H.	4. 巻 234
2. 論文標題 Senescence and odontoblastic differentiation of dental pulp cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 849-859
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.26905	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 Tomokiyo A, Yoshida S, Hamano S, Hasegawa D, Sugii H, Maeda H.	4. 巻 2018
2. 論文標題 Detection, Characterization, and Clinical Application of Mesenchymal Stem Cells in Periodontal Ligament Tissue.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells Int.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2018/5450768	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 Arima M, Hasegawa D, Yoshida S, Mitarai H, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Wada N, Maeda H.	4. 巻 54
2. 論文標題 R-spondin 2 promotes osteoblastic differentiation of immature human periodontal ligament cells through the Wnt/beta-catenin signaling pathway.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Periodont Res.	6. 最初と最後の頁 143-153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.12611	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 Toshimitsu T, Kajiya H, Yasunaga M, Maeshiba M, Fujisaki S, Miyaguchi N, Yamaguchi M, Maeda H, Kojima H, Ohno J.	4. 巻 28
2. 論文標題 Susceptibility of the wnt/ -catenin pathway accelerates osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cell spheroids.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Hard Tissue Biol.	6. 最初と最後の頁 121-128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2485/jhtb.28.121	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 Hasegawa D, Wada N, Yoshida S, Mitarai H, Arima M, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Maeda H.	4. 巻 233
2. 論文標題 Wnt5a Suppresses Osteoblastic Differentiation of Human Periodontal Ligament Stem Cell-like Cells Via Ror2/JNK signaling.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 1752-1762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.26086	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 該当する

1. 著者名 Hamano S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Yoshida S, Sugii H, Mitarai H, Fujino S, Wada N, Maeda H.	4. 巻 27
2. 論文標題 Extracellular Matrix from Periodontal Ligament Cells Could Induce the Differentiation of Induced Pluripotent Stem Cells to Periodontal Ligament Stem Cell-Like Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells Dev.	6. 最初と最後の頁 100-111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2017.0077	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 該当する

〔学会発表〕 計52件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 12件）

1. 発表者名 吉田晋一郎、糸山知宏、杉井英樹、長谷川大学、友清淳、濱野さゆり、門脇正敬、前田英史。
2. 発表標題 ナノハイドロキシアパタイト含有レジンの新規直接覆髄材としての可能性
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomohiro Itoyama, Shinichiro Yoshida, Atsushi Tomokiyo, Daigaku Hasegawa, Sayuri Hamano, Hideki Sugii, Taiga Ono, Shoko Fujino, Hidefumi Maeda.
2. 発表標題 Possibility of Schwann cells to contribute to periodontal wound healing.
3. 学会等名 97th General Session & Exhibition of the IADR. (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Taiga Ono, Atsushi Tomokiyo, Daigaku Hasegawa, Sayuri Hamano, Shinichiro Yoshida, Hideki Sugii, Shoko Fujino, Tomohiro Itoyama, Hidefumi Maeda.
2. 発表標題 Development of a new biohybrid implant system applying 3D-printing technology.
3. 学会等名 97th General Session & Exhibition of the IADR. (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下梢、友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、杉井英樹、吉田晋一郎、小野太雅、一法師啓太、M. Anas Alhasan、前田英史
2. 発表標題 NaClOに浸漬したMineral Trioxide Aggregateはヒト歯根膜幹細胞株の骨芽細胞分化能を低下させる
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小野太雅、友清淳、小川真里奈、長谷川大学、濱野さゆり、吉田晋一郎、杉井英樹、一法師敬太、山下梢、前田英史
2. 発表標題 バイオ3Dプリント技術を応用した未分化なヒト歯根膜クローン細胞株および生体活性材料コアを用いたバイオハイブリッドインプラントの作製
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 友清淳、長谷川大学、小野太雅、一法師啓太、山下梢、M. Anas Alhasan、濱野さゆり、杉井英樹、吉田晋一郎、前田英史
2. 発表標題 レジン系、バイオガラス系およびシリコン系根管充填用シーラーのヒト歯根膜幹細胞株に対する細胞親和性比較
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 御手洗裕美、祐田明香、Naati Fakatava、長谷川大学、前田英史、和田尚久
2. 発表標題 Transgelinは、Integrinを介した細胞外基質への接着に関与する
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naati Fakatava、御手洗裕美、祐田明香、長谷川大学、前田英史、和田尚久
2. 発表標題 The Role of ACTA2 in Periodontal Ligament Cell Stimulated with TGF-beta1.
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 倉富寛、吉田晋一郎、友清淳、前田英史
2. 発表標題 スマヤー層の除去のための効果的な根管洗浄方法に関する研究 第1報
3. 学会等名 第41回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 友清淳、山下梢、小野太雅、一法師啓太、濱野さゆり、長谷川大学、杉井英樹、吉田晋一郎、前田英史
2. 発表標題 フェノール系貼薬剤は硬化後のWhite Mineral Trioxide Aggregateの崩壊および色調変化を誘導する
3. 学会等名 第41回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 一法師啓太、友清淳、小野太雅、山下梢、長谷川大学、濱野さゆり、吉田晋一郎、杉井英樹、小川真里奈、前田英史
2. 発表標題 sFRP1は歯髄細胞の象牙芽細胞様分化を誘導し、デンティンブリッジ形成を促進する
3. 学会等名 第41回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Asuka Yuda, Shinsuke Fujii, C.A. McCulloch, Michihiko Usui, Shinya Murakami, Hidefumi Maeda, Naohisa Wada.
2. 発表標題 Roles of PDLIM5 in periodontal ligament and gingival epithelial cells.
3. 学会等名 American Academy of Periodontology (AAP) 106th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 足立織利恵、杉井英樹、糸山知宏、友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、吉田晋一郎、Mhd Safwan Albougha、前田英史
2. 発表標題 Decorinが未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第153回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 門脇正敬、吉田晋一郎、糸山知宏、友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、杉井英樹、前田英史
2. 発表標題 直接覆髄後の歯髓組織におけるM2マクロファージの集簇
3. 学会等名 第153回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉浦梨紗、濱野さゆり、友清淳、長谷川大学、吉田晋一郎、杉井英樹、前田英史
2. 発表標題 iPS細胞から歯根膜幹細胞様細胞への分化誘導能を有する転写因子の同定
3. 学会等名 第153回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keita Ipposhi, Atsushi Tomokiyo, Taiga Ono, Kozue Yamashita, M, Anas Alhasan, Daigaku Hasegawa, Sayuri Hamano, Shinichiro Yoshida, Hideki Sugii, Tomohiro Itoyama, Marina Ogawa, Hidefumi Maeda
2. 発表標題 Secreted frizzled-related protein 1 promotes odontoblastic differentiation and reparative dentin formation by regulating Notch signaling in dental pulp cells.
3. 学会等名 Kyudai Oral Bioscience & OBT Research Center Joint International Symposium 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野津葵、野津葵、濱野さゆり、友清淳、長谷川大学、吉田晋一郎、杉井英樹、一法師啓太、前田英史。
2. 発表標題 TNF-alpha刺激した老化ヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化の解析。
3. 学会等名 第42回日本基礎老化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下梢、友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、杉井英樹、吉田晋一郎、小野太雅、一法師啓太、前田英史。
2. 発表標題 次亜塩素酸ナトリウムに浸漬したMineral Trioxide Aggregateが多分化能を有するヒト歯根膜クローン細胞株の石灰化基質形成に及ぼす影響
3. 学会等名 第40回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、杉井英樹、吉田晋一郎、小野太雅、一法師啓太、山下梢、前田英史。
2. 発表標題 穿孔および破折ファイルを有する下顎右側第一大臼歯に対して意図的再植術を行った症例
3. 学会等名 第40回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shoko Fujino, Hamano Sayuri, Atsushi Tomokiyo, Daigaku Hasegawa, Shinichiro Yoshida, Hideki Sugii, Ayako Washio, Hiromi Mitarai, Naohisa Wada, Chiaki Kitamura, Hidefumi Maeda.
2. 発表標題 Effects of dopamine on odontoblastic differentiation through PKA signaling.
3. 学会等名 The 97th General Session & Exhibition of the IADR. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉井英樹、友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、吉田晋一郎、Mhd Safwan Albougha、前田英史
2. 発表標題 Activin Aが有する二極性の細胞分化誘導能に関する分子機構の解明
3. 学会等名 第150回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田晋一郎、糸山知宏、野津葵、杉井英樹、長谷川大学、友清淳、濱野さゆり、前田英史 .
2. 発表標題 Nano hydroxyapatite含有4-META/MMA-TBBレジンがヒト前骨芽細胞に及ぼす影響について
3. 学会等名 第150回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱野さゆり
2. 発表標題 iPS細胞由来歯根膜幹細胞様細胞の樹立
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会秋季学術大会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 糸山知宏、吉田晋一郎、友清淳、長谷川大学、濱野さゆり、杉井英樹、小野太雅、藤野翔香、一法師啓太、前田英史
2. 発表標題 シュワン細胞はヒト前骨芽細胞の骨芽細胞分化を促進する
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 兼子大志、長谷川大学、友清淳、濱野さゆり、吉田晋一郎、杉井英樹、前田英史
2. 発表標題 Non-Canonical Wntシグナルの阻害が未分化なヒト歯根膜細胞株の骨芽細胞様分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mhd Safwan Albougha, Hideki Sugii, Atsushi Tomokiyo, Sayuri Hamano, Daigaku Hasegawa, Shinichiro Yoshida, Tomohiro Itoyama, Shoko Fujino, Taiga Ono, Ori Adachi, Hidefumi Maeda.
2. 発表標題 Exosomes derived from human periodontal ligament stem cells promote osteoblastic differentiation of pre-osteoblasts.
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉井英樹、友清淳、濱野さゆり、長谷川大学、吉田晋一郎、御手洗裕美、野津葵、有馬麻衣、 糸山知宏、小野太雅、藤野翔香、一法師啓太、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 Activin Aがヒト歯根膜細胞およびヒト前骨芽細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響について
3. 学会等名 第148回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長谷川大学、長谷川佳那、御手洗裕美、有馬麻衣、濱野さゆり、吉田晋一郎、友清淳、杉井英樹、和田尚久、清島保、前田英史
2. 発表標題 新規幹細胞関連因子MESTがヒト歯根膜細胞の幹細胞転換に及ぼす影響
3. 学会等名 第148回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野津葵、濱野さゆり、友清淳、長谷川大学、吉田晋一郎、杉井英樹、御手洗裕美、一法師啓太、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 老化したヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化におよぼすTNF-alphaについて
3. 学会等名 第148回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野太雅、友清淳、長谷川大学、濱野さゆり、吉田晋一郎、杉井英樹、御手洗裕美、有馬麻衣、野津葵、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 Basic Fibroblast Growth FactorおよびephrinB2がヒト歯根膜細胞の増殖に及ぼす影響について
3. 学会等名 第148回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤野翔香、濱野さゆり、友清淳、長谷川大学、吉田晋一郎、杉井秀樹、鷲尾絢子、御手洗裕美、野津葵、有馬麻衣、和田尚久、北村知昭、前田英史
2. 発表標題 象牙芽細胞分化に及ぼすドーパミンの影響について
3. 学会等名 第39回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田晋一郎、杉井英樹、友清淳、長谷川大学、糸山知宏、野津葵、有馬麻衣、濱野さゆり、御手洗裕美、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 Nano Hydroxyapatite含有4-META/MMA-TBBレジンがヒト歯髄幹細胞に及ぼす影響について
3. 学会等名 第39回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nozu A, Hamano S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Sugii H, Yoshida S, Mitarai H, Taniguchi S, Wada N, Maeda H
2. 発表標題 Odontoblastic differentiation of senescence dental pulp cells treated by TNF-
3. 学会等名 The 96th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugii H, Grimaldi A, Li J, Parada C, Ho T-V, Feng J, Jing J, Yuan Y, Guo Y, Maeda H, Chai Y.
2. 発表標題 Dlx5 Plays a Critical Role During Soft Palate Muscle Development
3. 学会等名 The 96th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomokiyo A, Hamano S, Hasegawa D, Sugii H, Yoshida S, Mitarai H, Sonoda M, Nozu A, Wada N, Maeda H
2. 発表標題 Discoloration of White Mineral Trioxide Aggregate Immersed in Various Solutions
3. 学会等名 The 96th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Arima M, Hasegawa D, Yoshida S, Mitarai H, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Wada N, Maeda H
2. 発表標題 R-spondin2 Enhances Osteoblastic Differentiation of Immature Human Periodontal Ligament Cells.
3. 学会等名 The 96th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fujino S, Hamano S, Tomokiyo A, Hasegawa D, Yoshida Y, Sugii H, Washio A, Mitarai H, Nozu A, Arima M, Wada N, Kitamura C, Maeda H.
2. 発表標題 Effects of dopamine on odontoblastic differentiation.
3. 学会等名 The IFEA 11th World Endodontic Congress
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田晋一郎、糸山知宏、長谷川大学、有馬麻衣、友清淳、濱野さゆり、杉井英樹、野津葵、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 Semaphorin 3Aによる修復象牙質形成過程へのSonic hedgehogシグナルの関与
3. 学会等名 第149回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 有馬麻衣、長谷川大学、吉田晋一郎、御手洗裕美、友清淳、濱野さゆり、杉井英樹、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 LGR4が未分化なヒト歯根膜細胞の増殖能、走化性および骨芽細胞分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第149回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野太雅、友清淳、長谷川大学、濱野さゆり、吉田晋一郎、杉井英樹、有馬麻衣、小川真里奈、野津葵、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 未分化なヒト歯根膜クローン細胞株およびハイドロキシアパタイト焼成体を用いた人工歯根作製について
3. 学会等名 第149回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 糸山知宏、吉田晋一郎、友清淳、長谷川大学、濱野さゆり、杉井英樹、有馬麻衣、野津葵、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 GDNFは未分化なヒト歯根膜細胞のシュワン細胞様分化を誘導する
3. 学会等名 第149回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 一法師啓太、友清淳、長谷川大学、濱野さゆり、吉田晋一郎、杉井英樹、有馬麻衣、野津葵、小川真理奈、和田尚久、前田英史
2. 発表標題 ヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化におよぼすsFRP1の影響について
3. 学会等名 第149回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Aoi Nozu, Sayuri Hamano, Atsushi Tomokiyo, Daigaku Hasegawa, Shinichiro Yoshida, Hideki Sugii, Hiromi Mitarai, Keita Ipposhi, Naohisa Wada, Hidefumi Maeda
2. 発表標題 Effects of TNF-beta on Senescent human dental pulp cells.
3. 学会等名 Kyudai Oral Bioscience & OBT Research Center Joint International Symposium 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川大学、和田尚久、園田麻衣、吉田晋一郎、友清淳、濱野さゆり、御手洗裕美、前田英史
2. 発表標題 Tenomodulinがヒト歯根膜細胞の機能維持に及ぼす影響について.
3. 学会等名 第146回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉田晋一郎、杉井英樹、友清淳、長谷川大学、糸山知宏、御手洗裕美、有馬麻衣、濱野さゆり、野津葵、和田尚久、前田英史。
2. 発表標題 Nano Hydroxyapatite含有4-META/MMA-TBBレジンがヒト歯根膜幹細胞に及ぼす影響について
3. 学会等名 第146回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 有馬麻衣、長谷川大学、吉田晋一郎、御手洗裕美、友清淳、濱野さゆり、杉井英樹、和田尚久、前田英史。
2. 発表標題 R-spondin2はカノニカルWntシグナルを介して未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞分化を促進する。
3. 学会等名 第147回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sugii H, Tomokiyo A, Hamano S, Hasegawa D, Yoshida S, Mitarai H, Nozu A, Arima M, Itoyama T, Ono T, Fujino S, Ipposhi K, Wada N, Maeda H.
2. 発表標題 Activin A reversely works on the osteoblastic differentiation of human pre-osteoblastic cells and periodontal ligament cells.
3. 学会等名 The 65th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research.
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Arima M, Hasegawa D, Yoshida S, Mitarai H, Tomokiyo A, Hamano S, Sugii H, Wada N, Maeda H.
2. 発表標題 R-spondin2 enhances osteogenesis of immature human periodontal ligament cells through the canonical Wnt signaling pathway.
3. 学会等名 Kyudai Oral Bioscience 2018. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱野さゆり、友清淳、長谷川大学、杉井英樹、吉田晋一郎、御手洗裕美、野津葵、藤野翔香、和田尚久、前田英史。
2. 発表標題 iPS細胞由来の歯根膜幹細胞様細胞の樹立。
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長谷川大学、御手洗裕美、長谷川佳那、有馬麻衣、濱野さゆり、吉田晋一郎、友清淳、杉井英樹、和田尚久、清島保、前田英史。
2. 発表標題 ヒト歯根膜幹細胞における新規幹細胞特性制御因子としてのMESTの可能性。
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2018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	友清 淳  (Tomokiyo Atsushi)  (20507777)	九州大学・大学病院・講師   (17102)	
研究分担者	吉田 晋一郎  (Yoshida Shinichiro)  (30778866)	九州大学・大学病院・助教   (17102)	
研究分担者	濱野 さゆり  (Hamano Sayuri)  (40757978)	九州大学・歯学研究院・助教   (17102)	

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	和田 尚久  (Wada Naohisa)  (60380466)	九州大学・歯学研究院・教授    (17102)	
研究分担者	杉井 英樹  (Sugii Hideki)  (80802280)	九州大学・歯学研究院・助教    (17102)	
研究分担者	長谷川 大学  (Hasegawa Daigaku)  (20757992)	九州大学・大学病院・助教    (17102)	

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