

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04380

研究課題名(和文) ラット歯髄組織再生モデルを用いた再生過程の解析：幹細胞分化促進因子の探索

研究課題名(英文) An investigation of factors that promote dental pulp regeneration and stem cell differentiation in a rat model of coronal pulp regeneration

研究代表者

興地 隆史 (OKIJI, Takashi)

東京医科歯科大学・大学院歯学総合研究科・教授

研究者番号：80204098

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：幹細胞移植によるラット歯冠歯髄再生モデルを用いて歯髄組織再生に関する細胞・分子機構を解析し、組織再生過程でマクロファージがM2優位にシフトすること、神経成長因子発現亢進を伴う神経線維再構築が生じること等を確認するとともに、移植した幹細胞の一部が硬組織形成細胞に分化することを示唆する所見を得た。さらに、幹細胞・血管内皮細胞混合移植による歯髄再生促進機構の解明を目的として、幹細胞と血管内皮細胞の共培養を行い、共培養で血管内皮増殖因子(VEGF)産生、Bcl-2などの血管新生因子のmRNA発現、あるいは血管内皮細胞の管腔形成がNF-κB依存性に促進することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯髄組織再生が可能となれば、天然歯の残存期間の飛躍的延長が期待される。本研究では、将来の臨床応用を見据え、独自のラット歯冠歯髄再生モデルを用いて歯髄組織再生過程で展開される細胞・分子機構の解明を図った結果、再生過程における幹細胞、マクロファージ、神経線維等の挙動を明らかにすることができた。さらに、幹細胞・血管内皮細胞混合移植で歯髄再生が促進されるとの申請者らの従来の知見に基づき、その機構をin vitro共培養系で解析し、両細胞間のクロストークによるNF-κB依存性の血管新生因子産生促進という新たな機構を見出した。以上の成果は、効率的な歯髄組織再生技法の創生に貢献しうると思われる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed (1) to elucidate cellular and molecular mechanisms involved in the dental pulp regeneration in a rat coronal pulp regeneration model using mesenchymal stem cell (MSC) implantation; and (2) to examine whether MSC-endothelial cell (EC) crosstalk participates in the accelerated pulp regeneration after MSC-EC co-implantation, using a co-culture system. mRNA and protein expression analysis of the regenerating pulp revealed M1-to-M2 transition of macrophages and reinnervation with nerve growth factor upregulation during the pulp regeneration process. LacZ-labeled cells were detected below the dentin bridge, suggesting differentiation of implanted MSCs into mineralized tissue-forming cells. The co-culture upregulated vascular endothelial cell growth factor secretion and mRNA expression of angiogenic factors and promoted tube formation in an NF-κB dependent manner, suggesting the NF-κB pathway plays a major role in the MSC-EC crosstalk-induced angiogenic responses.

研究分野：歯内療法学

キーワード：歯髄組織再生 歯髄幹細胞 血管内皮細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯髄に細菌感染が生じた場合、現在なお多数の症例で抜髄を施さざるを得ない。しかし、除去された歯髄組織の再生が可能となれば、歯の生来の機能が回復するとともに物性が向上し、歯の残存期間の飛躍的延長が期待される。このような観点から組織幹細胞移植による歯髄組織再生療法の可能性が探索されており、歯髄や歯乳頭由来の組織幹細胞をスキャホールドとともに埋植することにより歯髄様組織が形成されることを示した報告がなされつつある。

申請者らも上述の点に着目して、組織幹細胞を用いた歯髄再生の解析を重ねており、米国ミシガン大学との共同研究において、ヒト乳歯由来幹細胞を poly-L-lactic acid (PLLA) スキャホールド³⁾とともにヒト抜去歯スライスの歯髄腔内に移植し、再生組織を免疫不全マウス背部皮下で増殖させることにより、象牙芽細胞様細胞の配列を有し正常歯髄組織に形態学的・組織学的・分子生物学的に類似した組織を再生させることに成功している。

さらに、我々は、臨床応用を具現化するためにポリ乳酸(PLLA)スキャホールドとペプチドハイドロゲル(Matrigel)を組み合わせた三次元スキャホールドを考案し、これをラット骨髄間葉系幹細胞とともに冠部歯髄を除去したラット臼歯歯髄腔に移植すると、完全に露髄面を封鎖したデンティンブリッジを有する歯髄組織の再生が約2週間で生じることを確認している。また、幹細胞と血管内皮細胞を混合して移植すると、幹細胞単独での移植よりも、冠部歯髄組織の再生が促進することも見出している。

2. 研究の目的

本研究課題では、上記のラット臼歯冠部歯髄再生モデルが歯髄組織再生に関与する細胞・分子機構の経時的探索、あるいは歯髄再生技法の確立のための検討に有用であることに着目し、ラット骨髄間葉系幹細胞移植後の組織再生過程での幹細胞の分化や組織再生の様相を形態学的ならびに遺伝子・タンパク発現から解析するとともに、歯髄組織再生の促進に主要な役割を演じる因子(遺伝子・タンパク)の同定を行うことを第一の目的とした。さらに、幹細胞・血管内皮細胞混合移植における再生促進機構として両細胞のクロストークに着目し、*in vitro*で両細胞を非接触混合培養後の血管新生因子産生、ならびにその過程に関与するシグナル経路を解析することを第二の目的とした。

3. 研究の方法

1) ラット臼歯冠部歯髄再生モデルにおける歯髄再生過程の検討

移植する培養細胞として、ラット骨髄間葉系幹細胞、ラット切歯幹細胞、およびラット微小血管内皮細胞を用いた。培養・増殖させた幹細胞単独あるいは幹細胞/血管内皮細胞を混合したものをMatrigelに混濁させ、ゲル状スキャホールドを作成した。さらにこの幹細胞添加ゲル状スキャホールドをPLLAスキャホールド上に添加して三次元スキャホールドを作成した。ラット上顎第一臼歯を生活断髄後、歯冠歯髄腔に幹細胞添加三次元スキャホールドを埋入し、窩洞を mineral trioxide aggregateセメント(MTAセメント)で封鎖した。移植期間は3, 7, 14日とした。再生歯髄組織をH.E.染色による組織学的解析、免疫組織学的解析およびウェスタンブロット法によるタンパク発現解析、リアルタイムPCR法による遺伝子発現解析に供した。

(1) 歯髄再生過程におけるマクロファージ亜群の変動の解析

活性化マクロファージ亜群(M1, M2マクロファージ)の経時的な動態を、CD68と、CCR7(M1マーカー)、CD163(M2マーカー)、あるいはCD206(M2マーカー)との免疫二重染色法を用いて検索した。さらに再生組織中のマクロファージ関連遺伝子(*AIF1*, *CD163*, *CD206*, *IL-10* および *TNF- α*)の経時的な発現変化を定量的に検索した。またCD68, CCR7 および CD206の発現をウェスタンブロット法で解析した。

(2) 移植後の幹細胞の挙動の解析

骨髄間葉系幹細胞に LacZ 遺伝子を導入したのち歯髄腔に移植し、移植後の骨髄間葉系幹細胞の動態を検索した。移植期間は3, 7, 14日とした。移植期間経過後、試料を摘出し、凍結標本とした。凍結切片作成後、 α -galactosidase に対する酵素組織化学染色、および nestin, dentin sialoprotein に対する免疫染色を行った。

(3) 歯髄再生過程における抗原提示細胞の挙動の解析

再生組織中の抗原提示細胞の分布の変動を、幹細胞単独移植群と幹細胞/血管内皮細胞混合移植群とで比較した。移植期間は3, 7, 14日とし、各期間経過後に一次抗体にOX6(MHCクラスIIマーカー)およびCD43を用いた免疫染色を行った。さらに再生組織中の抗原提示細胞関連遺伝子(MHC class II, CD83, CD86)に対する経時的な発現の変化を、リアルタイムPCRを用いて定量的に検索した。

(4) 歯髄再生過程における神経再生過程の解析

移植 3, 7, 14 日後における再生組織中の神経線維の局在、密度を protein gene product 9.5 (PGP9.5)、カルシトニン遺伝子関連ペプチド calcitonin gene-related peptide (CGRP) および substance P (SP) を用いた免疫染色法を用いて検索した。さらに神経増殖因子 *nerve growth factor (NGF)* および *growth-associated protein 43 (GAP-43) mRNA* に対して経時的な発現の変化をリアルタイム PCR を用いて定量的に検索した。

2) ラット切歯歯髄由来幹細胞の作成

Wistar ラット切歯より歯髄組織を摘出し、コラゲナーゼ・ディスパーゼ混合溶液で歯髄細胞を分離・分散後、pericyte マーカーである CD146(MCAM) 抗体、さらに MAP1B 抗体と反応させたダイナビーズ (Daynal 社) を用いた磁気分離法により、CD146+MAP1B+歯髄幹細胞の分離を行った。培養・増殖後、以後の実験のために凍結保存した。得られた切歯歯髄幹細胞に対してフローサイトメトリーを用いて幹細胞としての特性を検索した。

3) 幹細胞・血管内皮細胞共培養による細胞間クロストークの解析

(1) ヒト歯髄幹細胞とヒト血管内皮細胞の相互作用の解析

培養細胞として、ヒト脱落乳歯幹細胞 (SHED)、ヒト微小血管内皮細胞 (HDMEC) を用いた。SHED と、HDMEC をそれぞれが接しない状態で共培養 (播種細胞数 0.1×10^5 , $0.4 \mu\text{m}$ pore membrane) した。SHED 単独、および HDMEC 単独培養群をコントロールとした。NF- κ B 阻害薬 (NF- κ B デコイ核酸) を培養液に添加した群と、非添加群とで同様の共培養実験を行った。96 時間培養後の培養液より細胞培養上清を調整し ELISA を用いて血管内皮増殖因子 (VEGF) および phospho-NF- κ B p65 を定量した。さらに、それぞれの実験群の各々の細胞より total RNA を抽出後、それぞれ単独の培養実験を各 3 回実施し、各実験群において特徴的な発現変動パターンを示す遺伝子をマイクロアレイを用いて絞り込んだ。さらに、リアルタイム PCR を用いて、マイクロアレイで絞り込まれた遺伝子 (*B-cell lymphoma 2 (Bcl-2)*、*nuclear factor-kappa B1 (NF- κ B1)*、*VEGFA*、*CXCL8*、*CXCR1*、*Bax* および *Caspase 9 mRNA*) の定量的発現解析を実施した。また、マトリゲルを用いた管腔形成アッセイを各実験群に対して実施した。

(2) ラット切歯歯髄幹細胞、ラット間葉系幹細胞とラット血管内皮細胞の相互作用の解析

培養細胞として、ラット切歯歯髄幹細胞 (上述の Wistar ラット 5 週齢切歯歯髄組織より採取した細胞。継代 5 の培養細胞を使用)、ラット骨髄間葉系幹細胞、ラット微小血管内皮細胞を用いた。切歯歯髄幹細胞あるいは骨髄間葉系幹細胞と、血管内皮細胞細胞とを、それぞれが接しない状態において共培養 (播種細胞数 0.1×10^5 , $0.4 \mu\text{m}$ pore membrane) した。歯髄幹細胞単独、骨髄間葉系幹細胞単独、および血管内皮細胞単独培養群をコントロールとした。48 時間培養後の培養液より細胞培養上清を調整し ELISA を用いて VEGF 発現を定量した。さらに、それぞれの実験群の各々の細胞より total RNA を抽出後、リアルタイム PCR を用いて、*nuclear factor kappa B (NF- κ B)*、*BCL2 Binding Component 3 (BBC3)*、*CXCL1*、*C-X-C motif chemokine receptor 1 (CXCR1)* および *glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA* の発現を定量した。

4. 研究成果

(1) ラット臼歯歯冠歯髄再生モデルにおいて M1 および M2 マクロファージの経時的な動態を検索したところ、移植 14 日経過後までに M1 マーカー陽性細胞 (CD68+CCR7+) の経時的な減少および M2 マーカー陽性細胞 (CD68+CD163+ および CD68+CD206+) の経時的な増加を認めた (図 1)。歯髄組織再生過程において M1 マクロファージ優位から M2 マクロファージ優位への転換が生じ、M2 マクロファージが再生の進行した組織では優位に分布していることが示唆された。

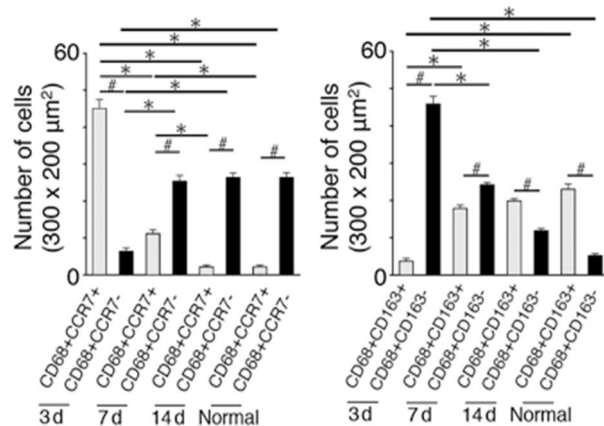


図1. ラット臼歯歯冠歯髓再生モデルにおける M1 マーカー陽性細胞 (CD68+CCR7+; 左) および M2 マーカー陽性細胞 (CD68+CD163+; 右) の密度の経時的変動

(2) ラット臼歯歯冠歯髓再生モデルにおいて、移植する骨髄間葉系幹細胞に LacZ 遺伝子導入し検索したところ、骨髄間葉系幹細胞から分化した遺伝子導入細胞は、移植 14 日後も移植組織内に分布し、その一部はデンティブリッジ様硬組織下の象牙芽細胞層近傍に局在を示すことから、これらが新生硬組織形成部近傍で選択的に集積することが確認された (図 2)。このことから、移植された幹細胞が再生組織中で生存するのみならず、新生硬組織形成細胞への分化を示す可能性が示唆された。

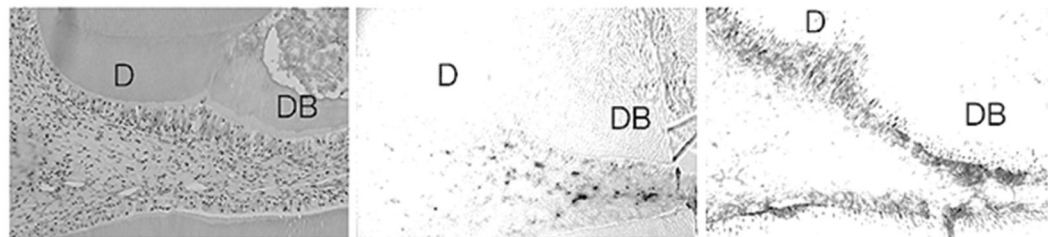


図2. ラット臼歯歯冠歯髓再生モデルにおける LacZ 遺伝子導入骨髄間葉系幹細胞の局在。移植 14 日後。(左) HE 染色。(中央) -galactosidase 染色。(右) nestin に対する酵素抗体染色。D、象牙質。DB、デンティブリッジ様硬組織。

(3) ラット臼歯歯冠歯髓再生モデルにおいて、再生組織中の神経線維の動態を検索したところ、PGP9.5 および CGRP 陽性神経線維は、3 日において最も低い密度を示した後、14 日まで増加した。コントロールと 14 日の陽性神経線維の密度を比較すると、CGRP は有意差を認めなかったが、一方、PGP9.5 はコントロールよりも 14 日において有意に低い密度を示した。Substance P 陽性神経線維は、7 日ではコントロールよりも有意に密度が高く、そして 14 日においてコントロールとの間に有意差を認めなくなった。NGF mRNA は、14 日まで経時的に増加したが、一方、GAP-43 mRNA は、3 日において最も高値を示した後、14 日まで徐々に低下した。以上の結果から、間葉系幹細胞を用いた歯冠歯髓再生モデルにおいて NGF および GAP-43 遺伝子発現の増加をとまなう substance P および CGRP 陽性神経線維の再生・再構築が生じることがわかった。

(4) 再生組織中の抗原提示細胞の挙動を解析したところ、OX6 陽性細胞は、幹細胞/血管内皮細胞混合移植群および正常歯髓組織よりも幹細胞単独移植群において有意に多数観察された。幹細胞/血管内皮細胞混合移植群と正常歯髓組織の OX6 陽性細胞密度に、有意差はなかった。MHC class II DM alpha、CD83、CD86 mRNA 発現は、幹細胞単独移植群において有意に高い値を示した ($P < 0.05$)。幹細胞/血管内皮細胞混合移植群と正常歯髓組織における MHC class II DM alpha、CD83、CD86 mRNA 発現に、有意差はなかった。幹細胞単独移植における MHC クラス II 分子陽性細胞数および抗原提示細胞関連遺伝子の発現量が最も高かったことから、幹細胞/血管内皮細胞混合移植と比較して幹細胞単独移植群における抗原提示細胞が活性化度および成熟度の最も高い細胞群より構成されることが示唆された。その理由として、単独移植群では混合移植群と比較して被蓋硬組織が不完全なことなど歯髓の再生が途上であるため、抗原刺激を受けやすい状態にあることが推察された。

(5) ヒト脱落乳歯幹細胞 (SHED) とヒト微小血管内皮細胞 (HDMEC) との共培養モデルにより両細胞間の相互作用を解析したところ、単独培養と比較して共培養では、NF- κ B 阻害薬非存在下において、VEGF と phospho-NF- κ B p65 のタンパク発現が有意に増加した。さらに、Bcl-2、

NF- B1、VEGFA、CXCL8、CXCR1 mRNA の発現亢進、および Bax および Caspase 9 mRNA の発現低下が確認された。一方、共培養実験群において、NF- B 阻害薬は、VEGF と phospho-NF- B p65 の発現を低下させた。そして Bcl-2、NF- B1、VEGFA、CXCL8、CXCR1 を減少させ、Bax、Caspase 9 mRNA を増加させた。さらに、HDMEC の管腔形成は共培養で促進したが (図 3)、NF- B 阻害薬はこの管腔形成を阻害した。以上の結果から SHED と HDMEC 間のクロストークは NF- B に依存し、Bcl-2 などの血管新生関連遺伝子の発現を調節することがわかった。

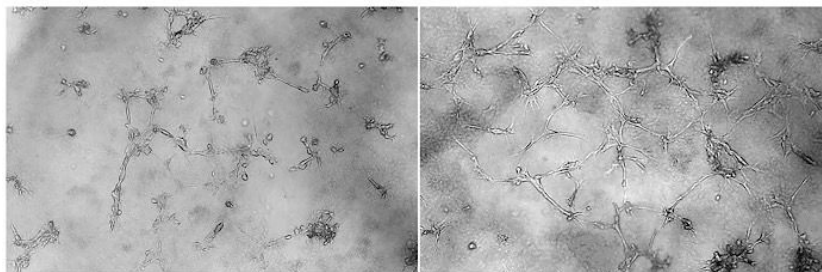


図 3. 三次元培養後のヒト微小血管内皮細胞の管腔形成。(左)単独培養。(右)ヒト脱落乳歯幹細胞との共培養。

(6) *in vitro* ラット培養細胞共培養モデルにおいて血管内皮細胞と幹細胞 (骨髄間葉系幹細胞、切歯歯髄幹細胞) との相互作用を検索したところ、VEGF 発現は、単独培養群よりも共培養群で有意に増加していた。共培養群間において比較すると、骨髄間葉系幹細胞/血管内皮細胞共培養群において、切歯歯髄幹細胞/血管内皮細胞共培養群よりも有意に高い VEGF 発現を示した。NF- B、CXCL1、CXCR1、CXCR2 mRNA の発現量は、それぞれの細胞において単独培養群よりも共培養群で有意に増加していた。共培養群間の血管内皮細胞において比較すると、NF- B、BBC3、CXCR1 mRNA の発現量は、骨髄間葉系幹細胞/血管内皮細胞共培養群において、切歯歯髄幹細胞/血管内皮細胞共培養群よりも増加していた。NF- B、BBC3、CXCR1 mRNA の発現量は、骨髄間葉系幹細胞/血管内皮細胞共培養群において切歯歯髄幹細胞/血管内皮細胞共培養群より増加していた。しかし、共培養群間で血管内皮細胞の CXCL1 と CXCR2 mRNA 発現には有意差が認められなかった。このことから、ラット幹細胞と血管内皮細胞のクロストークにおける VEGF 産生には、CXCL1 の経路よりも CXCR1 経路が強く関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kaneko T, Gu B, Sone PP, Zaw SYM, Murano H, Zaw ZCT, Okiji T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Dental Pulp Tissue Engineering Using Mesenchymal Stem Cells: a Review with a Protocol	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cell Reviews and Reports	6. 最初と最後の頁 668-676
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12015-018-9826-9	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 Bakhit A, Kawashima N, Hashimoto K, Noda S, Nara K, Kuramoto M, Tazawa K, Okiji T.	4. 巻 8
2. 論文標題 Strontium ranelate promotes odonto-/osteogenic differentiation/mineralization of dental papillae cells in vitro and mineralized tissue formation of the dental pulp in vivo	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-27461-7	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 Gu B, Kaneko T, Zaw SYM, Sone PP, Murano H, Sueyama Y, Zaw ZCT, Okiji T.	4. 巻 52
2. 論文標題 Macrophage populations show an M1-to-M2 transition in an experimental model of coronal pulp tissue engineering with mesenchymal stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Endodontic Journal	6. 最初と最後の頁 504-514
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/pho.2017.4416	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 Noda S, Kawashima N, Yamamoto M, Hashimoto K, Nara K, Sekiya I, Okiji T	4. 巻 9
2. 論文標題 Effect of cell culture density on dental pulp-derived mesenchymal stem cells with reference to osteogenic differentiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5430
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-41741-w	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 T, Myo Zaw SY, Sueyama Y, Katsube KI, Kaneko R, Nor JE, Okiji T	4. 巻 45
2. 論文標題 Inhibition of Nuclear Factor Kappa B Prevents the Development of Experimental Periapical Lesions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Endodontics	6. 最初と最後の頁 168-173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joen.2018.10.006	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 Kaneko T, Sone PP, Zaw SYM, Sueyama Y, Zaw ZCT, Okada Y, Murano H, Gu B, Okiji T	4. 巻 38
2. 論文標題 In vivo fate of bone marrow mesenchymal stem cells implanted into rat pulpotomized molars	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cell Research	6. 最初と最後の頁 101457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scr.2019.101457	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 Hashimoto K, Kawashima N, Ichinose S, Nara K, Noda S, Okiji T.	4. 巻 44
2. 論文標題 EDTA Treatment for Sodium Hypochlorite-treated Dentin Recovers Disturbed Attachment and Induces Differentiation of Mouse Dental Papilla Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Endodontics	6. 最初と最後の頁 256-262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joen.2017.11.003	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 Nara K, Kawashima N, Noda S, Fujii M, Hashimoto K, Tazawa K, Okiji T 234	4. 巻 234
2. 論文標題 Anti inflammatory roles of microRNA 21 in lipopolysaccharide stimulated human dental pulp cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cellular Physiology	6. 最初と最後の頁 21331-21341
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.28737	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 Fujii M, Kawashima N, Tazawa K, Hashimoto K, Nara K, Noda S, Kuramoto M, Orikasa S, Nagai S, Okiji T	4. 巻 522
2. 論文標題 HIF1 inhibits LPS-mediated induction of IL-6 synthesis via SOCS3-dependent CEBP suppression in human dental pulp cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 308-314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.11.032	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 Fujii M., Kawashima N., Tazawa K., Hashimoto K., Nara K., Noda S., Nagai S., Okiji T.	4. 巻 53
2. 論文標題 Hypoxia inducible factor 1 promotes interleukin 1 and tumour necrosis factor expression in lipopolysaccharide stimulated human dental pulp cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Endodontic Journal	6. 最初と最後の頁 636-646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iej.13264	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 Zaw Su Yee Myo, Kaneko T, Zaw Zar Chi Thein, Sone Phyo Pyai, Murano H, Gu B, Okada Y, Han Peifeng, Katsube K-I, Okiji T	4. 巻 26
2. 論文標題 Crosstalk between dental pulp stem cells and endothelial cells augments angiogenic factor expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Diseases	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) 10.1111/odi.13341	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 Phyo Pyai Sone, Kaneko T, Su Yee Myo Zaw, Seyama Y, Gu B, Murano H, Zarchi Thein Zaw, Okada Y, Han P, Katsube K-I, Okiji T	4. 巻 46
2. 論文標題 Neural Regeneration/Remodeling in Engineered Coronal Pulp Tissue in the Rat Molar	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Endodontics	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.joen.2020.04.002	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 -

〔学会発表〕 計26件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Phyo Pyai Sone, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, 末山有希子, 顧彬, 村野浩気, Zar Chi Thein Zaw, 興地隆史
2. 発表標題 歯髄再生過程におけるPGP9.5 およびCGRP 陽性神経線維の再生 間葉系幹細胞によるラット冠部 歯髄再生モデルを用いた研究
3. 学会等名 日本歯科保存学会2018 年度春季学術大会（第148 回）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 顧彬, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, Phyo Pyai Sone, 村野浩気, 末山有希子, Zar Chi Thein Zaw, 興地隆史
2. 発表標題 ラット冠部歯髄再生過程におけるM1 およびM2 マクロファージの動態について
3. 学会等名 日本歯科保存学会 2018 年度春季学術大会(第148 回)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金子友厚
2. 発表標題 歯髄組織再生動物実験モデルの確立 歯髄再生療法研究のさらなる展開へ
3. 学会等名 第39回日本歯内療法学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Su Yee Myo Zaw, 金子友厚, 末山有希子, 興地隆史
2. 発表標題 ラット実験的根尖病変におけるNF- B decoy ODN 処置後のVEGF/VEGFR2 発現について
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 Phyo Pyai Sone, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, 末山有希子, Zar Chi Thein Zaw, 興地隆史
2. 発表標題 間葉系幹細胞を用いたラット歯冠歯髄再生モデルにおけるSubstance P 発現について
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 Noda S, Kawashima N, Hashimoto K, Nara K, Kuramoto M, Tazawa K, Okiji T
2. 発表標題 In Vivo Mineralization and In Vitro Differentiation of Dense-Cultured DPSCs
3. 学会等名 96th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Murano H, Kaneko T, Sunakawa M, Zaw SYM, Sone PP, Okiji T
2. 発表標題 Screening of a representative gene related to thalamic neuronal activation following dental pulp inflammation in rats
3. 学会等名 IFEA 11th World Endodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Su Yee Myo Zaw, Kaneko T, Sueyama Y, Gu B, Phyo Pyai Sone, Okiji T
2. 発表標題 The fate of stem cells implanted in rat dental pulp
3. 学会等名 FDI World Dental Congress. (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Gu B, Kaneko T, Sueyama Y, Phyo Pyai Sone, Su Yee Myo Zaw, Okiji T
2. 発表標題 Detection of M1 macrophages in early stage of engineered pulp tissue
3. 学会等名 第73回日本顕微鏡学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kaneko T, Sueyama Y, Gu B, Okiji T
2. 発表標題 Differentiation of mesenchymal stem cells implanted into rat pulpotomized pulp chamber
3. 学会等名 第73回日本顕微鏡学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sueyama Y, Kaneko T, Okiji T
2. 発表標題 Double immunoperoxidase labeling analysis of stem cells in lipopolysaccharide-stimulated rat dental pulp
3. 学会等名 第73回日本顕微鏡学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Su Yee Myo Zaw, 金子友厚, 顧 彬, 末山有希子, Phyo Pyai Son, 興地隆史
2. 発表標題 ラット再生歯髄におけるLacZ発現幹細胞の局在
3. 学会等名 第38回日本歯内療法学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 顧 彬, 金子友厚, 末山有希子, Phyto Pyai Sone, Su Yee Myo Zaw, 興地隆史
2. 発表標題 ラット歯髄再生過程におけるM2マクロファージの動態について
3. 学会等名 第146回日本歯科保存学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末山有希子, 金子友厚, 顧 彬, Su Yee Myo Zaw, Phyto Pyai Sone, 興地隆史
2. 発表標題 ラット歯髄組織の再生に用いるハイドロゲルの検討：アポトーシス抑制効果の解析
3. 学会等名 第38回日本歯内療法学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Phyto Pyai Sone, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, 末山有希子, 顧彬, 村野浩気, 興地隆史
2. 発表標題 ラット歯髄再生過程における神経線維の再生について
3. 学会等名 第147回日本歯科保存学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Su Yee Myo Zaw, 金子友厚, 末山有希子, 顧彬, 興地隆史
2. 発表標題 幹細胞と血管内皮細胞の共培養モデルにおけるVEGF発現について
3. 学会等名 第147回日本歯科保存学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Gu B, Kaneko T, Sueyama Y, Su Yee Myo Zaw, Phyto Pyai Sone, Murano H, Okiji T
2. 発表標題 M1/M2 macrophage recruitment during coronal tissue-engineering in rat molars
3. 学会等名 第65回JADR総会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Phyto Pyai Sone, Kaneko T, Su Yee Myo Zaw, Sueyama Y, Gu B, Murano H, Okiji T
2. 発表標題 erve fibers in regenerative process of coronal pulp tissue engineering
3. 学会等名 第65回JADR総会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okiji T
2. 発表標題 Defense, repair and regeneration of the dentin/pulp complex: a biological basis for vital pulp therapy.
3. 学会等名 The 20th Scientific Congress of the Asian Pacific Endodontic Confederation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 顧彬, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, Phyto Pyai Sone, 村野浩気, 末山有希子, Zar Chi Thein Zaw, 岡田大和, 興地隆史
2. 発表標題 ラット冠部歯髄再生実験モデルにおける抗原提示細胞関連分子の発現 - 血管内皮細胞と骨髄間葉系幹細胞混合移植の影響 -
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 Phyo Pyai Sone, Kaneko T, Su Yee Myo Zaw, Gu B, Murano H, Zar Chi Thein Zaw, Okada Y, Sueyama Y, Okiji T
2. 発表標題 Gene-expression analysis of growth associated protein 43 in a rat experimental model of coronal pulp tissue engineering with mesenchymal stem cell
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度春季学術大会 (第150回)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Su Yee Myo Zaw, Kaneko T, Zar Chi Thein Zaw, Phyo Pyai Sone, Murano H, Gu B, Okada Y, Sueyama Y, Okiji
2. 発表標題 Effects of nuclear factor kappa B inhibition on angiogenic factor expression in dental pulp stem cells co-cultured with endothelial cells
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度春季学術大会 (第150回)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zar Chi Thein Zaw, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, Phyo Pyai Sone, 村野浩気, 顧彬, 岡田大和, 末山有希子, 興地隆史
2. 発表標題 血管内皮細胞と共培養されたラット血管内皮細胞および骨髄間葉系幹細胞の血管新生因子発現にnuclear factor kappa B抑制が及ぼす影響
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度秋季学術大会 (第151回)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujii M, Kawashima N, Oriyasa S, Noda S, Nara K, Hashimoto K, Tazawa K, Nagai S, Okiji T
2. 発表標題 HIF1 inhibits LPS-mediated induction of IL-6 synthesis via SOCS3-dependent CEBPb suppression in human dental pulp cells
3. 学会等名 The 21st KACD-JSCD Joint Scientific Meeting (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Orikasa S, Kawashima N, Fujii M, Yamamoto M, Hashimoto K, Tazawa K, Okiji T
2. 発表標題 Hypoxic condition induces hypoxia-inducible factor 1 and upregulates Wnt/ -catenin transcriptional cofactors, Bcl9 and Bcl9l, in mouse dental papillae cells
3. 学会等名 The 21st KACD-JSCD Joint Scientific Meeting (招待講演)
4. 発表年 2019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	勝部 憲一 (KATSUBE Ken-ichi) (20233760)	東都医療大学・ヒューマンケア学部・教授 (32428)	
研究分担者	大島 勇人 (OHSHIMA Hayato) (70251824)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	金子 友厚 (KANEKO Tomatsu) (70345297)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師 (12602)	