

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10266

研究課題名(和文)腫瘍性骨吸収機序の研究:RANKL発現調節と破骨細胞形成を軸とした網羅的解析

研究課題名(英文)Research of the mechanism of bone resorption by the cancer: Comprehensive analysis focusing on the regulation of RANKL expression and osteoclastogenesis.

研究代表者

相川 友直(Aikawa, Tomonao)

広島大学・医系科学研究科(歯)・教授

研究者番号：00362674

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):扁平上皮癌の骨吸収・骨破壊の分子機序をシンジェニックマウス頭蓋冠骨浸潤モデルを用いて解析した。SCC7由来の高骨吸収亜株と低吸収亜株の腫瘍を用い、骨吸収部位と非骨吸収部位の遺伝子発現をRNAシーケンス法で解析した結果、高骨吸収部にはインターロイキン7(IL-7)が高発現していた。高骨吸収亜株腫瘍に抗IL-7中和抗体の投与すると、腫瘍内のRANKL遺伝子発現、TRAP遺伝子発現、カテプシンK遺伝子発現は著明に低下し、骨吸収も著明に抑制された。扁平上皮癌の株細胞による骨吸収にIL-7が関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの癌腫の治療法の確立と治療の向上により、原発巣病変の治療が向上している。しかしながら、他臓器転移病巣、例えば骨転移などの骨病変に対する治療は困難を極める。口腔扁平上皮癌においては、骨病変の成立機序も明らかにされておらず、治療手法が少ないのが現状である。本研究は骨浸潤の分子機序を明らかにするという学術的な意義に加え、将来的な口腔扁平上皮癌の骨病変治療の基礎となりうる点で医療的、社会的な意義も大きい。

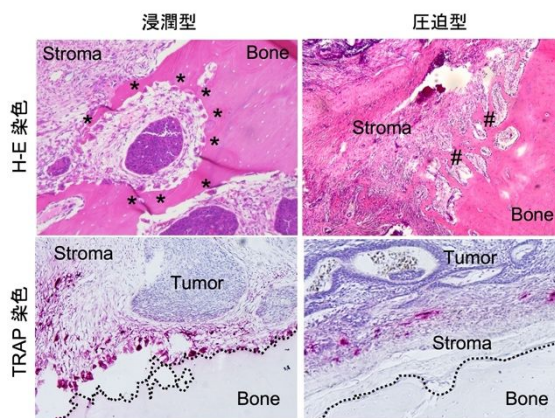
研究成果の概要(英文):The molecular mechanisms of bone resorption and destruction in squamous cell carcinoma were analyzed using a syngeneic mouse model of cranial bone invasion. Squamous cell carcinoma cell line cells; SCC7-derived high- and low-resorption sub cell line cells were used to analyze gene expression in bone-resorbing and non-bone-resorbing areas by RNA sequencing. We found that interleukin 7 (IL-7) was the highly expressed soluble factors in the high bone-resorption area. Administration of anti-IL-7 neutralizing antibody to the high bone resorption subline tumors markedly reduced RANKL gene expression, TRAP gene expression, and cathepsin K gene expression in the tumors, and also markedly suppressed bone resorption. The results suggest that IL-7 would be involved in bone resorption by squamous cell carcinoma cells.

研究分野：外科系歯学

キーワード：骨吸収 扁平上皮癌 IL-7 RANKL T細胞

1. 研究開始当初の背景

現在までの破骨細胞研究成果の蓄積から全ての骨吸収性疾患に破骨細胞活性化因子 RANKL の関与が示されている。申請者は顎骨腫瘍や口腔がん骨境界の微小環境における破骨細胞形成機序を研究し、腫瘍間質の相互作用に焦点をあて顎骨病変の扁平上皮癌による骨吸収・骨破壊の分子メカニズムを研究してきた (21592523, 24592986, 16K11682, 19K11682)。とくに、腫瘍細胞が産生する TGF- β やインターロイキン 1、インターロイキン 6 などのサイトカインシグナルが間質線維芽細胞の RANKL 発現を促進する機序を研究してきた。顎骨腫瘍の骨吸収様式に比べ悪性腫瘍はより複雑で、右下の図のように浸潤性骨吸収と圧迫型の骨吸収の二つのタイプに大別される。とくに浸潤型歯肉扁平上皮癌の骨近傍には多数の破骨細胞が存在し、骨吸収と骨破壊に関与していることがよくわかる(右図)。臨床においては二つの骨吸収様式は疾患予後にも関連し、また骨病変の分子標的治療を考える上にも、骨吸収の差異を決定づける分子機序は明らかにする必要がある。一方、骨吸収様式を模倣する実験モデルはなかったため、申請者らは新たにマウス実験モデルを作成した。扁平上皮癌細胞株 SCC に由来する二つの亜株を用いて、正常免疫能を有するマウスの頭蓋に移植する実験モデルを作成した (19K11682)。高度な骨吸収をきたす浸潤型と骨吸収に乏しい圧迫型骨吸収を模倣するモデルで、前者は間質-骨境界に著しい破骨細胞形成と骨吸収をきたすのに対し、後者の破骨細胞形成は乏しく骨吸収は緩慢で骨のリモデリングを伴うなどの特徴をもつ。二つの亜株を用いた実験モデルを用いて骨吸収部近傍での遺伝子発現を網羅的に検討し、破骨細胞形成過程のシグナルの差異や腫瘍微小環境での RANKL 発現制御機序を解析することにより、扁平上皮癌骨病変での骨吸収・骨破壊機序の分子機序を研究する計画に至った。



2. 研究の目的

本研究では、①マウス骨吸収モデルの腫瘍-間質-骨表面での特異的な遺伝子発現を網羅的に解析する、知見として得られた候補分子の機能をマウスモデルを用いて評価することで、口腔がん(扁平上皮癌)による骨吸収や骨破壊などの骨病変を制御する分子機序を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

扁平上皮癌細胞：実験にはマウス SCC 細胞由来の亜株細胞を使用した。正常免疫能を有するマウス：シンジェニックマウスの頭蓋冠への移植腫瘍において、強い骨吸収をきたす浸潤型亜株と、緩やかな骨吸収をきたす圧迫型亜株を使用した。

5 x 10⁵ 個の SCC 細胞を C3H 系野生型マウス頭頂部に移植し、2 週間後の腫瘍を実験に用いた。頭蓋冠の骨吸収はマイクロ CT (R.mCT2、リガク、東京) 管電圧 160 mA、ボクセルサイズ 40 x 40 x 40 μ m で頭蓋骨部を撮影した。骨の穿孔面積と変形面積は Image J (NIH, Bethesda, USA) にて算出した。10%中性ホルマリン溶液で固定した摘出腫瘍をパラフィン包埋し、組織学的検討には薄切片を用いた。

RNA 抽出と遺伝子発現：腫瘍あるいは培養細胞の全 RNA 抽出には RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用い、RNA シークエンス解析は大阪大学微生物研究所遺伝子情報実験センターゲノム解析室に依頼した (Hi-Seq 3000、イルミナ社)。遺伝子発現は定量的 RT-PCR 法で検討した。定量的リアルタイム PCR には StepOne Plus™ (Applied biosystems, USA) を使用し、合成した cDNA を KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix Kit (Sigma-Aldrich) を用いて PCR 反応を行った。得られたデータは比較 Ct 法で解析した。

免疫組織染色および組織化学染色：免疫染色は Vectastain ABC キット (Vector Laboratories, USA) を用い、10 mM クエン酸緩衝液 pH 6.0 に 95 °C で 40 分浸漬し抗原不活化処理を行った。ついで、0.3% 過酸化水素水を含むメタノールに 20 分間浸漬させ内因性ペルオキシダーゼ活性を

阻害した。一次抗体には抗 CD3 ラットモノクローナル抗体 (ab11089) を用いた。免疫蛍光二重染色では一次抗体には抗 CD3 ラットモノクローナル抗体と抗 RANKL ラビットポリクローナル抗体 (ab216484) を用い、二次抗体には alexa594 ロバ抗ラット IgG、alexa488 ヤギ抗ラビット IgG を用い、蛍光顕微鏡 (BZ-X800、KEYENCE) にて観察した。TRAP 染色は TRAP/ALP 染色キット (和光純薬) を用いた。

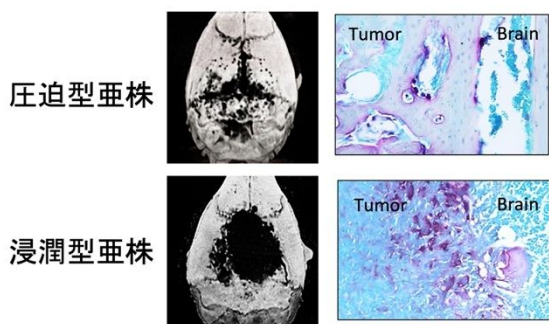
破骨細胞培養実験：マウス初代骨髄細胞の分離と培養は Takahashi らの方法に準じて行った。sRANKL 30 ng/ml、IL-7 存在下あるいは非存在下で培養し、破骨細胞形成は TRAP 染色で評価した。

抗 IL-7 中和抗体の投与：SCC 亜株腫瘍移植後、3 日目、7 日目、11 日目に抗 IL-7 中和抗体 (M25, Bio X cell) を投与した。中和抗体は腫瘍近傍投与 (50 µg /マウス)、腹腔内投与 (100 µg /マウス) で行い、コントロール群にはマウス IgG2a isotype (2A3, Bio X cell) を用いた。

4. 研究成果

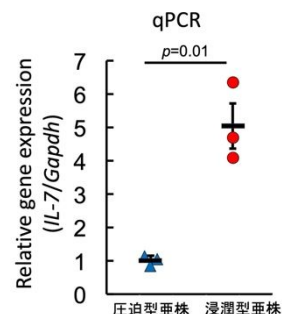
扁平上皮癌 SCC 由来の二つの亜株をシンジェニックマウス頭蓋冠近傍に移植すると、2 週間後には右下図に示すように骨縫合線に沿った穏やかな骨吸収をきたす「圧迫型」亜株と、著明な骨吸収をきたす「浸潤型」亜株の特徴が明らかとなった。圧迫型では腫瘍骨界面に破骨細胞形成は乏しく、浸潤型では腫瘍骨界面に著しい破骨細胞形成を認めた。浸潤型亜株腫瘍は、破骨細胞形成を強く促進し、骨吸収をきたすことが示唆された。両細胞の遺伝子解析の結果、同じ細胞由来の細胞であった。

シンジェニックマウス頭蓋冠骨吸収モデル

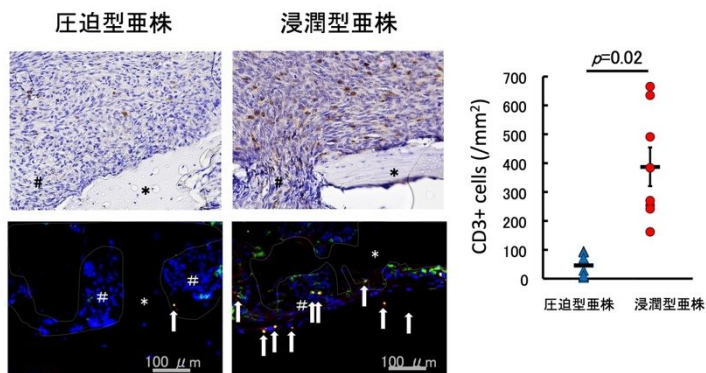


圧迫型亜株と浸潤型亜株の骨腫瘍界面の組織から抽出した RNA を鋳型とし、骨吸収部位に高発現する遺伝子を RNA シークエンス法で比較検討した。その結果、浸潤型亜株の骨吸収部にはインターロイキン 7 (IL-7) が高発現していた。これは腫瘍が産生する液性因子の中では最も高い発現順位であった。また、*in vivo* だけではなく、*in vitro* でも亜株腫瘍の発現に差があった (右下図)。そこで、以下の研究では、扁平上皮癌が産生する IL-7 と骨吸収と破骨細胞形成への影響に焦点を当て研究を進めた。

Rank	Gene name	Fold change (vs. expansive tumor)
1	<i>IL-7</i>	7.08
2	<i>Gene A</i>	6.07
3	<i>Gene B</i>	5.65
4	<i>Gene C</i>	4.23
5	<i>Gene D</i>	2.43



SCC の圧迫型亜株と浸潤型亜株の骨吸収の表現型の差異はシンジェニックマウスでは観察できたが、ヌードマウスではその差を観察できなかった。すなわち、免疫細胞とくに T 細胞が SCC 細胞の骨吸収に関与する可能性が考えられた。そこで、腫瘍組織内に浸潤する T 細胞を免疫染色で検討すると、予想通り浸潤型亜株腫瘍には T 細胞が強く浸潤していることが示された (右図)。さらに、T 細胞 (CD3) と RANKL の二重染色の結果から、腫瘍骨界面に浸潤する T 細胞のほとんどが RANKL を発現していることが示された。一方、圧迫型の骨界面に存在する T 細胞は RANKL 陽性細胞はほとんど観察できなかった。



: tumor * : bone ● DAPI ● CD3 ● RANKL ● RANKL+ T cell

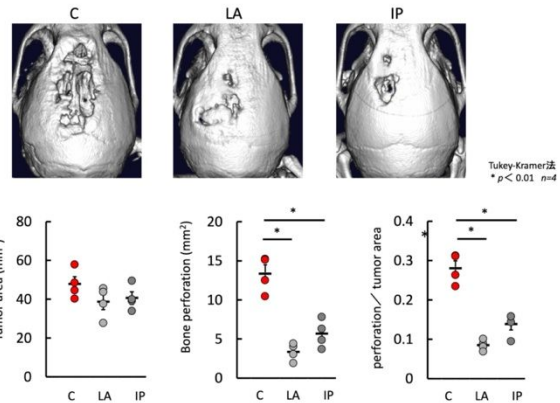
RANKL: required for osteoclast differentiation and maturation

SCC の浸潤型亜株に高発現する IL-7 が骨吸収に関与しているのか？ 破骨細胞形成に関与しているのか？を検討するために、抗 IL-7 中和抗体を浸潤型亜株腫瘍の周囲（局所投与：LA）あるいは腹腔内全身投与（IP）した。その結果、マイクロ CT 画像で頭蓋冠の骨吸収を評価すると、中和抗体の局所投与、全身投与とともに腫瘍による骨吸収面積、穿孔面積を強く抑制した（右下図上段）。次に組織学的に骨吸収と破骨細胞形成を評価した。浸潤型亜株腫瘍には多数の破骨細胞が形成され、TRAP 染色で染色されたが、IL-7 中和抗体を投与すると TRAP 陽性の破骨細胞形成はほとんど観察されない程度まで著明に抑制された（右下図下段）。さらに、破骨細胞形成に関連する遺伝子、*RANKL*、*TRAP(ACP5)*、*Cathepsin K* の遺伝子発現を定量的 RT-PCT で検討すると、画像所見、組織所見に一致して、破骨細胞関連遺伝子発現は IL-7 中和抗体投与により著明に低下した（右下図下段）。さらに、破骨細胞形成を抑制する *osteoprotegerin (OPG)* 遺伝子発現は、IL-7 中和抗体投与により上昇した。

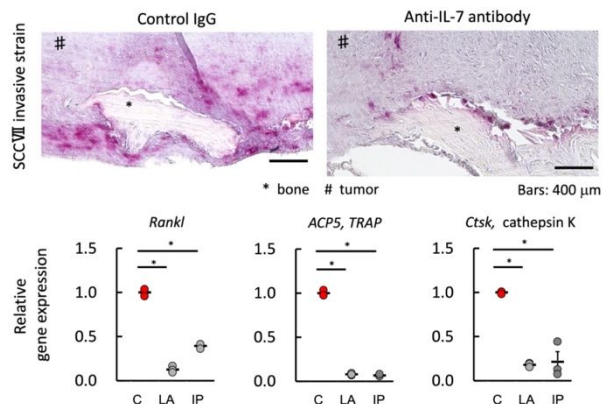
in vitro 破骨細胞形成：マウス初代骨髄細胞培養実験系で、IL-7 は RANKL 依存性の破骨細胞形成を濃度依存的に促進したが、単独での破骨細胞形成能はなかった。

成果のまとめ・結語：マウス扁平上皮癌細胞株 SCC 細胞由来の亜株のうち、最も骨吸収をきたす細胞株「浸潤型」亜株と最も骨吸収が少ない細胞株「圧迫型」亜株を研究に用いた。2つの亜株細胞は遺伝子配列的に同一細胞であった。浸潤型細胞腫瘍の骨吸収は、抗 IL-7 中和抗体で抑制された。また、シンジェニックマウス腫瘍では骨吸収と破骨細胞形成に差が見られたが、ヌードマウス移植腫瘍では両細胞間に差はなかった。浸潤型腫瘍内には有意な T 細胞浸潤が観察された。T 細胞は RANKL 染色陽性であった。浸潤型腫瘍の *RANKL* 遺伝子発現、*TRAP* 遺伝子発現、*カテプシン K* 遺伝子発現は抗 IL-7 中和抗体投与により低下した。扁平上皮癌細胞が産生する IL-7 が T 細胞の *RANKL* 発現を誘導し、破骨細胞形成、骨吸収に関与する機序が明らかになった。

Anti IL-7 neutralizing antibody suppressed bone resorption



Anti IL-7 neutralizing antibody suppressed osteoclast formation



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Katsuhiko Amano, Daisuke Okuzaki, Tomonao Aikawa, Mikihiko Kogo	4. 巻 34
2. 論文標題 Indian hedgehog in craniofacial neural crest cells links to skeletal malocclusion by regulating associated cartilage formation and gene expression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FASEB J	6. 最初と最後の頁 6791-6807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201903269R	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 Yamakawa N, Kirita T, Umeda M, Yanamoto S, Ota Y, Otsuru M, Okura M, Kurita H, Yamada SI, Hasegawa T, Aikawa T, Komori T, Ueda M	4. 巻 119
2. 論文標題 Tumor budding and adjacent tissue at the invasive front correlate with delayed neck metastasis in clinical early-stage tongue squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 370-378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jso.25334	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 Kondo T, Sugauchi A, Yabuno Y, Kobashi H, Amano K, Aikawa T, Kogo M, Okura M.	4. 巻 23
2. 論文標題 Performance status scale for head and neck scores for oral cancer survivors: predictors and factors for improving quality of life.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Oral Investigations	6. 最初と最後の頁 1575-1582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00784-018-2587-7	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 Nakagawa T, Ohta K, Naruse T, Sakuma M, Fukada S, Yamakado N, Akagi M, Sasaki K, Niwata C, Ono S, Aikawa T	4. 巻 148
2. 論文標題 Inhibition of angiogenesis and tumor progression of MK-0429, an integrin α 3 antagonist, on oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Cancer Res Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 3281-3292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00432-022-04100-3	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 Sakuma M, Ohta K, Fukada S, Akagi M, Kato H, Ishida Y, Naruse T, Takechi M, Shigeishi H, Nishi H, Aikawa T	4. 巻 30
2. 論文標題 Effects of CEACAM1 in oral keratinocytes on H0-1 expression induced by Candida -glucan particles.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Appl Oral Sci.	6. 最初と最後の頁 e20220158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1590/1678-7757-2022-0158	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 Fukada S, Ohta K, Sakuma M, Akagi M, Kato H, Naruse T, Nakagawa T, Shigeishi H, Nishi H, Takechi M, Aikawa T	4. 巻 in press
2. 論文標題 Sunitinib promotes apoptosis via p38 MAPK activation and STAT3 downregulation in oral keratinocytes.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Oral Dis.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.14457	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 Sasaki K, Ninomiya Y, Takechi M, Tsuru K, Ishikawa K, Shigeishi H, Ohta K, Aikawa T	4. 巻 16
2. 論文標題 Physical Properties and Antimicrobial Release Ability of Gentamicin-Loaded Apatite Cement/ - TCP Composites: An In Vitro Study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials (Basel)	6. 最初と最後の頁 995
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma16030995	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 Kato H, Ohta K, Akagi M, Fukada S, Sakuma M, Naruse T, Nishi H, Shigeishi H, Takechi M, Aikawa T.	4. 巻 46
2. 論文標題 LL-37-dsRNA Complexes Modulate Immune Response via RIG-I in Oral Keratinocytes.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Inflammation.	6. 最初と最後の頁 808-823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10753-023-01787-5	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 Yamakado N, Okuda S, Tobiume K, Uetsuki R, Ono S, Mizuta K, Nakagawa T, Aikawa T.	4. 巻 647
2. 論文標題 Chemical inhibition of LSD1 leads to epithelial to mesenchymal transition in vitro of an oral squamous cell carcinoma OM-1 cell line via release from LSD1-dependent suppression of ZEB1.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 23-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2023.01.062.	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 松賀ひとみ, 徳宮元富, 妹尾日登美, 西村奈穂, 石橋美樹, 岸野万伸, 田中晋, 村上秀明, 相川友直	4. 巻 66
2. 論文標題 内側翼突筋に進展し開口障害をきたした小児の下顎骨類腱線維腫の1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 大阪大学歯学雑誌	6. 最初と最後の頁 55-59
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 無
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 松賀ひとみ, 石橋美樹, 原崇之, 徳宮元富, 妹尾日登美, 相川友直	4. 巻 68
2. 論文標題 経カテーテル塞栓術にて止血し得た上顎智歯抜去後に生じた仮性動脈瘤の1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本口腔外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 219-225
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 無
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 青山剛三, 黒坂寛, 三原聖美, 上松節子, 相川友直, 古郷彦, 山城隆	4. 巻 47
2. 論文標題 RED systemによる上顎骨仮骨延長術および下顎枝矢状分割術を施行後長期観察した左側口唇口蓋裂の1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本口蓋裂学会雑誌	6. 最初と最後の頁 220-230
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 無
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9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山下 翔平, 宮川 和晃, 相川 友直
2. 発表標題 IL-7は扁平上皮癌マウスモデルの浸潤型骨吸収に関与する
3. 学会等名 日本骨代謝学会学術集会（39回）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 翔平, 宮川 和晃, 高畑 惣介, 古郷 幹彦, 相川 友直
2. 発表標題 IL-7は歯肉癌の浸潤型骨吸収に関与する
3. 学会等名 日本口腔科学会学術集会（第75回）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 翔平, 宮川 和晃, 高畑 惣介, 簀原 雅人, 西澤 千晶, 宮川 恵実, 古郷 幹彦, 相川 友直
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌の骨吸収様式を決定するIL-7の役割
3. 学会等名 日本口腔外科学会学術集会（第66回）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomonao Aikawa
2. 発表標題 Clinical features and Treatment Strategy of Facial Asymmetry with Unilateral Condylar Hyperplasia.
3. 学会等名 第64回公益社団法人 日本口腔外科学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 袁原雅人、宮川和晃、山下翔平、高畑惣介、相川友直、田中晋
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌の骨病変における細胞性免疫の関与
3. 学会等名 第77回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 相川友直、新宅優子、原田計眞、宮川和晃、関 壮樹、有川千尋、小野重弘、田中 晋、古郷幹彦
2. 発表標題 思春期患者の特発性下顎頭吸収に対する関節円板整位手術の術後経過
3. 学会等名 日本顎変形症学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下翔平、宮川和晃、相川友直
2. 発表標題 IL-7は扁平上皮癌マウスモデルの浸潤型骨吸収に関与する
3. 学会等名 日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山川延宏、桐田忠昭、梅田正博、柳本惣一、大鶴光信、大倉正也、相川友直、太田嘉英、栗田浩、山田慎一、明石昌也、長谷川巧、上田倫弘
2. 発表標題 早期舌癌治療のパラダイムシフトへ向けて-医科歯科病理の知の融合- 早期舌扁平上皮癌における頸部後発転移の新たな予測因子
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉岡幸男, 小野重弘, 小泉浩一, 浜名智昭, 中川貴之, 檜垣美雷, 相川友直, 柳本惣市
2. 発表標題 広島大学病院口腔外科における免疫チェックポイント阻害剤投与と口腔癌患者の臨床的検討
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022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
研究協力者	河井敬久 (Kawai, Toshihisa)	米国ノバサウスイースタン大学・歯学部・教授	
研究協力者	山下翔平 (Yamashita, Shohei)	米国ノバサウスイースタン大学・歯学部・研究員	

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