

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月12日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592345

研究課題名（和文） マウス顎顔面発生における突起間癒合の分子制御機構の解析

研究課題名（英文） Elucidation of molecular regulation governing the bilateral process-fusion in embryonic mouse craniofacial region

研究代表者

青葉 孝昭 (AOBA TAKAAKI)

日本歯科大学・生命歯学部・教授

研究者番号：30028807

研究成果の概要（和文）：

本研究では、胎生期マウスの下顎突起と二次口蓋突起の癒合現象に寄与する分子シグナルを解明する目的で、発生時期・領域特異的な遺伝子発現の網羅的解析と定量分析、ならびに免疫染色による翻訳産物の局在観察を行なった。両突起間で発現パターンに顕著な違いが認められた遺伝子群としては、下顎突起の癒合時期の被蓋上皮と間葉組織に Igf ファミリーが発現していることと、二次口蓋突起では TgfB3 と Cask が突起間接着と癒合に働くことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

We aimed to characterize distinct spatio-temporal expression patterns at the fusing epithelium and in the underlying mesenchyme of the mandibular arches and of the secondary palatal shelves in embryonic mice. To this end, we dissected out of the medial/lateral regions of mandibular arches at embryonic days 9.7-11.5 (E9.7-11.5) and of the secondary palatal shelves at E14.0-14.5. The gene expression profiles of each of the tissues were determined using microarray and real-time quantitative PCR, together with immunohistochemical validation. Comparison of the spatio-temporal gene expression profiles between mandibular arches and secondary palatal shelves delineated that Igf family molecules may regulate mandibular fusion in the mandibular medial region, while both Cask and TgfB3 play essential roles in the contact and fusion between the bilateral shelves.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学 形態系基礎歯科学

キーワード：歯学、病理学、マウス胎仔、遺伝子発現、顎顔面形態形成、突起間癒合、裂奇形

1. 研究開始当初の背景

哺乳動物の口腔顎顔面の形態形成では、下顎突起と二次口蓋突起を代表例として、正中領域における突起間癒合をひとつの特徴としている。これらの突起間癒合は時空間軸に

沿って左右対称性を維持して進行するが、この形態形成を制御する分子ネットワークの異常は裂奇形から多器官の形成不全を含む多彩な表現型の異常を引き起こす。裂奇形の発症機序に関する国内外の研究においては、

二次口蓋形成に焦点が向けられており、口蓋裂を表現型とする遺伝子欠損マウスも数多く作出されている。マウス二次口蓋の形態形成では、上顎突起に由来する左右側一對の二次口蓋突起が増殖方向・速度を同調させながら下方伸長した後に、胎生 14.0~14.5 日 (E14.0~14.5) の短期間に舌側面を挙上、水平伸長を経て正中部で突起間接触と癒合に至る。研究代表者らはマンチェスター大学グループとの共同研究において、この突起同士の間接触時には、突起先端に位置する上皮細胞 (medial edge epithelial cells, MEE 細胞) が TGF β 3 の制御下で糸状仮足とプロテオグリカンを発現して互いを認識することを明らかにした。

下顎突起の癒合現象においても、二次口蓋突起と同様に、左右側で発生した 1 対の突起が正中部で接触して間葉組織の合流に至る (E10.5-11.5)。ただし、二次口蓋突起の癒合期では MEE 細胞が細胞消失プログラム (細胞死、移住、上皮間葉形質転換) により消滅するのに対して、下顎突起の癒合過程では上皮細胞側での自発的な細胞消失プログラムの発動については不明であり、間葉組織からの増殖圧を契機として上皮層一部の分断による間葉合流の仕組みが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では、裂奇形の細胞分子レベルでの発症機序の解明を目指して、顎顔面領域の正中部で癒合を遂げる下顎突起と二次口蓋突起に注目した。下顎突起と二次口蓋突起における MEE 細胞の役割・運命を比較する目的で、組織形態学的な表現型解析とその背景をなす分子発現プロファイルを調べることにより、諸突起間癒合に働く分子機構とその相同性/組織特異性について検証した。

3. 研究の方法

実験動物として ICR 妊娠マウスを使用し、所定の妊娠時期まで日本歯科大学生命歯学部動物実験委員会のガイドラインに従い飼育した。解析試料については、E9.7 (癒合前)、E10.5 (癒合途上)、E11.5 (癒合完了) に相当する下顎突起 (各時期の胎仔約 40 個体を使用) より正中部 (中央 1/3, mesial) と残りの側方部 (lateral) に分割することにより、E9.7M と L、E10.5M と L、E11.5M と L を準備した。E14.0-14.5 の二次口蓋突起試料では、

胎仔個体別に突起位置に基づき水平伸長期 (P1)、接着期 (P2)、断裂・間葉合流期 (P3) に相当する正中部 (前方 1/3 付近長さ約 400 μ m・幅約 200 μ m) を採取した。

DNA マイクロアレイ解析には、45,101 プローブ (全遺伝子数 22,402 個に相当) をプロットした GeneChip®アレイ (Mouse Expression 430 2.0 Array, Affymetrix) を使い、Gene Spring (ver.7.3.1, Agilent) により時期・部位別に発現変動を示す遺伝子リスト (Gene Lists) を作成した。発現変動を示す遺伝子群の機能分類には、GO term (AmiGO: www.geneontology.org) と BiNGO (Cytoscape: www.cytoscape.org)、遺伝子相互のパスウェイ解析には KEGG パスウェイ (京都大学, www.genome.jp/kegg) と Bioscripts library を使用した。

DNA マイクロアレイ法で検出された遺伝子発現レベルを検証する目的では、アレイ分析用試料をリアルタイム PCR で定量分析した。遺伝子発現の部位特異性を検証する目的では、免疫組織化学による翻訳産物の局在を確認するとともに、EMAGE/ MGI (mRNA in situ hybridization database) データベースの ISH 画像から遺伝子発現部位を確認した。さらに、両突起の微細領域での遺伝子発現を確認する目的で、組織顕微切断 (laser microdissection; LMD) とリアルタイム PCR による解析を実施した。

4. 研究成果

(1) 下顎突起の癒合段階での時期・部位特異的な発現を示す遺伝子群

本研究期間に蓄積した DNA マイクロアレイデータに基づき、全遺伝子数 22,402 個のうちから “Presence” と “Marginal” と判定された遺伝子を抽出し、予備検討において発現変動の判定閾値を可変して時期・部位特異的な遺伝子発現を網羅的に解析した。ここでは予備 1.5-fold に設定した場合の結果を示す。

下顎突起正中部における発生時期による遺伝子発現変動を比較してみると、時期特異的に高発現を示した遺伝子として、E9.7M で 6341 個、E10.5M で 3253 個、E11.5M で 2716 個、部位特異的に E10.5M で 362 個、E10.5L で 346 個が抽出できた (図 1)。これらの遺伝子群の GO 分類では、E9.7 において細胞内代謝、タンパク修飾や分子輸送などの多彩な機能分子が関与しているが、E10.5 では神経堤細胞の分化、パターン形成、ECM の構築に関

連する遺伝子群、E11.5 では E10.5 で寄与の少ない Notch シグナルの発現上昇と免疫関連の遺伝子発現が顕著となり、器官形成にともない遺伝子発現パターンが収斂していく様子が捉えられた。

次に、同じ時期の下顎突起における正中部と側方部での遺伝子発現の相違に注目すると、708 個の遺伝子群（正中部 362 個と側方部 346 個）が抽出された。これらの遺伝子群から有意 ($p < 0.05$) と検定された GO 項目は 233 項目に達したが、E10.5M で有意なものとして 108 項目、E10.5L では 62 項目、両領域に共通する 63 項目に区分できた。その内訳として、E10.5M で高発現を示した遺伝子群 (362 個) は細胞増殖、細胞接着、細胞運動、上皮の分化・形態形成、Tgfb シグナル、MAPK 活性など、E10.5L で高発現を示した遺伝子群 (346 個) は細胞死、骨・筋を含む間葉織の発生と形態形成、パターン形成、Retinol 代謝などに関わることがわかった。E10.5M と E10.5L でともに高発現を示した遺伝子群は転写活性や発生、分化、代謝調節に関わることが確認できた。

本研究では、遺伝子発現データを基礎して KEGG パスウェイによる分子ネットワークとしての機能解析を試みた。現在、公開されている 17 個の KEGG パスウェイでは総数 1,213 個の遺伝子を包含しているが、我々の DNA アレイデータでは 803 個の遺伝子が“Present”もしくは“Marginal”として検出されており、410 個は“Absent”と判定された。遺伝子発現が認められた 803 個の内訳として、72 個が有意な発現変動（正中部で高発現 49 個、側方部で高発現 23 個）を示しており、残りの 731 個の遺伝子はいずれの試料間で発現水準に有意差を認めなかった（以下、構成的発現と表記する）。個々のパスウェイに帰属する遺伝子総数に占める“Present”もしくは“Marginal”と“Absent”の比率に注目してみると、“Absent”の比率が 50%を超えるパスウェイは 3 つ（Calcium シグナル、Jak-Stat シグナル、Retinol 代謝）にとどまり、4 つのパスウェイ（Cell cycle、p53 シグナル、Notch シグナル、Adherens junction）では 80%を超える帰属遺伝子が“発現変動”あるいは“構成的発現”を示していた。また、Calcium シグナル、Tgfb-Bmp シグナル、Mapk-Fgf シグナル、Wnt シグナル、Gap junction では、10 個を超える帰属遺伝子が発現変動を示した

ことも注目された。

下顎突起の癒合時期の正中部では、上述の GO 解析やパスウェイ解析でも「細胞増殖」に関わる遺伝子群が高発現しており、旺盛な細胞増殖活性を支持する結果が得られた。実際に、細胞増殖活性の指標となる Mki67 抗体を用いた免疫組織化学では、同時期の下顎突起試料では側方部に比べて正中領域の間葉組織で高い増殖活性を示すことが確かめられた。他方、細胞死マーカー (ssDNA 抗体) による組織観察では、側方部間葉組織で陽性細胞が検出されており、正中部上皮及び間葉組織では極めて少数の陽性細胞を認めるにとどまった。この部位特異的な細胞増殖・細胞死の発現制御に関わる分子ネットワークを探る目的で、増殖因子および受容体分子について遺伝子総数 537 個の発現パターンを解析した。その結果では、これまでに報告されている分子ファミリーでの部位特異的な発現パターンを再確認するとともに、下顎突起正中領域での細胞増殖を制御する遺伝子として Igf ファミリーが注目された。Igf ファミリーに帰属する 16 個の遺伝子群においては、正中部で高発現する *IGF1*、*IGF2*、*IGF2r*、*IGFbp5*、*IGFbp7* と側方部で高発現する *Igfbp3*、*IgfrP2*、*IgfrP6* に分画できた。これらの下顎突起正中領域で高発現する 5 つの遺伝子について、Laser-Microdissection (LMD) 法により正中部上皮層とその直下の間葉組織を分割した上で、定量 PCR 法を併用して微小領域での遺伝子発現を定量分析した。その結果、上皮細胞で高発現する *Igf1*、間葉細胞で高発現する *Igf1*、上皮・間葉のいずれの細胞でも発現を示す *Igf2*、*IGF2r*、*IGFbp7* に区分で

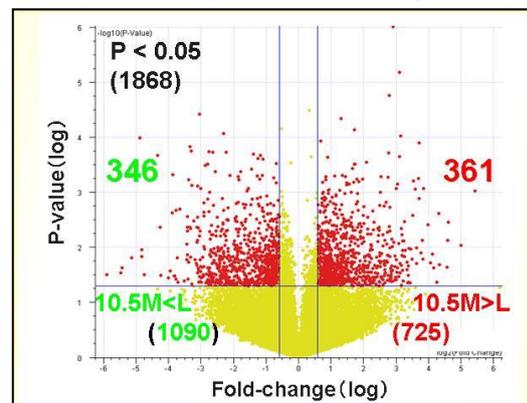


図1 E10.5MとE10.5Lとの試料間で発現変動 (>1.5-fold)を示す遺伝子をWelch's testで検定 ($P < 0.05$)した。正中領域において特異的に高発現する遺伝子 (725個)のうち361個が有意であり、側方領域 (1090個)では346個が有意であった。

きた。この遺伝子レベルでの解析結果については、Igfbp5 抗体を用いた免疫組織化学により下顎突起の正中部の上皮層で強い陽性反応を確かめている。

(2) 二次口蓋突起の癒合段階での時期・部位特異的な発現を示す遺伝子群

水平伸長期 (P1)、接着期 (P2)、間葉合流期 (P3) の二次口蓋突起正中部試料における遺伝子発現についても、下顎突起でのアレイデータ解析と同様に、全プローブでの発現強度のうちから“Presence”と“Marginal”と判定された遺伝子を抽出し、発現変動の判定閾値を 1.5-fold に設定した。Flags による分別では、全遺伝子数 22,402 個のうち、“Present”もしくは“Marginal”は 12,325 個、“Absent”は 10,077 個であった。この 12,325 個のうち、P1 から P3 の間で時期特異的な発現を示した遺伝子は 2,749 個、いずれの時期でも発現水準に有意差が認められなかった構成的発現遺伝子は 9,576 個であった。

P1 から P3 で発現変動を示した 2,749 個の遺伝子群を対象とした GO 分類では、158 項目が有意 ($p < 0.05$) と検定された。その内訳として、水平伸長期で有意な遺伝子群 (P1>P2, P1>P3) は 60 個を数え、核酸代謝、中胚葉の形態形成などに関わっていた。接着期で有意な遺伝子群 (P2>P1, P2>P3; 25 個) は MAPK 系シグナルの不活性化、上皮形態形成、細胞骨格改築などに関わること、断裂期で有意な遺伝子群 (P3>P1, P3>P2; 73 個) は細胞死、貪食、細胞接着などに関わることで推定された。

これらの GO 分類と組織学的な二次口蓋形成との対応として、水平伸長期で有意な「中胚葉の形態形成」は左右側二次口蓋突起が舌側方から舌上方への挙上という顕著な形態変化の時期と照合している。接着期における「MAPK 系シグナルの不活性化」は突起間接着の直前で MEE 細胞の細胞増殖が停止することと一致しており、「上皮形態形成」や「細胞骨格改築」は MEE 細胞同士の接着前後で短期間に進行する上皮索の構築と上皮索内での細胞形態の変化と関連すると考えられる。断裂期の上皮索では、細胞死や EMT、細胞移住が誘発されて MEE 細胞の消失に至るが、GO 分類においても「細胞死」「貪食」「細胞接着」に関わる遺伝子発現の亢進が確認できた。

研究代表者らは本研究課題の申請に先立

って、文献情報に基づき遺伝子改変マウスモデルに発症する口蓋裂および顎顔面奇形の病態についてのデータベースを構築し、交付期間においてもこのプロジェクトを継続してきた。現在までに、口蓋裂を表現型とする単独遺伝子ノックアウトマウスとして 154 例について表現型の特徴を分析した。今回の DNA マイクロアレイデータでは、これら 154 個の関連遺伝子について、発生時期特異的な発現変動を示す遺伝子 55 個、有意な発現変動を示さない遺伝子 75 個、“Absent”判定の 21 個に分類できた。このなかで顎顔面領域の重篤な形成異常をとともわず（一次的に口蓋裂を発症）、口蓋裂発症の頻度が比較的高く、接着期で二次口蓋発生が停滞している表現型に着目すると、発生時期特異的な発現変動を示す遺伝子 55 個のなかで、*Tgfβ3*、*Cask* の 2 つの遺伝子欠損モデルに限られることが分かった。*Tgfβ3* については、上述したように英国研究グループとの共同研究においてその機能を明らかにしている。*Cask* は MEE 細胞の接着期に発現上昇を示す遺伝子であり、突起間の MEE 細胞の接着に働く機能を有することが想定された。実際、*CASK* の欠損マウスでは、口蓋裂発症率は 80%と高く、口蓋以外に大きな形態異常は認められず、二次口蓋に特異的に機能していることが推測され、また、二次口蓋の発生が接着・癒合時に停止していることも確認できた。DNA マイクロアレイ解析と口蓋裂を表現型とする遺伝子改変マウスモデルのデータベースから抽出された *Cask* について、実際に二次口蓋突起の癒合部で発現しているか検証するために、LMD とリアルタイム PCR を併用して微小領域での遺伝子発現を定量分析した。その結果、二次口蓋突起正中部では水平伸長期から断裂期にかけて発現がみられ、水平伸長期に比べて接着・断裂期で高い発現量を示した。*Cask* 特異抗体を用いた免疫染色においても、水平伸長期に比べて接着・断裂期で正中部の MEE 細胞と間葉細胞で強い陽性反応が認められた。

(3) 下顎突起と二次口蓋突起の癒合に関わる特異的遺伝子発現パターンの比較

本研究課題を総括する目的で、下顎突起・二次口蓋突起における癒合現象の違いとその背景をなす突起癒合に関わる遺伝子発現プロフィールを比較した。最初に、DNA マイク

ロアレイデータに基づく Pearson's correlation を利用したクラスタリング解析では、下顎突起 (0.081~0.098)、二次口蓋突起 (0.059~0.061) それぞれでは比較的高い相関性を示したが、下顎突起と二次口蓋突起間では 0.112 と相関性が低く、組織特異性のあることが確かめられた。次に、両突起間に特異的に働く遺伝子群を同定する目的で、発現変動の判定閾値を 2-fold に高めて設定することにより、それぞれの gene list から“Presence”と“Marginal”と判定された遺伝子群を抽出した。この再解析の結果では、下顎突起のみで発現変動する遺伝子は 5935 個に達するのに比べて、胎仔発生時期の進んだ二次口蓋突起のみで発現変動する遺伝子は 1980 個と少なく、両突起間で共通して働く遺伝子数は 769 個と比較的少ないことも明らかになった。なお、遺伝子の発現強度の相違に注目してみると、下顎突起と二次口蓋突起で比べてみると、二次口蓋突起より下顎突起で 2 倍以上高い発現を示す遺伝子は 665 個に対して、二次口蓋突起では 2 倍以上の高発現遺伝子は 995 個であった。

図 2 では、両突起癒合部で発現変動する遺伝子について GO 分類をまとめている。下顎突起では、顎顔面の初期発生に関連した「形態変化」・「舌筋発生」と「高い増殖活性」を反映した GO 項目が検出されており、二次口蓋突起に特異的な GO 項目では口蓋扁桃の発生にともなう「免疫関連」、先端上皮での細胞周期からの逸脱に関連した「MAPK の負の制御」とアポトーシスに関連する「食食」が特徴として認められる。共通する GO 項目としては「細胞内代謝」に加えて「細胞移住と

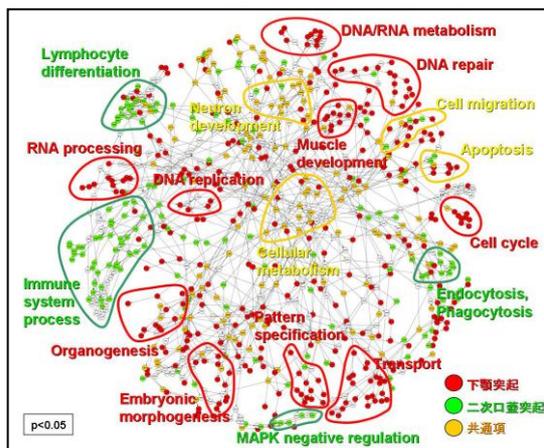


図2 下顎突起と口蓋突起の癒合部で特異的に発現変動する遺伝子のGO分類とその相関を示す。赤は下顎突起、緑色は口蓋突起で有意なGOを示し、黄色は共通のGOを表す。

アポトーシス」が検出されたが、上述したように、「細胞移住とアポトーシス」の対象となる組織細胞は下顎突起(間葉細胞)と二次口蓋突起(MEE細胞)では異なることに留意する必要がある。

(4) まとめ

本研究では、下顎突起と二次口蓋突起の癒合現象に寄与する分子ネットワークについて、DNA マイクロアレイ、LMD とリアルタイム PCR を併用した遺伝子発現の定量解析、免疫組織化学により発生時期・部位に特異的に発現する遺伝子群を同定できた。今後の課題として、顎顔面領域における裂奇形の発症機構の解明に向けて、両突起の癒合時に特異的に働く遺伝子の機能と上流・下流に位置する分子を含む分子ネットワークを解明することが重要と考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

① Josephsen K, Takano Y, Frische S, Praetorius J, Nielsen S, Aoba T, Fejerskov O: Ion transporters in secretory and cyclically modulating ameloblasts. A new hypothesis for cellular control of preeruptive enamel maturation. *Am J Physiol/Cell Physiol* (査読有) 299: C1299-C1307, 2010.

② 添野雄一、藤田和也、田谷雄二、青葉孝昭: ノンコーディング RNA による遺伝子発現制御と病態—セロトニン受容体修飾と摂食障害. *歯学*(査読無)98: 185-188, 2010.

③ Soeno Y, Taya Y, Stasyk T, Huber LA, Aoba T, Hüttenhofer A: Identification of novel ribonucleo-protein complexes from the brain-specific snoRNA MBII-52. *RNA*(査読有) 16: 1293-1300, 2010.

④ 島津徳人、工藤朝雄、青葉孝昭: 連続薄切標本から組織要素を分画して立体観察する. *Medical Technology* (査読有) 37: 1026-1027, 2009.

⑤ Kubo H, Shimizu M(他 11 名、田谷 3 番目、島津 9 番目、青葉 11 番目): Identification of mesenchymal stem cell (MSC)-transcription factors by microarray and knockdown analyses, and signature molecule-marked MSC in bone marrow by immunohistochemistry. *Genes to Cells*(査読有) 14: 407-424, 2009.

⑥ Shimazu Y, Sato K, Aoyagi K, Nango N, Aoba T: Hertwig's Epithelial Cells and Multi-root Development of Molars in Mice. J Oral Biosci(査読有)51: 210-217, 2009.

[学会発表](計 8 件)

① 藤田和也, 田谷雄二, 添野雄一, 佐藤かおり, 青葉孝昭: マウス舌発生段階に依存した舌筋分化制御因子の発現推移, 歯科基礎医学会, 東京都江戸川区, 2010 年 9 月 21 日.

② 杉本利昭, 田谷雄二, 島津徳人, 添野雄一, 藤田和也, 佐藤かおり, 青葉孝昭: マウス顎顔面発生と血管・神経ネットワークの構築: 組織立体構築で頭部全域を俯瞰する, 歯科基礎医学会, 東京都江戸川区, 2010 年 9 月 21 日.

③ Taya Y, Shimazu Y, Fujita K, Soeno Y, Sato K, Aoba T: Three-dimensional visualization and histomorphometry of developing blood vessel and nerve networks in mouse embryos, 第 43 回日本発生生物学会, 京都市, 2010 年 6 月 22 日.

④ 田谷雄二, 藤田和也, 添野雄一, 佐藤かおり, 青葉孝昭: マウス二次口蓋の発生と口蓋裂発症モデルでの分子機構の解析. 日本口蓋裂学会・学術集会シンポジウム(招待講演), 東京都北区, 2010 年 5 月 27 日.

⑤ 藤田和也, 田谷雄二, 添野雄一, 佐藤かおり, 青葉孝昭: マウス二次口蓋形成では突起先端上皮の接着・癒合に MAGUK family *Cask* が働く, 歯科基礎医学会, 新潟市, 2009 年 9 月 10 日.

⑥ 佐々木康成, 田谷雄二, 齋藤 幹, 藤田和也, 青葉孝昭, 藤原 卓: CL/Fr 口唇口蓋裂発症胎仔マウスの口蓋棚成長に対する分子関与, 歯科基礎医学会, 新潟市, 2009 年 9 月 10 日.

⑦ 安井幸秀, 島津徳人, 工藤朝雄, 藤田和也, 田谷雄二, 佐藤かおり, 青葉孝昭: マウス顎下腺・舌下腺の発生・形態形成の組織立体観察, 歯科基礎医学会, 新潟市, 2009 年 9 月 10 日.

⑧ Taya Y, Fujita K, Soeno Y, Sato K, Aoba T: Comprehensive analysis of molecular signals operating at the medial fusion site of mouse palatal shelves, SDB San Francisco, CA, USA, 2009 年 6 月 23-27 日.

[図書](計 5 件)

① 青葉孝昭, 島津徳人: 口腔病変立体構造アトラスー立体動画で組織構造と病変をみるーDVD ビデオ付. 医歯薬出版(株), 東京, 2009. 総ページ数 90.

② 青葉孝昭, 佐藤かおり: 形成期エナメル質の石灰化機構, 溶液組成, 結晶組成と溶解度, 結晶・基質蛋白の相互作用. pp67-81, エナメル質比較発生学懇話会編, エナメル質 形成, 構造, 遺伝, 再生, 起源と進化, わかば出版, 東京, 2009.

③ 佐藤かおり, 青葉孝昭: 2 章 歯の病変. pp15-40, 賀来亨, 槻木恵一 編, スタンダード口腔病態病理学(第 1 版), 学建書院, 東京, 2009.

④ 田谷雄二, 青葉孝昭: 1 章 口腔・頭蓋・顎顔面領域の発育異常, pp1-14, 賀来亨, 槻木恵一 編集, スタンダード口腔病態病理学(第 1 版), 学建書院, 東京, 2009.

⑤ 青葉孝昭 監修, 日本歯科大学 病理学講座編: 病態病理学入門 人体の仕組みと病気の成り立ちを理解する, 医学情報社, 東京, 2009. 総ページ数 122.

[その他]

ホームページ等

<http://www.ndu.ac.jp/~pathhome/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青葉 孝昭 (AOBA TAKAARI)
日本歯科大学・生命歯学部・教授
研究者番号: 30028807

(2) 研究分担者

田谷 雄二 (TAYA YUJI)
日本歯科大学・生命歯学部・准教授
研究者番号: 30197587

添野 雄一 (SOENO YUICHI)
日本歯科大学・生命歯学部・講師
研究者番号: 70350139

佐藤 かおり (SATO KAORI)
日本歯科大学・生命歯学部・講師
研究者番号: 90287772

島津 徳人 (SHIMAZU YOSHIHITO)
日本歯科大学・生命歯学部・講師
研究者番号: 10297947

(3) 連携研究者

()
研究者番号: