

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25253102

研究課題名(和文)テーラーメイド補綴歯科医療の確立に向けた新規術前診断法の開発

研究課題名(英文) Development of diagnostic technology for establishment of tailor-made prosthodontic treatments

研究代表者

矢谷 博文 (Yatani, Hirofumi)

大阪大学・歯学研究科・教授

研究者番号：80174530

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,700,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では以下の3領域の研究を遂行した。生体機能学領域では、交感神経活動やストレスは睡眠中の咀嚼筋活動の個人内変動に重要な因子であり、年齢や日中行動などの因子が筋活動の個人間の違いに關与する可能性が示唆された。細胞生物学領域では、オッセオインテグレーション不全に關与する生物学的因子の探索を患者由来iPS細胞を用いて行い、その過程でiPS細胞の効率的な骨様組織分化誘導技術を見出した。材料学領域では、材料-生体界面における歯質の個体差を評価し、線形混合モデルにおいて、接着強さと接着部位、気泡、接着面積間に有意差を認めた。以上の結果から、新規術前診断法開発につながる成果を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：In physiological approach, human and animal studies suggest that sympathetic tone and stress can play roles in the intra-individual fluctuation of sleep bruxism activity while age/development and behavioral characteristics can be a contributing factor for the intra-individual difference of masticatory muscle activity during sleep. In cell biology approach, we aimed to find patient-dependent biological factors responsible for cluster failure of osseointegration in dental implants using patient-derived iPS cells. During the course of experiments, an efficient osteogenic induction protocol for iPS cells was established. In regard to a material science approach, the material-human interface with the individual difference of tooth was evaluated. In consideration of individual differences of teeth as a random effect, the adhesion position, the void existence at interface and the adhesion area size were detected as a significant factor for bond strength by the liner mixed effect model.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：テーラーメイド医療

1 . 研究開始当初の背景

従来、補綴歯科治療における最良の治療とは、優れた材料を秀でた術者が行うものと考えられてきた。その一方で、術者が完璧な治療を行っても、常に一貫した治療効果が得られる訳ではないことは臨床上の事実である。

2 . 研究の目的

本研究は、補綴歯科治療における「個人差」という、これまで曖昧にとらえられてきた概念を明らかにし、この個人差を検出することにより術前診断に活用する技術基盤を構築することを目的とした。そのために、歯科補綴学の主幹をなす「生理学」「材料学」「細胞生物学」の観点から、ブラキシズム、顎関節症、歯質接着、骨再生などの治療結果を左右する「生理学的因子」、「生体環境因子」および「細胞生物学的因子」の探索を試みた。

3 . 研究の方法

1) 生体機能学的アプローチ

顎口腔機能異常である睡眠時ブラキシズム (SB) の生理学的表現型に関わる因子を探索する研究方法の基盤を構築するために、実験動物およびヒトを用いた複数の研究を行った。

・睡眠動物の咀嚼筋活動に関わる生理学的因子の探索

i) 交感神経抑制実験

以下の実験条件で、自由行動下の睡眠覚醒状態および咀嚼筋活動を記録した。クロニジンまたは生理食塩水を腹腔内投与し、投与前途における睡眠覚醒時間、心拍数、咀嚼筋活動の推移を2条件の間で比較した。睡眠覚醒を判定し、心拍数および開閉口筋の積分筋活動量は4秒毎に平均値を算出した。

ii) ストレス負荷実験

i)と同様の外科手術・回復期間の後、第一日目は自由に睡眠覚醒させ、第二日目にfootshock 刺激を実験動物に与えた。FS 終了後の睡眠・覚醒時間と咀嚼筋活動の変化を、同時間帯のデータと比較した。

iii) リズム性咀嚼筋活動発現に関わる皮質下領域の探索

全身麻酔下の実験動物において、脳内微小電気刺激を順に行った。実験終了後に組織切片を作成して、刺激部位を同定した。その後、リズムカルな顎運動を誘発できた部位をマッピングし、さらに誘発した顎運動をタイプ別に分類しその特性を調べた。

・ヒト睡眠時咀嚼筋活動発現に関与する生理学的因子と、その表現型の多様性の探索

i) 睡眠関連疾患を有さない被験群におけるポリソムノグラフィーを用いた研究

20~30歳代の健康な男女を対象に、2夜連続のPSG検査を実施した。睡眠検査時には、自作の質問票への記入や状態特性不安検査を行った。また、唾液中のストレスマーカー

を定量化した。睡眠段階を判定し、リズム性・非リズム性咀嚼筋活動を同定した。SBの重症度で分類した群間で比較した。SBの主徴候である歯ぎしり音の分析を行った。

ii) 小児のSBに関与する睡眠行動要因の探索

保育園・幼稚園・小学校の園児生徒の保護者6023名にJSQ(幼児版,小学生版)を配布し、回答を得た。歯ぎしりの有無と睡眠の問題や日中の行動の項目との関連について解析を行った。

2) 細胞生物学的アプローチ

・オッセオインテグレーションに関与する細胞生物学的因子の探索

複数本埋入したインプラントにオッセオインテグレーション不全を示した患者を選定し、インフォームドコンセントのうえ口腔粘膜細胞を採取した。患者のオッセオインテグレーションに関与する骨芽細胞機能の検討を目的とし、これら患者由来の細胞からiPS細胞の樹立を試みた。

・iPS細胞から骨芽細胞・骨組織への分化誘導法の確立

上記の検討を遂行するためには、iPS細胞から骨芽細胞への効率的な分化誘導法の確立が必要である。さらには、iPS細胞を用いて試験管内で患者の骨組織モデルを再現できることがより理想的であるため、この技術開発を目指した。

i) マウス iPS 細胞を用いた成熟骨芽細胞への分化誘導法の確立

マウス(C57BL/6J)歯肉由来iPS細胞から日接着培養を用いて胚様体を形成させ、全トランス型レチノイン酸処理を経て、細胞凝集体として通常の骨芽細胞分化誘導培地中で30日間接着培養した。比較対象として、同マウス骨髄から間葉系幹細胞(MSC)株を樹立し、これを同様の骨芽細胞分化誘導培地中で30日間培養した。

ii) マウス iPS 細胞を用いた骨様組織への分化誘導法の確立

マウス(C57BL/6J)歯肉由来iPS細胞から非接着培養を用いて胚様体を形成させ、全トランス型レチノイン酸処理した細胞凝集体を、温度応答性ハイドロ(pNIPAAm)ゲル培養器を用いて直径1.5mmの球状の細胞構造体を作成した。この細胞構造体を、通常の骨芽細胞分化誘導培地中で30日間振盪培養(0.5Hz)した。

iii) ヒト iPS 細胞を用いた骨様組織への分化誘導法の確立

マウスiPS細胞を用いて確立した骨芽細胞への分化誘導法と同様のプロトコルでは、ヒトiPS細胞は成熟した骨芽細胞への分化を示さないことが明らかとなったため、プロトコルの改良を行った。

ヒト皮膚由来iPS細胞から非接着培養を用いて胚様体を形成させ、中胚葉分化誘導培地中での培養後に培地を骨芽細胞分化誘導

培地に交換し, simvastatin 存在下で 60 日間振盪培養した。

3) 材料学的アプローチ

(1) 歯質の個体差およびそれともなう材料 - 生体界面 (接着界面) の評価

接着試験試料の作製

う蝕に罹患していない 10 本のヒト抜去大白歯の歯冠部を歯軸に対して垂直に切断し, 耐水研磨紙を用いて平坦な歯冠中央象牙質研磨面を得た。光重合型ボンディング材 (Clearfil bond SE ONE, クラレノリタケデンタル社, 東京) を塗布後, レジンコア材 (Clearfil DC core automix ONE, クラレノリタケデンタル社, 東京) を築盛した。これらの試料を 37°C 水中に 24 時間以上保管した後, ダイヤモンドカッターにて 1 mm×1 mm の試料体を作製した。

接着試験に影響を及ぼす因子の項目と測定方法

接着強さに影響を及ぼす因子として, 以下を選定した。

【気泡の有無】: OCT および μ CT を用いて, 界面の気泡の有無を確認し, 「気泡あり群」と「気泡なし群」に分けた。

【レジンおよび象牙質の X 線吸収係数】: μ CT のデータを用い, 接着界面からそれぞれ 5 mm の範囲内に含まれるレジンおよび象牙質の範囲内の X 線吸収係数を計測した。

【接着部位および接着面積】: 歯髓腔から接着界面までの試料体の長さを測定し, 接着部位を数値 (mm) で表した。

【歯の違い】: 各試験体をどの歯から作製したかを記録した。

接着試験法

各試験体を小型卓上試験機 (EZ S, 島津製作所社, 京都) を使用してクロスヘッドスピード 1.0 mm/min にて微小引張試験を行った。

接着強さと各種パラメータの解析

上記のパラメータが接着試験結果に及ぼす影響を, 一般線形モデルで解析した。続いて, 歯の個体差を考慮した各種パラメータと接着強さの関係を評価するため, 線形混合モデルを用いて統計解析を行った。

(2) 材料 - 生体界面の安定性に影響を及ぼす唾液成分の個人差解析ならびにリスク因子の同定

カタナアベンシアブロック (クラレノリタケデンタル) を被着面とし, サンドブラスト処理を行い (CO), その後水洗を行った (MOCK)。また, ヒト唾液にて 10 分間被着面を汚染した後, 水洗 (HSW), エアードライ (HSA), 再サンドブラスト処理 (SB), リン酸処理 (AC) またはイボクリン処理 (IC) する群を作製した。各処理面は AFM・SEM 観察, 接触角測定, SEM-EDX および MALDI 法による表面分析を行った。

接着試験に関しては先に記した方法と同様に各被着面にシラン処理後パナビア V5 (クラ

レノリタケデンタル) を築盛後, 各試料を切断し 24 時間, 1・3・6 か月水中浸漬後に微小引張試験および破断面観察を行った。

4. 研究成果

1) 生体機能学的アプローチ

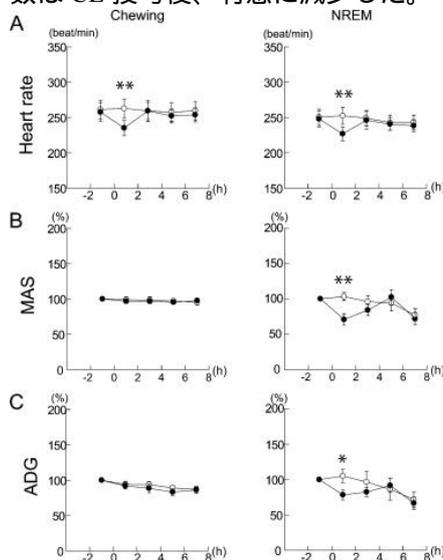
・睡眠動物の咀嚼筋活動に関わる生理学的

因子の探索

i) 交感神経抑制実験

クロニジン (CL) 投与 0~2 時間後には, 咬筋筋活動量が投与前の活動量の約 70% に低下した ($p < 0.05$)。また, 顎二腹筋の筋活動量は, CL 投与後に約 80% にまで低下した ($p < 0.05$)。

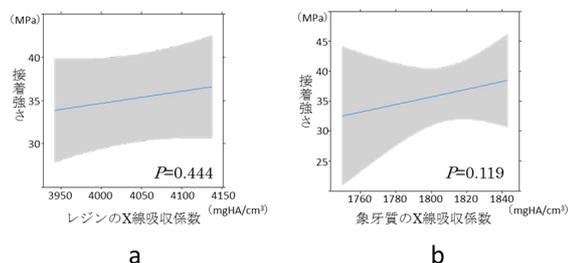
しかし, 投与 2 時間以降は, 生理食塩水 (IS) 投与と同レベルに回復した。また CL 投与後 2 時間は, レム睡眠が有意に減少し ($p < 0.01$), 覚醒が増加した ($p < 0.05$)。さらに, ノンレム睡眠中の心拍数は CL 投与後 2 時間では投与前よりも有意に低下した ($P < 0.05$)。一方, 咀嚼中の顎筋活動は変化しなかったが, 心拍数は CL 投与後, 有意に減少した。



以上から, 交感神経活動が睡眠中の咀嚼筋活動の発現要因の一つである可能性が示唆された。

ii) ストレス負荷実験

ストレス後 2 時間では, ノンレム睡眠, レム睡眠が, 対照条件と比べて有意に減少した ($p < 0.05$)。逆に, 覚醒は有意に増加した ($p < 0.05$)。



ノンレム睡眠の RMMA の発生頻度は, ストレス直後 2 時間では有意に高かった。以上から, 急性ストレスは可逆的な睡眠の減少を引き起

こし、リズム性咀嚼筋活動を発生させる特定の神経網の興奮性が上昇する可能性が示唆された。

iii) リズム性咀嚼筋活動発現に関わる皮質下領域の探索

扁桃体腹側領域への連続電気刺激に複数種類のリズムカルな開閉口運動を誘発できた。これらは、周期性には差がないが、顎運動様式に有意な差があった($p < 0.05$)。以上から、扁桃体の腹側領域はリズムカルな顎運動調節機構を駆動する可能性が示唆された。

・ヒト睡眠時咀嚼筋活動発生に關与する生理学的因子と、その表現型の多様性の探索

i) 睡眠関連疾患を有さない被験群におけるポリソムノグラフィーを用いた研究

被験者を高頻度 RMMA (H: 中等症以上) 群と低頻度 RMMA (L: 軽症) 群, 対照群 (CTL) に分けた。睡眠潜時は、H 群及び L 群が対照群に比べ有意に短かった ($p < 0.001$)。Stage N1 Micro-arousal index は、H 群が他の 2 群に比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。その他睡眠変数や唾液コルチゾール量に群間で差はなかった。また、H 群では、第 1 夜は第 2 夜より睡眠効率が低く入眠が遅くなった。しかし、第 1 夜と比べ第 2 夜で RMMA index は約 25% 増加し ($p = 0.002$)、NA index は約 25% 減少した ($p = 0.048$)。また、2 夜の間で不安尺度、唾液コルチゾール量に差はなかった。以上から、ストレスから SB の個人差を区別するのが難しいが、個人内変動に重要である可能性がある。また、咀嚼筋活動の phenotype の発生機序が異なる可能性がある。

ii) 小児の SB に關与する睡眠行動要因の探索

歯ぎしりは全体で 19.1% に認められたが年齢による頻度差を認め ($P < 0.01$)、6 歳の 30.8% をピークとし、学童期には漸減する傾向が認められた。

質問紙項目を従属変数として、年齢・性別要因を統制すると、OSAS 関連項目 (1.84~2.44, いずれも $P < 0.01$) および日中の行動

(落ち着きのなさ・集中力のなさ・いろいろ) に関する項目 (いずれも 1.5 前後, $P < 0.01$) は高かった。したがって、子どもでは、年齢要因や OSAS、日中の行動との関連があると考えられる。

2) 細胞生物学的アプローチ

・オッセオインテグレーションに關与する細胞生物学的因子の探索

研究を遂行するにあたり、大阪大学および東北大学医学部等ゲノム研究に関する倫理

委員会の承認を得た。研究計画初年度より、顎堤吸収が重度あるいはインプラントにオッセオインテグレーション不全を示す患者の選定を開始したが、H27 年度まで適応する患者に遭遇しなかった。最終年度に複数本のインプラントにオッセオインテグレーション不全を示した患者 1 名からインフォームド Consent 取得の上、口腔粘膜を採取した。この歯肉から初代線維芽細胞を樹立することには成功したが、iPS 細胞株の樹立には至らなかった。

・iPS 細胞から骨芽細胞・骨組織への分化誘導法の確立

i) マウス iPS 細胞を用いた成熟骨芽細胞への分化誘導法の確立

上述の方法でマウス歯肉由来 iPS 細胞を骨芽細胞へ分化誘導し、von Kossa 染色および SEM/EDX 解析を行った結果、iPS 細胞は MSC 同様に細胞外基質への著明なカルシウム沈着を示した。また、TEM/電子線回折解析から分化誘導した iPS 細胞における細胞外基質の石灰化には、MSC 同様にハイドロキシアパタイトの結晶構造を示した。これらの結果から、本研究に用いた骨芽細胞分化誘導法は、マウス iPS 細胞を成熟した骨芽細胞へと誘導することが可能であることが明らかとなった (Stem cells Dev, 2014)。

ii) マウス iPS 細胞を用いた骨様組織への分化誘導法の確立

マウス歯肉由来 iPS 細胞構造体を、骨芽細胞分化誘導培地中で振盪培養した結果、iPS 細胞構造体は、外層に骨様組織、内層に高度に石灰化した無構造細胞塊を示す構造体を形成した。この構造体は、骨組織特異的遺伝子 (Runx2, Osterix, Collagen 1a1, Osteocalcin) を高発現しており、ハイドロキシアパタイトの結晶構造を有する著明なカルシウム沈着を示した。また、この構造体をマウス背皮下に移植した結果、テラトーマに囲まれた異所性の骨形成を示した。これらの結果から、本研究に用いた培養法は、マウス iPS 細胞を骨組織様の細胞構造体へと誘導することが可能であることが明らかとなった (Stem Cells Int, 2016)。

iii) ヒト iPS 細胞を用いた骨様組織への分化誘導法の確立

ヒト iPS 細胞の胚様体を、中胚葉分化誘導培地での培養後に、simvastatin 添加骨芽細胞分化誘導培地中で振盪培養し、組織化学観察を行った結果、von Kossa および Osteocalcin 陽性を示す著明に石灰化した骨芽細胞塊を得ることができた。これらの結果から、ヒト iPS 細胞から骨芽細胞塊を作製するためには、胚様体と中胚葉細胞へ分化する工程を含む段階的誘導法が有効であり、骨芽細胞分化誘導時に simvastatin を用いることでヒト iPS 細胞から石灰化した骨芽細胞塊を得ることが可能であることが示唆された (特願 2017-67295)。

3) 材料学的アプローチ

(1) 歯質の個体差およびそれにともなう材料-生体界面(接着界面)の評価

歯の個体差を考慮に入れた線形混合モデルによる統計解析の結果を表 A に示す。統計解析の結果、接着部位 ($P<0.001$)、気泡 ($P=0.038$)、接着面積 ($P=0.039$) に有意差を認めた。また、接着部位と接着強さの間に有意な正の相関を認めた(図 Aa)。気泡なし群と比較して、気泡あり群は接着強さの有意な低下を認めた(図 Ab)。接着面積と接着強さの間に有意な負の相関を認めた(図 Ac)。一方、レジンおよび象牙質の X 線吸収係数と接着強さの間に相関は認められなかった(図 B)。

表 A 歯の個体差を考慮した統計解析結果(線形混合モデル)

	推定値*	95%信頼区間	P値
接着部位	5.219	2.594, 7.843	< 0.001
気泡	-5.52	-10.723, -0.317	0.038
接着面積	-2.725	-5.31, -0.141	0.039
レジンのX線吸収係数	1.02	-1.606, 3.645	0.444
象牙質のX線吸収係数	1.727	-0.915, 4.368	0.199

* 1SD あたりの変化量 (従属変数: 接着強さ)

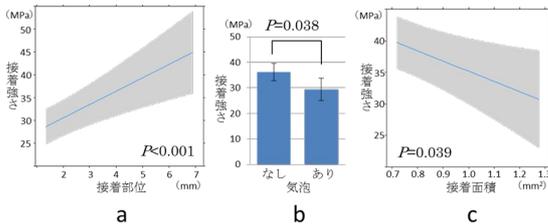


図 A 接着部位, 気泡の有無, 接着面積が接着強さに及ぼす影響

a: 直線および網掛けはそれぞれ回帰直線, 95%信頼区間を表す。

b: Error bar は標準誤差を表す。

c: 直線および網掛けはそれぞれ回帰直線, 95%信頼区間を表す。

図 B レジンおよび象牙質の X 線吸収係数が接着強さに及ぼす影響

a: 直線および網掛けはそれぞれ回帰直線, 95%信頼区間を表す。

b: 直線および網掛けはそれぞれ回帰直線, 95%信頼区間を表す

レジンの X 線吸収係数は接着強さと有意な相関が認められなかった。本研究では X 線吸収値 1 種のコンポジットレジンのみを用い、X 線吸収係数を確認したが、今後、被着体の圧縮強さ、曲げ強さ、引張強さなど、どの物性が接着試験結果に関与をするのかを確認する必要がある。

歯の違いによる接着強さの影響を確認した結果、有意に影響することが明らかとなった。

た。歯は加齢によりミネラル含有量が増加する。加齢による歯の破壊靱性の低下、破折抵抗性の減少、および強度の低下が報告されている。これらの報告から歯の違いが接着試験結果に影響を与えると考えられる。

(2) 材料-生体界面の安定性に影響を及ぼす唾液成分の個人差解析ならびにリスク因子の同定

接着強さは唾液汚染(HSW,HSA)により有意に低下した ($P<0.05$) (図 C)。各種唾液除去法(SB,AC,IC)で接着強さは回復したが、SBのみがCOおよびMOCKと同等の接着強さを示した ($P>0.99$)。接触角は唾液汚染後および洗浄後に小さい値を示し(図 D)、表面粗さは唾液汚染により変化しなかった。表面分析により、HSA には表面に唾液の残留を示唆するイオンが確認された。

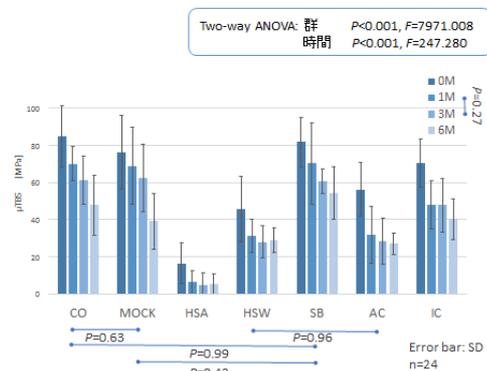


図 C 接着試験結果

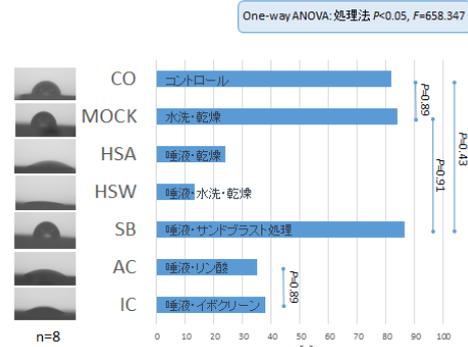


図 D 接触角結果

これら一連の研究からCAD/CAM冠用レジンに対するヒト唾液汚染により表面特性は変化し、接着強さが著しく低下し、唾液汚染除去の方法により、接着能の回復程度に差があることが確認された。

なお、当初は被着面に付着するタンパク質の違いがあると仮説を立てたが、本研究遂行により、被着面に付着するタンパクは検出されず、付着物はイオンであることが明らかとなった。

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 10 件)

1. Comparative analysis of mouse induced pluripotent stem cells and mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation in vitro. Egusa H, Kayashima H, Miura J, Uraguchi S, Wang F, Okawa H, Sasaki JI, Saeki M, Matsumoto T, Yatani H. Stem Cells Dev 2014; 23(18): 2156-2169.
2. Non-destructive observation of teeth post-core-space using optical coherence tomography: comparison with microcomputed tomography and live images. Minamino T, Mine A, Matsumoto M, Sugawa Y, Kabetani T, Higashi M, Kawaguchi A, Ohmi M, Awazu K, Yatani H. J Biomed Opt 2015; 20(10): 107001.
3. Distinct association between the antagonistic jaw muscle activity levels and cardiac activity during chewing and NREM sleep in the freely moving guinea pigs. Kato T, Masuda Y, Miyano K, Higawhiyama M, Yano H, Haque T, Sato F, Yoshida A. Neurosci Lett, 592:59-63, 2015.
4. Scaffold-Free Fabrication of Osteoinductive Cellular Constructs Using Mouse Gingiva-Derived Induced Pluripotent Stem Cells. Okawa H, Kayashima H, Sasaki J, Miura J, Kamano Y, Kosaka Y, Imazato S, Yatani H, Matsumoto T, Egusa H. Stem Cells Int. 2016;2016:6240794.
5. Associations of sleep bruxism with age, sleep apnea and daytime problematic behaviors in children. Tachibana M, Kato T, Kato-Nishimura K, Matsuzawa S, Mohri I, Taniike M. Oral Dis, 22:557-565, 2016.
6. Subjective oropharyngeal symptoms for abnormal swallowing in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome: a descriptive questionnaire study. Kato T, Abe K, Mikami A, Sugita H, Muraki H, Okura M, Ohi M, Taniguchi M. J Craniomandib Sleep Pract, 34:95-99, 2016
7. Sleep Pattern Discovery via Visualizing Cluster Dynamics of Sound Data. H. Wu, Kato T, Yamada T, Numao M, Fukui K. Trends in Applied Knowledge-Based Systems and Data Science (LNAI 9799):460-471, 2016.
8. Inter-scorer reliability of sleep assessment using EEG and EOG recording system in comparison to polysomnography. Nonoue S, Mashita M, Haraki S, Mikami A, Adachi H, Yatani H, Yoshida A, Taniike M, Kato T. Sleep Biol Rhythm, 15:39-48, 2017.
9. Anatomical recommendations for safe botulinum toxin injection areas in temporalis muscle. Lee WK, Bae JH, Hu SK, Kato T, Kim ST. Surg Radiol Anat, 39:263-269, 2017.
10. A stereotyped sequence from EEG arousals

to nocturnal groaning events with or without the intervening sleep bruxism in catathrenia. Muraki H, Okura M, Kato T, Taniguchi M, Ohi M. Sleep Med, 2:1-3, 2017.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Stem cells in regenerative dental medicine. Egusa H. 2013Thailand International Conference on Oral Biology “Stem Cells and Tissue Engineering” 2013/11/28, Bangkok, Thailand.
2. Mechanisms of jaw motor activation during sleep based on human and animal studies. Kato T. 137th International centre of Biocybernetics/Polish Academy of Science. 2014/3/26-28, Warsaw, Poland.
3. iPS cells and their expected role in the future of prosthodontics. Egusa H. 16th Biennial Meeting of International College of Prosthodontists. 2015/9/18, Seoul, Korea.
4. Adhesive Dentistry: Clinical performance, mechanism and effectiveness of bonding. Mine A. Special Presentation, University of Washington School of Dentistry. Washington, USA.2016/9/22.

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1 件)

名称：ヒト iPS 細胞を用いた骨芽細胞塊の作製法

発明者：江草 宏，大川博子

権利者：国立大学法人 東北大学

種類：特許

番号：特願 2017-67295

出願年月日：2017 年 3 月 30 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

矢谷博文 (YATANI HIROFUMI)

大阪大学大学院歯学研究科・教授

研究者番号：80174530

(2)研究分担者

江草 宏 (EGUSA HIROSHI)

東北大学大学院歯学研究科・教授

研究者番号：30379078

(3)研究分担者

加藤隆史 (KATO TAKAFUMI)

大阪大学大学院歯学研究科・教授

研究者番号：50367520

(4) 研究分担者

峯 篤史 (MINE ATSUSHI)

大阪大学大学院歯学研究科・助教

研究者番号：60379758

(5) 研究分担者

萱島浩輝 (KAYASHIMA HIROKI)

大阪大学大学院歯学研究科・助教

研究者番号：50632121