

令和 元年 5 月 24 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26293426

研究課題名(和文) ヒト歯髄幹細胞からのiPS細胞誘導の効率化・良質化の検討

研究課題名(英文) Study on the inductive efficiency and stability of iPS cells derived from human dental pulp cells

研究代表者

柴田 敏之 (SHIBATA, TOSHIYUKI)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50226172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト歯髄幹細胞を用いてiPS細胞誘導効率と良質なiPS細胞の樹立方法を検討した。低酸素培養により、増殖性・培養効率の向上と未分化性と分化能の維持およびiPS細胞誘導効率の向上が観察された。iPS細胞誘導効率の高い細胞と低い細胞を比較した所、DLX4の発現に差異が観察され、DLX4を加えると誘導効率が向上し、質の高いiPS細胞コロニーの形成が観察された。また、DLX4がKlf4およびc-Mycの代替機能も示唆された。TGF- β のシグナルに關与するDLX4の役割を解析するためにTGF- β 刺激下でiPS細胞誘導を行った所、有意な低下とsmad signal以外の経路への關与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iPS細胞の臨床応用において、遺伝子導入操作の不均一性による「良いiPS細胞」とがん化にも繋がる「悪いiPS細胞」が大きな課題となっており「良質なiPS細胞を効率良く生み出す方策」が強く求められている。本研究では、iPS細胞の良質化・効率化を向上させる新たな因子DLX4を見出し、その機能解析を試みた。結果、DLX4が従来のKlf4、c-Mycに代替し良質なiPS細胞コロニーをもたらすこと、DLX4がTGF- β シグナルにตอบสนองすることより遺伝子操作に依らない細胞の外部刺激により細胞初期化を促進する可能性を見出した。また、研究に用いた歯髄幹細胞が再生医療資源として有用であることを示した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the inductive efficiency and stability of iPS cells derived from human dental pulp cells. Our results were as follows; 1. Hypoxia condition improved the cell growth and establishing efficiency of primary culture. Furthermore, hypoxia condition was effective and useful for the stemness and high differential potency and could improve the efficiency of iPS cell induction and its quality. 2. Difference of DLX4 expression was observed between high and low inductive cell line to iPS cells. 3. DLX4 improved the inductive efficiency and quality of iPS cell colonies. Only DLX4 and Oct/Sox highly induced iPS cells as well as Oct/Sox, Klf4 and c-Myc. These findings suggested that DLX4 might play a replaceable role of Klf4 and c-Myc. 4. To reveal the DLX4 function engaging to TGF β signal pathway, we examined the induction under TGF β stimulation. TGF β stimulation significantly reduced the inductive efficiency and without the alternation of smad signal pathway.

研究分野：外科系歯学

キーワード：再生医学 歯髄 iPS細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

再生医学は近年目覚しく発展しており、とりわけ既に形成されている組織中に存在し限定的な分化能と増殖能を持つ「組織幹細胞」の応用が期待され、活発な研究が展開されている。口腔領域においても、歯髄に「組織幹細胞」である DPSC が含まれていることが証明され有望な医療資源として多くの研究が展開されて来ている。我々も、抜歯後の智歯等より得た約 250 ラインの DPSC を樹立し、再生医療のための資源化に関する検討を行って来た。

その結果、DPSC は 60 歳代の方（高齢者の方）でも効率良く iPS 細胞化が可能であり、これまで報告されている iPS 細胞誘導方法のいずれでも iPS 化が可能であり、且つ、DPSC からの iPS 細胞の樹立はヒト皮膚線維芽細胞に比べ 10~100 倍の高い効率を示し、Oct・Sox の 2 因子でも樹立可能であることを示して来た (J Dent Res. 2009. Nature Methods. 2011)。しかしながら、iPS 細胞誘導効率には向上に向けた課題も今だ多く存在し、iPS 細胞誘導においても、細胞初期化時の不均一性による「良い iPS 細胞」とがん化にも繋がる「悪い iPS 細胞」の問題も大きな課題となっており「良質な iPS 細胞を効率良く生み出す方策」も大きな課題となっている。

我々のこれまでの検討の中で、DPSC のステムネス性維持に低酸素条件が有用であり、iPS 細胞誘導時の低酸素化により E-cadherin の発現増強（上皮間葉転換：EMT の亢進）と iPS 細胞誘導効率の向上・良質化（整った iPS 細胞コロニーの出現と in vivo 造腫瘍性の低減）が図れる現象を見出して来ている (J Dent Res. 2013)。なお、周知の如く、この EMT の亢進に TGF が重要な役割を果たすことががんの悪性形質獲得の研究等で示されて来ている。

また、我々は、iPS 細胞誘導効率に差異のある細胞間の比較を行い、誘導効率を支配する新たな因子(DLX4)を見出し、DLX4 が高発現している細胞ないし強制発現させると誘導効率有意に向上し、良質化も得られる現象も見出して来ている。この DLX4 も詳細については不明の部分も多いが、TGF のシグナル伝達に関わることが示されて来ている。

そこで本研究では、これまで見出した 2 つの現象「低酸素による EMT 亢進と iPS 細胞誘導効率・良質化の亢進」、「DLX4 高発現による iPS 細胞誘導効率・良質化の亢進」の解析を行うと共に、両者の現象に共通する TGF のシグナル伝達を解析し、細胞初期化の基本的な知見を集積すると共に『がん化しない良質な iPS 細胞』を効率良く生み出す方策を得ることを目指す。尚、後述の如く、DLX4 の発現と iPS 細胞化の関係は、DPSC 特有の現象ではなく、iPS 細胞研究で広く用いられているヒト皮膚線維芽細胞でも観察され、汎用性の高い内容と考えられる。

2. 研究の目的

我々は、種々の形成段階にあるヒト抜去歯より歯髄組織幹細胞(Dental Pulp Stem Cell: DPSC)を約 250 ライン樹立・保有し、個体差の検証を行って来ている。また、DPSC から iPS 細胞を高率に樹立可能であることを見出し、DPSC が iPS 細胞の供給源として有用であることを示して来た(J Dent Res. 2009. Nature Methods. 2011)。その後、DPSC のステムネス性は、3%酸素条件の低酸素により維持可能であり、iPS 細胞誘導において低酸素条件を組み合わせると上皮間葉転換(EMT)の亢進に伴う誘導効率の向上と iPS 細胞の均一化（良質化）の得られること (J Dent Res. 2013)を示し、さらに、iPS 細胞誘導効率に差異のある細胞間の比較から誘導効率向上と良質化を支配する新たな因子 DLX4 (TGF のシグナル伝達に関わる因子)を見出して来ている (TGF は、最終分化から未分化性への「若返り」過程とも称される EMT に深く関与していることが知られている)。しかしながら、DLX4 の役割を含め樹立効率にはまだ課題が多く、また、「良い iPS 細胞」とがん化にも繋がる「悪い iPS 細胞」の問題も克服すべき大きな課題となっている。

本研究では、我々が保有する豊富なヒト DPSC を用いて、iPS 細胞誘導効率に差異のある細胞の比較および管理する酸素条件の違いによる iPS 細胞の樹立効率の差異を利用し、「低酸素および DLX4 が iPS 細胞誘導効率向上・良質化に関わる機序」を解析し、細胞初期化の基本的な知見を集積し『がん化しない良質な iPS 細胞』を効率良く生み出す方策を得ることを目指す。

3. 研究の方法

本研究では、上述の目的を達成するために、種々の年齢・歯の発生段階からライン化したヒト歯髄幹細胞(DPSC)を用い、特に、DLX4 高発現ライン（根未完成・未成熟智歯の歯髄：iPS 細胞誘導効率の高いライン）と低発現ライン（根完成・成熟智歯の歯髄：iPS 細胞誘導効率の低いライン）を用い、これらの細胞をこれまで検討に用いて来た各々の酸素濃度(3%:低酸素条件 or 21%:通常酸素条件)で培養し、以下の検討を加え、『iPS 細胞誘導に於ける DLX4 の役割を解明し、iPS 細胞誘導の効率化と良質化』を検証する。また、『iPS 細胞誘導時の上皮間葉転換(EMT)の関与』を観察し、細胞初期化の機序解明を目指す。

- #1: DPSC のステムネス性の相違・変化による DLX4 の消長と iPS 細胞誘導効率の変化（通常培養の場合継代によりステムネス性が喪失され、低酸素培養では維持される）
- #2: iPS 細胞誘導・分化誘導過程に於ける DLX4 の消長
- #3: DLX4 高発現群と低発現群に於ける TGF 刺激応答性の相違（TGF 受容体解析/シグナル分子解析/ EMT 変換解析）

4. 研究成果

本研究では、種々の DLX4 発現 DPSC ラインを用い、低酸素培養条件を比較に加え以下の点を検討し、DLX4、EMT が細胞初期化に果たしている役割を明確にし、高効率で良質な iPS 細胞を誘導する方策と細胞初期化機序の解明を目指した。

- #1: DPSC のステムネス性の相違・変化（通常の継代培養によりステムネス性が喪失され、低酸素培養では維持される）による DLX4 の消長と iPS 細胞誘導効率の変化を検討し、同一個体から得た細胞でも DLX4 の消失と遺伝子導入による回復が図れるのかを明確にする。
- #2: iPS 細胞誘導・分化誘導過程に於ける DLX4 の消長を観察し、DLX4 の必要性を明確化する。
- #3: DLX4 高発現群と低発現群に於ける TGF β 刺激応答性(TGF β 受容体解析/シグナル分子解析/EMT 変換解析) の相違を観察し、DLX4 細胞初期化時の役割を明確にする。

その結果：

iPS 細胞誘導効率に差異のある細胞群の DNA アレイ比較（約 10 ラインづつを比較）し見出した DLX4 を Oct/Sox の 2 因子に加えると Oct/Sox/Klf4 の 3 因子導入と同等レベルまで誘導効率が向上し、DLX4 は Klf4 の代替機能を果たしている可能性が示された。また、Oct/Sox/Klf4 の 3 因子に DLX4 を加えると誘導効率は更に向上し、Oct/Sox/Klf4/c-Myc の山中 4 因子を導入した場合と同等まで向上する現象を確認した。この現象より、DLX4 が c-Myc の代替機能も果たしている可能性も示唆された。更に、DLX4 を加えた iPS 細胞の誘導に於いて、誘導されて出現する iPS 細胞のコロニーが形態的に非常に良く整っており均一となっており、均質化・良質化が得られていた（Scientific Reports. 2014）。また、効率化において c-Myc と同等の誘導効率を示したことより、がん化の危険性を指摘されているがん遺伝子の一種である c-Myc を回避・代替出来る DLX4 の役割はこの点に於いても重要と考えられた。

最終分化から未分化性への逆方向性の「若返り」過程とも称される上皮間葉転換(EMT)に TGF β が多く関与していることが知られ、前述の如く DLX4 は、この TGF β のシグナル伝達に関わる因子の一つとして注目されている。DLX4 の TGF β シグナル伝達に於ける役割を解析することにより、細胞初期化の機序説明に一定の回答が得られるものと考え、通常の中 4 因子（Oct/Sox/Klf4）で細胞初期化時に、TGF β 外部刺激の影響を検討した所、TGF β 刺激により有意に誘導効率と DLX4 発現に変化が観察され、遺伝子導入による iPS 細胞誘導・細胞初期化時に TGF β の外部刺激が影響を及ぼすことが示された。このことは、外部因子による刺激により遺伝子導入に依らない細胞初期化可能性や誘導時の効率化・均質化に寄与する可能性を示唆したものと考えられた。

ヒト歯髄幹細胞(DPSC)に於ける、TGF β 刺激のシグナル伝達経路と DLX4 の発現消長を検討するために、TGF β の主たるシグナル伝達を担う smad 系の変化を観察したが、TGF β 刺激したヒト歯髄幹細胞(DPSC)の smad シグナルに有意な変化は観察されなかった。このことは、DLX4 は、TGF β シグナル伝達経路において smad シグナルとは異なる経路において役割を果たしている可能性を示唆した。

また、ヒト歯髄幹細胞(DPSC)を用いた検討に於いて、iPS 細胞誘導効率の高い細胞と低い細胞において DLX4 の発現に差異が認められたが、ヒト歯髄幹細胞(DPSC)を用いた脊損モデルでの再生医療研究において神経再生能に差異が観察され、高い細胞株と低い細胞株に於いて GABRB1(GABA 受容体)の発現が関与していることが、本研究の過程において副次的に見出された。また、細胞移植による脊損回復において、移植細胞が神経分化するのではなく、移植細胞が出す種々のサイトカインが修復に大きな役割を果たしていることが示唆された。このことは、iPS 細胞の誘導効率の効率化・良質化において TGF β 外部刺激が影響を及ぼした様に、誘導される細胞自身が放出するサイトカインがオートクラインないしパラクライン的に影響する可能性も示唆したものと考えられた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 18 件)

Nemoto A, Chosa N, Kyakumoto S, Yokota S, Kamo M, Noda M, Ishisaki A. Water-soluble factors eluted from surface pre-reacted glass-ionomer filler promote osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells. Mol Med Rep. 2018 Mar;17(3):3448-3454 (Epub 2017 Dec 18). doi: 10.3892/mmr.2017.8287. 査読あり

Ibi M, Horie S, Kyakumoto S, Chosa N, Yoshida M, Kamo M, Ohtsuka M, Ishisaki A. Cell-cell interactions between monocytes/macrophages and synovial cell-like cells promote inflammatory cell infiltration mediated by augmentation of MCP-1 production in temporomandibular joint. Biosci Rep. 2018 Mar 29;38(2). pii: BSR20171217. doi: 10.1042/BSR20171217. 査読あり

Chosa N, Ishisaki A. Two novel mechanisms for maintenance of stemness in mesenchymal stem

cells: SCRG1/BST1 axis and cell-cell adhesion through N-cadherin. *Jpn Dent Sci Rev.* 2018 Feb;54(1):37-44. doi: 10.1016/j.jdsr.2017.10.001. 査読あり

Ohta Maiko, Chosa Naoyuki, Kyakumoto Seiko, Yokota Seiji, Okubo Naoto, Nemoto Akira, Kamo Masaharu, Joh Shigeharu, Satoh Kenichi, [Ishisaki Akira](#). IL-1 β and TNF- α suppress TGF- β promoted NGF expression in periodontal ligament-derived fibroblasts through inactivation of TGF- β induced Smad2/3 and p38 MAPK-mediated signals. *Int. Journal of Molecular Medicine* 42 1484-1494 2018 doi: 10.3892/ijmm.2018.3714 査読あり

Sugiyama Ken, Nagashima Kosuke, Miwa Takahiro, Shimizu Yuta, [Kawaguchi Tomoko](#), [Iida Kazuki](#), Tamaoki Naritaka, [Hatakeyama Daijiro](#), Aoki Hitomi, Abe Chikara, Morita Hironobu, Kunisada Takahiro, [Shibata Toshiyuki](#), Fukumitsu Hidefumi, Tezuka Ken-ichi. FGF2-responsive genes in human dental pulp cells assessed using a rat spinal cord injury model. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 2018 doi: 10.1007/s00774-018-0954-8 査読あり

Bunai Katsuaki, Okubo Hiroshi, Hano Kimika, Inoue Keisuke, Kito Yusuke, Saigo Chiemi, [Shibata Toshiyuki](#), Takeuchi Tamotsu. TMEM207 hinders the tumour suppressor function of WWOX in oral squamous cell carcinoma. *J Cell Mol Med.* 22 1026-1033, 2018. doi: 10.1111/jcmm.13456 査読あり

Nakashima Takayuki, Tomita Hiroyuki, Hirata Akihiro, Ishida Kazuhisa, Hisamatsu Kenji, Hatano Yuichiro, Kanayama Tomohiro, Niwa Ayumi, Noguchi Kei, Kato Keizo, Miyazaki Tatsuhiko, Tanaka Takuji, [Shibata Toshiyuki](#), Hara Akira. Promotion of cell proliferation by the proto-oncogene DEK enhances oral squamous cell carcinogenesis through field cancerization. *Cancer Med.* 6 2424-2439 2017 doi: 10.1002/cam4.1157 査読あり

Nagashima Kosuke, Miwa Takahiro, Soumiya Hitomi, Ushiro Daisuke, [Takeda-Kawaguchi Tomoko](#), Tamaoki Naritaka, Ishiguro Saho, Sato Yumi, Miyamoto Kei, Ohno Takatoshi, Osawa Masatake, Kunisada Takahiro, [Shibata Toshiyuki](#), Tezuka Ken-ichi, Furukawa Shoei, Fukumitsu Hidefumi. Priming with FGF2 stimulates human dental pulp cells to promote axonal regeneration and locomotor function recovery after spinal cord injury. *Sci Rep.* 7 13500 2017. doi: 10.1038/s41598-017-13373-5 査読あり

Chiba Takahiro, [Ishisaki Akira](#), Kyakumoto Seiko, [Shibata Toshiyuki](#), Yamada Hiroyuki, Kamo Masaharu. Transforming growth factor- β 1 suppresses bone morphogenetic protein-2-induced mesenchymal-epithelial transition in HSC-4 human oral squamous cell carcinoma cells via Smad1/5/9 pathway suppression. *Oncol Rep.* 37 713-720 2017. doi: 10.3892/or.2016.5338. 査読あり

Suzuki K, Chosa N, Sawada S, Takizawa N, Yaegashi T, [Ishisaki A](#). Enhancement of Anti-Inflammatory and Osteogenic Abilities of Mesenchymal Stem Cells via Cell-to-Cell Adhesion to Periodontal Ligament-Derived Fibroblasts. *Stem Cells Int.* 2017 doi: 10.1155/2017/3296498. 査読あり

Komatsu Y, Ibi M, Chosa N, Kyakumoto S, Kamo M, [Shibata T](#), Sugiyama Y, [Ishisaki A](#). Zoledronic acid suppresses transforming growth factor- β -induced fibrogenesis by human gingival fibroblasts. *Int J Mol Med.* 38 139-147, 2017 doi: 10.3892/ijmm.2016.2582. 査読あり

Chiba T, [Ishisaki A](#), Kyakumoto S, [Shibata T](#), Yamada H, Kamo M. Transforming growth factor- β 1 suppresses bone morphogenetic protein-2-induced Mesenchymal-epithelial transition in HSC-4 human oral squamous cell carcinoma cells via Smad1/5/9 pathway suppression. *Oncol Rep.* 37, 713-720, 2017. doi: 10.3892/or.2016.5338. 査読あり

Igarashi Y, Chosa N, Sawada S, Kondo H, Yaegashi T, [Ishisaki A](#). VEGF-C and TGF- β reciprocally regulate mesenchymal stem cell commitment to differentiation into lymphatic endothelial or osteoblastic phenotypes. *Int J Mol Med.* 37, 1005-1013, 2016 doi: 10.3892/ijmm.2016.2502. 査読あり

Sawada S, Chosa N, Takizawa N, Yokota J, Igarashi Y, Tomoda K, Kondo H, Yaegashi T, [Ishisaki A](#). Establishment of mesenchymal stem cell lines derived from the bone marrow of green fluorescent protein-transgenic mice exhibiting a diversity in intracellular transforming growth factor- β and bone morphogenetic protein signaling. *Mol Med Rep.* 13(3), 2023-2031, 2016 doi: 10.3892/mmr.2016.4794. 査読あり

Hino M, Kamo M, Saito D, Kyakumoto S, [Shibata T](#), Mizuki H, [Ishisaki A](#). Transforming growth

factor-β1 induces invasion ability of HSC-4 human oral squamous cell carcinoma cells through the Slug/Wnt-5b/MMP-10 signalling axis. *Journal of Biochemistry*, 159(6), 631-640, 2016.
doi: 10.1093/jb/mvw007 査読あり

Kudo D, Inden M, Sekine S, Tamaoki N, Iida K, Naito E, Watanabe K., Kamishina H, Shibata T, Hozumi I. Conditioned medium of dental pulp cells stimulated by Chinese propolis show neuroprotection and neurite extension in vitro. *Neurosci Lett*. Mar 4; 589:92-7, 2015.
doi: 10.1016/j.neulet.2015.01.035. 査読あり

Takeda-Kawaguchi T, Sugiyama K, Chikusa S, Iida K, Aoki H, Tamaoki N, Hatakeyama D, Kunisada T, Shibata T, Fusaki N, Tezuka K. Derivation of iPSCs after culture of human dental pulp cells under defined conditions. *PLoS One*. 2014 Dec 18;9(12):e115392
doi: 10.1371/journal.pone.0115392. eCollection 2014. 査読あり

Tamaoki N, Takahashi K, Aoki H, Iida K, Kawaguchi T, Hatakeyama D, Inden, M, Chosa N, Ishisaki A, Kunisada T, Shibata T, Goshima N, Yamanaka S, Tezuka K. The homeobox gene DLX4 promotes generation of human induced pluripotent stem cell. *Scientific Reports*. 2014 Dec 4;4:7283
doi: 10.1038/srep07283 査読あり

〔学会発表〕(計 10 件)

小足周平, 青木仁美, 川口知子, 清水雄太, 柴田敏之, 國貞隆弘, 渋谷俊昭, 手塚健一
HLA allele selective genome editing in human iPSC cells using ZFN
第 66 回国際歯科研究会日本部会(JDR)学術大会 2018

小足周平, 青木仁美, 川口知子, 清水雄太, 柴田敏之, 國貞隆弘, 渋谷俊昭, 手塚健一 HLA genome editing in human dental pulp stem cell using ZFN 104 回アメリカ歯周病学会(国際学会) 2018 年

清水雄太, 川口知子, 小足周平, 柴田敏之, 國貞隆弘, 手塚健一 HLA ハプロタイプホモ iPSC 細胞からのエクソソーム精製 第 72 回 NP0 法人日本口腔科学会学術集会 2018 年

杉山健、飯田一規、川口知子、畠山大二郎、柴田敏之、国貞隆弘、手塚健一 ヒト歯髄細胞における脊髄損傷後の回復効果と相関する FGF2 応答性遺伝子の検索 第 17 回日本再生医療学会 2018 年

小足周平, 青木仁美, 川口知子, 清水雄太, 柴田敏之, 国貞隆弘, 手塚健一 ヒト歯髄細胞における HLA アリル選択的なゲノムエディティング 第 17 回日本再生医療学会 2018 年

杉山健, 飯田一規, 川口知子, 畠山大二郎, 柴田敏之 ヒト歯髄細胞における脊髄損傷後の回復効果を促進させる FGF2 応答性遺伝子の検討 第 62 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2017 年

柴田敏之 再生医療資源としてのヒト歯髄細胞の有用性 第 55 回日本口腔科学会北日本地方部会(招待講演) 2017 年

杉山健, 飯田一規, 川口知子, 畠山大二郎, 柴田敏之, 福光秀文, 手塚健一 脊椎損傷モデルラットにおける FGF2 処理ヒト歯髄細胞移植の回復促進効果: 細胞・FGF2 単独投与との比較 第 16 回日本再生医療学会総会 2017 年

柴田 敏之 ヒト歯髄細胞の再生医療への活用 第 16 回日本再生医療学会総会(招待講演) 2017 年

T.Tamaoki, K Takahashi, H Aoki, K Iida, T Kawaguchi, D Hatakeyama, M Indan, N Chousa, A Iisaki, T Kunisada, T Shibata, N Gotou, S Yamanaka, K Tezuka. The homeobox gene DLX4 promotes generation of human induced pluripotent stem cells
ASBMR (アメリカ骨代謝学会) 2014 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 1 件)

名称: Method for producing induced pluripotent stem cells

発明者: SHIBATA Toshiyuki

権利者: SHIBATA Toshiyuki

種類:

番号: 特許、14839864.7-1404

出願年: 2016年01月16日

国内外の別: 外国

[その他]

ホームページ等 該当事項無し

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 武田-川口 知子

ローマ字氏名: (TKEDA-KAWAGUCHI tomoko)

所属研究機関名: 岐阜大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 医員

研究者番号: 30509815

研究分担者氏名: 飯田 一規

ローマ字氏名: (IIDA kazuki)

所属研究機関名: 岐阜大学

部局名: 大学院医学系研究科

職名: 助教

研究者番号: 30585237

研究分担者氏名: 畠山 大二郎

ローマ字氏名: (HATAKEYAMA daijiro)

所属研究機関名: 岐阜大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 講師

研究者番号: 60377653

研究分担者氏名: 石崎 明

ローマ字氏名: (ISHISAKI akira)

所属研究機関名: 岩手医科大学

部局名: 歯学部

職名: 教授

研究者番号: 20356439

(2) 研究協力者 該当者無し

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。