

令和 3 年 4 月 27 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2020

課題番号：16K11699

研究課題名(和文)咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態解明に向けた遺伝的および環境的要因の解析

研究課題名(英文) Analysis by the genetic and environmental approaches for the elucidation of masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia

研究代表者

依田 哲也 (Yoda, Tetsuya)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：60242210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：CRYBA4およびエストロゲンは、咀嚼筋腱・腱膜過形成症の進行に関わると考えられた。また、腱へのメカニカルストレスによりyes-associated proteinを介するデコリンの過剰発現が認められ病態に関わる可能性が示唆された。咀嚼筋腱・腱膜過形成症では運動負荷に反応して発現亢進する分子や遅筋で発現する分子の高い発現を認めた。さらに、サルにおけるアキレス腱・咀嚼筋腱へのメカニカルストレス実験で、アキレス腱では発現上昇が認められず、咀嚼筋腱に発現が上昇する分子が見出されたことから、疾患の発症に関わる特異的分子が存在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

咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態は遺伝的要因と環境的要因であると考えられていたが、科学的根拠は全くなかった。本研究の遂行により、メカニカルストレス、特に反復性伸展刺激が腱細胞に対して特異的分子を誘導することがわかり、そのメカニズムの一部が明らかになった。以上は環境的要因の解明に役立つこととなった。また、遺伝的要因の解明として病態に関わる分子群の同定につながった。メカニカルストレスに関わる分子の解析により、整形外科における腱疾患の病態の解明にも役立つことと思われ、社会的にも大きな意義をもつ研究であった。

研究成果の概要(英文)：Oestrogen and Cryba4 may be associated with the progression of masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia (MMAH). Cyclic stretch induces decorin expression via yes-associated protein in tenocytes and decorin is upregulated in tendons of MMAH, suggesting that tendons of MMAH were subjected to cyclic stretch conditions. Comprehensive gene expression analysis revealed upregulated molecules which is related with mechanical stress or slow muscle. Moreover, we found that cyclic stretch upregulated specific genes in tendons of masticatory muscle but not Achilles tendons. These specific molecules may be associated with the onset of MMAH.

研究分野：口腔外科学

キーワード：咀嚼筋 腱 腱膜 メカニカルストレス 遺伝的要因

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

咀嚼筋腱・腱膜過形成症は、側頭筋の腱や咬筋の腱膜などが過形成するために、筋の伸展が妨げられて開口制限を呈する疾患である。本疾患の特徴である腱および腱膜の過形成の病態について、われわれは、対照組織に顎変形症患者の腱組織を用いてタンパク質のプロテオーム解析を行ったところ、本疾患患者において発現が特異的に上昇しているタンパク質 $\beta$ -crystallinA4 (CRYBA4)を見出した (Nakamoto A, Int J Oral Maxillofac Surg 2014)。また、咬筋腱膜における電子顕微鏡観察により、粒子様物質の沈着、組成分析により腱組織内部におけるケイ素の異常集積を認め、腱組織に石灰化が起こっていることを報告した (Sato T, Oral Dis 2014)。これらの現象は異常習癖などのメカニカルストレスといった環境要因が筋や腱に加わった結果により引き起こされている可能性もあるが、必ず両側に発症することや学童期より発症する症例もあることから、遺伝子の塩基配列などの違いがこれらの現象を起こしやすくしている可能性は非常に高いと考えられ、さらなる病態の解明と共に、遺伝的要因の研究は不可欠である。

### 2. 研究の目的

遺伝的要因の関与・環境的要因の関与を明らかにし、咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態に關与する分子の解明を目指すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 【実験1】

環境的要因の関与の検討として、メカニカルストレスが本疾患の病態と関係があるかどうかを調べた。われわれが以前、本疾患患者で見出したCRYBA4を強制発現させた腱細胞株にエストロゲンを作用させ、腱分化に対する影響について解析を行った。

#### <細胞培養>

腱細胞株としてTT-D6細胞を用いた。1% fetal bovine serum(Sigma-Aldrich Japan, Tokyo, Japan), 100 U/mL penicillin G, 100 mg/mL streptomycin を添加した $\alpha$ -minimum Eagle's 培地 (WAKO, Japan) で培養した。すべての細胞培養は、2~3 日毎に培地交換を行い、二酸化炭素濃度 5%, 33 °C の環境下で培養を行った。

#### <試薬>

エストロゲンとして、17  $\beta$ -oestradiol (E2; Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA)を用いた。

#### <反復性伸展刺激実験>

腱細胞に対してFlexcell社FX-3000による反復性伸展刺激を行った。伸展刺激の条件として、培養プレート面積はサインカーブに基づき、0.5秒間で0%から10%まで連続的に上昇し、次の0.5秒間で連続的に0%に戻るように変化をさせるプロトコルを採用した。

#### <定量 RT-PCR 法>

回収した細胞を氷冷 PBS で洗浄し QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, Hilden, Germany) を 1 mL 加えてスクレイパー (AGC TECHNO GLASS, Sizuoka, Japan) で回収し、プロトコルに従って全 RNA を抽出した。NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher scientific, Waltham, MA) で定量した。全 RNA を High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher Scientific) により cDNA に変換し、TaqMan Gene Expression Assays (Thermo Fisher Scientific) を含む反応液 20  $\mu$ L を用いて SYBR 法による定量 PCR を行った。StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) を用いて 95 °C で 20 秒間、続いて 95 °C で 1 秒、60 °C で 20 秒の 40 サイクルを行った。定量 PCR の分析に関して、比較 Ct 法を用いて glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を内部標準とした。

#### <プローブ>

プローブデザインは以下の通りである。

tenomodulin (Tnmd) sense (5'-GACAAGCAAGCGAGGAAGAC-3'); Tnmd antisense (5'-GTTGCAAGGCATGATGACAC-3')

scleraxis (Sx) sense (5'-AACACGGCCTTCACTGC-3'); Sx antisense (5'-CTTCGAATCGCCGTCTT-3'); Col6a1 sense (5'-GATGAGGGTGAAGTGGGAGA-3')

Cryba4 sense (5'-CCAGTGTCTGGAAGTGGT-3'); Cryba4 antisense (5'-TTCTCCTGCTCGAAGATGGT-3');

$\beta$ -actin (Actb) sense (5'-AGAAGGACTCCTATGTGGGTGA-3'); Actb antisense (5'-CATGATCTGGGTCATCTTTTCA-3')

#### <クローニング・プラスミドベクター作製・遺伝子導入>

マウス眼球から RT-PCR にて全 RNA を抽出し、PrimeSTAR HS DNA polymerase (TaKaRa, Shiga, Japan) を用いて増幅した PCR 産物から Cryba4 遺伝子 (Accession Number NM\_021351.2) を得た。pcDNA3.1/V5-His expression vector (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA) にクローニングを行い、Lipofectamine 2000 (Thermo Scientific) を用いて、プラスミドベクターを細胞へ遺伝子導入した。

#### <western blotting 法>

回収した細胞を ProteoGuard EDTA- Free Protease Inhibitor Cocktail (タカラバイオ社) を含む 0.1 %

Triton X-100 で溶解し、20 分間氷上でインキュベート後、4 °C で 15,000 ×g で 5 分間遠心分離しタンパク質を含む上清を回収した。7.5 % および 10 % アクリルアミド の分離ゲルおよび 4 % アクリルアミドの濃縮ゲルを作成し、等量のタンパク質をローディングした。ATTO 社製の電気泳動装置を用いて 40 ミリアンペアの定電流にて電気泳動を行った。その後、タンク式転写装置 (Cleaver scientific 社) を用いて 100 ボルトの定電圧にて Immobilon PVDF メンブレン (Merck Millipore 社) へ転写を行った。メンブレンをスキムミルク (9999S; Cell Signaling 社) に浸漬してブロッキング後、目的タンパク質をそれぞれに対する抗体で標識し、Clarity Western ECL Substrate (Bio-Rad 社) を使用して発光させ Chemi-Doc XRS system (Bio-Rad 社) を用いてバンドを検出した。

<抗体>

1 次抗体として anti-rabbit Tnmd polyclonal antibody (H-109; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA), anti-rabbit Scx polyclonal antibody (ab58655; Abcam, Cambridge, MA, USA), anti-mouse  $\beta$ -actin monoclonal antibody (8H10D10; Cell Signaling Technologies, Danvers, MA, USA) を使用した。また 2 次抗体として anti-rabbit IgG horseradish peroxidase (HRP)-linked antibody (#7074; Cell Signaling) 、 anti-mouse IgG HRP-linked antibody (#7076; Cell Signaling) を使用した。

【実験 2】

咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者の側頭筋腱において、腱に豊富に存在するデコリンの発現を調べ、腱細胞において反復性伸展刺激がデコリン発現に与える影響ならびにデコリン発現が yes-associated protein (YAP) シグナルによって調節されているかどうかを検討した。

<対象患者・検体>

咀嚼筋腱・腱膜過形成症 (MMTAH) 患者 2 名 (ともに 4 5 歳)、顎変形症 (FD) 患者 2 名 (1 9 歳、2 6 歳) 対象とした。手術により採取した検体を組織サンプルとした。本学倫理審査委員会の承認 (埼玉医科大学倫理審査委員会承認番号 No717-III) を得た上で、該当患者に対して本疾患に関する十分な説明を行い、研究に対する同意を得た。

<細胞培養>

腱細胞株として TT-D6 細胞を用いた。培養方法は【実験 1】に準ずる。

<反復性伸展刺激実験>

方法は【実験 1】に準ずる。

<定量 RT-PCR 法>

回収した細胞を氷冷 PBS で洗浄し QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, Hilden, Germany) を 1 mL 加えてスクレイパー (AGC TECHNO GLASS, Sizuoka, Japan) で回収し、プロトコールに従って全 RNA を抽出した。NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher scientific, Waltham, MA) で定量した。全 RNA を High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher Scientific) により cDNA に変換し、TaqMan Gene Expression Assays (Thermo Fisher Scientific) を含む反応液 20  $\mu$ L を用いて Taqman 法による定量 PCR を行った。StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) を用いて 95 °C で 20 秒間、続いて 95 °C で 1 秒、60 °C で 20 秒の 40 サイクルを行った。定量 PCR の分析に関して、比較 Ct 法を用いて glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を内部標準とした。

<プローブ>

プローブデザインは TaqMan Gene Expression Assay kits (Thermo Fisher Scientific) for mouse Decorin (Dcn) (Mm00514535\_m1)、mouse GAPDH (Mm99999915\_g1)、human Dcn (Hs00754870\_s1)、human 18S (Hs99999901\_s1) である。

<western blotting 法>

方法は【実験 1】に準ずる。

<抗体>

1 次抗体として anti-rabbit YAP polyclonal antibody (#4912; Cell Signaling, Massachusetts, USA), anti-rabbit Dcn polyclonal antibody (ab175404; Abcam, Cambridge, MA, USA), anti-rabbit  $\alpha$ -tubulin polyclonal antibody (PM054; MBL, Nagoya, Japan), anti-mouse Histone H1 monoclonal antibody (D209-3; MBL) を使用した。また 2 次抗体として anti-rabbit IgG horseradish peroxidase (HRP)-linked antibody (#7074; Cell Signaling) 、 anti-mouse IgG HRP-linked antibody (#7076; Cell Signaling) を使用した。

<RNA 干渉>

ScreenFect A (WAKO) を用いて細胞に siRNA を導入した。YAP 遺伝子の siRNA (siYAP) として、Silencer™ Select pre-designed siRNA for yes-associated protein 1 (s76159) 、コントロール (si-CTR) として and Silencer™ Select Negative Control No. 1 siRNA を使用した (Life Technologies 社)。

<組織染色>

組織サンプルについて 4% paraformaldehyde (PFA) 固定を行った。パラフィンで包埋し、5  $\mu$ m の薄切を行った。抗体として、anti-rabbit Dcn polyclonal antibody (ab175404; Abcam) as a primary antibody を用いた。また、HE 染色も行った。

【実験 3】

咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者 (MMTAH) および対照患者として顎変形症患者 (FD) の側頭筋腱組織より RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現変動解析を行い、MMTAH に特異的に発現する遺伝子の同定を行った。

#### <対象患者・検体>

疾患群は側頭筋腱および筋突起切除術を施行した咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者（女性7名）とし、対照群は下顎矢状分割法を行った腱および腱膜の異常および開口制限のない顎変形症患者（女性3名）とした。両群ともに、他の内科的基礎疾患、関節疾患、代謝性疾患を有さないものとした。疾患群は開口距離が35 mm以下であり、前方および側方下顎運動制限がなく、口腔内より咬筋部の張り出しを触知する患者とした。組織検体は手術時に切除した筋突起周囲の側頭筋腱とし、病理組織学検査にて異常構造を示さないものとした。本学倫理審査委員会の承認（埼玉医科大学倫理審査委員会承認番号 No717-III）を得た上で、該当患者に対して本疾患に関する十分な説明を行い、研究に対する同意を得た。

#### <RNA抽出>

採取組織に付着している筋組織を可能な限り除去した後、液体窒素で凍結し Cell Destroyer® (Biomedical science 社) で粉砕した。RNA は miRNeasy Mini Kit. (Qiagen 社) を用いて抽出し、NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific 社) で純度と濃度を測定した。また RNA 分解度の評価は RNA Nano 6000 Assay Kit of the Agilent Bioanalyzer 2100 system (Agilent Technologies 社) で行った。

#### <RNA シーケンシング>

Ribo-zero rRNA Removal Kit (Epicenter 社) でリボソーム RNA を除去し、エタノール沈殿により rRNA 遊離残基を除去した。続いて、NEBNext Ultra Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs 社) によって rRNA を除去した RNA を使用してシーケンシングライブラリーを作成した。クラスタリングは cBot Cluster Generation System (illumina 社) で行い、150 ベースペアエンドで HiSeq4000 (illumina 社) を用いてシーケンスを行った。なお、RNA シーケンシングの実験は Novogene Limited へ委託した。

#### <データ解析>

取得したシーケンスデータのクオリティコントロール、マッピングを行い、発現量 (FPKM) を算出した。発現変動解析においては  $P < 0.05$  および  $\log_2$  (Fold change)  $< 1$  の絶対値を有意差発現の閾値として設定した。Volcano plot は  $\log_2$ (Fold change) 及び q 値を用いて作製し、疾患群全てにおいて有意に発現上昇または低下した遺伝子について階層的クラスタリング解析を行った。遺伝子オントロジーエンリッチメント解析においては GOseq R パッケージを用いた。なお、発現量 (FPKM) の算定は Novogene Limited へ委託した。

#### 【実験4】

京都大学霊長類研究所 高田 教授および自然科学研究機構 生理学研究所 郷 特任准教授との共同研究により、サル腱細胞に対するメカニカルストレス負荷の実験について次世代シーケンサーを用いて遺伝子網羅的発現解析を行った。

ニホンザル（オス、5歳10か月齢）をサンプル対象として、京都大学霊長類研究所にて解剖を行い、咬筋腱膜 (MA) と側頭筋腱 (TT)、ならびにアキレス腱 (AT) を採取した。採取した腱組織は酵素法にて処理した。具体的には、0.2% collagenase I solution を用いて、37°C で18時間コラゲナーゼ処理し 100  $\mu$ m フィルターを行った。この細胞を細胞培養 dish に播種して7日間培養し、増殖したものを BioFlex 6 well plate へ播種して、Flexcell 社の FX-3000 を用いて伸展刺激を加えた。伸展刺激の条件として、培養プレート面積はサインカーブに基づき、0.5秒間で0%から10%まで連続的に上昇し、次の0.5秒間で連続的に0%に戻るように変化をさせるプロトコルを採用した。伸展刺激の持続時間は48時間とした。刺激前の0時間と刺激後48時間のサンプルについて、培養細胞に QIAzol で処理しセルスクレイパーにて回収した。RIN 値を測定し、total RNA の品質が良好であることを確認した。遺伝子網羅的発現解析のために RNA の濃度を測定し、自然科学研究機構 生理学研究所 郷 特任准教授に次世代シーケンサーでの解析を依頼した。解析は MA, TT, AT それぞれにおける0時間と48時間の比較を行った。

## 4. 研究成果

#### 【実験1】

咀嚼筋腱・腱膜過形成症は女性に多い（有家ら, 日顎誌 2009）ことから、E2 の腱細胞分化・増殖に対する影響を検討したところ、E2 は濃度依存的に腱分化マーカーである Scx の遺伝子発現ならびに Tnmd のタンパク発現を促進させた。

CRYBA4 のプラスミドベクター (pCRYBA4) を作製し、TT-D6 細胞に遺伝子導入した。この細胞に対して E2 処理を行ったところ、Scx および Tnmd の遺伝子発現を上昇させた。

咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者では歯ぎしりやくいしばり、異常習癖等がみられることが多い。したがって、メカニカルストレスが咀嚼筋に対して過剰な負荷をかけている可能性が考えられた。そこで、腱細胞に伸展刺激を与えることによって、CRYBA4 遺伝子の発現がどのように変動するのか、を検討した。伸展刺激後12時間ならびに24時間において、CRYBA4 遺伝子の発現上昇が認められた。

咀嚼筋腱・腱膜過形成症の発症にはエストロゲンおよび CRYBA4 の関与が示唆された。

#### 【実験2】

顎変形症患者と咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者、それぞれの腱について遺伝子ならびにタンパク

質発現を調べた。顎変形症患者と比較して、咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者の腱においてデコリン (Dcn) の mRNA 及びタンパク質発現が有意に増加していた。

腱組織サンプルについて、Dcn の組織染色を行い FD と MMTAH を比較したところ、MMTAH 患者の方が Dcn の発現が高いことが明らかとなった。

反復性伸展刺激が腱細胞の Dcn 発現にどのような影響を与えるか調べた。反復性伸展刺激は Dcn 発現を上昇させた。

われわれは、メカニカルストレスのシグナル伝達に関する YAP に着目した。YAP の RNA 干渉により Dcn 発現がどうなるのかを検討した。その結果、YAP の siRNA を導入した腱細胞では、Dcn 発現が抑制されていることが明らかとなった。

咀嚼筋腱・腱膜過形成症の発症にはメカニカルストレスである反復性伸展刺激が関与している可能性が示唆された。

#### 【実験 3】

RNA シーケンスの結果、検出された 19,767 遺伝子のうち、対照群と比較し 2,471 遺伝子の発現量が有意に上昇し、2,849 遺伝子の発現が有意に低下していた (下図)。

これらの遺伝子を用いて階層的クラスタリング解析を行ったところ、疾患群は疾患群で、対照群は対照群で同様の発現の傾向を示し、疾患群と対照群との間で大きな相違があることが観察された (下図)。

さらに、疾患群の中では特に年齢の離れた検体が疾患群の他の疾患群の検体と比較して類似性の低さは示さなかった。

遺伝子オントロジーエンリッチメント解析を行った結果、対照群と比較し疾患群で発現が有意に上昇した遺伝子グループの上位には ATP 産生やオキシダイゼーション、ミトコンドリア関連のグループがあり、上位 100 グループには「筋肉」および「腱」関連の遺伝子グループが多く含まれていた。それに対し、対照群と比較し疾患群で発現が有意に低下した遺伝子グループには「筋肉」および「腱」関連の遺伝子グループは含まれていなかった。疾患群で発現が有意に上昇した遺伝子グループのうち、本疾患の腱が病理学的には正常な腱組織の過形成という観点から筋肉および腱細胞の発達および分化に関連する「muscle cell development」および「muscle cell differentiation」に着目した。この 2 つのグループに属する遺伝子のうち、対照群と比較し発現変動解析で変動量が高い遺伝子を抽出すると、Ankyrin Repeat Domain 2 (ANKRD2), Carbonic anhydrase 3 (CA3), Troponin T1 (TNNT1), Myosin heavy chain 7 (MYH7), F-box protein 40 (FBXO40), Mohawk (Mkx), Myogenic factor 5 (MYF5), Myogenic factor 6 (MYF6), Myogenic differentiation 1 (MyoD1), SET and MYND domain containing 1 (SMYD1) といった遺伝子が含まれていた。

咀嚼筋腱・腱膜過形成症では、運動などの負荷に反応して発現亢進する分子や遅筋で発現する分子の高い発現を認めたことから、筋・腱に機械的負荷が加わっている可能性が示唆された。

#### 【実験 4】

遺伝子発現変動が認められる遺伝子 (DEG: differential expression genes) を求めたところ、多数の遺伝子が同定されたため、選択の基準をきつく設定して FDR (false discovery rate) < 10E-10 を満たす遺伝子数を調べたところ、統計的に有意差のある DEG の数は、MA では 1914 遺伝子、TT では 2195 遺伝子、AT では 3697 遺伝子であった。さらに、アキレス腱では発現上昇が認められず、咀嚼筋腱特異的に発現が上昇する分子が見出された (未公表データ)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Naoki Hayashi   Tsuyoshi Sato   Megumi Yumoto   Shoichiro Kokabu   Yosuke Fukushima   Yumiko Kawata   Takeshi Kajihara   Yumi Mizuno   Yosuke Mizuno   Tetsuji Kawakami ,Tadaaki Kirita , Tadayoshi Hayata , Masaki Noda , Tetsuya Yoda	4. 巻 31
2. 論文標題 Cyclic stretch induces decorin expression via yes-associated protein in tenocytes: A possible mechanism for hyperplasia in masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 175-179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2018.12.012	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 Yoda T	4. 巻 45
2. 論文標題 Masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia accompanied by limited mouth opening	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 174-179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5125/jkaoms.2019.45.4.174	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 Naoki Hayashi, Tsuyoshi Sato, Shoichiro Kokabu, Michihiko Usui, Megumi Yumoto, Eiji Ikami, Yasushi Sakamoto, Akira Nifuji, Tadayoshi Hayata, Masaki Noda, Tetsuya Yoda	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Possible association of oestrogen and Cryba4 with masticatory muscle tendon-aponeurosis hyperplasia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral Diseases	6. 最初と最後の頁 印刷中
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 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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 湯本愛実 佐藤毅 遠藤真央 林直樹 川田由美子 依田哲也
2. 発表標題 次世代シーケンシング解析による咀嚼筋腱・腱膜過形成症患者 の側頭筋腱に特異的に発現する遺伝子群の同定
3. 学会等名 第31回 日本顎関節学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林直樹、佐藤毅、塘田健人、湯本愛実、北村智久、佐野良恵、坂本一郎、依田哲也
2. 発表標題 咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態解明のための腱細胞への伸展刺激負荷による機能解析
3. 学会等名 第30回 日本顎関節学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林直樹、佐藤毅、湯本愛実、伊神英治、北村智久、大久保正彦、佐野良恵、福島洋介、依田哲也
2. 発表標題 咀嚼筋腱・腱膜過形成症の病態解明のための腱細胞への伸縮刺激負荷による遺伝子解析
3. 学会等名 第29回 日本顎関節学会
4. 発表年 2016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	佐藤 毅  (Sato Tsuyoshi)  (60406494)	埼玉医科大学・医学部・准教授   (32409)	

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