

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293371

研究課題名(和文) 歯髄幹細胞/前駆細胞のサブポピュレーションの解明：分化能・由来・微小環境との関連

研究課題名(英文) Subpopulation of dental pulp stem/progenitor cells: Their implication in the differentiation capacity, origin, and microenvironment

研究代表者

大島 勇人(OHSHIMA, Hayato)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：70251824

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：ドキシサイクリンですべての細胞がGFP陽性を示すTetOP-H2B-GFPマウスを用いて、歯髄中央部血管周囲に加え、象牙芽細胞下層に非対称分裂する長期ラベル細胞LRCsが存在する事実を発見した。さらに、拒絶反応の有無に関わらず歯の他家移植後に静的歯髄幹細胞がアポトーシスを起こすという現象を発見し、マイクロアレイによる網羅的解析と免疫組織化学によりインスリン様成長因子結合タンパク質5が前駆細胞および静的歯髄幹細胞維持に重要な役割を果たすことが推察された。また、静的歯髄幹細胞が転写因子Gli1および受容体Patched1を発現しており、これらの細胞がShhシグナルで維持されていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Long term label-retaining cells (LRCs) were localized in the subodontoblastic layer as well as the perivascular niche in the center of dental pulp, demonstrated by TetOP-H2B-GFP mutant mice that allow doxycycline-inducible, green fluorescent labeling of cells. The disappearance of LRCs was attributed to the extensive apoptosis occurring significantly in LRCs except for the newly-differentiated odontoblast-like cells even in cases without immunological rejection in the process of pulpal healing following allogenic tooth transplantation. Microarray and immunohistochemical analyses demonstrated that insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) 5 is supposed to play an important role in the maintenance of quiescent dental pulp stem/progenitor cells. Furthermore, the co-localization of transcriptional factor Gli1 and receptor Patched1 in the quiescent stem cells suggests that these cells are regulated by sonic hedgehog signaling.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：歯髄 静的幹細胞 前駆細胞 再植・移植 幹細胞ニッチ 長期ラベル細胞 象牙芽細胞様細胞 TetOP-H2B-GFPマウス

1. 研究開始当初の背景

歯髄は高い修復能力をもち、歯が磨り減ったり、う蝕や治療で削られたりすると、歯髄内では局所的に象牙質が形成される。歯の損傷後の歯髄修復に関わる細胞の供給源になるのが歯髄幹細胞 / 前駆細胞であることは疑いのない事実である。これまでの研究では、細胞表面マーカーや色素排除性により歯髄幹細胞が同定され、*in vitro* および *ex vivo* 移植実験により幹細胞の自己増殖・多分化能が検証されてきた。しかしながら、生体 *in vivo* における本来の場所 *in situ* の幹細胞の局在や歯の損傷後の動態は知る事が出来なかった。幹細胞の 85~90% は G0/G1 期 (静的 quiescence な状態) であるので、非対称分裂 (細胞分裂後に幹細胞と一時的増幅細胞に分かれる特性) を利用した BrdU (DNA の構成要素チミジン類似物質) パルス (間欠投与) 追跡実験が静的な幹細胞 (長期ラベル細胞: Label-retaining cells [LRCs]) を同定する有効な方法となる。我々は、幹細胞のこの特徴を利用して歯髄幹細胞を BrdU でラベルする胎生期ラベリング法を確立することに成功し、*in vivo* 歯の損傷モデル動物実験と組合せ、歯髄幹細胞の局在と分化能を明らかにした。すなわち、歯髄幹細胞は歯髄中央部血管周囲に局在し、歯の損傷後に象牙芽細胞に分化するのに対し、骨組織形成には血行性に歯髄に到達する骨髄由来細胞などの他の細胞群が関与する可能性が示唆された。

しかしながら、BrdU を用いた胎生期ラベリング法にはいくつかの問題がある。とりわけ、歯髄 LRCs を生きたまま機能解析することができない事と LRCs の亜集団 (サブポピュレーション) を区別することができない点は大きな問題で、歯髄 LRCs の細胞学的特徴は依然不明のままである。近年、テトラサイクリン系薬剤でヒストン結合 GFP 発現制御 (Tet-ON システム) が可能なノックインマウス (H2B-GFP マウス) が利用できるようになり (米国ジャクソン・ラボラトリー社より供給) 歯髄 LRCs を生きたまま機能解析できるだけでなく、一度の細胞分裂で蛍光強度が半分になることから蛍光強度によりラベル細胞の系譜を追跡することができ、歯髄 LRCs のサブポピュレーションを区別することが可能になった。

2. 研究の目的

(1) テトラサイクリン系薬剤でヒストン結合 GFP 発現制御が可能な TetOP-H2B-GFP マウスならびに BrdU 胎生期ラベリング法を用いた LRCs の成熟歯髄における局在と歯の損傷モデルにおける歯髄 LRCs の動態を解析し、歯髄幹細胞 / 前駆細胞の生体 *in vivo* における局在と維持機構を明らかにする。

(2) 歯の疑似発生過程ならびに歯の損傷後の歯髄修復過程におけるレシピエント・ドナ

ー相互作用を明らかにする。さらに、GFP 骨髄移植マウスを用いた歯冠部の舌下部への移植実験を用いて、歯髄腔内骨組織形成過程における骨髄由来細胞の動態と関与を解析する。

(3) BrdU 胎生期ラベリング法と歯の再植・歯冠部の舌下部への自家・他家移植実験を組合せ、歯髄 LRCs の運命を規定するレシピエント・ドナー相互作用を明らかにする。

3. 研究の方法

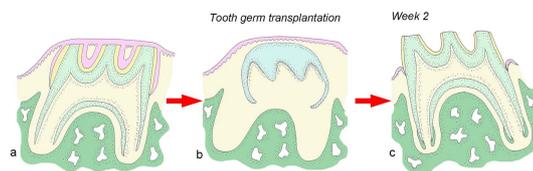
(1) TetOP-H2B-GFP マウスならびに BrdU 胎生期ラベリング法を用いた歯髄 LRCs の局在と歯の損傷モデルにおける歯髄 LRCs の動態の解析

本実験で用いる H2B-GFP マウスは、H2B-GFP 融合タンパク質遺伝子を tetracycline response element を含むプロモーター (TRE) に組み込んだ TRE-H2B-GFP マウスと ROSA26 領域のプロモーターに TRE を活性化する tetracycline transactivator (tTA) を組み込んだ R26<tTA-TRECre>マウスの二つの系統のマウスを交配して得たマウスをジャクソン・ラボラトリー社から購入した。

BrdU ラベリング法でラベルしたマウスに加え、胎生期ラベリング法を H2B-GFP マウスに応用する。E13.5、E15~17 に doxycycline (Dox) を飲料水に加え、H2B-GFP 発現をスイッチオンにし、歯髄 LRCs の系譜を詳細に調べるために、経時的 (P0、P3、P5、P1W、P2W、P3W、P5W) に動物を固定し、パラフィン切片、凍結切片を作製し、歯髄 LRCs の局在・蛍光強度ならびに数の変化を追跡した。象牙芽細胞分化マーカーであるネスチン免疫組織化学も行い、多重蛍光解析を行った。

さらに、正常歯髄ならびに歯の損傷モデルで歯髄 LRCs 維持機構シグナル候補であるソニックヘッジホッグ (Shh) シグナルを検索した。具体的には、Shh シグナルにおける転写因子 Gli1・Shh の受容体 Patched1 (Ptc1) 発現と LRCs の共局在について検索した。

(2) 歯の疑似発生過程ならびに歯の損傷後のレシピエント・ドナー相互作用と GFP 骨髄移植マウスを用いた歯冠部の舌下部への移植後の歯髄における骨髄由来細胞の動態と分化能の解析



Upper 1st molar of 2-week-old mouse

図 1. 歯胚移植の模式図。
2 週齢マウス上顎第 1 臼歯を抜去後、1~2 日齢マウス下顎第 1 臼歯歯胚を抜歯窩に移植する。術後 2 週で歯は萌出する。

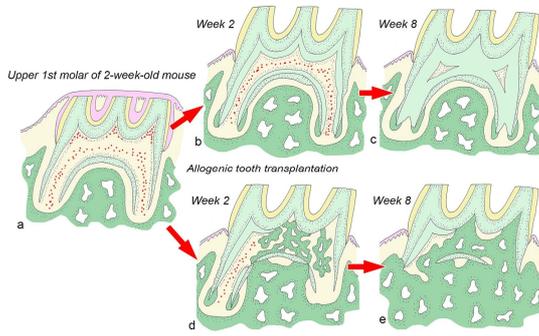


図2. 歯の他家移植の模式図.

2週齢上顎第1臼歯の他家移植後2週では、歯髄幹細胞が維持されると象牙質形成が、歯髄幹細胞が消失すると骨形成が惹起される。しかし、8週後には歯髄から幹細胞が消失し、歯髄は象牙質で閉塞する。

歯の発生過程の疑似モデルとして GFP マウスを用いた歯胚移植実験ならびに歯の損傷後のレシピエント・ドナー相互作用として GFP マウスを用いた歯の移植実験を行った。GFP トランスジェニックマウスまたは野生型マウスの下顎歯胚(1~2日齢)がそれぞれ野生型または GFP トランスジェニックマウスの M1(2週齢)の歯槽窩に移植された(図1)。材料は、歯胚移植後5~21日の間隔で GFP および野生型動物から集められた。標本の脱灰前に、術後14日の移植歯と対照歯間の形態の違いを検索するため、 μ CT 解析が行われた。脱灰後、標本がパラフィンに包埋され、5 μ m 厚の歯の矢状断切片が作製された。パラフィン切片は、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色され、抗 BrdU、抗ネスチン、抗 Ki67、抗 GFP、抗 NG2、抗 VEGF、抗 Gli1、抗 PCNA 免疫組織化学、TUNEL 評価を行い、統計学的に解析した。歯の他家移植実験については、GFP マウスと野生型マウス間で、生後2週に相互に他家移植した(図2)。

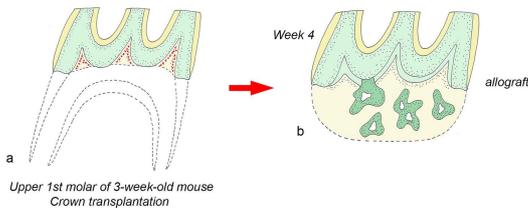


図3. 歯冠部の舌下部他家移植の模式図.

術後4週で歯髄から歯髄幹細胞は消失する。歯髄には象牙質と骨形成が惹起される。

GFP 骨髄移植マウスを用いた歯冠部の舌下部への移植実験で用いる GFP 骨髄移植マウスは岡山大学で作製する。野生型マウスに線量10グレイのX線照射後、尾静脈から GFP マウス骨髄細胞の移植を行い(GFP マウスに野生型マウス骨髄細胞を移植したものをコントロールとする)、細胞移植4週後に新潟大学に移送した。3週齢マウス第一臼歯を抜

去後歯根と髄床底を除去し、歯冠部だけを GFP 骨髄移植マウス舌下部に他家移植した(図3)。移植後2週後には歯髄腔には象牙質に加え、骨組織形成が惹起されるので、GFP 陽性細胞(骨髄由来細胞)の関与を検索した。細胞分化検索について、象牙芽細胞の分化マーカーとしてネスチン、骨芽細胞の分化マーカーおよび基質接着因子としてオステオンチンタンパク質・遺伝子発現を検索した。

(3) 歯髄幹細胞の維持に関わる微小環境の解明：再植・移植実験を用いた LRCs の運命の検索

BrdU による胎生期ラベリング法を用いてマウスの歯の損傷後の歯髄治癒過程における歯髄 LRCs の維持機構について解析した。妊娠 ICR マウスに3日間 BrdU を腹腔内投与し、生後3週齢マウス上顎第一臼歯を抜去後再植、あるいは歯根を切除し歯冠部を舌下部へ自家移植、またラベルマウスと非ラベルマウス間で他家移植する。術後3日から8週後に灌流固定し、EDTA 脱灰後に抗ネスチンおよび抗 BrdU 免疫組織化学および細胞増殖活性、アポトーシスを検索する。自家移植・再植の結果と異なり、他家移植では LRCs が長期間維持されない。幹細胞維持に働く環境因子を特定するために、それぞれの実験系の歯髄を取り出し、マイクロアレイによる網羅的解析を行う。

4. 研究成果

(1) TetOP-H2B-GFP マウスを用いた歯髄 LRCs の局在と維持機構

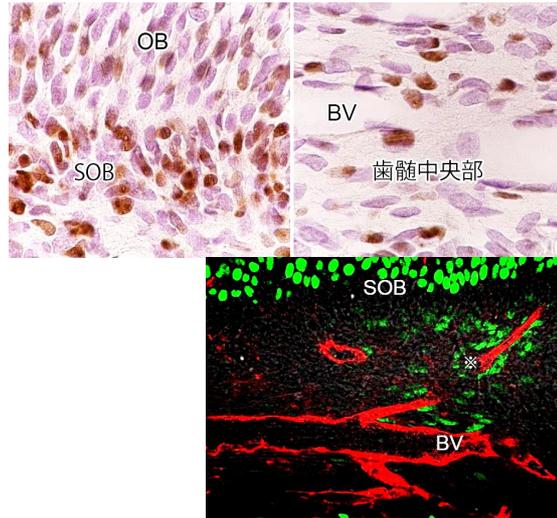


図4. TetOP-H2B-GFP マウス(4週齢)臼歯歯髄における静的幹細胞/前駆細胞の局在(上: GFP 免疫染色)と血管との関係(下: CD31 との二重蛍光像)。

静的幹細胞()は歯髄中央部血管(BV)周囲に局在し、強いラベル細胞が象牙芽細胞下層(SOB)に局在している。OB: 象牙芽細胞

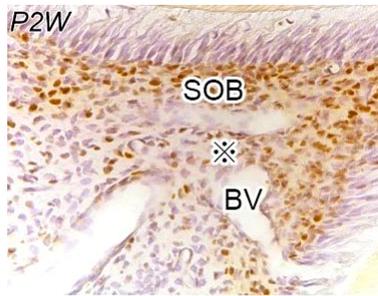


図 5 . マウス (2 週齢) 臼歯歯髄における IGFBP5 の局在 .
歯髄中央部血管 (BV) 周囲に静的幹細胞 (**) が局在し、強いラベル細胞が象牙芽細胞下層 (SOB) に局在する。

Dox ですべての細胞を GFP ラベルした後、細胞分裂回数により細胞ラベルが減弱するノックインマウス (TetOP-H2B-GFP マウス) を用いて解析をした結果、これまでの歯髄中央部血管周囲の細胞に加え、BrdU ではラベルされなかった象牙芽細胞下層に強い蛍光強度をもつ LRCs が存在する事実を発見した (図 4) 。さらに、拒絶反応の有無に関わらず歯の移植後に歯髄静的幹細胞がアポトーシスを起こすという現象を発見し、マイクロアレイによる網羅的解析により前駆細胞または静的幹細胞の存在に関わるインスリン様成長因子結合タンパク質 5 (IGFBP5) を特定した。興味深いことに、IGFBP5 の局在が TetOP-H2B-GFP マウスを用いた LRCs の局在と一致することを発見し、この IGFBP5 が前駆細胞および歯髄静的幹細胞維持に重要な役割を果たすことが推察された (図 5) 。我々は歯髄には前駆細胞と静的幹細胞が存在し、損傷の程度により異なる修復機構が働くという仮説を提唱している。歯髄 LRCs の局在部位と Gli1 タンパク質、ソニックヘッジホッグ Shh 受容体である Ptch1 が歯髄 LRCs とオーバーラップしていた (図 6) 。この結果は、静的 quiescence な歯髄幹細胞 / 前駆細胞が Shh シグナルで維持されていることを示唆している。

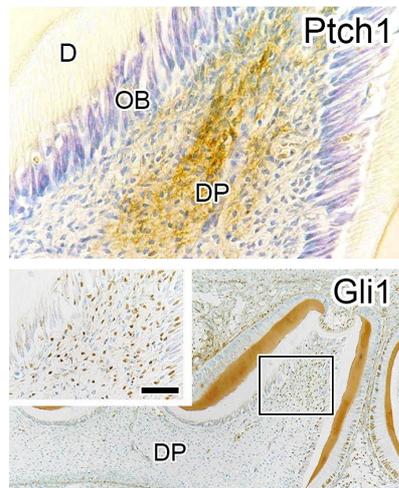


図 6 . マウス (1 週) 臼歯歯髄における Ptch1 と Gli1 発現 .
髄角部歯髄中央部の静的幹細胞局在部位に一致して Ptch1 ならびに Gli1 陽性細胞が局在する。D : 象牙質、DP : 歯髄、OB : 象牙芽細胞

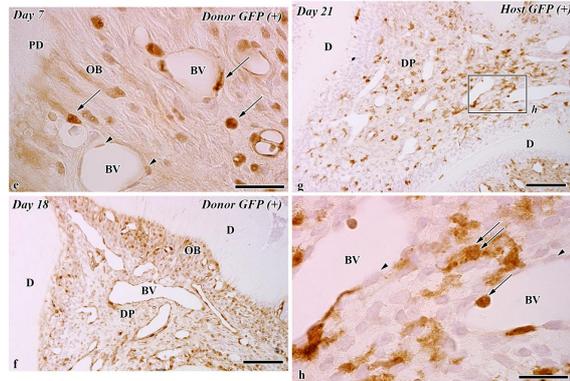


図 7 . マウス歯胚移植後のレシピエント・ドナー相互作用 (雑誌論文 より引用) .
ドナー細胞が象牙芽細胞 (OB) 、内皮細胞、歯髄細胞に貢献しているのに対し、レシピエント由来の樹枝状の細胞、内皮細胞が歯髄内に観察される。BV : 血管、D : 象牙質、PD : 象牙前質

(2) 歯の疑似発生過程ならびに歯の損傷後のレシピエント・ドナー相互作用と GFP 骨髄移植マウスを用いた歯冠部の舌下部への移植後の歯髄における骨髄由来細胞の動態と分化能の解析

ラット、マウスでの萌出歯あるいは萌出直前の未萌出歯の再植 / 移植の場合、歯髄腔に骨組織または象牙質と骨との混合型が現れるが (図 2) 、歯胚移植実験では骨組織の形成は全く起こらなかった。これらの相反する結果は、歯髄細胞の構成の違いおよび / または咬合性外傷の有無に起因するものと推測される。GFP と野生型マウスを用いた他家歯胚移植は、ドナー細胞が象牙芽細胞と血管細胞を含む歯髄細胞に維持されており、宿主由来樹状細胞様細胞や血管内皮細胞もまた術後に歯髄に遊走したことを示した (図 7) 。この所見は、正常の歯の形成過程においてでさえ生後に歯髄細胞集団が変化することを示唆しており、結果として歯髄の分化能力に影響を及ぼしている。したがって、歯胚移植後の宿主細胞の移住によって起こる歯髄細胞集団の生後変化は、萌出臼歯の歯髄が少量の複能性細胞を含むが、一方で未萌出臼歯の歯髄は象牙芽細胞の前駆細胞が豊富であるという事実を説明する。

3 週齢マウス第一臼歯を抜去後歯根と髓床底を除去し、歯冠部だけを GFP 骨髄移植マウス舌下部に他家移植した実験では、移植後 2 週間には歯髄腔には象牙質に加え、骨髄組織が惹起されるが、GFP 陽性細胞 (骨髄由来細胞)

胞)の関与を検索すると、歯の移植後に樹枝状の形態をした骨髄由来細胞が歯髄内に出現することが明らかになった。

(3) 骨髄幹細胞の維持に関わる微小循環の解明：再植・移植実験を用いた LRCs の運命の検索

BrdU による胎生期ラベリング法を用いてマウス臼歯損傷後の歯髄治癒過程における歯髄 LRCs の維持機構について解析した。妊娠 ICR マウスに 3 日間 BrdU を腹腔内投与し、生後 3 週齢マウス上顎第 1 臼歯を抜去後再植、あるいは歯根を切除し歯冠部を舌下部へ自家移植、またはラベルマウスと非ラベルマウス間で他家移植した。術後 3 日から 8 週後に灌流固定し、EDTA 脱灰後に抗ネスチンおよび抗 BrdU 免疫組織化学および細胞増殖活性、アポトーシスを検索した。再植歯及び自家移植歯において、濃く染まる LRCs が実験期間中血管周囲に維持されており、増殖能と象牙芽細胞様細胞または線維芽細胞への分化能を維持していた(図 8)。一方、他家移植歯では、免疫拒絶反応が惹起されていない場合においても術後 4 週までに LRCs が歯髄中心部から消失した。LRCs の消失は、新たに分化した象牙芽細胞様細胞を除いて、LRCs に有意にアポトーシスが起こることに起因していた。以上より、他家移植におけるレシピエント・ドナー相互作用が、幹細胞・前駆細胞と思われる濃く染まる LRCs の維持を阻害し、結果として、これらの細胞が消失することが明らかになった。また、マイクロアレイによる網羅的解析で IGFBP5 が同定されたのは上述の通りである。

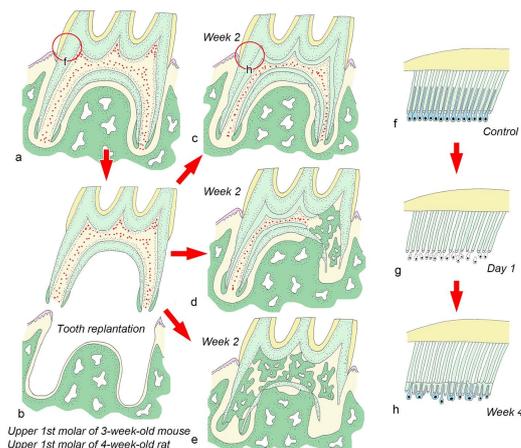


図 8. 3 週齢マウス臼歯の再植後の治癒過程。
歯の再植後は長期間にわたり歯髄幹細胞が維持されるが、消失すると歯髄内に骨形成が惹起される。

結論として、ドキシサイクリンですべての細胞が GFP 陽性を示す TetOP-H2B-GFP マウスを用いて、歯髄中央部血管周囲に加え、象牙芽細胞下層に非対称分裂する長期ラベル細胞 LRCs が存在する事実を発見した。さら

に、拒絶反応の有無に関わらず歯の他家移植後に静的歯髄幹細胞がアポトーシスを起こすという現象を発見し、マイクロアレイによる網羅的解析と免疫組織化学によりインスリン様成長因子結合タンパク質 5 が前駆細胞および静的歯髄幹細胞維持に重要な役割を果たすことが推察された。また、静的歯髄幹細胞が転写因子 Gli1 および受容体 Patched1 を発現しており、これらの細胞が Shh シグナルで維持されていると考えられた。

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 19 件)

Saito K, Nakatomi M, Ida-Yonemochi H, Ohshima H: Osteopontin is essential for type I collagen secretion in reparative dentin. *J Dent Res*. 2016 Apr 28. pii: 0022034516645333 (査読有)。

Morita W, Morimoto N, Ohshima H: Metameric variation in human molars demonstrated by morphometric mapping. *J Anat*. 2016 Apr 21. doi: 10.1111/joa.12482 (査読有)。

Shigetani Y, Ohkura N, Yoshiba K, Ohshima H, Hosoya A, Yoshiba N, Okiji T: GaAlAs laser-induced pulp mineralization involves DMP1 and osteopontin expression. *Oral Dis* 2016 Feb 11. doi: 10.1111/odi.12461 (査読有)。

Ida-Yonemochi H, Otsu K, Ohshima H, Harada H: The glycogen metabolism via Akt signalling is an important for the secretion of enamel matrix in amelogenesis. *Mech Dev* 139:18-30, 2016 (査読有)。

Saito K, Ida-Yonemochi H, Ushiki T, Ohshima H: Responses of pulp vasculature to cavity preparation in rat molars. *J Oral Biosci* 57(3): 157-164, 2015 (査読有)。

Nakatomi C, Nakatomi M, Saito K, Harada H, Ohshima H: Enamel knot-like structure is eternally maintained in the apical bud of postnatal mouse incisors. *Arch Oral Biol* 60(8): 1122-1130, 2015 (査読有)。

Shigetani Y, Yoshiba K, Takei E, Yoshiba N, Yamanaka Y, Ohshima H, Okiji T: Temporospatial localisation of dentine matrix protein 1 following direct pulp capping with calcium hydroxide in rat molars. *Int Endod J* 48(6): 573-581, 2015 (査読有)。

Quispe-Salcedo A, Ida-Yonemochi H, Ohshima H: The effects of enzymatically synthesized glycogen on the pulpal healing process of teeth with intentionally delayed replantation in mice. *J Oral Biosci* 57(2): 124-130, 2015 (査読有)。

Sato T, Kenmotsu S, Nakakura-Ohshima K,

Takahashi N, Ohshima H: Pulpal responses to antimicrobials in the infected dental pulp of rat molars. Arch Histol Cytol 73(4/5): 165-175, 2010/2011 (2015 発行 : 査読有). Nakaki T, Saito K, Ida-Yonemochi H, Nakagawa E, Kenmotsu S, Ohshima H: Contribution of donor and host mesenchyme to the transplanted tooth germs. J Dent Res 94(1): 112-120, 2015 (査読有). Quispe-Salcedo A, Ida-Yonemochi H, Ohshima H: Effects of a triple antibiotic solution on pulpal dynamics following intentionally delayed tooth replantation in mice. J. Endod 40(10): 1566-1572, 2014(査読有). Shigetani Y, Suzuki H, Ohshima H, Yoshiba K, Yoshiba N, Okiji T: Odontoblast response to cavity preparation with Er:YAG laser in rat molars: an immunohistochemical study. Odontology 101(2): 186-192, 2013 (査読有). Nakatomi M, Ida-Yonemochi H, Ohshima H: Lymphoid enhancer-binding factor 1 expression precedes dentin sialophosphoprotein expression during rat odontoblast differentiation and regeneration. J Endod 39(5): 621-62-18, 2013 (査読有). Quispe-Salcedo A, Ida-Yonemochi H, Ohshima H: Use of a triple antibiotic solution affects the healing process of intentionally delayed replanted teeth in mice. J Oral Biosci 55(2): 91-100, 2013(査読有). Ida-Yonemochi H, Nakatomi M, Ohshima H: Establishment of in vitro culture system for evaluating dentin-pulp complex regeneration with special reference to the differentiation capacity of BrdU label-retaining dental pulp cells. Histochem Cell Biol 142(3): 323-333, 2014 (査読有). Morita W, Yano W, Nagaoka T, Abe M, Ohshima H, Nakatsukasa M: Patterns of morphological variation in enamel-dentin junction and outer-enamel surface of human molars. J Anat 224(6): 669-680, 2014(査読有). Saito K, Kenmotsu S, Nakatomi M, Ohshima H: Allogenic tooth transplantation inhibits the maintenance of dental pulp stem/progenitor cells in mice. Cell Tissue Res 356(2): 357-367, 2014 (査読有). Ida-Yonemochi H, Harada H, Ohshima H, Saku T: Reciprocal expressions between α -dystroglycan and integrin β 1, perlecan receptors, in the murine enamel organ development. Gene Expr Patterns 13(8): 293-302, 2013 (査読有). Saito K, Nakatomi M, Ohshima H: Dynamics of BrdU label-retaining dental pulp cells during pulpal healing following

cavity preparation in mice. J Endod 39(10): 1250-1255, 2013 (査読有).

[学会発表] (計4件)

大島 勇人: 歯髄幹細胞の特性解明と再生医学への展開. 口腔医科学会 平成 27 年度 第 19 回学術講演会, 東京大学(東京), 2015 年 10 月 18 日.

Ohshima H: Cell dynamics and stem cell niches in the dental pulp in the regenerative process of dentin-pulp complex. 12th annual meeting of the Korean Basic Dental Science Societies Association, Kyung Hee University (Seoul), Korea, 2013, 11. 28-29.

Ohshima H: Contribution of stem cells niches in the dental pulp to regeneration of dentin-pulp complex. XXIII International Symposium on Morphological Sciences (ISMS) 2013, Toki Messe (Niigata), Japan, 2013. 9. 10-13.

Ohshima H: Recipient-donor interaction affects dental pulp regeneration after exogenous stimuli. The 9th World Endodontic Congress IFEA, Tokyo International Forum (Tokyo), Japan, 2013. 5. 23-26.

[その他]

ホームページ等

<http://www.dent.niigata-u.ac.jp/anatomy1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大島 勇人 (OHSHIMA, Hayato)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号: 70251824

(2) 研究分担者

辻極 秀次 (TSUJIGIWA, Hidetsugu)
岡山理科大学・理学部・教授
研究者番号: 70335628

本田 雅規 (HONDA, Masaki)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号: 70361623

(3) 連携研究者

依田 浩子 (IDA-YONEMOCHI, Hiroko)
新潟大学・医歯学系・准教授
研究者番号: 60293213

中富 満城 (NAKATOMI, Mitsushiro)
九州歯科大学・歯学部・講師
研究者番号: 10571771

(4) 研究者協力者

齋藤 浩太郎 (SAITO, Kotaro)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号: 10733719