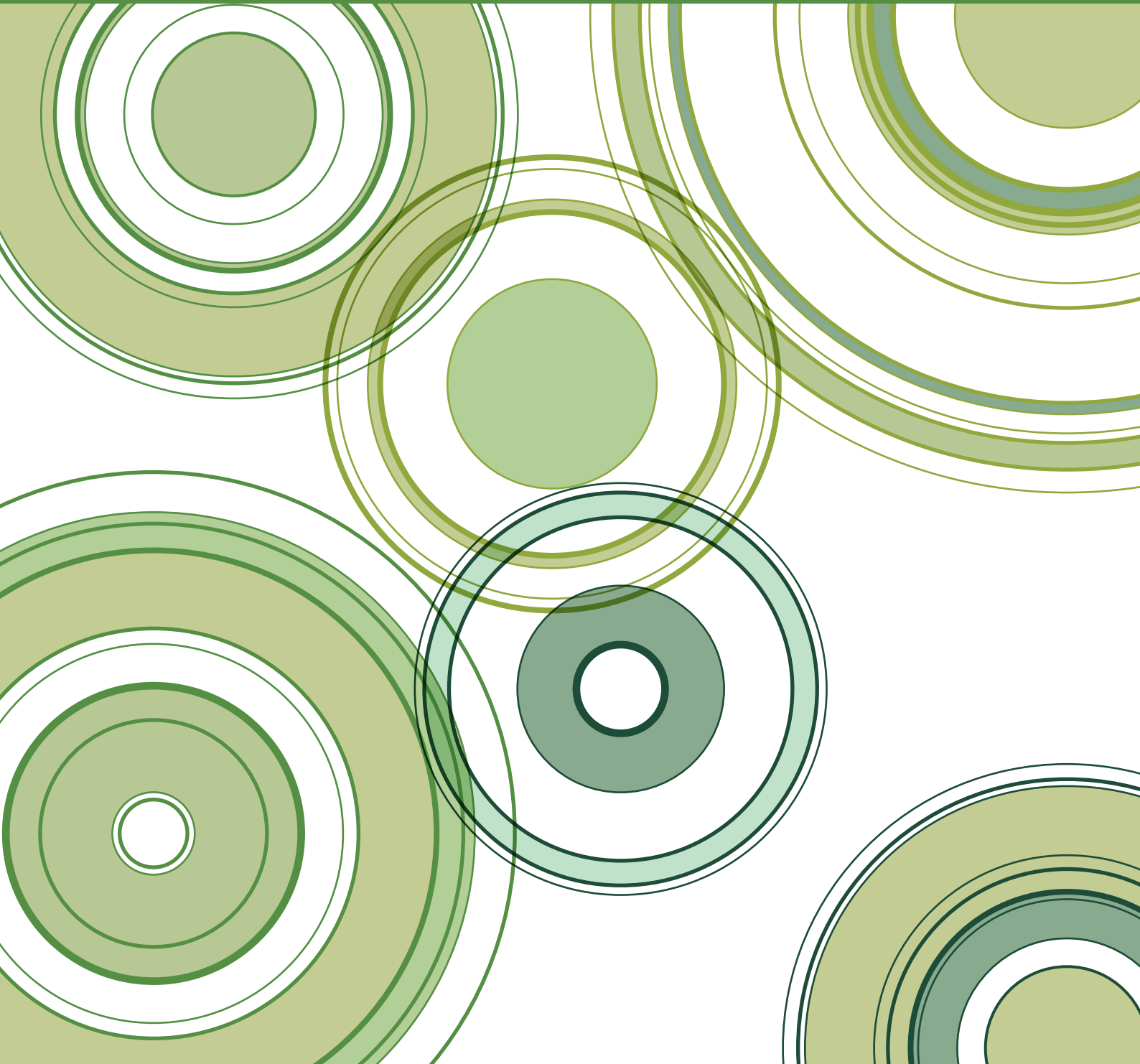


九州齒科學會雜誌

The Journal of The Kyushu Dental Society

Vol.78 | No.1・2 | June 2024

第78卷 第1・2号 令和6年6月 ONLINE ISSN : 1880-8719 PRINT ISSN : 0368-6833



九州齒科学会
Kyushu Dental Society

九州齒会誌
J Kyushu Dent Soc

複写をご希望の方へ

九州歯科学会は、本誌掲載著作物の複写に関する権利を一般社団法人学術著作権協会に委託しております。本誌に掲載された著作物の複写をご希望の方は、(社)学術著作権協会より許諾を受けて下さい。但し、企業等法人による社内利用目的の複写については、当該企業等法人が社団法人日本複写権センター（(社)学術著作権協会が社内利用目的複写に関する権利を再委託している団体）と包括複写許諾契約を締結している場合にあっては、その必要はございません（社外頒布目的の複写については、許諾が必要です）。

権利委託先 一般社団法人学術著作権協会
〒107-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル3F
FAX : 03-3475-5619 E-mail : info@jaacc.jp

複写以外の許諾（著作物の引用、転載、翻訳等）に関しては、(社)学術著作権協会に委託致しておりません。直接、九州歯科学会へお問い合わせください（奥付参照）。

Reprographic Reproduction outside Japan

Making a copy of this publication

Please obtain permission from the following Reproduction Rights Organizations (RROs) to which the copyright holder has consigned the management of the copyright regarding reprographic reproduction.

Obtaining permission to quote, reproduce; translate, etc.

Please contact the copyright holder directly.

→Users in countries and regions where there is a local RRO under bilateral contract with Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

Users in countries and regions of which RROs are listed on the following website are requested to contact the respective RROs directly to obtain permission.

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

Address 9-6-41 Akasaka, Minato-ku, Tokyo 107-0052 Japan

Website <http://www.jaacc.jp/>

E-mail : info@jaacc.jp Fax : +81-33475-5619

九州歯科学会雑誌

第78巻 第1・2号

(令和6年6月)

目 次

原著

歯学部におけるクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの
実践力の差が及ぼす学修効果の違いと主観的評価に影響を与える因子

..... 渡辺 崇文・笠井 信吾・福泉 隆喜 1

短期間低酸素刺激によるヒト歯髄幹細胞K4DTの分化誘導に及ぼす影響

..... 中垣(梶原)優那・折本 愛・郡司掛(米谷)香織
徐 嘉鍵・中富 千尋・臼井 通彦
有吉 渉・豊野 孝・小野堅太郎
川元 龍夫 12

The Journal
of
the Kyushu Dental Society

Vol. 78 No. 1 · 2

Original Work

Influence of differential practical skills and factors affecting subjective evaluations of educational programs on critical thinking and logical writing in the school of dentistry

Takafumi Watanabe, Shingo Kasai, Takaki Fukuizumi 1

The Effects of Short-term Hypoxic on the Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells K4DT

Yuna Kajiwara-Nakagaki, Ai Orimoto, Kaori Kometani-Gunjigake,

Chia-Chien Hsu, Chihiro Nakatomi, Michihiko Usui,

Wataru Ariyoshi, Takashi Toyono, Kentaro Ono,

Tatsuo Kawamoto 12

歯学部におけるクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの 実践力の差が及ぼす学修効果の違いと主観的評価に影響を与える因子

渡辺崇文¹・笠井信吾²・福泉隆喜³

¹九州歯科大学顎口腔欠損再構築学分野

²九州歯科大学歯周病学分野

³九州歯科大学共通基盤教育部門

令和6年1月10日受付

令和6年4月22日受理

Influence of differential practical skills and factors affecting subjective evaluations of
educational programs on critical thinking and logical writing in the school of dentistry

Takafumi Watanabe¹, Shingo Kasai², Takaki Fukuizumi³

¹Division of Occlusion & Maxillofacial Reconstruction,

Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

²Division of Periodontology, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

³Section of primary dental education, Kyushu Dental University

Abstract

Our university's first-year education program teaches students critical thinking and logical writing, aspects necessary for university study and personal growth. Previously, we conducted a survey on the learning effects of a first-year education program. The results suggested that learning effects depend on the "critical thinking test" results before attending the program, such as measures to increase student satisfaction, are needed. It also analyzed the differences in learning effectiveness and subjective evaluation between the top and low-performing groups and the differences in subjective evaluation with teachers. This study conducts a structural covariance analysis of the relationship between factors affecting subjective evaluation of the training content, learning environment, and instructional content, as well as student satisfaction. It identified and clarified the points in instruction and issues regarding instructional policy that should be focused on. Although learning effects were observed between the top-

責任者への連絡先: 渡辺崇文

〒803-8580 福岡県北九州市小倉北区真鶴2-6-1

九州歯科大学顎口腔欠損再構築学分野

TEL: 093-582-1131

FAX: 093-582-1286

Takafumi Watanabe

address: Division of Occlusion & Maxillofacial Reconstruction, Department of Oral

Functions, Kyushu Dental University (2-6-1 Manazuru, Kokurakita-ku Kitakyushu, Fukuoka, 803-8580, JAPAN)

E-mail: r15watanabe@fa.kyu-dent.ac.jp

and bottom-performing groups, some items were rated differently with respect to the subjective evaluation of satisfaction with the training. In addition, students and teachers tended to have low self-evaluations of each other. The instruction should prioritize the improvement of abilities in the “hidden premise.” Improvements in instructional methods include efforts to obtain feedback, eliciting several opinions and devising instructions that allow students to experience the effects of learning. This suggests that strengthening “broad instructional skills with compassion” is crucial.

Key words : First-year experience, critical thinking, logical writing, exploratory factor analysis (EFA), structural equation modeling (SEM)

抄 録

本学の初年次教育では1年次生を対象に、大学での学びおよび人格的な成長に必要な「考える力」と「主張する力」であるクリティカルシンキングおよびロジカルライティングに関する教育を行っている。過去にわれわれは、その学修効果について調査を行った結果、受講前の「批判的思考テスト」の成績の違いによって学修効果に差がある可能性や、学生満足度を向上させる取り組みの必要性が示唆された。そこで本研究は、成績上位群と成績下位群の学修効果や主観的評価の違い、教員との授業評価の違いについての分析に加え、実習内容、学修環境、指導内容に対する主観的評価に影響を及ぼす因子と学生満足度との関連性について調査し、指導で注力すべき点や指導方針についての課題点を明らかにすることを目的とした。その結果、成績上位群と成績下位群ともに受講による一定の学修効果は認められた一方で、実習の満足度に関する主観的評価では評価に差が認められた。また、学生群と教員群の比較では互いに自己評価が低い傾向があることがわかった。指導で優先して注力すべき項目は「隠れた前提」における能力の向上であることがわかった。指導方法の改善点は、互いにフィードバックが得られるような取り組みや平等に多くの意見を引き出すこと、学修効果を実感させるような指導の工夫が挙げられ、「思いやりのある幅広い指導能力」を強化することが特に重要な課題であることが示唆された。

キーワード : 初年次教育, クリティカルシンキング, ロジカルライティング, 探索的因子分析, 共分散構造分析

I. 緒 言

学生が自ら学び考える習慣を身に付け、新しい学びの段階への円滑な移行を学士課程教育の入口において支援することが重要であるといわれている¹⁾。文部科学省の調査報告(令和4年11月)によると、令和2年度において全国の96.8%の大学が初年次教育を導入しているが、「論理的思考や問題発見・解決能力の向上のためのプログラム」を実施している大学は69.8%に留まっている²⁾。なかでも、歯学部新生に対する初年次教育は、全般的なスタディ・スキルを学修するものが多い。本学では、初年次教育におけるスタディ・スキルのなかでも、大学での学びおよび人格的な成長に必要な論理的な思考「考える力」や「主張する力」の向上を図るため、初年次教

育の一環として、1年次生前期にクリティカルシンキングおよびロジカルライティングを学修する正規必修科目「基礎教育セミナー」(以下、セミナーという)を開講している。クリティカルシンキングとは、自分の推論過程を論理的、客観的に吟味する反省的思考で、学問を学ぶため、さらには社会人として必要なスキルや態度として位置づけられる³⁾。また、ロジカルライティングとは自分の意見や主張を、相手にわかりやすく伝えるための文章作成法である⁴⁾。歯学部新生に対するこれらのスキルの学修効果や満足度との関連について検証した報告はほとんど見当たらない。

われわれは過去に、歯学部における初年次教育として実施したセミナーによるクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの学修効果について調査した⁵⁾。

その結果、セミナーの受講によってクリティカルシンキングおよびロジカルライティングのスキルを有意に向上できることが示されたが、受講前の「批判的思考テスト」の成績の違いによって学修効果に差がある可能性や、学生満足度を向上させる取り組みの必要性が示唆された。しかしながら、成績上位者と成績下位者ではクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの学修効果にどのような差があるのかや、学生満足度を向上させるためにはどのような取り組みが必要であるかについては不明である。

そこで本研究では、本学における初年次教育の課題点を明らかにするため、①クリティカルシンキングおよびロジカルライティングの実践力がついた学生とついてない学生の、セミナーの受講による学修効果や主観的評価の違い、②教員と学生の指導における認識の違い、③実習内容、学修環境、指導内容に対する主観的評価に影響を及ぼす因子と学生満足度との関連性の3つについて着目した。なお、項目③の分析には共分散構造分析を用いた。共分散構造分析は質問項目に対する回答のような観測可能なデータ(観測変数)をもとに、直接観測できない抽象的な概念(構成概念)を仮定し、その構成概念や観測変数がどのような関連性を持つかを検討するための統計手法である。その結果は円や四角、矢印を利用したパス図によって表現され、複雑な変数間の関係を示すことができる⁶⁾。これらの分析から、学生の実践力やスキル、主観的評価の傾向を把握し、指導で注力すべき点や指導方針について検討することを本研究の目的とした。

Ⅱ. 方法

1. 調査対象

本研究の調査対象は令和4年度の歯学科1年次生全員(97名)および、指導にあたった教員(12名)とした。除外基準は、学生では過去にセミナーを受講した経験のある者、対面で受講できなかった者、アンケートに欠測値を含む対象者(リストワイズ除去法)とし、教員ではアンケートの分析を行う者、アンケートに欠測値を含む対象者(リストワイズ除去法)とした。最終的に1年次生(87名)、指導にあたった教員(9名)を対象として分析を行った。

2. 調査内容

調査内容はセミナー受講後のクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの実践力、セミナー受講前後のクリティカルシンキングおよびロジカルライティングのスキル、授業アンケートによる授業評価の3つであ

る。ただし、教員は授業アンケートのみ実施した。

1) セミナー受講後のクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの実践力

セミナーの終講時に定期試験に代って実施される確認テストの結果から実践力を評価した。この確認テストは、与えられたテーマといくつかの図表から問題点を抽出し、それに対する根拠に基づいた解決策を考え、論理的に記述させることでクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの実践力を60点満点で評価するものである。点数化に際しては、各項目を4段階(評価0~3)で評価するループリック(表1)を利用した。本ループリックは、セミナーで使用したテキスト「クリティカルシンキング・ロジカルライティング」((株)ベネッセキャリア)⁴⁾における「トライアングルチェック」を改変し作成した。この「トライアングルチェック」はロジカルライティングのスキルを評価する「主張・意見」に関する2項目、「根拠」に関する5項目、「念押し」に関する1項目の合計8項目からなるチェックリストである。このチェックリストに根拠の確かさや矛盾の有無、文章の完成度や量などに関する項目を追加した。さらに応用力が試される項目1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 12はループリックの評価を2倍して6点満点とし、その他の項目4, 6, 8, 10は3点満点として重み付けを行うことで合計60点満点とした。評価に際しては、このループリックを利用して採点担当教員1名で行った。

2) セミナー受講前後のクリティカルシンキングおよびロジカルライティングのスキル

テキストの冒頭と末尾に付属するセルフチェック用の「クリシン度診断」および「トライアングルチェック」を使用してセミナー受講前後のスキルの評価を行った。「クリシン度診断」はクリティカルシンキングにおける3つの項目(「議論を正確に把握する」、「表れていない考えに着目する」、「根拠自体が妥当か確認する」)について、その姿勢と能力を評価するものである。クリティカルシンキングの姿勢においては、1つの項目に対して3つの設問があり、各4段階評価(「1:あてはまらない」~「4:あてはまる」)であるため、12点満点とした。クリティカルシンキングの能力においては、「議論を正確に把握する」、「表れていない考えに着目する」の項目が3段階評価、「根拠自体が妥当か確認する」の項目が4段階評価のため、前者を3点満点、後者を4点満点とした。「トライアングルチェック」では、ロジカルライティングのスキルを評価する全8項目について各1点、8点満点で評価した。

3) 授業アンケート

授業アンケートは2部構成となっており、前半が実習の満足度に関する主観的評価で、後半が実習の振り返りに関する調査内容となっている。

前半の実習の満足度に関する主観的評価では、「実習指導への満足度」に関する先行研究⁷⁻¹⁰⁾のアンケート項目を参考に一部改変して用いた。「実習内容」、「実習班」、「指導内容」、「満足度」に関わる合計25の質問項目について、各尺度とも5件法(「1:全く当てはまらない」～「5:よく当てはまる」)により評価した。ただし、「総合的な満足度」については10段階(「1:不満」～「10:満足」)で評価した。

後半の実習の振り返りに関する調査では、多肢選択式(単一回答法)で実施した。テキストの中で「一番難しかった、もしくは分かりにくかった部分はどこか」については、10個の選択肢のうちから1つを選択、実習中「発言しやすいく感じるときはどんなときか」については5個の選択肢のうちから1つを選択させた。

3. 分析方法

1) 確認テストの結果を用いた層別化とループリックの各評価項目の得点

クリティカルシンキングおよびロジカルライティング

の実践力がついた学生とついていない学生の学修効果や主観的評価の違いを把握するために層別化を行った。われわれが過去に行った研究⁵⁾では、「批判的思考テスト」の得点順位によって、4階級に層別化して分析した結果、上位2階級と下位2階級の学生で、セミナー受講後の得点の増加に異なる傾向が認められた。このことを踏まえて、層別化は確認テスト(60点満点)の結果の中央値を用いて、成績上位群と成績下位群の2階級とした。また、成績上位群と成績下位群のループリックの各評価項目における得点の違いを評価するためにMann-WhitneyのU検定を行い2群間の比較を行った。

2) セミナー受講前後のクリティカルシンキングおよびロジカルライティングのスキル

成績上位群と成績下位群の学修効果を評価するために、セミナー受講前後のクリティカルシンキングの姿勢、クリティカルシンキングの能力、ロジカルライティングの能力の各項目について、それぞれの群でWilcoxonの符号付き順位検定を行い前後比較した。また、各項目における成績上位群と成績下位群のスキルの違いを評価するためにMann-WhitneyのU検定を行い2群間の比較を行った。

3) 成績上位群と成績下位群の授業アンケート結果の比較

表1 確認テストの評価に使用したループリック

評価項目	観点	観点の要点	評価基準			
			0	1	2	3
1	主張・意見や立場をはっきり書いている	問題点(課題)、主張(取り組み)、誰がどのような立場で行うかについて明記されているか	問題点・主張・立場のうち2項目以上書かれていない	問題点・主張・立場のうち1項目が書かれていない	問題点・主張・立場が全て書かれているが曖昧な点がある	問題点・主張・立場が全て明記されている
2	主張・意見はテーマ(問い)に答えている	主張(取り組み)が具体的で現実的であり、問題点(課題)に答える形であるか	主張が問題点に答えていない	主張が問題点に答える形になっているが、具体的でない	主張が問題点に答える形になっているが、現実的でない	主張が具体的で現実的であり、問題点に答える形になっている
3	根拠は主張・意見を支える内容になっている	3つの根拠(キーワード)が主張(取り組み)を支えている内容で、隠れた前提や論理の飛躍がないか	3つのキーワードの全てに隠れた前提・論理の飛躍があり、主張(取り組み)を支えていない	3つのキーワードのうち2つに隠れた前提・論理の飛躍がある	3つのキーワードのうち1つに隠れた前提・論理の飛躍がある	3つのキーワードが全て主張(取り組み)を支えており、隠れた前提や論理の飛躍がない
4	根拠は3つ挙げている	根拠(キーワード)の数が3つあるか	根拠が1つもない	根拠を1つ挙げている	根拠を2つ挙げている	根拠を3つ以上挙げている
5	根拠は重要なものから順に並べている	順番が説得力が高いもの順であるか、一貫性があるか	順番に一貫性がない	順番が逆である	最も重要なものが1つ目に来ているが、2つ目と3つ目が逆である	根拠の順番が重要なもの、説得力が高いもの順である
6	根拠には事実を書いている	それぞれの根拠の内容が意見のみになっているか	根拠のほとんどが意見である	根拠のうち2つに意見が多い	根拠のうち1つに意見が多い	全ての根拠で事実を書いている
7	示している根拠は確からしい	示した資料が根拠(キーワード)を支えるものとして適切か、資料として不十分ならそれに対する考察があるか	示した資料が全て根拠を支えるものとして不適切であり、それに対する考察がない	示した資料のうち2つが不適切であり、それに対する考察がない	示した資料のうち1つが不適切であり、それに対する考察がない	示した資料が全て適切であり、資料として不十分ならそれに対する考察がある
8	根拠同士に矛盾や重なりがないように書いている	3つの根拠(キーワード)同士に矛盾や重なりがあるか	全てのキーワード同士に矛盾や重なりがある	1組のキーワードに矛盾がある	1組のキーワードに重なりがある	全てのキーワード同士に矛盾や重なりがない
9	それぞれの根拠に矛盾がないように書いている	1つの根拠(キーワード)の中で内容に矛盾があるか、キーワード自体は適切か	全ての根拠に矛盾がある、またはキーワードが不適切	2つの根拠の内容に矛盾がある、またはキーワードが不適切	1つの根拠の内容に矛盾がある、またはキーワードが不適切	全ての根拠に矛盾がなく、キーワードが適切
10	最後に主張・意見と一致する念押しをしている	主張と同じ意味の念押しがあるか	念押しがない	念押しがあるが、主張と一致していない	念押しがあるが、主張とやや一致していない	主張・意見と一致する念押しをしている
11	文章の完成度	文章を客観視して違和感はないか 口頭で読み上げて違和感はないか 接続詞・てにをはに違和感はないか	完成度が低い 何度読んでも内容が理解しにくい	違和感がある 複数回読み返すと理解できない	違和感少ない 1度読み返せば理解できる	完成度が高い 内容が理解しやすい
12	文章量	1000字未満は減点	6行以上足りない	4~5行足りない	2~3行足りない	1000字以上

成績上位群と成績下位群の実習の満足度に関する主観的評価の各項目における回答結果について、Mann-WhitneyのU検定を行い比較検討した。

4) 学生群と教員群の授業アンケート結果の比較

学生群と教員群の実習の満足度に関する主観的評価の各項目における回答結果について、Mann-WhitneyのU検定を行い比較検討した。また、実習の振り返りに関する調査の集計では、回答結果が成績上位群、成績下位群、教員群の各群で異なるかどうかについてフィッシャーの正確確率検定により独立性の検定を行った。

5) 主観的評価に影響を及ぼす因子と学生満足度との関連性の検討

学生の授業アンケートによる主観的評価から直接問題点を把握することは、授業改善において有効な手段の一つであるが、個々の学生の意見について網羅的に改善することは難しい。また、満足度のような尺度は複合的なものであるため、注力すべき課題点が把握しにくい。そこで本研究では、経済学や教育心理学などの分野で用いられる探索的因子分析および共分散構造分析を行った¹¹⁾。探索的因子分析を行うことで、主観的評価の背景にある因子を抽象概念化し、指導改善の方向性を見出す。さらに共分散構造分析により、学生満足度に各因子がどの程度の影響関係があるかを明らかにすることで、指導における注力すべき課題点について検討した。具体的には、実習の満足度に関する主観的評価の25項目のうち、直接満足度を評価する4項目(アンケート項目1, 8, 18, 25)を除く21項目の回答に対し、探索的因子分析(最尤法, プロマックス回転)を行い、因子負荷量が0.4以下の項目を除外し、再度因子分析を行って因子を抽出した。得られた因子を構成概念として共分散構造分析を行い、その関連性について検討した。

統計処理はすべての検定においてR (version 4.2.1)¹²⁾, RStudio (version 2022.12.0+353)¹³⁾を使用し、有意水準は5%とした。

4. 倫理的配慮

本研究の調査開始前に、対象者に本研究の主旨を十分に説明し、同意を得た者を対象に実施した。本調査の結果は、匿名化して集計した。匿名化符号と個人識別情報との対応表は研究代表者のみが厳重に管理し、必要な場合の対応表の閲覧は、研究代表者の臨席の場でのみ可能とすることで、個人情報保護に配慮した。

なお、本研究は、九州歯科大学研究倫理委員会の承認(承認番号: 22-11)を得て実施した。

Ⅲ. 結果

1. 確認テストの結果とルーブリックの各評価項目における得点の2群間の比較

学生全体の確認テストの結果は、平均点40.9、標準偏差8.32、中央値42、最高点60、最低点15であった(図1)。層別化では、分析対象の87名の得点の中央値は42点であったため、42点以上を成績上位群(n=45)、42点未満を成績下位群(n=42)として分類した。学年全体のルーブリックの各評価項目における平均得点の結果では、重み付けを行った項目のうち、項目12(文章量)が最も評価が高く(平均値5.22、標準偏差1.74)、項目7(示している根拠は確からしい)、項目9(それぞれの根拠に矛盾がないように書いている)が評価が低かった(それぞれ平均値2.62、標準偏差2.32、平均値2.69、標準偏差2.21)。重み付けを行っていないその他の項目では、項目4(根拠は3つ挙げている)が最も高く(平均値2.78、標準偏差0.55)、項目6(根拠には事実を書いている)、項目10(最後に主張・意見と一致する念押しをしている)が評価が低かった(それぞれ平均値2.26、標準偏差0.87、平均値2.26、標準偏差1.11)(図2)。

ルーブリックの各評価項目における得点の2群間の比較の結果では、項目1(主張・意見や立場をはっきり書いている)、項目2(主張・意見はテーマに答えている)以外の項目において、成績上位群は成績下位群と比較して有意に平均得点が高かった(図3)。

2. セミナー受講前後のクリティカルシンキングおよび

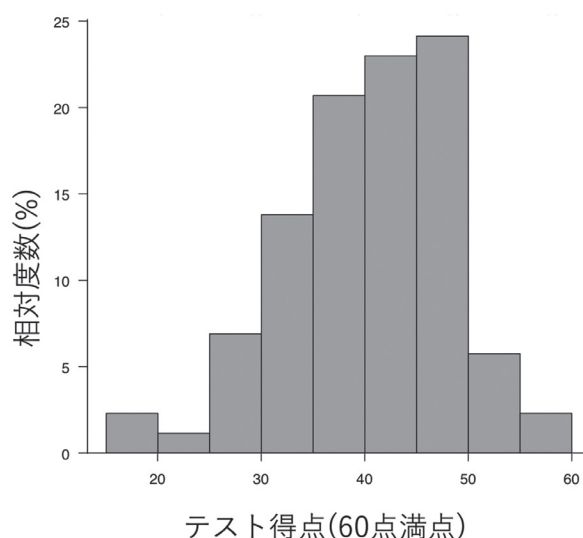


図1 学生全体の確認テストの得点の分布

ロジカルライティングのスキルの変化と成績上位群と成績下位群の2群間のスキルの違い

1) クリティカルシンキングの姿勢

セミナー受講前後のスキルの比較では、成績上位群、成績下位群ともに「議論を正確に把握する」、「表れていない考えに着目する」、「根拠自体が妥当か確認する」のいずれの項目においても、セミナー受講後に中央値が有意に向上した。また、成績上位群と成績下位群の2群間の比較では、セミナー受講後の「表れていない考えに着目する」項目において成績上位群の中央値が有意に高かった(表2)。

2) クリティカルシンキングの能力

セミナー受講前後のスキルの比較では、成績上位群は「議論を正確に把握する」項目において、セミナー受講後に中央値が有意に向上した一方で、成績下位群では有意差が認められなかった。「表れていない考えに着目する」項目においては、成績上位群、成績下位群ともに、セミナー受講前後で有意な変化が認められなかった。「根拠自体が

妥当か確認する」項目においては、成績上位群、成績下位群ともにセミナー受講後に中央値が有意に向上した。また、成績上位群と成績下位群の2群間の比較では、いずれの項目においても有意差は認めなかった(表2)。

3) ロジカルライティングの能力

セミナー受講前後のスキルの比較では、ロジカルライティングの能力において、成績上位群、成績下位群ともにセミナー受講後に中央値が有意に向上した。また、成績上位群と成績下位群の2群間の比較では、いずれの項目においても有意差は認めなかった(表2)。

3. 成績上位群と成績下位群の実習の満足度に関する主観的評価

成績上位群と成績下位群の主観的評価の比較では、アンケート項目6, 14, 19において、成績下位群の方が有意に評価が低かった(表3)。

4. 学生群と教員群の実習の満足度に関する主観的評価、および実習の振り返りに関する調査結果
学生群と教員群の主観的評価の比較では、アンケート

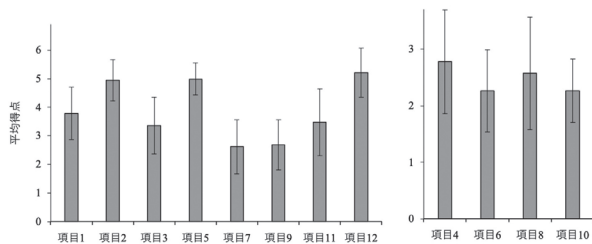


図2 学生全体のルーブリックの各評価項目の平均得点

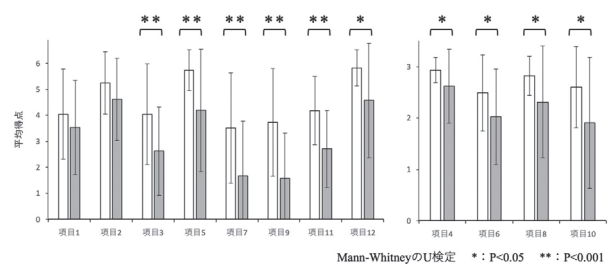


図3 成績上位群と成績下位群のルーブリックの各評価項目の平均得点の比較

表2 セミナー受講前後のスキルの変化、および成績上位群と成績下位群の2群間のスキルの違い

評価領域	設問区分	評価項目	評価時期	成績上位群 (n=45)			成績下位群 (n=42)			p値 上位群と下位群の比較
				中央値	四分位 偏差	p値 受講前後比較	中央値	四分位 偏差	p値 受講前後比較	
クリティカル シンキング	姿勢	議論を正確に把握する (12点満点)	受講前	9	1.5	< 0.001*	9	1	0.003*	0.958
			受講後	11	1.5		10	1		
	表れていない考えに着目する (12点満点)	受講前	8	1.5	< 0.001*	8	1	0.022*	0.607	
		受講後	10	1.5		9	1			0.029**
	根拠自体が妥当かを確認する (12点満点)	受講前	8	1.5	< 0.001*	8	1	< 0.001*	0.234	
		受講後	11	1.5		9.5	1.375			0.091
能力	議論を正確に把握する (3点満点)	受講前	2	0.5	0.046*	2	0.875	0.795	0.257	
		受講後	2	0.5		2	0.5			0.565
	表れていない考えに着目する (3点満点)	受講前	2	1	0.112	2	0.5	0.054	0.824	
		受講後	2	0.5		2	1			0.754
	根拠自体が妥当かを確認する (4点満点)	受講前	2	1	< 0.001*	2.5	0.5	< 0.001*	0.372	
		受講後	3	0.5		4	0.5			0.630
ロジカル ライティング	能力	考えをまとめて文章にする (8点満点)	受講前	7	0.5	< 0.001*	6	0.5	0.001*	0.266
			受講後	7	0.5		7	0.5		

* Wilcoxonの符号付き順位検定

** Mann-WhitneyのU検定

項目3, 4, 8, 9, 18, 19, 20, 21, 22, 24において、教員群の方が有意に評価が低く、アンケート項目12は学生群の方が有意に評価が低かった(表3)。

実習の振り返りに関する調査の集計では、「一番難しかった、もしくは分かりにくかった部分はどこか」の質問では、成績上位群、成績下位群、教員群いずれにおいても「隠れた前提」の回答が最も多く、次いで「根拠をたくさん出す」の回答が多かった。フィッシャーの正確確率検定の結果、3群間に有意差は認められなかった(p = 0.837)。「発言しやすいと感じるときはどんなときか」の質問では、成績上位群、成績下位群ともに「順番に回答を求められたとき」、「多数の意見が出たとき」の回答が多かった。教員の回答では「順番に回答を求められたとき」が最も多く、次いで「少数の意見が出たとき」、「多数の意見が出たとき」、「指名されたとき」の回答が多かった。フィッシャーの正確確率検定の結果、3群間に有意差は認められなかった(p = 0.463)。(図4)。

5. 主観的評価に影響を及ぼす因子と学生満足度との関連性の検討

学生の実習の満足度に関する主観的評価の21項目の回答に対し探索的因子分析を行った結果、解釈可能な2因子7項目が得られた(表4)。そこで、構成概念を以下のように定義した。第1因子の変数はアンケート項目19, 21, 23であることから「思いやりのある幅広い指導能力」とし、第2因子の変数はアンケート項目2, 3,

7, 13であることから「グループワークでの手応え」と定義して構成概念とした。「思いやりのある幅広い指導能力」のクロンバックの α 係数は0.90,「グループワークでの手応え」の因子の α 係数は0.69であり、内的整合性はほぼ満たしていた。「思いやりのある幅広い指導能力」の因子を高く評価すれば、「グループワークでの手応え」も向上するという傾向があると考えられるため、これら2つの構成概念間に影響関係があることを仮定し、総合満足度との関連性を評価した。共分散構造分析を行った結果では、円で囲ったものは構成概念、四角で囲ったものは観測変数として表現され、矢印を受け取る変数は、矢印が出発している変数から影響を受けていることを表し、矢印に付随する係数(絶対値)は影響の強さを示している(図5)。全ての係数(標準化推定値)に関して、5%水準で有意な結果が得られた。適合度指標はCFI=1.00, RMSEA=0.00, SRMR=0.059であり、良好な適合を示した。構成概念である「思いやりのある幅広い指導能力」から「グループワークでの手応え」への係数は0.52であった。また、2つの構成概念から「総合的な満足度」への係数はそれぞれ0.33, 0.40であった。構成概念の「思いやりのある幅広い指導能力」からは観測変数である「納得のいく指導」、「能力に合わせた指導」への係数が大きく(0.97, 0.89)、構成概念の「グループワークでの手応え」からは観測変数である「自身の能力や価値への確信」への係数が比較的大きかった(0.73)。

表3 実習満足度に関する主観的評価の内容と成績上位群と成績下位群の比較、および学生群と教員群の比較

分類	設問領域	アンケート項目	成績上位群 (n=45)		成績下位群 (n=42)		p値	学生群 (n=87)		教員群 (n=9)		p値
			中央値	四分位偏差	中央値	四分位偏差		中央値	四分位偏差	中央値	四分位偏差	
実習内容	1. 実習内容への満足度	実習内容に満足いくものであった	4	0.5	4	0.5	0.242	4	0.5	4	0	0.254
	2. 積極的な実習態度	実習を受ける際、実習態度は積極的であった	4	0.5	4	0.5	0.633	4	0.5	4	0	0.295
	3. テキストの理解しやすさ	テキストの内容は理解するのに適切であった	5	0.5	4	0.5	0.285	4	0.5	4	0.5	0.007 *
	4. 適切な実習の速度	実習の速度(スピード)は内容を理解するのに適切だった	5	0.5	4	0.5	0.086	5	0.5	4	0.5	0.023 *
	5. コミュニケーションシートの有用性	コミュニケーションシートは内容を理解するのに役立った	4	1	4	0.5	0.067	4	1	4	0.5	0.826
	6. クリシス・ロジタイ能力の習得	クリシス・ロジタイ能力が身についた	4	0.5	4	0	0.014 *	4	0.5	4	0	0.425
	7. 自身の能力や価値への確信	実習を通じて自信がいった	4	1	4	0.5	0.107	4	0.5	4	0.5	0.388
実習班	8. 実習班への満足度	実習班に満足であった	5	0.5	5	0.5	0.391	5	0.5	4	0.5	<0.001 *
	9. 班のメンバーと交流	受講前にすでに班のメンバーと交流があった	4	1	4	1	0.720	4	1	2	0.5	<0.001 *
	10. アイスブレイクを通じた交流	アイスブレイクで交流が深まったと感じた	4	0.5	4	0.5	0.517	4	0.5	4	0	0.410
	11. 班の協調性	班に協調性(チームワーク)はあった	5	0.5	4	0.5	0.447	5	0.5	4	0	0.084
	12. 班におけるリーダーシップ	班において自身はリーダーシップを発揮できていた	3	1	3	1	0.392	3	1	4	0.5	0.042 *
	13. ディスカッションしやすい環境・雰囲気	課題中はディスカッションしやすい(発言しやすい)環境・雰囲気であった。	5	0.5	4	0.5	0.270	5	0.5	4	1	0.166
	14. ディスカッションを通じて自分の意見や見解が深まった	ディスカッションを通じて自分の意見や見解が深まった	5	0.5	4	0.5	0.021 *	4	0.5	4	0	0.262
指導内容	15. ディスカッションにおける冷静さ	ディスカッションをして感情的になることがあった	2	1	2	0.5	0.306	2	0.5	2	0.5	0.979
	16. 発言のためらい	自分の意見があったが、発言のためらい、タイミングを逃したことがあった	3	0.5	2	0.5	0.472	2	0.5	3	0	0.116
	17. 周囲との雑談	実習時間中に周囲と雑談(実習内容と直接関係ない話)することがあった	3	1	3	1	0.667	3	1	4	0.5	0.133
	18. 指導者への指導満足度	指導者の指導に満足であった	5	0.5	5	0.5	0.157	5	0.5	3	0.5	<0.001 *
	19. 学生の意思を尊重した指導	指導者は学生の意思を尊重してくれた	5	0	5	0.5	0.010 *	5	0.5	4	0	<0.001 *
	20. 長所を伸ばす指導	指導者は学生に対して肯定的で、学生の長所(良い所)を伸ばす指導であった	5	0	5	0.5	0.093	5	0.5	4	0.5	<0.001 *
	21. 能力に合わせた指導	指導者は、学生の能力に合わせて臨機応変に指導してくれた	5	0.5	5	0.5	0.352	5	0.5	4	0	0.008 *
指導方法	22. 積極的な指導態度	指導者の指導態度は積極的であった	5	0.5	5	0.5	0.698	5	0.5	3	0.5	0.002 *
	23. 納得のいく指導	指導者の実践理論は幅広く、学生にとって納得のいくものであった	5	0.5	5	0.5	0.256	5	0.5	3	0.5	<0.001 *
	24. 短所を修正する指導	学生の短所(改善を要する所)を修正する指導があった	4	1	4	1	0.702	4	1	3	0.5	0.057
	満足度	25. 総合的な満足度	総合的な満足度はどうでしたか	8	1	8	0.5	0.364	8	1	6	0.5

*Mann-WhitneyのU検定

*Mann-WhitneyのU検定

Ⅳ. 考 察

1. 学生の実践力の傾向について

学年全体のループリックの各評価項目における平均得点の結果では、根拠の数や文章の量に関する評価は高かったことから、学生全体の実践力の傾向として与えられた課題の量をこなすことはできると考えられる。一方、根拠の質を問うような項目においては評価が低かったことから、提示する根拠が矛盾なく論証を行うことができるような質の高い根拠であるかを判断する実践力が不足している可能性があることがわかった。成績上位群と成績下位群の比較では、多くの項目で有意差が認められたことから全般的な実践力に大きな差が生じていることが明らかになった。

2. 成績上位群および成績下位群のセミナーの学修効果について

1) クリティカルシンキングの姿勢

クリティカルシンキングの姿勢はいずれの項目においても、成績上位群、成績下位群ともに有意に学修効果が認められたことから、セミナーはクリティカルシンキングの姿勢向上に有効であった。しかし一方で、成績上位群と成績下位群の2群間の比較では、セミナー受講後の「表れていない考えに着目する」姿勢において学修効果に差が認められた。クリティカルシンキングの姿勢とはさまざまな情報や知識に対する探究心のことであり、自らの信念と異なる情報を受け入れるための重要な態度であるといわれている¹⁴⁾。セミナーでは、与えられたテーマに沿って疑問点や着眼点について考え、自らの主張を

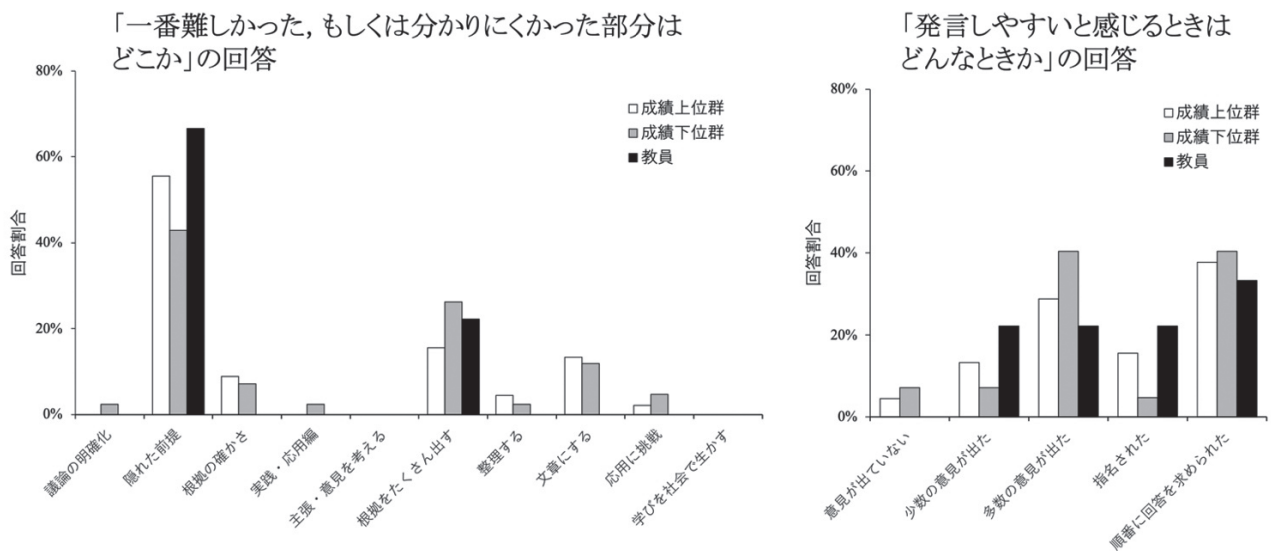


図4 実習の振り返りに関するアンケート調査結果

表4 探索的因子分析の結果

因子分析結果 (最尤法, プロマックス回転)

	第1因子	第2因子
第1因子(α=0.90)		
思いやりのある幅広い指導能力		
19. 学生の意思を尊重した指導	0.90	-0.11
23. 納得のいく指導	0.91	0.07
21. 能力に合わせた指導	0.82	0.07
第2因子(α=0.69)		
グループワークでの手応え		
7. 自身の能力や価値への確信	-0.13	0.91
2. 積極的な実習態度	0.06	0.55
13. ディスカッションしやすい環境・雰囲気	0.03	0.48
3. テキストの理解しやすさ	0.02	0.47
因子間相関	第1因子	第2因子
	-	0.52
	第2因子	-

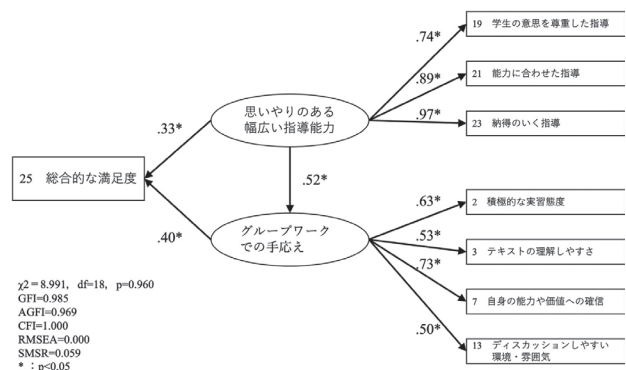


図5 共分散構造分析の結果

発表し、互いに意見交換するようなグループワークをテキストの例題ごとに行う。そのため、意見の異なる相手の主張に対して質問をする機会がすべての学生に多く与えられる。相手がその主張に至った背景について探る質問を考えると、この「表れていない考えに着目する」姿勢が必要となる。教育学部を対象とした初年次教育に関する先行研究では、さまざまな質問にふれる経験を増やすことにより質問する態度や質問を出す力が向上するという結果が示されている^{15,16)}。この結果は他学部のものではあるが、初年次教育として実施されているため本学と履修状況は大きく変わらないものと考えられる。したがって、本セミナーにおいても、互いに質問させるだけでなく、どのような質問をしたか多数の学生同士で共有させるような取り組みを行うことで、グループワークにおける「表れていない考えに着目する」姿勢の学修効果の差を改善していくことができると考えられる。

2) クリティカルシンキングの能力

「議論を正確に把握する」能力では、成績上位群は有意に学修効果が認められたが、成績下位群では有意差が認められずそれぞれ異なる傾向を示したことから、一部の学生に対してセミナーの学修効果が不十分だった可能性がある。ただし、成績上位群と成績下位群のスキルに有意差は認められなかった。議論は単純な形をしたものばかりではなく、複数の根拠をもとに1つの主張がなされたり、主張が根拠となって別の主張が導き出されたりする複雑なものも存在する。それゆえ、議論となる問題点を正確に把握することは、それに続く主張や根拠のずれを防ぎ、矛盾のない論証を行うための重要なステップである。問題・仮説・主題の明確化は、批判的思考の認知的過程の出発点であるとされている¹⁷⁾。このことからクリティカルシンキングの指導においては、はじめに議論となっている問題点は何かということを学生が把握できているかについて確認しながら指導する必要があると考えられる。

「表れていない考えに着目する」能力においては、成績上位群、成績下位群ともに有意な学修効果が認められず、成績上位群と成績下位群のスキルに有意差は認められなかった。また、学年全体の実践力の傾向としてルーブリックの評価項目のうち隠れた前提や論理の飛躍がないことを評価する項目3の得点は比較的低かった。これらのことから、多くの学生に対して、本項目に対するセミナーの学修効果が不十分である可能性が示された。隠れた前提を見抜くためには、背景となる知識や社会、文化、個人の多様性への理解が必要である^{4,18)}。限られた

実習時間では、隠れた前提が存在することに対する気づきや見抜こうとする姿勢は得られても、「表れていない考えに着目する」能力を習得することはやや難しかったものとする。したがって、本項目においてはより丁寧な指導が必要であると考えられる。

「根拠自体が妥当か確認する」能力では、成績上位群、成績下位群ともに有意に学修効果が認められ、成績上位群と成績下位群のスキルに有意差は認められなかった。セミナーで使用したテキストでは、根拠の妥当性を確認するために比較対照群、調査対象数、その他の要因の3つについて問うことを挙げている。これは根拠として提示されている図表から数値や意味を読み解く必要があるが、歯学部受験生の多くが理系科目選択者であることから、習得しやすいスキルであったものと推察される。

これまでに本セミナーと同一のテキストを用いたクリティカルシンキングの能力に関する先行研究がいくつか報告されている。心理学専攻の大学生を対象とした先行研究¹⁹⁾では、「議論を正確に把握する」、「根拠自体が妥当か確認する」能力が有意に向上するという結果において本研究との類似点が認められた。一方、我々の先行研究⁵⁾では、「根拠自体が妥当か確認する」能力が有意に向上することは同様であったが、「議論を正確に把握する」能力には有意差が認められず、「表れていない考えに着目する」能力が有意に向上するという結果が本研究との相違点であった。この相違点の考察として、本セミナーと心理学専攻の大学生を対象とした先行研究の受講期間が前期のみの半期であるのに対して、我々の先行研究でのセミナーの受講期間が前後期の通年であったため、「表れていない考えに着目する」能力の学修効果に受講期間の差が影響した可能性が考えられる。「表れていない考えに着目する」能力を向上させるためには受講期間についても見直す必要があると考えられる。

3) ロジカルライティングの能力

ロジカルライティングの能力では、成績上位群、成績下位群ともに有意に学修効果が認められ、成績上位群と成績下位群のスキルに有意差は認められなかった。テキストでは、論理的な文章を組み立てるための思考ツール「ロジライチャート」を用い³⁾、「主張や意見を考える」、「根拠をたくさん出す」、「整理する」、「文章にする」の4つのステップを段階的に行うことで、文章の骨組みを作成する指導を行う。大学で必要とされる「書く力」を養うためには、論旨の一貫性や文章の構成を意識させるような指導が必要とされる²⁰⁾。頭の中の考えを文章にするプロセスを視覚化できる「ロジライチャート」は多く

の学生に対してロジカルライティングのスキル向上に有効なツールであったと考えられる。

3. 成績上位群と成績下位群の実習の満足度に関する主観的評価の違いについて

成績上位群と比較して、成績下位群の学生はクリティカルシンキングおよびロジカルライティングのスキルの学修効果やディスカッションを通じた自分の意見の深まりを感じにくいことから、より丁寧に指導を進めていく必要がある。また、成績上位群と比較して、成績下位群の学生は指導者が自分の意思を尊重していると感じにくいいため、学生全員に均等に寄り添うように指導する必要があると考えられる。

4. 学生群と教員群の実習の満足度に関する主観的評価、および実習の振り返りに関する違いについて

実習の満足度に関する主観的評価の調査では、学生群と比較して教員群は、自身の指導内容や指導に使用するテキストの理解しやすさ、適切な実習の進捗に関して評価が低かったことから、学生が考えているよりも教員の自己評価が低いことがわかった。また、班におけるリーダーシップは学生群の方が評価が低かったことから、教員が考えているよりも学生の自己評価が低いことがわかった。これらのことから、実習の満足度の向上を図るために、学生と教員の双方に両者のアンケート結果をフィードバックすることが重要である。

実習の振り返りに関する調査では、「一番難しかった、もしくは分かりにくかった部分」は成績上位群、成績下位群、教員群ともに「表れていない考えに着目する」スキルを学ぶ「隠れた前提」の部分だという回答が多く、3群間に有意差は認められなかったことから、セミナーを受講する学生だけでなく、指導する教員も同様に学修しにくい部分だという認識があると考えられる。確認テストにおける同項目の評価平均値が低いことやセミナー前後の学修効果に有意差が認められなかったことも併せて考察すると、セミナーにおける「隠れた前提」の指導は、最も注力すべき項目であることが明らかとなった。「発言しやすいと感じるとき」では成績上位群、成績下位群、教員群ともに「順番に回答を求められたとき」という回答が多く、3群間に有意差は認められなかったことから、教員が学生に発言させるタイミングに問題はなかったものと考えられる。

上記の1～4の考察を小括すると、優先して改善すべき項目は、セミナー受講後における「表れていない考えに着目する」能力の向上であり、セミナー受講後における「議論を正確に把握する」能力や、確認テストにお

ける「根拠自体が妥当か確認する」実践力についても改善すべき点があることがわかった。これらの論理の力を鍛えるためには実技による地道なトレーニングが必要であるといわれている^{21,22)}。そのため、指導内容の改善策としては、個々の学生の学修状況に配慮しながら、より実践的な内容を加えることが有効であると考えられる。また、指導方法の改善策としては、平等に多くの意見を引き出せるように指導者が順番に発言を促し、学生が自ら発言しやすい環境を作り出すことや、個々のスキルに合わせて学修効果を実感させるような工夫をすることが重要である。

本研究の成績上位群と成績下位群の分析では、セミナー終講時に行われる確認テストによって層別化を行った。そのためセミナーによる学修効果のほかに、もともと有しているスキルも確認テストの結果に影響している可能性がある。各群のセミナーの学修効果について正確に分析するためには、セミナー前の実践力を把握することが今後の検討課題である。

5. 実習内容、学修環境、指導内容に対する主観的評価に影響を及ぼす因子と学生満足度との関連性について

探索的因子分析および共分散構造分析の結果、「思いやりのある幅広い指導能力」は、学生の実習満足度に関する主観的評価の21項目の回答のうち、学生にとって「納得のいく指導」であるかや学生の「能力に合わせた指導」であるかの項目に強く影響が表れることがわかった。また、「グループワークでの手応え」は、学生の実習満足度に関する主観的評価の21項目の回答のうち、「自身の能力や価値への確信」や「積極的な実習態度」の項目に強く影響が表れることがわかった。学生の「総合的な満足度」との関連性では、「思いやりのある幅広い指導能力」、「グループワークでの手応え」はそれぞれ「総合的な満足度」に影響を与え、さらに「思いやりのある幅広い指導能力」は「グループワークでの手応え」にも影響を及ぼすという関連性があることがわかった。つまり、「思いやりのある幅広い指導能力」は「総合的な満足度」に対して直接的に影響する上に、「思いやりのある幅広い指導能力」から「グループワークでの手応え」を経由して「総合的な満足度」に影響を及ぼすという間接的な影響も期待できることから、教員の「思いやりのある幅広い指導能力」の向上を図ることは学生の満足度向上に最も有効であることが明らかとなった。大学・短大生の講義や演習の授業評価に関する他の研究では²³⁾、教員の指導における努力が必要になるとともに、学生のスキルの習熟度の向上も学生の授業満足度の評価に

影響を及ぼしているという結果が報告されている。以上のことから具体的な方策としては、学生が納得のいくわかりやすい指導を心がけることや、あらかじめ学生の能力を可視化するアセスメントを利用し、能力に合わせた指導を行うことが挙げられる。さらに、学生の課題として実習の振り返りなどのレポートのみではなく、単元ごとに習熟度を図るような小テストを実施して学生の学修状況を把握しつつ、学生にフィードバックをすることで、学生がスキル向上の手応えを感じるような工夫が必要である。教員はこのような指導能力を高める努力や工夫をすることが今後の課題であることが示唆された。

V. 結論

セミナー受講による学修効果は、成績上位群と成績下位群で共通する点が多く認められた一方で、主観的評価においては評価が異なる項目が認められた。指導方法の改善点は、平等に多くの意見を引き出すことや学修効果を実感させるような指導の工夫が挙げられ、「思いやりのある幅広い指導能力」を強化することが特に重要な課題であることが示唆された。

なお、本論文の一部は、第71回九州地区大学教育研究協議会(令和5年9月9日、大分)において発表した。

VI. 引用文献

- 中央教育審議会：新たな未来を築くための大学教員の質的転換に向けて-生涯学び続け、主体的に考える力を育成する大学へ-，(2012年8月28日)
- 文部科学省高等教育局大学教育・入試課：令和2年度の大学における教育内容等の改革状況について https://www.mext.go.jp/a_menu/koutou/daigaku/04052801/1417336_00009.htm。(最終アクセス日：2023年11月22日)
- 楠見孝，田中優子，平山のみ：批判的思考力を育成する大学初年次教育の実践と評価，認知科学 19：69-82，2012.
- 林創，平山のみ，山本直子：クリティカルシンキング・ロジカルライティング「型」で身につける学びの土台，第8版ed，ベネッセi-キャリア，岡山，2023，30-37.
- 福泉隆喜，鯨吉夫，中原孝洋，深井康成，海寶康臣，吉野賢一：歯学部における初年次教育プログラムによるクリティカルシンキングおよびロジカルライティングの学修効果の検討，九州歯科学会雑誌 72：7-17，2018.
- 豊田秀樹：共分散構造分析[R編] 構造方程式モデリング，東京図書，東京，2014，24-43.
- 関裕也，松本直人，隆島研吾，関貴子：学生が満足する実習指導因子の検討，理学療法学 33：334-337，2006.
- 中村修也，赤倉貴子：授業形態ごとの満足度の要因分析，日本教育工学会論文誌 42：165-168，2018.
- 西田昌彦：基礎物理の授業を受講した学生の達成感とその授業評価・成績との相関・因果関係の分析，工学教育 59：3-10，2011.
- 阿部武彦，田嶋拓也，木村春彦：多変量解析による授業アンケート分析と授業改善に関する考察，工学教育 54：136-140，2006.
- 豊田秀樹：測定・評価と共分散構造モデル，教育心理学年報 36：119-127，1997.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Posit team (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. URL <http://www.posit.co/>.
- 平山のみ，楠見孝：批判的思考態度が結論導出プロセスに及ぼす影響--証拠評価と結論生成課題を用いての検討，教育心理学研究 52：186-198，2004.
- 道田泰司：問いのある教育，琉球大学教育学部紀要 71：105-117，2007.
- 道田泰司：授業においてさまざまな質問経験をすることが質問態度と質問力に及ぼす効果，教育心理学研究 59：193-205，2011.
- 楠見孝：批判的思考の能力と態度の測定. 教育測定 カリキュラム開発講座研究会，第6回研究会，1-18，2005.
- 楠見孝，服部弘，一色伸夫：第84回公開シンポジウム 批判的思考力を身につける・育む，子ども学，75-102，2013.
- 菊島正浩，寺本妙子，柴原宜幸：大学生における批判的思考力と態度の育成を目的とした教育プログラムの実践と評価，日本教育工学会論文誌 41：427-437，2018.
- 安藤葉子：大学で必要とされる「書く力」とは，文化学園大学・文化学園大学短期大学部紀要 49：133-143，2018.
- 野矢茂樹：論理トレーニング101題，産業図書，2001，1-6.
- 野矢茂樹：論理トレーニング，産業図書，1997，1-3.
- 谷口るり子：授業評価アンケートを用いた授業の総合評価に影響する要因の分析，日本教育工学会論文誌 37：145-152，2013.

短期間低酸素刺激によるヒト歯髄幹細胞K4DTの分化誘導に及ぼす影響

中垣(梶原)優那^{1,2}・折本 愛³・郡司掛(米谷)香織¹
徐 嘉 鍵²・中 富 千 尋²・臼 井 通 彦⁴
有 吉 渉⁵・豊 野 孝⁶・小 野 堅 太 郎²
川 元 龍 夫¹

¹九州歯科大学顎口腔機能矯正学分野

²九州歯科大学生理学分野

³九州歯科大学口腔保存治療学分野

⁴九州歯科大学歯周病学分野

⁵九州歯科大学感染分子生物学分野

⁶九州歯科大学ラーニングデザイン教育推進学分野

令和6年3月28日受付

令和6年4月22日受理

The Effects of Short-term Hypoxic on the Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells K4DT

Yuna Kajiwara-Nakagaki^{1,2}, Ai Orimoto³, Kaori Kometani-Gunjigake¹,
Chia-Chien Hsu², Chihiro Nakatomi², Michihiko Usui⁴,
Wataru Ariyoshi⁵, Takashi Toyono⁶, Kentaro Ono²,
Tatsuo Kawamoto¹

¹Division of Orofacial Functions and Orthodontics, Kyushu Dental University

²Division of Physiology, Kyushu Dental University

³Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

⁴Division of Periodontology, Kyushu Dental University

⁵Division of Infections and Molecular Biology, Kyushu Dental University

⁶Division of Promoting learning design for innovative education, Kyushu Dental University

責任者への連絡先: 郡司掛(米谷)香織

〒803-8580 北九州市小倉北区真鶴2-6-1

九州歯科大学顎口腔機能矯正学分野

TEL : 093-582-1131

Kaori Kometani-Gunjigake

Division of Orofacial Functions and Orthodontics, Kyushu Dental University,

Kokurakita-ku, Kitakyushu, Fukuoka, 803-8580, Japan

E-mail : k-kaori@kyu-dent.ac.jp

Abstract

Hypoxic stimulation of dental pulp cells can enhance cell proliferation and increase stemness. However, dental pulp cells obtained from extracted teeth contain both differentiated cells, such as odontoblasts and fibroblasts, and undifferentiated dental pulp stem cells. In this study, we investigated the effects of short-term hypoxic stimulation on immortalized human dental pulp stem cells (K4DT). Hypoxic stimulation was carried out by culturing cells in 3% oxygen for 2, 4, or 6 hours. mRNA expression of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) significantly increased after 2 and 4 hours of hypoxic stimulation, and protein levels were confirmed to be increased by Western blotting. Cell viability of K4DT increased significantly after 4 hours under hypoxic conditions. mRNA expression of vascular endothelial growth factor A, a known target gene of HIF-1 α , significantly increased after 6 hours of hypoxic stimulation; in contrast, mRNA expression of osteogenic markers alkaline phosphatase and collagen I, as well as the adipogenic marker lipoprotein lipase, were decreased. Fluorescence intensities of mesenchymal stem cell markers did not change in flow cytometric analysis. To examine the effects of hypoxic stimulation on differentiated K4DT cells, they were treated with osteogenic differentiation medium for 14 days. Compared with undifferentiated cells, osteogenic-differentiated K4DT cells displayed significantly increased HIF-1 α mRNA expression that was unchanged following induction by hypoxic stimulation. These results suggest that dental pulp stem cells promote angiogenesis under hypoxic stimulation.

Key words : K4DT, short-term hypoxic , HIF-1 α , vascular endothelial growth factor A, angiogenesis

抄 録

歯髄細胞への低酸素刺激は細胞増殖能を高め、幹細胞性が上昇すると報告されている。しかし、抜去歯から採取された歯髄細胞には、象牙芽細胞や線維芽細胞などの分化細胞だけでなく、未分化な歯髄幹細胞も含まれている。本研究では、無限分裂ヒト歯髄幹細胞(K4DT)に対する短期間低酸素刺激による分化・脱分化への影響を検討した。低酸素刺激として、3%酸素、5%二酸化炭素、92%窒素の混合ガス下で2、4、6時間培養した。2、4時間の低酸素刺激により低酸素誘導因子hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α)のmRNA発現は有意に上昇し、ウェスタンブロッティング法にてタンパク質量の増加を確認した。低酸素環境下において、K4DTの細胞生存率は4時間後に有意に上昇していた。HIF-1 α の標的遺伝子として知られる血管内皮細胞増殖因子 vascular endothelial growth factor AのmRNA発現は6時間の低酸素刺激で有意に上昇していたが、骨分化マーカー alkaline phosphataseとcollagen Iおよび脂肪分化マーカー lipoprotein lipaseのmRNA発現は低下していた。フローサイトメトリー解析において、間葉系幹細胞のマーカーの蛍光強度は変化しなかった。低酸素刺激による分化K4DTへの影響を検討するため、K4DTを骨分化培地にて14日間処理した。未分化細胞と比べて、骨分化K4DTは著しくHIF-1 α のmRNA発現が増加し、低酸素刺激によるHIF-1 α のmRNA発現に変化はなかった。これらの結果より、歯髄幹細胞は低酸素刺激により血管新生を促進する可能性が示唆された。

キーワード : K4DT, 短期間低酸素, HIF-1 α , vascular endothelial growth factor A, 血管新生

緒 言

歯科医療において、歯の外傷、う蝕や歯周病による炎症、あるいは矯正治療による根尖部への圧迫などにより

歯髄への血流が減少し、長期間低酸素状態になっていることが予想されている^{1, 2)}。局所麻酔薬であるキシロカインは血管収縮薬アドレナリンが含まれており、血流低下により麻酔効果の増強がなされている。よって、局所

麻酔により歯髄内は短期間低酸素状態になっていると報告されている³⁾。低酸素状態に陥ると、細胞内では低酸素誘導因子Hypoxia-Inducible Factor 1 α (HIF-1 α) が産生され、環境に適応するような生体反応が起こることがよく知られている^{4, 5, 6)}。HIF-1 α は、細胞の低酸素状態への適応を調節する重要な転写因子であり、様々な遺伝子発現を調節して、細胞の代謝調節、生存能力の維持、特に血管上皮成長因子vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現を増加させて血管新生を促進する。血管新生は、歯髄組織への酸素と栄養素の供給を改善する^{7, 8)}。

歯髄細胞は再生医療におけるドナー細胞としても注目を浴びている^{9, 10, 11)}。歯髄内には治癒再生の起点となる歯髄幹細胞を含んでおり、間葉系幹細胞の一つであるとされている¹²⁾。歯髄幹細胞は、ラット歯髄において歯髄中央の血管周囲部に豊富に存在すると報告されている¹³⁾。さらに智歯の抜去や矯正治療での便宜抜歯によって得られた歯髄細胞は、硬組織から摘出されるまで一時的に数時間の低酸素状態となる。

これまでの研究では、ヒト歯髄細胞への48時間低酸素刺激後に HIF-1 α の発現が上昇し、骨芽・象牙芽細胞への分化促進が報告されている¹⁴⁾。さらには、数日間に及ぶ長い低酸素環境下での歯髄細胞の培養により、細胞増殖能の上昇や幹細胞マーカーの発現促進が引き起こされる^{15, 16)}。しかしながら、歯髄細胞は象牙芽細胞や線維芽細胞など多くの分化細胞種の集まりであり、それぞれの細胞において個別の反応は調べられていない。

無限分裂ヒト歯髄幹細胞K4DT(以下K4DT)は、変異型サイクリン依存性キナーゼ4 (CDK4R24C)、サイクリンD (Cyclin D 1)、テロメラーゼ逆転写酵素(TERT)の3種類の遺伝子発現によって細胞の無限分裂を誘導する手法(導入する遺伝子の末尾の文字からK4DT法と呼ぶ)を用いて樹立されたヒト歯髄幹細胞由来の無限分裂細胞である¹⁷⁾。K4DTは、元々のヒト歯髄幹細胞のゲノム安定性と分化能を維持したまま無限に増殖できるため、歯髄研究において非常に有用な性質を有している。そこで、本研究ではK4DTを用いて短期間低酸素刺激(2-6時間)がヒト歯髄幹細胞の分化能に及ぼす影響を遺伝子発現や間葉系幹細胞マーカーの発現変動の解析により検討した。

材料および方法

1. 細胞培養

無限分裂ヒト歯髄幹細胞K4DTの培養は¹⁷⁾、Fetal

Bovine Serum (FBS) (10%)、抗菌薬(1%: ペニシリン-ストレプトマイシン溶液; Wako, Osaka, Japan)を添加した高グルコースDMEM培地(Wako)を使用し、37°C、5% CO₂の加湿下で培養した。培地は3日ごとに交換した。細胞は、コンフルエントになったことを確認して低酸素刺激を与えた。低酸素は、3% O₂、5% CO₂、92% N₂の混合ガスで2, 4, 6時間維持した。

2. 骨分化誘導

骨分化誘導は、FBS(10%)、抗菌薬(1%: ペニシリン-ストレプトマイシン溶液: Wako)を添加したMEM α 培地(Wako)に骨芽細胞分化試薬キット(0.01 μ Mデキサメタゾン、6mM β -グリセロールリン酸、50 μ g/mlアスコルビン酸: Takara Bio Inc, Shiga, Japan)を添加した培地を用いて、キットのプロトコルに従って7-14日間行った。誘導培地は3日ごとに交換した。

3. 細胞生存率測定

Cell-Counting Kit-8 (CCK-8; Dojindo, Kumamoto, Japan)を用いて、細胞生存率の評価を行った。測定には、波長450 nmで相対的な細胞生存率を評価した(Bio-Tek Synergy H1; Winooski, VT, USA)。

4. 定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-qPCR)

細胞は、RNAqueous Total RNA Isolation Kit (Ambion Inc, Austin, TX, USA)を用いて、Total RNAを抽出し、DNase処理(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)し、0.5 μ gのRNAをSuperScript VILO Master Mix (Thermo Fisher Scientific)を用いてcDNAに逆転写した。Power UpTM SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)を使用し、cDNAをQuantStudio3 Real-time PCR system (Thermo Fisher Scientific)で増幅した。定量はGAPDHを内在性コントロールとして、 Δ Ct法および $\Delta\Delta$ Ct法で行った。以下のプライマーを使用した(表1)。

5. ウェスタンブロッティング

サンプルバッファー(Wako)を用いてタンパク質を抽出した。細胞から抽出したタンパク質濃度は、タンパク質アッセイ試薬(Apro Science Group, Osaka, Japan)を用いて測定した。20 μ gのタンパク質を7.5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)により分離した。ゲル上のタンパク質は、Trans-Blot Turbo Transfer System (Bio-Rad)を用いてPVDF膜(Bio-Rad)に転写した。PVDF膜をブロッキング溶液(Bullet Blocking One, Nacalai Tesque, Kyoto, Japan)で7分間ブロッキングした後、

HIF-1 α に対する一次抗体 (1:2000, Cat. No: GTX127309; GeneTex, Irvine, CA, USA) で室温12時間インキュベートした。トリス緩衝生理食塩水 Tween-20 (TBST, 20 mmol/L Tris-HCl (pH7.5), 150 mmol/L NaCl, 0.1 % Tween-20を含む) で5分間3回洗浄した後, 2次抗体としてhorseradish peroxidase標識anti-rabbit IgG (1:25,000 ; Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA) を使用し, 1時間インキュベートした。TBSTで5分間3回洗浄した後, Immobilon Western HRP Substrate (Millipore, Bedford, MA, USA) を用いて化学発光で検出し, 画像はChemiDoc Touch MPイメージングシステム (Bio-Rad) で取得した。取得した画像は, ImageJソフトウェア(バージョン1.53e, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) で定量した。またコントロールとして抗 β -アクチン抗体 (1:5,000, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) を用いてタンパク質バンドの密度を標準化した。

6. フローサイトメトリー

おおよそ 1.0×10^6 個の細胞を, 0.5 % FBSおよび 2 mM EDTA を含む PBS 溶液 45 μ l で懸濁し, その細胞懸濁溶液に FITC 標識された CD44 (Cat. No: 560977), CD73 (Cat. No: 561254), CD90 (Cat. No: 555595), CD105 (Cat. No: 561443), CD34 (Cat. No: 560942), CD45 (Cat. No: 560976) 抗体 5 μ l を加え, 遮光し 4 $^{\circ}$ C

で30分インキュベーションした。コントロールには FITC 標識されたマウス IgG1, κ アイソタイプコントロール抗体を用いた。抗体は全て Becton Dickinson (San Jose, CA, USA) から購入した。検出には CytoFlex フローサイトメトリーシステム (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) を用いて解析した。

7. 統計解析

データは全て平均値 \pm 標準誤差で示した。独立した実験数を n で示した。統計解析は GraphPad Prism 9 ソフトウェア (version 9.3.1 for Windows, 2021, GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA, USA) を使用し, 正規性を確認した上で 2 群間比較に Student's t test および 3 群以上の比較に One-way ANOVA test 後の Dunnett's post hoc test を行った。 $p < 0.05$ を統計学的に有意であるとした。

結果

1. K4DTの低酸素刺激によるHIF-1 α の発現量変化

細胞を 2, 4, 6 時間低酸素刺激したときの HIF-1 α の遺伝子およびタンパク質発現量を測定した。HIF-1 α の mRNA 発現量は, コントロールと比較して 2, 4 時間で有意に高く, 6 時間においても高い傾向を認めた (図 1 A)。また HIF-1 α のタンパク質発現量も, 低酸素 2 時間時点でコントロールと比較して高い傾向を認め, 4, 6 時間で有意に高かった (図 1 B)。

表1 PCR primer

Genes	Forward	Reverse
<i>HIF1-α</i>	5'-TGGAATGGAGCAAAAAGACAA-3'	5'-CAGCTGTGGTAATCCACTTCA-3'
<i>VEGFA</i>	5'-TGCAGACCAAAGAAAGATAGAGC-3'	5'-ACGCTCCAGGACTTATACCG-3'
<i>ALP</i>	5'-ATGCTGAGTGACACAGACAAGAAG-3'	5'-GGTAGTTGTTGTGAGCATAGTCCAC-3'
<i>COL1</i>	5'-TGAAGGGACACAGAGGTTTCA-3'	5'-ACCATCATTTCCACGAGCA-3'
<i>C/EBP</i>	5'-AGCCTTGTTTGTACTGTATG-3'	5'-AAAATGGTGGTTTAGCAGAG-3'
<i>LPL</i>	5'-ACACAGAGGTAGATATTGGAG-3'	5'-CTTTTTCTGAGTCTCTCCTG-3'
<i>CD44</i>	5'-CCTCTTGGCCTTGGCTTTG-3'	5'-CTCCATTGCCAC TGTTGATCAC-3'
<i>CD73</i>	5'-GCCTGGGAGCTTACGATTTTG-3'	5'-TAGTGCCCTGGTACTGGTTCG-3'
<i>CD90</i>	5'-ATGAACCTGGCCATCAGCATCGC-3'	5'-CAGGCTGAACTCGTACTGGA-3'
<i>CD105</i>	5'-GCCAAGGGCAACTGTGTGA-3'	5'-CCGGTTTGGGTATGGGTTACT-3'
<i>CD34</i>	5'-TCAAATGTTTCAGGCATCAGAG-3'	5'-TCAGGTCAGATTGGTGCTT-3'
<i>CD45</i>	5'-ATTACCTGGAATCCCCCTCAA-3'	5'-TTGTGAAATGACACATTCAGC-3'
<i>GAPDH</i>	5'-AGCTCACTGGCATGGCCTTC-3'	5'-ACGCCTGCTTCACCACCTTC-3'

2. K4DTの低酸素刺激による細胞生存率および分化マーカー発現量変化

K4DTにおける低酸素刺激による細胞増殖への影響を調べるために細胞生存率を計測した。コントロール(Normoxia)と比較して4時間低酸素刺激(Hypoxia)において有意に上昇し、6時間においても高い傾向にあった(図2A)。血管新生への影響を調べるために血管内皮細胞増殖因子 vascular endothelial growth factor A (VEGFA)のmRNA発現量を検討したところ、6時間低酸素刺激において有意に増加した(図2B)。

分化への影響を調べるために骨分化マーカー alkaline phosphatase (ALP)とcollagen I (COL1)および脂肪分化マーカー CCAAT-enhancer-binding proteins (C/EBP)とlipoprotein lipase (LPL)の

mRNA発現量の変化を検討した。ALP, COL1およびLPLの mRNA発現は、コントロールと比較して6時間において有意に低下した(図2C, D, F)。C/EBPのmRNA発現は各時点で差は認められなかった(図2E)。

3. K4DTの低酸素刺激による間葉系幹細胞と造血幹細胞マーカーの発現量変化

低酸素刺激によるK4DTにおける幹細胞性の変化を調べるため、低酸素刺激後の間葉系幹細胞マーカー(CD44, CD73, CD90, CD105)および造血幹細胞マーカー(CD34, CD45)の発現量の変化をフローサイトメ

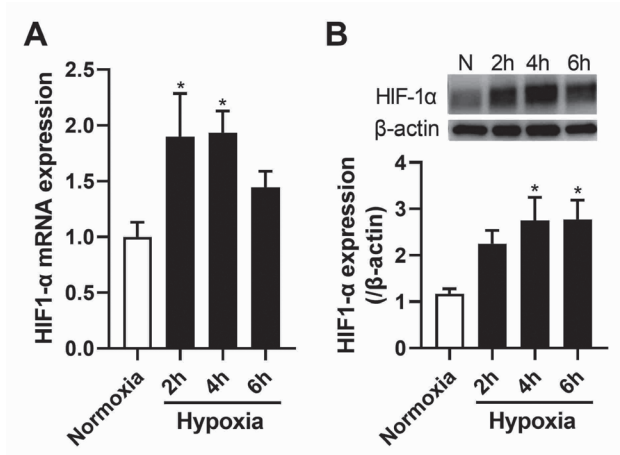


図1 低酸素刺激によるHIF-1α発現量変化
A: 定量性RT-PCR法における通常酸素環境下(Normoxia)と2-6時間低酸素刺激(Hypoxia)によるHIF-1α mRNA発現量(n=5), *: p<0.05, vs. Normoxia.
B: ウェスタンブロッティング法におけるNormoxiaと2-6時間HypoxiaによるHIF-1αタンパク質発現量(n=4), N: Normoxia, *: p<0.05, vs. Normoxia

トリーを用いて検討した。通常酸素培養(Normoxia)および低酸素刺激(2, 4, 6時間Hypoxia)を行ったK4DTの間葉系幹細胞マーカー発現はコントロールのアイソタイプと比べて高く、造血幹細胞マーカーの発現はアイソタイプの蛍光強度と一致した(図3A-D)。また、通常酸素時と比べて低酸素刺激した細胞における間葉系幹細胞マーカーの発現量に変化はなかった(図3E-J)。

4. 骨分化誘導後のK4DTの低酸素刺激による分化影響

骨分化誘導されたK4DTにおける低酸素刺激による影響を調べるため、14日間骨分化誘導したところ骨分化マーカー(ALP, COL1)のmRNA発現量が7日目と14日目に著しく増加した(図4A, B)。これはK4DTの骨分化誘導に成功したことを示している。分化前と比較して分化後(分化誘導14日目)はHIF-1αのmRNA発現量が10倍ほど増加していた(図4C)。次に、分化K4DTに低酸素刺激後(2-6時間)のHIF-1αと間葉系幹細胞マーカーのmRNA発現量の変化を検討した。コントロールと比較して、HIF-1αのmRNA発現量の増加はなく(図4D, 6時間低酸素により発現低下)、間葉系幹細胞マーカー(CD44, CD73, CD90, CD105)のmRNA

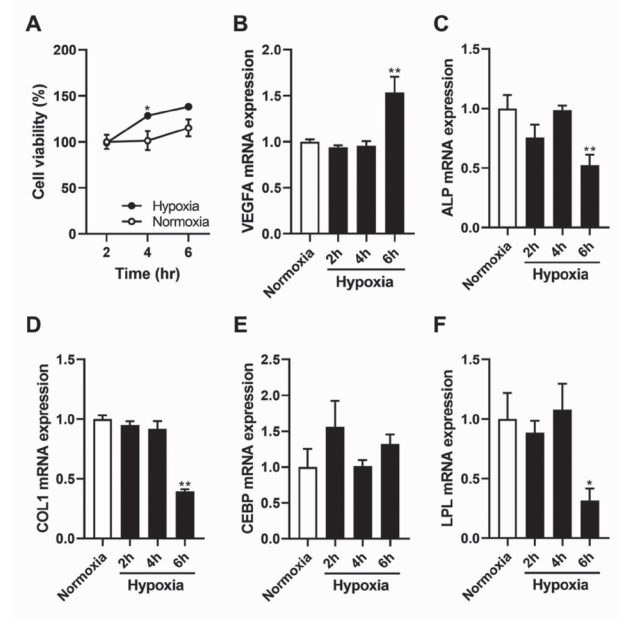


図2 低酸素刺激による細胞生存率および分化マーカー発現量変化
A: 2-5時間低酸素刺激による細胞生存率(n=6), *: p<0.05 vs. Normoxia.
B-F: 定量性RT-PCR法におけるNormoxiaと2-6時間HypoxiaによるVEGFA, ALP, COL1, C/EBP, LPLのmRNA発現量(n=5), *: p<0.05, **: p<0.01 vs. Normoxia.

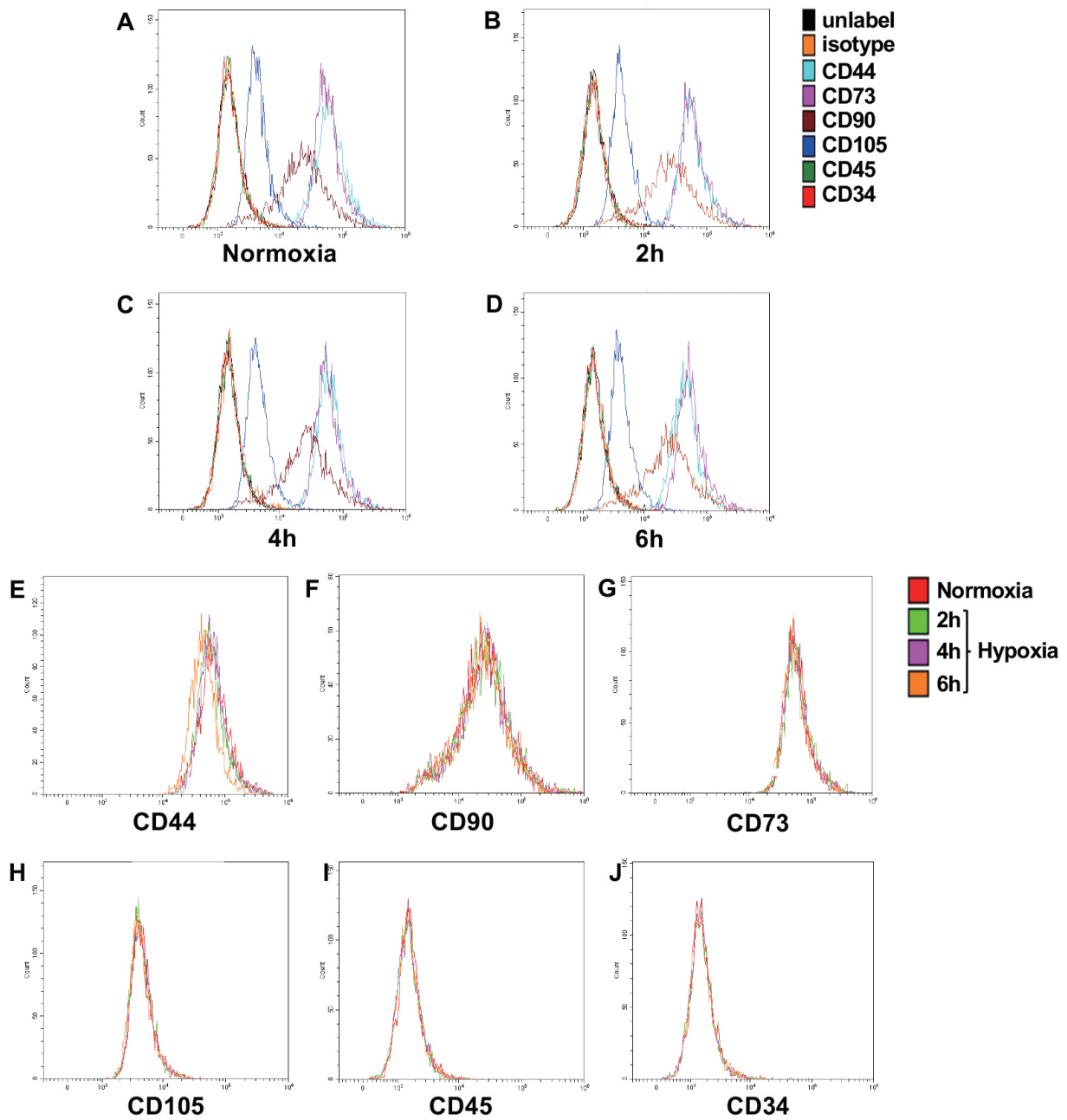


図3 低酸素刺激による間葉系幹細胞および造血幹細胞マーカーの発現量変化

A~D: 通常酸素(Normoxia)と低酸素刺激(Hypoxia) 2-6時間における間葉系幹細胞と造血幹細胞マーカーの発現量. いずれの条件においても, アイソタイプと比べて 間葉系幹細胞マーカー (CD44, CD73, CD90, CD105)の発現は高く, 造血幹細胞マーカー (CD34, CD45)の蛍光強度はアイソタイプと一致した.

E~J: Hypoxia2-6時間における間葉系幹細胞マーカーと造血幹細胞マーカー発現量のNormoxiaとの比較.

発現量にも変化はなかった(図4 E-H).

考 察

本研究では、短時間低酸素刺激による歯髄幹細胞の分化誘導への影響を明らかにした。2時間の低酸素刺激でもHIF-1 α の発現は有意に増加していることから、低酸素応答は長時間必要ではなく急速に引き起こされることが明らかとなった。

低酸素環境4時間において細胞生存率は上昇しており、細胞増殖能の促進が示唆された。血管上皮成長因子VEGFは転写因子HIF-1 α の最も重要な標的遺伝子であり^{7, 8)}、低酸素刺激6時間後にはVEGFAのmRNA発現の有意な上昇が観察された。歯髄幹細胞は歯髄中央部の血管周囲に存在しているということから¹³⁾、歯髄幹細胞からのVEGF分泌による血管新生により迅速な歯髄内酸素供給に対応すると考えられる。一方、骨分化マーカーALPとCOL1と脂肪分化マーカーLPLのmRNAは6時間低酸素刺激後に低下しており、骨・脂肪分化誘導には抑制的に反応した。また、間葉系幹細胞マーカーであるCD44, CD73, CD90, CD105に変化はなかった。

これらの作用は、長期間酸素刺激での歯髄細胞での報告とは異なる傾向を示している¹⁴⁾。

K4DTは無限分裂するように遺伝子組換えされた細胞であり、異種細胞の混入のある採取歯髄細胞をサンプルとした研究よりも、歯髄幹細胞に特異的な研究を可能としている。フローサイトメトリーによる解析では、コントロールアイソタイプと比べて4つの間葉系幹細胞マーカーの蛍光強度は明らかに高く、これはK4DTが間葉系幹細胞としての性質を保持していることを示している。短時間低酸素刺激によってもこの傾向は維持されたため、低酸素刺激により細胞増殖能やVEGF発現が上昇したとしても、間葉系幹細胞としての機能は維持されているといえる。よって、抜歯後の歯髄サンプルの摘出から得られた歯髄幹細胞は再生医療における間葉系幹細胞(ドナー細胞)として十分に機能すると考えられる。一方、骨分化培地で骨様分化させたK4DTは短時間低酸素刺激によって間葉系幹細胞マーカーのmRNA発現に変化がなかったため、象牙芽細胞や線維芽細胞などが脱分化する、もしくは幹細胞性を獲得する可能性は低い。しかしながら、数日間と長期間、低酸素環境下で培養された歯髄細胞では幹細胞マーカーの発現促進が起きることが報告されていることから^{15, 16)}、低酸素環境への安定した歯髄細胞はより再生医療に用いる細胞として適正かもしれない¹⁸⁾。

摘出ヒト歯髄細胞へ48時間低酸素刺激を行った研究では、HIF-1 α 活性化によりWnt/ β -cateninとB-cell CLL/lymphoma9(BCL9)を介して骨芽・象牙芽細胞への分化促進が引き起こされることが報告されている¹⁴⁾。さらに数日間から21日間低酸素環境下で培養した歯髄細胞で石灰化が促進することが報告されている¹⁹⁾。その他にも、ラット骨髄間葉系幹細胞ではHIF-1 α -TWIST経路を介して、マウス胎生線維芽細胞ではHIF-1 α - runt-related transcription factor 2(RUNX2)- Bone morphogenetic protein 9(BMP9)経路を介して、ヒト脂肪由来幹細胞ではHIF-1 α - VEGF-AKT- mammalian Target of Rapamycin(mTOR)経路を介して骨分化誘導が引き起こされることが報告されている²⁰⁻²²⁾。しかしながら本研究では、低酸素刺激6時間後において、K4DTの骨分化マーカー発現は低下した。この結果の違いには、低酸素刺激時間の違いや対象細胞の違いが影響していると考えられる。本研究では低酸素刺激2時間でHIF-1 α の発現上昇がみられたことから、歯髄幹細胞の低酸素環境への第一段階での適応は数時間で完了している可能性が高

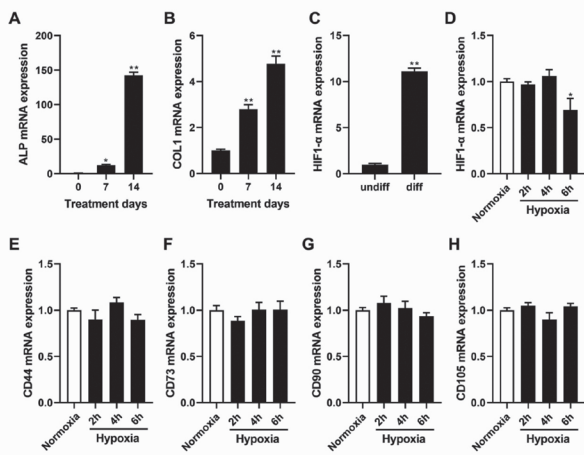


図4 骨分化K4DTにおける低酸素刺激によるHIF-1 α と間葉系幹細胞マーカー mRNA発現量の変化

A, B: 骨分化誘導時における骨分化マーカー (ALPとCOL1) mRNA発現量の変化. (n=5), *: p<0.05, **: p<0.01, vs. 0 day.

C: 未分化K4DTと分化14日後のK4DTにおけるHIF-1 α mRNA発現量の比較. undiff: 未分化, diff: 分化. (n=5), **: p<0.01, vs. undiff.

D-H: 通常酸素(Normoxia)と低酸素刺激(Hypoxia)におけるHIF-1 α と間葉系幹細胞マーカーの発現量. (n=5), *: p<0.05, vs. Normoxia.

い。その後の長時間に渡る低酸素環境の継続は2次的な環境適応のメカニズムが機能したと考えられる。実際、歯の外傷、歯髄炎、歯科矯正動的治療による長期間の低酸素環境が予想される場合においては、生体防御機構として硬組織の再生・リモデリングが期待されるため、骨芽・象牙芽細胞への分化促進が長期間低酸素刺激後に引き起こされることに矛盾はない。逆に、局所麻酔時に予想される歯髄での短時間低酸素環境により硬組織形成が促進されることは理にかなっておらず、歯科臨床的な観点からも短時間低酸素刺激では骨分化・脂肪分化がむしろ抑制される方が合理的である。

K4DTを骨分化培地で培養することにより、骨分化マーカーALPとCOL1は経日的に発現上昇した。しかし、同時にHIF-1 α の発現上昇がみられ(14日目で10倍程度)、未分化K4DTで観察された低酸素刺激によるHIF-1 α のさらなる発現上昇はなかった。造血幹細胞での研究において、HIF-1 α の過剰発現により骨髄移植能が抑制されることが報告されているため²³⁾、骨様分化K4DTでの低酸素刺激による応答が抑制されたと考えられる。

本研究では2-6時間の低酸素刺激を行ったサンプルでの解析を行った。VEGFAのmRNA発現上昇は6時間刺激において観察されたが、2時間刺激で既にHIF-1 α は発現上昇していることから、VEGFA発現に必要な低酸素刺激は2時間で十分であった可能性がある。また、歯髄内で硬組織産生細胞は象牙芽細胞であるが、本研究での骨様分化K4DTを象牙芽細胞とみなすためにはより詳細な検討が必要である。K4DTの線維芽細胞への分化プロトコルはまだ確立していない。これらの問題は今後の課題として将来的に検討する必要がある。

結 論

無限分裂歯髄幹細胞K4DTにおいて、短期間低酸素刺激はHIF-1 α -VEGF経路を活性化させて血管新生を促進し、骨・脂肪への分化誘導は抑制する可能性が示唆された。一方、これまでの長期間低酸素刺激を行った採取歯髄細胞で報告される作用とは異なり、骨様分化後は短期間低酸素刺激により反応しない可能性がある。

謝 辞

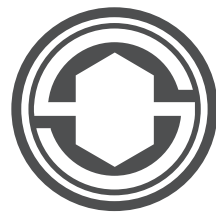
本研究のフローサイトメトリー解析に関する御指導を賜りました北九州市立大学環境生命工学科 望月慎一准教授にも厚く御礼申し上げます。本研究は、JSPS科学研究費22K10253(研究代表者：郡司掛香織)の助成を受

けた。

引用文献

- 1) Römer, P., Wolf, M., Fanghänel, J., Reicheneder, C. and Proff, P.: Cellular response to orthodontically-induced short-term hypoxia in dental pulp cells. *Cell and Tissue Research* 355: 173-180, 2014.
- 2) Hamersky, P., Weimer, A. and Taintor, J.: The effect of orthodontic force application on the pulpal tissue respiration rate in the human premolar. *American Journal of Orthodontics* 77: 368-378, 1980.
- 3) Kim, S.: Ligamental Injection: A physiological explanation of its efficacy. *Journal of Endodontics* 12: 486-481, 1986.
- 4) Maxwell, P., Wiesener, M., Chang, G., Clifford, S., Vaux, E., Cockman, M., Wykoff, C., Pugh, C., Maher, E. R. and Ratcliffe, E.: The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 399: 271-275, 1999.
- 5) Cho, H., Du, X., Rizzi, J., Liberzon, E., Chakraborty, A., Gao, W., Cervo, I., Bruick, R., Josey, J., Wallace, E. and Kaekin, W.: On-target efficacy of a HIF-2 α antagonist in preclinical kidney cancer models. *Nature* 539: 107-111, 2016.
- 6) Werlea, S., Chagastelles, P., Pranke P. and Casagrande, L.: The effects of hypoxia on in vitro culture of dental-derived stem cells. *Archives of Oral Biology* 68: 13-20, 2016.
- 7) Semenza, G.: Regulation of mammalian O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor1. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 15: 551-578, 1999.
- 8) Ohno, H., Shirato, K., Sakurai, T., Ogasawara, J., Sumitani, Y., Sato, S., Imaizumi, K., Ishida, H. and Kizaki, T.: Effect of exercise on HIF-1 and VEGF signaling. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 1: 5-16, 2012.
- 9) Tatullo, M., Marrelli, M., Shakesheff, K. and White, L.: Dental pulp stem cells: function, isolation and applications in regenerative medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 9: 1205-1216, 2015.
- 10) Paino, F., Noce, M., Giuliani, A., Rosa, A., Mazzoni, S., Laino, L., Amler, E., Papaccio, G., Desiderio, V. and Tirino, V.: Human DPSCs fabricate vascularized woven bone tissue: a new tool in bone tissue engineering. *Clinical Science* 8: 699-713, 2017.
- 11) Xuan, K., Li, B., Guo, H., Sun, W., Kou, X., He, X., Zhang, Y., Sun, J., Liu, A., Liao, L., Liu, S., Hu, C., Shi, S. and Jin, Y.: Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. *Science Translational Medicine* 10, eaaf3227, 2018.

- 12) Gronthos, S., Mankani, M., Brahim, J., Robey, P. G. and Shi S.: Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 13625-13630, 2000.
- 13) Ishikawa, Y., Ida-Yonemochi, H., Nakakura-Ohshima, K. and Ohshima, H.: The relationship between cell proliferation and differentiation and mapping of putative dental pulp stem/progenitor cells during mouse molar development by chasing BrdU-labeling. *Cell and Tissue Research* 348: 95-107, 2012.
- 14) Orikasa, S., Kawashima, N., Tazawa, K., Hashimoto, K., Sunada-Nara, K., Noda, S., Fujii, M., Akiyama, T. and Okiji, T.: Hypoxia-inducible factor 1α induces osteo/odontoblast differentiation of human dental pulp stem cells via Wnt/ β -catenin transcriptional cofactor BCL9. *Scientific Reports* 12: 682, 2022.
- 15) Meng, H., Wei, F., Ge, Z., Jin, J., Wang, H., Wang, L. and Wu, C.: Long-term hypoxia inhibits the passage-dependent stemness decrease and senescence increase of human dental pulp stem cells. *Tissue cell* 76: 101819, 2022.
- 16) Ahmed, N., Murakami, M., Kaneko, S. and Nakashima, M.: The effects of hypoxia on the stemness properties of human dental pulp stem cells (DPSCs). *Scientific Reports* 6: 35476, 2016.
- 17) Orimoto, A., Kyakumoto, S., Eitruka, T., Nakagawa, K., Kiyono, T. and Fukuda, T.: Efficient immortalization of human dental pulp stem cells with expression of cell cycle regulators with the intact chromosomal condition. *PLoS ONE* 15: e0229996, 2020.
- 18) Han, Y., Moghadam, M., Chen, Q., Zhang, L., Chopra, H., Zhang, J. and Dissanayaka, W.: HIF- 1α stabilization boosts pulp regeneration by modulating cell metabolism. *Journal of Dental Research* 101: 1214-1226, 2022.
- 19) Li, L., Zhu, Y., Jiang, L., Peng, W. and Ritchie, H.: Hypoxia promotes mineralization of human dental pulp cells. *Journal of Endodontics* 37: 799-802, 2011.
- 20) Liu, Y., Yu, X., Li, J., Yuan, X. and Guo, Q.: HIF- 1α -TWIST pathway restrains cyclic mechanical stretch-induced osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. *Connective Tissue Research* 6: 544-554, 2019.
- 21) Li, Y., Liu, Z., Wang, H., Zhang, J., Lin, M., Yang, J., Huang, J., Yan, W. and Ao, Y.: HIF1 α promotes BMP9-mediated osteoblastic differentiation and vascularization by interacting with CBFA1. *BioMed Research International* 2022: 2475169, 2022.
- 22) Song, S., Zhang, G., Chen, X., Zheng, J., Liu, X., Wang, Y., Chen, Z., Wang, Y., Song, Y. and Zhou, Q.: HIF- 1α increases the osteogenic capacity of ADSCs by coupling angiogenesis and osteogenesis via the HIF- 1α /VEGF/AKT/mTOR signaling pathway. *Journal of Nanobiotechnology* 21: 257, 2023.
- 23) Takubo, K., Goda, N. and Yamada, W., Iriuchishima, H., Ikeda, E., Kubota, Y., Shima, H., Johnson, R., Hirao, A., Suematsu, M. and Suda, T.: Regulation of the HIF- 1α level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 3: 391-402, 2010.



正晃

SEIKO CO.,LTD.

医療・科学の専門商社として
 社是 誠正精(誠意・正義・精力)のもと
 豊かな社会の発展に貢献します。

正晃株式会社 〒813-0062 福岡市東区松島3丁目34番33号 TEL:092-621-8199 FAX:092-611-4415 www.seikonet.co.jp
 正晃グループ 正晃ホールディングス(株) 関東エリア:(株)バイオテック・ラボ 関西エリア:竹内化学(株) 北海道エリア:(株)フロンティア・サイエンス 医療ソフトウェア開発:正晃テック(株) 中国・東南アジア 上海正晃商貿有限公司

的確な情報で研究をバックアップ

最適な研究環境をコンサルティング

ハイレベルな製品の提案

信頼のサポート体制

あらゆる分野における研究機関の環境づくりに
 長年にわたって携わってきた実績から、
 細かなニーズにお応えする提案力が

私たち「新興精機」にはあります。



株式会社 新興精機

〒812-0054 福岡市東区馬出6丁目14番17号

Tel : 092-624-8010 Fax : 092-624-8024

<http://www.shinkouseiki.co.jp>

佐賀営業所 〒849-0937 佐賀市鍋島3丁目9番6号
 北九州営業所 〒807-0872 北九州市八幡西区浅川1丁目18番37号
 熊本営業所 〒862-0950 熊本市中央区水前寺6丁目46-27
 宮崎営業所 〒880-0929 宮崎市まなび町2丁目37番5号
 鹿児島営業所 〒891-0113 鹿児島市東谷山5丁目35番12号
 東京営業所 〒113-0033 東京都文京区本郷2丁目25番5号角地ビル

ケオラ 口腔保湿剤 keora ジェル&ミスト

- ◎ うるおいをたっぷり与える
ジェルでしっかり保湿
- ◎ 口の中で広がり、
さらっとしたつけ心地
- ◎ 適度なミント感と甘み

- ◎ 外出先でも気軽に使用できる
スプレータイプ
- ◎ ワンプッシュで
お口にさっと広がり、
さらっとしたつけ心地
- ◎ ミント感が強く気分転換に



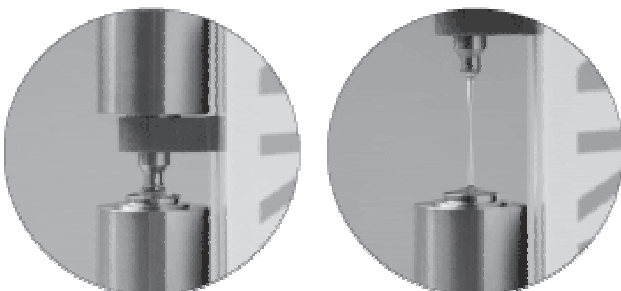
●仕様および外観は、製品改良のため、予告なく変更することがありますので、予めご了承ください。 ●価格は、2022年4月現在のものです。標準価格に消費税は含まれておりません。

【販売元】 株式会社 **ニッシン**
www.nissin-dental.jp
〒621-0001 京都府亀岡市旭町1-10-8

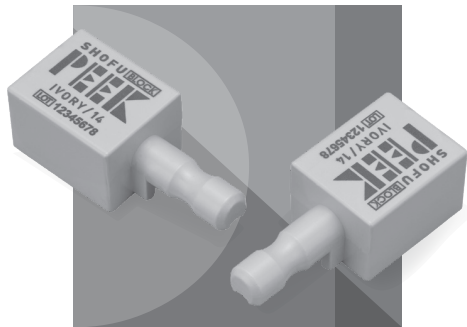
【製造販売元】 株式会社 **ナールスコーポレーション**
京都市南区京大付1-1-102

曳糸性・牽糸性・凝固性測定装置

NEVA METER



新しいCAD/CAM冠



SHOFU BLOCK
PEEK

大白歯

強く、しなやかに

必ずサンドブラスト処理してください。

CAD/CAM冠用材料(V)の保険適用必須要件です。



内面処理 CAD/CAMレジン用
アドヒーズブ (内面処理加算45点)

管理医療機器 認証番号 304AKBZX00039000

※ 保険適用必須要件



セメント塗布 ビューティリンク
SA

管理医療機器 認証番号 304AKBZX00032000

推奨レジンセメント

※ 接着性レジンセメント使用が保険適用必須要件

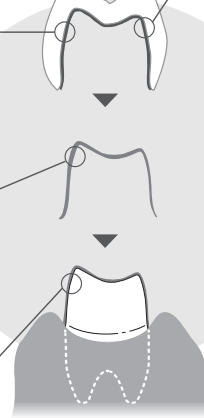


支台歯処理 ビューティボンド
Xtreme

管理医療機器 認証番号 302AKBZX00026000

1液型のボンディング材

※ より高い接着性能を発揮させるためご使用ください。



松風ブロック PEEK (CAD/CAM冠用材料(V))

[サイズ] 1種: サイズ14 [色調] 1色: アイボリー 5個入.....¥28,000

販売名	一般の名称	承認・認証・届出番号
松風ブロック PEEK	歯科切削加工用レジン材料	管理医療機器 医療機器認証番号 303AGBZX00083A01

価格は2024年6月現在の標準医院価格(消費税抜き)です。



世界の歯科医療に貢献する

株式会社 松風

● 本社: 〒605-0983京都市東山区福福上高松町11 お客様サポート窓口(075)778-5482 受付時間8:30~12:00 12:45~17:00(土日祝除く) www.shofu.co.jp
● 支社: 東京(03)3832-4366 ● 営業所: 札幌(011)232-1114/仙台(022)713-9301/名古屋(052)709-7688/京都(075)757-6968/大阪(06)6330-4182/福岡(092)472-7595

医歯薬出版 ● 新刊案内

補綴臨床 別冊

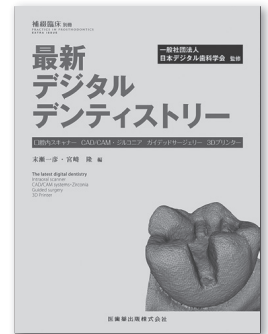
最新 デジタルデンティストリー

口腔内スキャナー, CAD/CAM・ジルコニア, ガイデッドサージェリー, 3D プリンター

末瀬一彦・宮崎 隆 編 / 一般社団法人 日本デジタル歯科学会 監修

CAD/CAM の現状, 口腔内スキャナーの応用, インプラント治療におけるデジタル化など, デジタルデンティストリーの最先端を豊富な症例とともにわかりやすく解説。

■ A4判変型 / 168頁 / カラー ■ 定価(本体6,500円+税) 注文コード: 370640



臨床に役立つ材料選択と接着操作

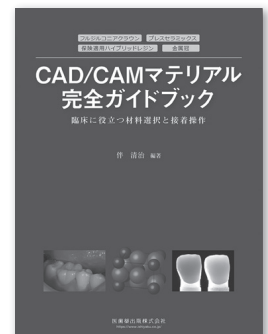
CAD/CAM マテリアル完全ガイドブック

フルジルコニアクラウン プレスセラミックス 保険適用ハイブリッドレジン 金属冠

伴 清治 編著

症例に対応したマテリアルの科学的選択と接着操作を成功に導く
歯科医師, 歯科技工士必携の最強コンサルト!

■ A4判変型 / 96頁 / 2色 ■ 定価(本体4,800円+税) ISBN978-4-263-46420-5



医歯薬出版株式会社

〒113-8612 東京都文京区本駒込1-7-10 TEL03-5395-7630 FAX03-5395-7633

<https://www.ishiyaku.co.jp/>

YOSHIDA



Nextvision

ネクストビジョン



商品詳細はこちら

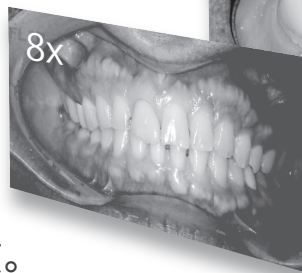
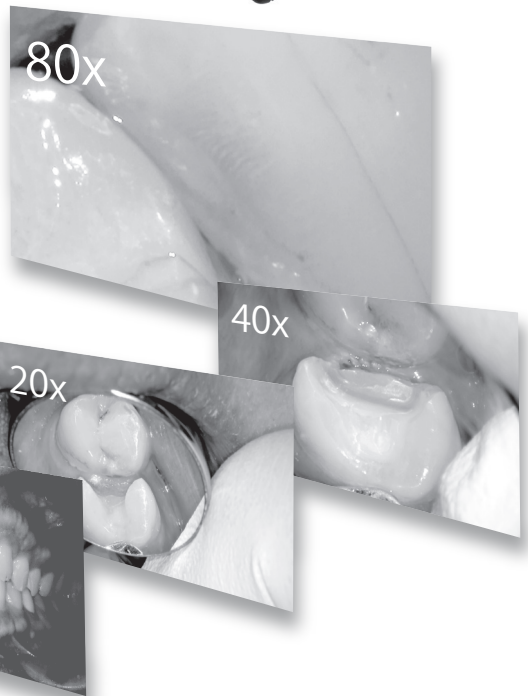


4K
80x

ワンアクションで高画質高倍率の拡大映像
デジタルビジョンシステム

高精細診療をサポート

SRP・形成・修復・インプラント・
根管治療等、幅広い臨床をサポート。
拡大鏡併用も可能です。



最高倍率80倍。

臨床の幅が広がる圧倒的な高画質。

デジタルマイクロスコープ「ネクストビジョン」

保険適用機器 手術用顕微鏡として保険適用可能です。
(施設基準に係わる届出が必要です。)

ネクストビジョンのラインナップが増えました。

フロアスタンド型(キャスタータイプ) / フロアマウント型(床固定タイプ) / ユニットマウント型 **NEW**

全国のヨシダショールームで
体感会実施中!!

新たなマイクロスコープのかたち「ネクストビジョン」を
ぜひ先生ご自身で体感してください。

詳細は最寄りのヨシダ営業所へお問合せ下さい。
新型コロナウイルス対策として、個別・予約制を取らせて頂きます。



販売名：ネクストビジョン

一般的名称：手術用顕微鏡 / 可搬型手術用顕微鏡 / 歯科用口腔内カメラ

届出番号：13B1X00133000079 (一般 特管 設置)

製造販売元：株式会社吉田製作所 東京都墨田区江東橋 1-3-6

編集委員

編集委員長 小野 堅太郎
副編集長 秋房 住郎
編集委員 池田 弘
編集委員 近藤 祐介
編集委員 植原 絵理

九州歯科学会雑誌

第78巻第1・2号

令和6年6月25日発行

発行所 九州歯科学会
〒803-8580 北九州市小倉北区真鶴2-6-1

九州歯科大学内

TEL・FAX 093-571-9555

E-mail: info@kyu-dent-soc.com

URL: <http://kyu-dent-soc.com/>

郵便振替口座 01700-5-32794

発行者 森本 泰宏
編集 M's クリエイト

北九州市門司区社ノ木1-3-17

TEL 093-381-1762

Happy Smiles &

Heartful Communication

健康な歯から、
素敵な笑顔が生まれます

