

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：32650

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19615

研究課題名(和文) RANK発現細胞の新規高感度検出法を用いた破骨細胞前駆細胞の全容解明

研究課題名(英文) Analysis of osteoclast progenitors using a novel high-sensitivity detection method for RANK-expressing cells

研究代表者

溝口 利英 (Mizoguchi, Toshihide)

東京歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：90329475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：破骨細胞前駆細胞はRANKLの受容体RANKを発現する。我々は、GST-RANKLを活用し、生体内における破骨細胞前駆細胞を同定することを目的とした。本研究では、以下のことを見出した。(1)骨髄および血中のRANK陽性細胞は、マクロファージ系およびB細胞として検出された。(2)骨髄中はB220-RANK-CSF-1R+細胞画分、血中ではB220-RANK+CSF-1R+細胞画分に、より多くの破骨細胞分化能が認められた。(3) Nes-GFP陽性LepR-creER-Tom陽性の骨髄間葉系細胞画分中に見出されたクラスターの中に、RANKLおよびM-CSFの発現が高いクラスターを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

破骨細胞前駆細胞の生体内における動態は良くわかっていない。本研究は、破骨前駆細胞の同定を目的としたものであり、破骨細胞前駆細胞の維持および分化調節を基盤とした骨代謝調節機構の解明に繋がることが期待できる。また、破骨細胞は、造血幹細胞からマクロファージ系の細胞を経由して分化するが、その生体内における分化機序は不明である。したがって、本研究の推進は、血液学および免疫学分野にも有用な知見をもたらす可能性を包含する。

研究成果の概要(英文)：The in vivo dynamics of osteoclast precursors are not well understood. Osteoclast precursors express receptor of RANKL (RANK). We tried to identify osteoclast precursors in vivo using GST-RANKL. The following findings were revealed in our study. (1) RANK-positive cells in bone marrow and bloodstream were detected as macrophage lineages and B cells. (2) Osteoclast differentiation was more detected in B220-RANK-CSF-1R+ cells in the bone marrow, and B220-RANK+CSF-1R+ cells in the bloodstream. (3) The clusters found in the Nes-GFP-positive LepR-creER-Tom-positive bone marrow mesenchymal stromal cells included clusters expressing RANKL and M-CSF at high levels.

研究分野：骨代謝

キーワード：破骨細胞 破骨細胞前駆細胞 GST-RANKL RANK M-CSF CSF-1R

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨は吸収と形成を繰り返し、その質と量を正常に保つ。この過程を担う破骨細胞の寿命は短く、僅か2週間であることが報告されている。したがって、前駆細胞による絶え間ない成熟破骨細胞の供給が、正常な骨の維持に大いに寄与する。以上より、生体における破骨細胞前駆細胞の動態の解明は、骨代謝研究における重要な課題の一つと考えられるが、その理解は進んでいない。その理由は、破骨細胞前駆細胞を検出する特異的なマーカーの同定に未だ成功していないことが挙げられる。過去に我々は、破骨細胞の性状を基に解析を進めた結果、生体の破骨細胞前駆細胞は増殖能が低いことを明らかにした (*J Cell Biol*, 2009; *J Bone Miner Res*, 2011)。しかし、生体内の増殖活性が低い細胞画分はヘテロであったため、細胞周期のみを指標にした破骨細胞前駆細胞の特定は困難であり、破骨細胞前駆細胞を同定するための新たな手法が必要であった。

2. 研究の目的

破骨細胞前駆細胞は、破骨細胞分化誘導因子 RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) の受容体 RANK を発現する。本申請研究では、biotin 標識した GST-RANKL を活用し、破骨細胞前駆細胞に発現する RANK を検出する実験系を構築し、生体内における破骨細胞前駆細胞を同定することを目的とした。また、破骨細胞分化を支持する間葉系細胞画分を同定することも目的とした。

3. 研究の方法

(1) RANK 抗体を用いた RANK 陽性細胞のフローサイトメーターによる検出

8週齢の C57BL/6 マウスの骨髄細胞を用いて、抗 RANK 抗体を用いた RANK 陽性細胞の検出系の確立を検討した。Biotin 標識抗 RANK 抗体 (R12-31: BioLegend) を 1 次抗体として用いた。1 次抗体の添加量を、0.01 ug、0.1 ug、1 ug、10 ug とした。その後、APC (allophycocyanin) 標識 Streptavidin を反応させ、フローサイトメーターを用いて RANK 陽性細胞を検出した。一方、ネガティブコントロールとして、Biotin 標識 rat IgG2a kappa (BD Bioscience) を用いた。また、B 細胞における RANK 発現を確認するために、PE (phycoerythrin)/Cyanin7 (Cy7) 標識 B220 抗体 (RA3-6B2: BioLegend) を用いた。

(2) GST-RANKL を用いた RANK 陽性細胞のフローサイトメーターによる検出

(1) と同様の骨髄細胞を用いて、GST-RANKL を用いた RANK 陽性細胞の検出系の確立を検討した。Biotin 標識 GST-ヒト RANKL (GST-RANKL) (オリエンタル酵母) で処理し、APC 標識 Streptavidin を反応させた後にフローサイトメーターを用いて RANK 陽性細胞を検出した。Biotin 標識 GST-RANKL の添加量は、0.1 ug、1 ug とした。一方、ネガティブコントロールとして、Biotin 標識 GST (オリエンタル酵母) を用いた。(1) と同様に、B 細胞における RANK 発現を確認するために、PE/Cy7 標識 B220 抗体を用いた。さらに、Biotin 標識 GST-RANKL により検出した RANK 陽性および陰性細胞をセルソーターを用いて回収し、それぞれの画分における RANK 遺伝子の発現量をリアルタイム PCR にて解析した。また、RANKL のもう一つの受容体として報告されている、*Lgr4* (leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 4) 遺伝子 (*Nat Med* 22:539, 2016) の発現も解析した。

(3) GST-RANKL 及び抗 B220 抗体を用いてゲーティングされる RANK 陽性細胞画分の性状解析

(2) において、GST-RANKL および抗 B220 抗体を用いてゲーティングを行った細胞画分の性状を B 細胞マーカー抗体 (PE 標識抗 CD19 抗体 (6D5: Miltenyi Biotec)) 及びマクロファージマーカー抗体 (FITC 標識抗 F4/80 抗体 (BM8: BioLegend)) を用いて解析した。また、上記のマクロファージ画分については、破骨細胞分化誘導の必須因子である CSF-1 (colony-stimulating factor-1) の受容体 (CSF-1R) の発現を、PE 標識抗 CSF-1R 抗体 (AFS98: Thermo Fisher Scientific)) を用いて解析した。

(4) GST-RANKL、抗 B220 抗体及び抗 CSF-1R 抗体を用いて分取した RANK 陽性細胞画分の破骨細胞分化誘導実験

(3) において、GST-RANKL、抗 B220 抗体及び抗 CSF-1R 抗体を用いて得られたマクロファージ画分をセルソーターを用いて分取した後に、CSF-1 (10 ng/ml: R&D) および GST-RANKL (200 ng/ml: オリエンタル酵母) を用いた *in vitro* 培養系により、破骨細胞分化を誘導した。破骨細胞の検出は、TRAP (tartrate-resistant acid phosphate) 染色により行った。

(5) GST-RANKL、抗 B220 抗体及び抗 CSF-1R 抗体を用いて分取したマウス血中由来 RANK 陽性細胞画分の破骨細胞分化誘導実験

4-23 週齢 C57BL/6 マウスの血液を麻酔下で心臓より採取した。溶血処理後に、骨髄細胞と同様に GST-RANKL、抗 B220 抗体及び抗 CSF-1R 抗体を用いて得られたマクロファージ画分をセルソーターを用いて分取した後に、CSF-1 および GST-RANKL 添加により破骨細胞分化を誘導し、TRAP 染色にて破骨細胞の分化を解析した。

(6) シングルセル解析による破骨細胞分化を担う骨髄間葉系細胞の解析

生体内において、破骨細胞前駆細胞の分化を誘導する骨髄間葉系細胞画分を明らかにするた

めに、1細胞レベルの遺伝子解析を行った。2週齢のネスチン(Nes)-GFP;レプチン受容体(LepR)-creER; flox-tdTomato-flox(Floxed-Tom)マウスに4-OHタモキシフェン(100 mg/kg)を3日間投与し、48時間後に骨髓細胞を回収した。骨髓細胞を血管内皮細胞及び血球系細胞に対するBiotin標識抗体(抗CD31抗体、抗CD144抗体、抗CD45抗体、抗Ter119抗体(BioLegend))で処理した後に、APC標識Streptavidinと反応させ、APC陰性(間葉系細胞)GFP陽性Tom陽性細胞画分をセルソーターを用いて回収した。その後、10x genomicsによるシングル解析を行った。

4. 研究成果

(1)RANK抗体を用いたRANK陽性細胞のフローサイトメーターによる検出

抗RANK抗体および抗B220抗体を用いて、マウス骨髓細胞のFACS解析を行った。骨髓細胞は、B220陽性および陰性画分に分かれた。抗RANK抗体(0.01 ug)の添加により、RANK陽性細胞が、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに0.01%及び0.012%程度認められた。RANK陽性細胞の割合は、抗RANK抗体の添加量の増加に伴い上昇したが、添加量1 ugでも、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに検出される割合は0.028%及び0.032%程度であった。また、抗RANK抗体に対するコントロールIgGを1 ug添加した実験群では、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに0.012%及び0.015%の細胞に非特異的反応が認められた。一方、抗RANK抗体の添加量を10 ugまで増やすと、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに0.11%及び0.36%の陽性細胞が認められたが、同量のコントロールIgG(10 ug)により、非特異的に反応する細胞が0.46%及び0.36%まで上昇した。以上より、マウス骨髓におけるRANK陽性細胞を検出するための市販の抗RANK抗体の最適な添加量は1 ugであるが、検出できるRANK陽性細胞は僅かであることが示された。

(2)GST-RANKLを用いたRANK陽性細胞のフローサイトメーターによる検出

GST-RANKLおよび抗B220抗体を用いて、マウス骨髓細胞のFACS解析を行った。骨髓細胞は、B220陽性および陰性画分に分かれ、GST-RANKL(0.1 ug)の添加により、RANK陽性細胞が、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに1.3%及び3.2%認められた。GST-RANKLの使用は、同容量の抗RANK抗体よりも多くのRANK陽性細胞が検出できた。また、RANK陽性細胞の割合は、GST-RANKLの添加量を1 ugに増加した結果、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに検出される割合は4.0%及び20.8%まで上昇した。一方、ネガティブコントロールのGST(1 ug)の添加では、B220陽性及び陰性画分のそれぞれに検出されたRANK陽性細胞の割合は僅か0.03%及び1.2%であった。さらに、GST-RANKL(1 ug)を用いてRANK陽性および陰性細胞をセルソーターにて回収し、それぞれの画分におけるRANK遺伝子の発現量を調べた。その結果、RANK陽性画分に有意に高いRANK遺伝子の発現が確認できた。一方、Lgr4発現はRANK陽性と陰性画分で有意差が認められなかった。以上より、GST-RANKLの、RANKに対する特異的な結合が明らかになった。

(3)GST-RANKL及び抗B220抗体を用いてゲーティングされるRANK陽性細胞画分の性状解析

GST-RANKLおよび抗B220抗体を用いてフローサイトメーターにより4つの細胞画分(1:B220⁺RANK⁻、2:B220⁺RANK⁺、3:B220⁻RANK⁻、4:B220⁻RANK⁺)にゲーティングした。各細胞画分におけるCD19およびF4/80の発現を調べた結果、上記1と2細胞画分はCD19、そして3と4の画分にはF4/80の高い発現が認められた。以上より、3と4の画分がマクロファージ様細胞集団であることが示された。そこで、3と4の細胞画分におけるCSF-1Rの発現の割合を調べた。その結果、3と4のそれぞれに、4.29%および17.0%のCSF-1R陽性細胞が認められた。

(4) GST-RANKL、抗B220抗体及び抗CSF-1R抗体を用いて分取したRANK陽性細胞画分の破骨細胞分化誘導実験

上記研究成果(3)において、GST-RANKL、抗B220抗体及び抗CSF-1R抗体を用いて得られた細胞画分(1:B220⁻RANK⁻CSF-1R⁺、2:B220⁻RANK⁺CSF-1R⁺)の破骨細胞分化能を*in vitro*培養系にて解析した。その結果、両細胞画分でCSF-1およびRANKL添加の2日後に単核TRAP陽性破骨細胞が出現した。また、両細胞画分におけるTRAP陽性単核破骨細胞数は、培養3日後でさらに上昇したが、細胞画分1は細胞画分2よりも有意に多くのTRAP陽性単核破骨細胞が認められた。

(5) GST-RANKL、抗B220抗体及び抗CSF-1R抗体を用いて分取したマウス血中由来RANK陽性細胞画分の破骨細胞分化誘導実験

上記研究成果(4)のマウス骨髓細胞と同様に、マウス血液細胞をGST-RANKL、抗B220抗体、抗CSF-1R抗体を用いてフローサイトメーターにより得られた2つの細胞画分(1:B220⁻RANK⁻CSF-1R⁺、2:B220⁻RANK⁺CSF-1R⁺)の破骨細胞分化能を*in vitro*培養系にて解析した。その結果、両細胞画分でCSF-1およびRANKL添加によるTRAP陽性破骨細胞の出現が確認された。また、培養5日目におけるTRAP陽性単核破骨細胞数を計測した結果、骨髓細胞とは異なり、細胞画分2に細胞画分1よりも有意に多くのTRAP陽性単核破骨細胞が認められた。

(6)シングルセル解析による破骨細胞分化を担う骨髓間葉系細胞の解析

Nes-GFP; LepR-creER; Floxed-Tomマウスの大腿骨におけるNes-GFP陽性LepR-creER-Tom陽性の骨髓間葉系細胞画分のシングルセル解析を行った。その結果、本細胞画分は遺伝子プロファイルが異なる22個のクラスターに分かれることが明らかになった。検出されたクラスターには、骨芽細胞、骨細胞、血管周皮細胞、細網細胞の他、血球性細胞や血管内皮細胞の混在も確認された。また、本クラスターの中に、RANKLおよびM-CSFの発現が高い細胞クラスターを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Shin Masashi, Mori Shihomi, Mizoguchi Toshihide, Arai Atsushi, Kajiya Hiroshi, Okamoto Fujio, Bartlett John D., Matsushita Masayuki, Udagawa Nobuyuki, Okabe Koji	4. 巻 166
2. 論文標題 Mesenchymal cell TRPM7 expression is required for bone formation via the regulation of chondrogenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116579 ~ 116579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2022.116579	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 Seki Yuri, Takebe Hiroaki, Mizoguchi Toshihide, Nakamura Hiroaki, Iijima Masahiro, Irie Kazuharu, Hosoya Akihiro	4. 巻 166
2. 論文標題 Differentiation ability of Gli1+ cells during orthodontic tooth movement	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116609 ~ 116609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2022.116609	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 Ohyama Sadao, Ouchi Takehito, Kimura Maki, Kurashima Ryuya, Yasumatsu Keiko, Nishida Daisuke, Hitomi Suzuro, Ubaidus Sobhan, Kuroda Hidetaka, Ito Shinichirou, Takano Masayuki, Ono Kentaro, Mizoguchi Toshihide, Katakura Akira, Shibukawa Yoshiyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Piezo1-pannexin-1-P2X3 axis in odontoblasts and neurons mediates sensory transduction in dentinal sensitivity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 891759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.891759	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 Oka Hirotsugu, Ito Shinichirou, Kawakami Mana, Sasaki Hodaka, Abe Shinichi, Matsunaga Satoru, Morita Sumiharu, Noguchi Taku, Kasahara Norio, Tokuyama Akihide, Kasahara Masataka, Katakura Akira, Yajima Yasutomo, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 13
2. 論文標題 Subset of the periodontal ligament expressed leptin receptor contributes to part of hard tissue-forming cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 891759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-30446-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Takashi, Honda Sayako, Ito Shinichirou, Mizoguchi Toshihide, Yamamoto Takehiro, Kasahara Masataka, Kabe Yasuaki, Matsuo Koichi, Suematsu Makoto	4. 巻 41(4)
2. 論文標題 Generation of bicistronic Dmp1-Cre knock-in mice using a self-cleaving 2A peptide	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 470-480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-023-01425-y	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 Ito Shinichirou, Kasahara Norio, Kitamura Kei, Matsunaga Satoru, Mizoguchi Toshihide, Htun Myo Win, Shibata Yasuaki, Abe Shinichi, Takano Masayuki, Yamaguchi Akira	4. 巻 16
2. 論文標題 Pathological differences in the bone healing processes between tooth extraction socket and femoral fracture	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone Reports	6. 最初と最後の頁 101522 ~ 101522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bonr.2022.101522	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 Nagashima Toshimichi, Ninomiya Tadashi, Nakamura Yoshiki, Nishimura Shirabe, Ohashi Akiko, Aoki Junya, Mizoguchi Toshihide, Tonogi Morio, Takahashi Tomihisa	4. 巻 40(3)
2. 論文標題 p53 deficiency promotes bone regeneration by functional regulation of mesenchymal stromal cells and osteoblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 434-447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-022-01314-w	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 Okuyama Kyosuke, Shiwaku Yukari, Hamai Ryo, Mizoguchi Toshihide, Tsuchiya Kaori, Takahashi Tetsu, Suzuki Osamu	4. 巻 142
2. 論文標題 Differentiation of committed osteoblast progenitors by octacalcium phosphate compared to calcium-deficient hydroxyapatite in Lepr-cre/Tomato mouse tibia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 332 ~ 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2022.02.016	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 Hiraga Toru, Ito Susumu, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 19
2. 論文標題 Opposing Effects of Granulocyte Colony-Stimulating Factor on the Initiation and Progression of Breast Cancer Bone Metastases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 2110 ~ 2119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-21-0243	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 Wu Juwell W., Jung Yookyung, Yeh Shu-Chi A., Seo Yongwan, Runnels Judith M., Burns Christian S., Mizoguchi Toshihide, Ito Keisuke, Spencer Joel A., Lin Charles P.	4. 巻 16
2. 論文標題 Intravital fluorescence microscopy with negative contrast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0255204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0255204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mizoguchi Toshihide, Ono Noriaki	4. 巻 36
2. 論文標題 The diverse origin of bone forming osteoblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 1432 ~ 1447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.4410	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 Zhao Lijuan, Ito Shinichirou, Arai Atsushi, Udagawa Nobuyuki, Horibe Kanji, Hara Miroku, Nishida Daisuke, Hosoya Akihiro, Masuko Rinya, Okabe Koji, Shin Masashi, Li Xianqi, Matsuo Koichi, Abe Shinichi, Matsunaga Satoru, Kobayashi Yasuhiro, Kagami Hideaki, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 150
2. 論文標題 Odontoblast death drives cell-rich zone-derived dental tissue regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116010 ~ 116010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2021.116010	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 Nishida Daisuke, Arai Atsushi, Zhao Lijuan, Yang Mengyu, Nakamichi Yuko, Horibe Kanji, Hosoya Akihiro, Kobayashi Yasuhiro, Udagawa Nobuyuki, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 11
2. 論文標題 RANKL/OPG ratio regulates odontoclastogenesis in damaged dental pulp	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84354-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawakami Mana, Yasuda Hisataka, Nishida Daisuke, Katakura Akira, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 63
2. 論文標題 Development of a method for the identification of receptor activator of nuclear factor- B+ populations in?vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 45 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2021.01.009	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 溝口利英	4. 巻 138
2. 論文標題 特集「歯髄」をめぐる基礎と臨床の架け橋 - 2021東京歯科大学リカレント教育セミナーより -, 6歯髄をめぐるトピックス、象牙芽細胞死は硬組織修復を誘導する	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 歯界展望	6. 最初と最後の頁 1135
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 無
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 -

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 細胞系譜解析が紐解く硬組織形成機構のダイナミズム
3. 学会等名 第4回信州骨代謝多職種セミナー (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 硬組織形成細胞の供給システム
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会ウインタースクール BONEシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 黄地健仁，倉島竜哉，木村麻記，溝口利英，澁川義幸
2. 発表標題 歯髄におけるNG2陽性細胞の同定と象牙芽細胞への運命移行
3. 学会等名 第313回東京歯科大学学会(例会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡弘貢，伊藤慎一郎，松永 智，森田 純晴，野口拓，笠原典夫，西田大輔，佐々木穂高， 矢島安朝，溝口利英
2. 発表標題 歯根膜におけるレプチン受容体陽性細胞の性状解析
3. 学会等名 第313回東京歯科大学学会(例会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 象牙芽細胞の細胞死は未分化前駆細胞の象牙芽細胞分化と石灰化を誘導する
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平賀 徹, 溝口利英
2. 発表標題 顆粒球コロニー刺激因子は乳がん骨転移の開始と進展に対し相反する作用を示す
3. 学会等名 第40回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥山喬介, 塩飽由香利, 濱井瞭, 溝口利英, 土屋香織, 鈴木治
2. 発表標題 骨髄由来間葉系幹細胞の分化と骨再生に及ぼすリン酸ハカルシウムの効果
3. 学会等名 第44回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zhifeng H., Mizoguchi T., Hiraga T., Nakamichi Y., Yamashita T., Koide M., Udagawa N., Kobayashi Y.
2. 発表標題 Macrophages promote bone regeneration through the activation of LepR (+) cells
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤慎一郎, 笠原典夫, 北村啓, 松永智, 溝口利英, 笠原正貴, 山口朗
2. 発表標題 抜歯窩と大腿骨骨欠損の骨治癒過程における病理学的差異
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黄地健仁, 倉島竜哉, 木村麻記, 黒田英孝, 溝口利英, 澁川義幸
2. 発表標題 歯の発生期と象牙芽細胞再生時におけるNG2陽性細胞の挙動
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高濱暁, 関有里, 佐藤幸平, 建部廣明, 溝口利英, 八若保孝, 細矢明宏
2. 発表標題 Gli1陽性歯髓細胞の象牙質再生過程における機能解析
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 骨と歯を調節する間葉系細胞のお話
3. 学会等名 九州臨床再生歯科研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 生体内における骨芽細胞供給システムの多様性
3. 学会等名 広島大学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 The origin of hard tissue-forming cells : history of research and recent findings
3. 学会等名 公益法人ときわ会 先端医学研究センター (RIIM) 5周年シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 硬組織形成を司る幹細胞のin vivo解析
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会 メインシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 硬組織形成細胞の供給システム
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会ウインタースクール BONEシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 関有里、建部廣明、溝口利英、飯嶋雅弘、入江一元、細矢明宏
2. 発表標題 Gli1陽性歯根膜細胞は矯正学的歯の移動時における骨形成に寄与する
3. 学会等名 第18回日本口腔ケア学会 総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Seki Y., Takebe H., Mizoguchi T., Iijima M., Irie K., Hosoya A
2. 発表標題 Gli1-positive periodontal ligament cells differentiate into osteoblasts during orthodontic tooth movement
3. 学会等名 第11回国際口腔ケア学会 総会・学術大会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizoguchi T
2. 発表標題 Gli1-positive periodontal ligament cells differentiate into osteoblasts during orthodontic tooth movement.
3. 学会等名 The 48th annual meeting of the European Calcified Tissue Society (ECTS) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤慎一郎、北村啓、溝口利英、松永智、阿部伸一、高野正行、山口朗
2. 発表標題 マウス抜歯窩と大腿骨骨折部の治癒過程における形態学的相違点
3. 学会等名 第311回東京歯科大学学会(例会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡弘貢、松永智、森田純晴、野口拓、笠原典夫、西田大輔、佐々木穂高、矢島安朝、溝口利英
2. 発表標題 歯根膜におけるレプチン受容体陽性細胞の性状解析、第311回東京歯科大学学会(例会)
3. 学会等名 第311回東京歯科大学学会(例会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥山喬介、塩飽由香利、濱井瞭、溝口利英、高橋哲、鈴木治
2. 発表標題 間葉系幹細胞の骨分化観察およびリン酸ハカルシウムの影響
3. 学会等名 2021年度東北大学金属材料研究所共同研究ワークショップ・日本バイオマテリアル学会東北ブロック講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Zhifeng H., Mizoguchi T, Hiraga T, Ruoxuan L., Linan S., Nakamichi N., Udagawa N., Kobayashi Y
2. 発表標題 Macrophages promote bone regeneration through the activation of LepR(+) cells
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西田大輔、荒井敦、堀部寛治、中道裕子、細谷明宏、中村浩彰、小林泰浩、宇田川信之、溝口利英
2. 発表標題 RANKL/OPG比は損傷した歯髄における破歯細胞形成を調節する
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西田大輔、荒井敦、堀部寛治、中道裕子、細谷明宏、中村浩彰、小林泰浩、宇田川信之、溝口利英
2. 発表標題 RANKL/OPG比は損傷した歯髄における破歯細胞形成を調節する
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井彩貴、建部廣明、溝口利英、志茂 剛、細矢明宏
2. 発表標題 抜歯窩治癒過程におけるGli1陽性歯根膜細胞の分化能
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五十嵐章智、三友啓介、溝口利英、村松敬
2. 発表標題 マウス歯髄・歯根膜におけるType H毛細血管の経時的変化
3. 学会等名 第312回東京歯科大学学会(総会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥山喬介、塩飽由香利、濱井瞭、溝口利英、高橋哲、鈴木治
2. 発表標題 リン酸八カルシウムによる骨再生における間葉系幹細胞の役割に関する研究
3. 学会等名 第43回日本バイオマテリアル学会大会 (名古屋国際会議場)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 フェイトマッピング解析から明らかになった骨髄間葉系細胞が司る骨代謝調節
3. 学会等名 第35回骨代謝セミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 歯髄が司る歯の恒常性維持メカニズム
3. 学会等名 東京歯科大学理工懇談会 第661回例会, (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 骨髄間葉系細胞が司る骨代謝調節機構
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会, 学会合同シンポジウム, (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 歯髄組織が司る歯の修復メカニズムの解明
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会, あり方委員会企画、2019年度研究助成成果報告 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 骨髄の間葉系細胞が制御する硬組織調節メカニズム
3. 学会等名 医療創生大学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝口利英
2. 発表標題 骨髄間葉系細胞の性状解析 研究の歴史と最近の知見
3. 学会等名 第6回日本骨免疫学会ウインタースクール(招待講演)
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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