

令和元年6月14日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11456

研究課題名(和文) タンパク質相互作用を標的とした骨形成促進効果を持つ低分子化合物の開発

研究課題名(英文) The development of low-molecular compound for the new method to stimulate bone formation by targeting protein-protein interaction

研究代表者

張 皿 (Min, Zhang)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：00326472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：骨形成タンパク質BMPは骨欠損部への臨床応用が期待されている。これまで、TNF- α のシグナル伝達分子であるNF- κ Bのメインサブユニットのp65がSmad4と会合しSmad複合体のDNA結合を阻害することでBMPによる骨芽細胞分化を抑制することを報告してきた。そこで我々はp65のSmad4への結合領域を同定しSBDと名付け、この領域を元にSBDペプチド作製した。SBDペプチドはin vitroでGST-TA2とHis-MH1の結合を阻害した。また、SBDペプチドはBMP-2が誘導するMC3T3-E1やマウス頭蓋骨由来骨芽細胞のALP活性やオステオカルシンの遺伝子発現量を増加させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

以前から他の研究室や我々の報告からNF- κ Bの阻害はBMPの骨芽細胞分化や骨形成に有利であると考えられてきた。しかしながら、NF- κ Bのメインサブユニットであるp65欠損マウスは肝臓のアポトーシスによる胎生致死であることからNF- κ Bの阻害剤の長期投与は重篤な副作用を引き起こす可能性がある。このような背景から、今回見出したNF- κ Bのp65とSmad4の会合部位を特異的に阻害するSBDペプチドは、NF- κ Bの機能を完全に失うことなく、効率良くBMPによる骨形成、骨再生の促進効果を発揮できる画期的な薬剤となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Bone morphogenetic protein (BMP) potentiates bone formation through the Smad signaling pathway. The transcription factor nuclear factor κ B (NF- κ B) suppresses BMP-induced osteoblast differentiation. Recently, we identified that the transactivation (TA) 2 domain of p65, a main subunit of NF- κ B, interacts with the mad homology (MH) 1 domain of Smad4 to inhibit BMP signaling. Therefore, we further attempted to identify the interacting regions of these two molecules at the amino acid level. We identified a region that we term the Smad4-binding domain (SBD). Cell-permeable SBD peptide blocked the association of p65 with Smad4 and enhanced BMP2-induced osteoblast differentiation and mineralization. Although SBD peptide did not affect BMP2-induced chondrogenesis during ectopic bone formation, the peptide enhanced BMP2-induced ectopic bone formation in subcortical bone. Thus, the SBD peptide is useful for enabling BMP2-induced bone regeneration without inhibiting NF- κ B activity.

研究分野：口腔病理学

キーワード：BMP 骨形成 Smad p65

科学研究費助成事業 研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

骨リモデリングは、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成で成立し、骨量やカルシウムの恒常性の維持に重要である。骨吸収と骨形成は緊密に連携しているが、このバランスが崩れると過剰な骨の増加や減少を引き起こす(Kobayashi Y et al., 2016; Zhao B et al., 2017)。骨粗しょう症や変形性関節炎は骨吸収の増加によって引き起こされ、近年、これらに対してビスホスフォネート製剤、選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM) や抗 RANKL 抗体 (denosumab) が使用されている(Chen JS et al., 2011)。しかし、骨吸収のみを抑制することは骨欠損部の骨再生を促すのに十分ではなく、骨芽細胞分化を刺激する新しい方法の開発が求められている。骨形成を行う骨芽細胞は間葉系幹細胞から分化する。骨芽細胞分化は、ホルモンや様々な局所因子等で制御され成熟や石灰化が誘導される(Kobayashi Y et al., 2016; Zhao B et al., 2017)。BMP は、骨芽細胞による骨形成を誘導する強力な因子の一つである。BMP 受容体に BMP が結合すると細胞質内で Smad1/5 がリン酸化され、リン酸化した Smad1/5 は Smad4 と複合体を形成し核内に移行し、標的遺伝子の発現を制御する。Smad タンパク質は MH1 と MH2 の 2 つのドメインで構成され、Smad4 MH1 は DNA に直接結合し MH2 はリン酸化された Smad1/5 の C 末に結合する。すなわち、この Smad4 は BMP シグナルに重要である (Katagiri T et al., 2015)。古典的 Smad 経路とは別に BMP は Smad とは独立した mitogen-activated protein kinase (MAPK)、phosphoinositide 3-kinase (PI3K) や NF- κ B 等も活性化する (Jimi E et al., 2015)。近年、NF- κ B は骨芽細胞分化や骨形成を抑制することが明らかになってきた。マウス成熟骨芽細胞での inhibitor of I κ B kinase (IKK) β のドミナントネガティブ発現による NF- κ B を阻害すると、骨芽細胞が活性化し骨量や bone mineral density (BMD) が増加し (Chang J et al., 2009; Krum SA et al., 2010)。また、NF- κ B 選択的阻害剤は閉経後骨粗しょう症モデルである卵巣摘出マウスの骨減少を抑制した (Alles N et al., 2010)。さらにわれわれは NF- κ B が p65 と Smad4 の結合を介して Smad 複合体の DNA 結合を抑制することで BMP 誘導骨芽細胞分化を阻害することが分かった。さらに、p65 TA2 ドメインと Smad4 MH1 ドメインが結合し、NF- κ B 選択的阻害が BMP 誘導骨芽細胞分化と異所性骨形成を増加することを報告した(Yamazaki M et al., 2009; Hirata-Tsuchiya S et al., 2014)。以上から NF- κ B の阻害は骨形成に有利であると考えられる。しかしながら、NF- κ B メインサブユニット p65 のノックアウトマウスは胎生致死であるため NF- κ B の阻害は深刻な副作用を招く恐れがあることから、Smad との会合だけを阻害することができれば NF- κ B シグナルに影響を与えることなく、BMP シグナルを増強し、骨形成を促進できるのではないかと考えた (Beg AA et al., 1995)。

2. 研究の目的

そこで本研究では p65 と Smad4 ドメインの結合領域をアミノ酸レベルで同定し、さらに p65 と Smad4 の結合を阻害する細胞透過性ペプチド(SBD ペプチド) を作製し、BMP 誘導性骨芽細胞分化と異所性骨形成への作用を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

本実験は九州歯科大学動物実験の承認を得た上で行われた(承認番号 16-036)

①試薬: Recombinant human BMP2; (R&D system, Minneapolis, MN), Anti-phosphorylated Smad1/5 (no. 9516), anti-Smad1 (no. 9743), anti-phosphorylated p65 (no. 3031); Cell Signaling Technology Inc (Beverly, MA), Anti-I κ B α (sc-371); Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA), Anti-p65 (SA171); Biomol (Plymouth Meeting PA), Anti-FLAG M5, anti- β -actin (AC-15); Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), Anti-Myc, anti-GST, anti-His; Medical and Biological Laboratories (Nagoya, Japan) より購入した。

②タンパク質精製及び GST pull down assay: GST 融合 TA2 タンパク質及びその欠失変異体と His 融合 Smad4 MH1 タンパク質はそれぞれ pGEX vectors (GE Healthcare Life Sciences, Buckinghamshire, UK) と pET-His30 vector (Takara Bio, Shiga, Japan) に各 cDNA を遺伝子導入し、大腸菌発現システムを用いて各タンパク質の発現を行った。GST と His 融合タンパク質の精製は、以前報告された論文のプロトコールに従い行った (Sugiyama G et al., 2013)。GST pull down assay は、同等量の GST 融合各 TA2 タンパク質、グルタチオンアガロースビーズと His 融合 Smad4 MH1 タンパク質を 4°C 条件下で 30 分インキュベートし、buffer (20 mM HEPES-NaOH (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100) でビーズを 3 回洗浄後、50 μ l のサンプルバッファーを加え 5 分間ボイルしサンプル化を行った。

③ペプチド配列: Wild-type (WT) SBD peptide;
NH₂-RRRRRRRRR-GGG-QAGEGTLSEALLHLQF-COOH Scramble (Scr) peptide;
NH₂-RRRRRRRRR-GGG-LGSLAHQLAQGFTELE-COOH Pull-down assay 用 WT SBD peptide;
NH₂-GGG-QAGEGTLSEALLHLQF-COOH Pull-down assay 用 Scr peptide;

NH2-GGG-LGSLAHQLAQQGFTELE-COOH 以上 4 種類のペプチドを Eurofingonomics (Tokyo, Japan)で作製を行った。

④細胞培養：マウス前骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 細胞 (RIKEN Cell Bank, Tsukuba, Japan) は、10% fetal bovine serum (FBS), 100 U/ml ペニシリン、100 µg/ml ストレプトマイシン含有 minimal essential medium (MEM) α で培養した。Primary osteoblasts (POB) は、生後 1 日の C57/BL6 マウスの頭蓋骨を採取し、0.1% コラゲナーゼ (Wako, Osaka, Japan) 及び 0.2% ディスペラーゼ (Godo Shusei, Tokyo, Japan) 処理を行い、10% FBS と抗菌薬含有 MEM α で培養した。African green monkey の腎細胞を Simian Virus 40 (SV40) T 抗原で形質転換した COS7 細胞 (JCRB Cell Bank, Osaka, Japan) は、10% FBS と抗菌薬含有 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) で培養した。

⑤ALP (Alkaline phosphatase) 活性測定及び ALP 染色：MC3T3-E1 細胞と POB は、 1.0×10^4 cells/well の細胞濃度で 96 well plate に播種し、BMP2 (100 ng/ml) 単独と BMP2 と各濃度の WT SBD ペプチドや Scr ペプチドの存在下で処理した。72 時間後、細胞をアセトン・エタノール (50:50, v/v) で処理し、buffer (0.1 M diethanolamine, 1 mM MgCl₂, 10 mg/ml p-nitrophenyl phosphate) で処理を行い microplate reader (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA) 405 nm で ALP 活性の計測を行った。ALP 染色は、72 時間後細胞を 10%ホルマリン固定し、アセトン・エタノール (50:50 v/v) で処理を行い、染色液 (AS-MX, DMF, FAST Blue BB salt 含有 0.1 M Tris-HCl bufer (pH8.5)) で処理を行った (Katagiri T et al., 1994)。

⑥Real-time PCR analysis：Real-time PCR は、SYBR Green Master Mix と 7300 real-time PCR system (Applied Biosystems, Foster City, CA) を用いて行った。

⑦Alizarin red S 染色：MC3T3-E1 細胞は、 2.0×10^4 cells/well の細胞濃度で 48 well plate に播種した。細胞は 5% FBS、50 µg/ml ascorbic acid、10 nM Dex、5 mM β -glycerophosphate 含有 MEM α で培養し、BMP2 (100 ng/ml) 単独と BMP2 と各濃度の WT SBD ペプチドと Scr ペプチドの存在下で 18 日間培養した。刺激後、細胞を 10%ホルマリンで固定し滅菌水で 3 回洗浄後、1% alizarin red S solution で染色した。

⑧細胞増殖：各刺激による MC3T3-E1 細胞の増殖への影響は Cell Counting kit-8 (CCK-8) (Dojindo, Kumamoto, Japan) を用いて測定を行った。MC3T3-E1 細胞を 5000 cells/well となるように 96 well plate に播種し前培養後、各濃度に調整した薬剤を各 well に添加し CO₂ インキュベーター内で一定時間培養した (24, 48, 72 時間)。その後、各 well に CCK-8 溶液を 10 µl ずつ添加し 1 時間インキュベートしマイクロプレートリーダーで 450 nm の吸光度を測定した。

⑨ウエスタンブロット法と免疫沈降法：各サンプルはプロテアーゼ阻害剤とリン酸化阻害剤 (Roche, Basel, Switzerland) を含んだ TNT buffer (20 mM Tris-HCl, pH 7.5; 200 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1 mM dithiothreitol) で溶解した。各タンパク質濃度は Pierce reagent (Thermo Fisher SCIENTIFIC) を用いて測定した。濃度調整後、15% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、Immobilon-P メンブレン (Millipore Corp., Billerica, MA) に転写した。メンブレンは、5% スキムミルク (雪印、森永) を使用して 30 分間室温にてブロッキングを行い、各 1 次抗体を 4°C 以下で一晩反応させた。その後、TBS-Tween で 30 分間洗浄して、各抗体に対応した動物種の 2 次抗体 (マウス, ウサギ) (Santa Cruz Biotechnology) を 1 時間室温にて反応させた。再度 TBS-Tween で 30 分間洗浄して、ECL (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ) と Luminescent image analyzer (Fujifilm, Tokyo, Japan) を用いて現像を行った。免疫沈降法では、細胞溶解液を 4°C で抗 FLAG 抗体または抗 Myc 抗体で 6 時間処理し、A/G-Sepharose beads を加えさらに 1 時間インキュベートした。この複合体を TNT buffer で洗浄し、6×SDS を加え 95°C 5 分間でボイルしサンプル化を行った。

⑩Chromatin immunoprecipitation (ChIP) assays：ChIP assays は、ChIP assay kit (Cell Signaling, #9005) を使用し、以前の論文で用いた抗リン酸化 Smad1/5 抗体と IgG 抗体を用いた。

⑪異所性骨形成：マウスは BMP2 (1 µg) 単独群と BMP2 と WT SBD ペプチド (0.1 or 0.2 µg) 群の計 3 群 (共に 8 週齢, 各群 4 匹) に分けた。ペレットは BMP2 (1 µg) 単独と BMP2 と WT SBD ペプチド (0.1 or 0.2 µg) の混合液を bovine collagen sheets (Helistat; Integra Neuro-Sciences) に滴下し -20°C で凍結乾燥させ作製した。作製したペレットをマウスの背筋膜下に移植し (Kokabu S et al., 2017)、3 週間後、サンプルを回収した。全てのサンプルを PBS-buffered glutaraldehyde (0.25%-formalin (4%) fixative (pH 7.4) (4% PFA) に 2 日間 4°C で浸漬した後 PBS で洗浄した。サンプルの BMD は dual-energy X-ray absorptiometry (DCS-600R; Aloka, Tokyo, Japan) を用いて測定した。また、3 次元画像は μ CT (ScanXmate-E090; Comscan, Yokohama, Japan) で解析をした。異所性骨の切片は、HE 染色と TRAP 染色で解析を行った。

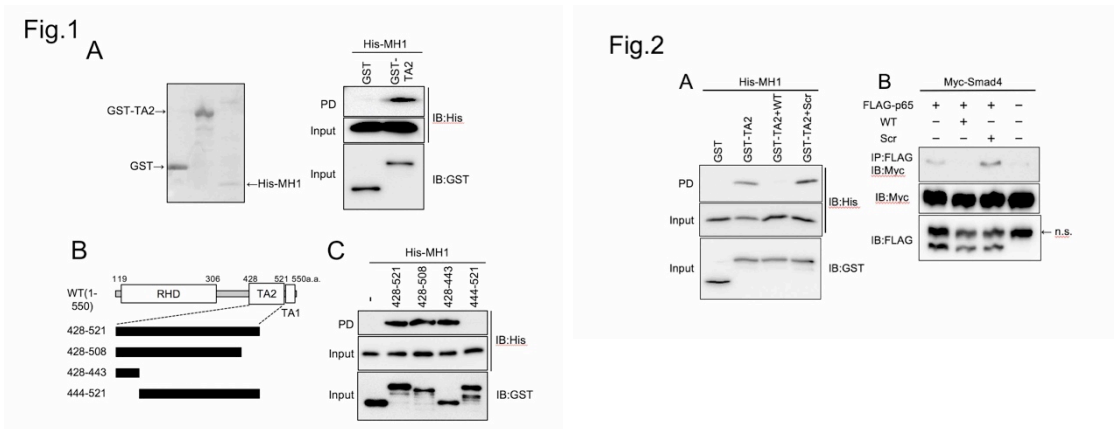
⑫統計解析：全てのデータは、平均値 \pm 標準偏差で表示し、有意差検定は Student's t-test を用いた。P 値は P<0.01 を*、P<0.05 を**と示し、P<0.05 を有意とした。

4. 研究成果

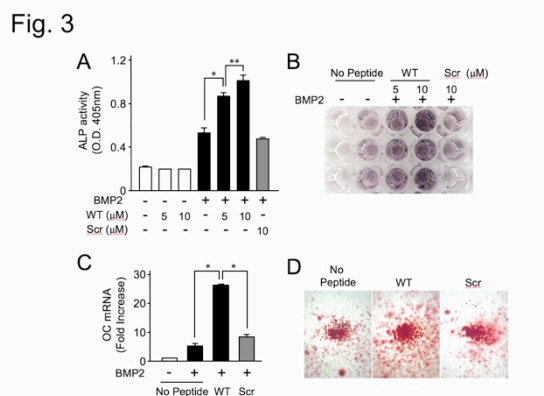
①p65 TA2 ドメイン N 末領域と Smad4 MH1 ドメインの結合：p65 TA2 ドメインと Smad4 MH1 ドメインが直接結合するかどうかを GST-TA2 と His-MH1 タンパク質 (Fig. 1A, left panel) を用

いて GST pull down assay で検証した。その結果、GST 単体と比較し GST-TA2 には共沈してきた His-MH1 が認められた (Fig. 1A, right panel)。すなわち、p65 TA2 ドメインと Smad4 MH1 ドメインが直接結合することが示された。次に、Smad4 MH1 に対する p65 TA2 の詳細な結合領域を解明する為に、GST 融合 TA2 欠失変異体を作製し (Fig. 1B)、Smad4 MH1 ドメインとの結合を GST pull down assay で検証した。その結果、TA2 (428-521, 428-508, 428-443) とは MH1 タンパク質との結合が認められるのに対して TA2 444-521 ではその結合が認められなかった (Fig. 1C)。これらの結果から、TA2 428-443 の領域が Smad4 MH1 が直接結合する領域であると考えられこの領域を SBD と名付けた。

②細胞透過性ペプチドによる p65-Smad4 の結合阻害：我々は SBD のアミノ酸配列を基に p65-Smad4 の結合を阻害することを目的とした WT SBD ペプチド作製し、さらに、SBD のアミノ酸配列をランダムに配列したコントロールとしての Scr ペプチドを作製した (Fig. 2A)。これらのペプチドを用いて、p65 TA2 ドメインと Smad4 MH1 ドメインの結合への影響を検証した結果、GST pull down 用 WT SBD ペプチドが *in vitro* において GST-TA2 と His-MH1 の結合を阻害した (Fig. 2B)。さらに、免疫沈降法においても WT SBD ペプチドが FLAG-p65 と Myc-Smad4 の結合を阻害した (Fig. 2C)。



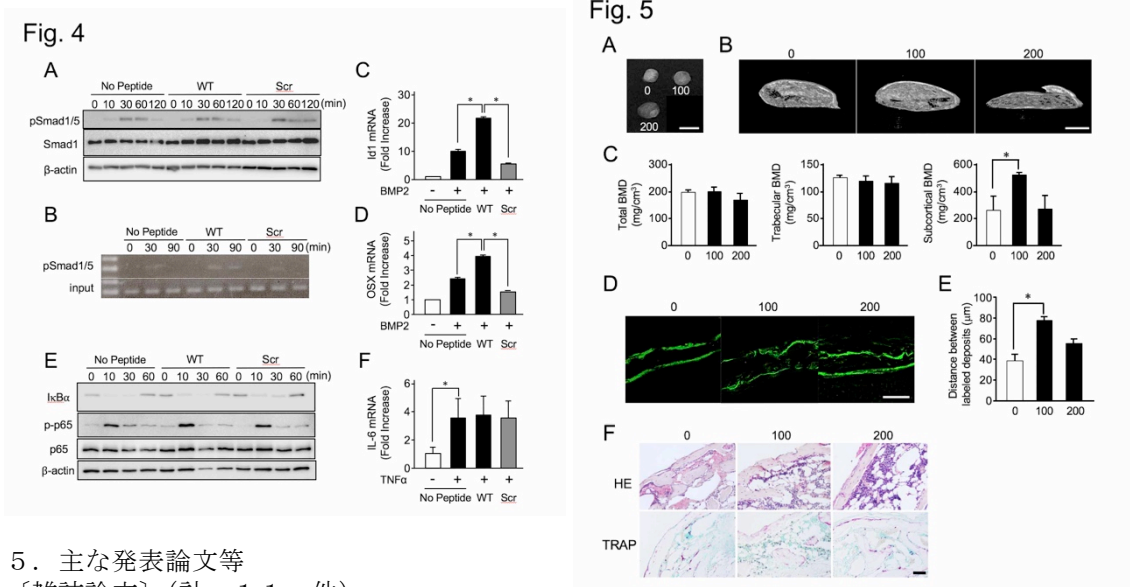
③SBD ペプチドによる BMP2 誘導骨芽細胞分化の促進：次に、WT SBD ペプチドによる BMP2 誘導骨芽細胞分化への影響をマウス前骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 細胞で検証した。WT SBD ペプチドは、BMP2 非存在下では ALP 活性の増加が認められないが、BMP2 存在下では濃度依存的に ALP 活性を強力に増加した (Fig. 3A)。同様に、ALP 染色においても BMP2 誘導 ALP 陽性細胞数が Scr ペプチドでは少なく WT SBD ペプチドでは多く認められることが分かった (Fig. 3B)。また、WT SBD ペプチドは MC3T3-E1 細胞の増殖に BMP2 存在の有無に関わらず影響を与えなかった。さらに、WT SBD ペプチドはマウス POB を用いた BMP2 が誘導する ALP 活性を増加し、BMP2 誘導オステオカルシンの遺伝子発現量も増加させた (Fig. 3C)。Alizarin Red 染色により WT SBD ペプチドは BMP2 による骨芽細胞の石灰化亢進することが明らかとなった (Fig. 3D)。



④SBD ペプチドによる BMP 転写活性の促進：次に、我々は、WT SBD ペプチドによる BMP シグナル最初の重要なステップである Smad1/5 のリン酸化への影響を検証した。その結果、WT SBD ペプチドも Scr ペプチドも BMP2 誘導 Smad1/5 のリン酸化に影響を与えないことが分かった (Fig. 4A)。しかし、WT SBD ペプチドは BMP シグナルのターゲット遺伝子である Id1 プロモーターと Smad1/5 の結合時間を延長させた (Fig. 4B)。この結果から WT SBD ペプチド存在下では Id1 や OSX などの BMP シグナルのターゲット遺伝子の発現が増加したと考えられる (Fig. 4C, D)。次に WT SBD ペプチドによる TNF α 誘導 NF- κ B 活性への影響を検討したところ WT SBD ペプチドは TNF α 処理による I κ B α の分解や p65 のリン酸化への影響は認められなかった (Fig. 4E)。また、TNF α が誘導する NF- κ B 特異的ターゲット遺伝子、IL-6 の遺伝子発現量 [16] にも WT SBD ペプチドは影響を与えなかった (Fig. 4F)。これらの結果から WT SBD ペプチドは BMP 転写活性を NF- κ B 活性に影響を与える事なく BMP シグナルを増強し、骨芽細胞分化を促進することが分かった。

⑤SBD ペプチドによる BMP2 誘導異所性骨形成への影響：最後に、WT SBD ペプチドが BMP2 が誘導する異所性骨形成を促進するかを検証した。1 μ g の BMP2 と各濃度の WT SBD ペプチド

含有コラーゲンスポンジをマウス背筋膜下に移植した。その結果、 μ CT や BMD 解析で全体の骨密度や海綿骨の骨密度はいずれも同程度であったが (Fig. 5A, B, C)、皮質骨の骨密度は高濃度の WT SBD で BMP2 単独よりも骨密度の増加が認められた (Fig. 5C)。さらに、BMP2 誘導異所性骨形成の活性度合いを示すカルセインラベルの計測を行うと 100 μ g WT SBD ペプチド存在下では BMP2 単独と比較し骨の形成量の増加が認められ (Fig. 5D)、定量分析でも BMP2 単独と比較し BMP2 と 100 μ g WT SBD ペプチド存在下では石灰化表面の増加が確認された (Fig. 5E)。また、WT SBD ペプチドの破骨細胞や骨吸収への影響を検証する為 HE で染色し破骨細胞を TRAP で染色し検証した。その結果、異所性骨において TRAP 陽性細胞の数は WT SBD ペプチドの有無で変化はなかった (Fig. 5F)。すなわち、WT SBD ペプチドは破骨細胞による骨吸収に影響を与えないことが示された。一方、高濃度 WT SBD ペプチド 200 μ g SBD では BMP2 誘導による皮質骨の骨密度の増加が認められなかった (Fig. 5F)。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Nakatomi C, Nakatomi M, Matsubara T, Komori T, Doi-Inoue T, Ishimaru N, Weih F, Iwamoto T, Matsuda M, Kokabu S, Jimi E: Constitutive activation of the alternative NF- κ B pathway disturbs endochondral ossification. *Bone*, 121, 29-41, 2019
- ② Addison WN, Hall KC, Kokabu S, Matsubara T, Fu MM, Gori F, Baron R: Zfp423 Regulates Skeletal Muscle Regeneration and Proliferation. *Mol Cell Biol*. e00447-18, 2019
- ③ Ogawa M, Yaginuma T, Nakatomi C, Nakajima T, Tada-Shigeyama Y, Addison WN, Urata M, Matsubara T, Watanabe K, Matsuo K, Sato T, Honda H, Hikiji H, Watanabe S, Kokabu S: Transducin-like Enhancer of Split 3 regulates proliferation of melanoma cells via histone deacetylase activity. *Oncotarget*, 404-414, 2018
- ④ Urata M, Kokabu S, Matsubara T, Sugiyama G, Nakatomi C, Takeuchi H, Hirata TS, Aoki K, Tamura Y, Moriyama Y, Ayukawa Y, Matsuda M, Zhang M, Koyano K, Kitamura C, Jimi E: A peptide that blocks the interaction of NF- κ B p65 subunit with Smad4 enhances BMP2-induced osteogenesis. *J Cell Physiol*, 233(9), 2018
- ⑤ Matsubara T, Urata M, Nakajima T, Fukuzaki M, Masuda R, Yoshimoto Y, Addison WN, Nakatomi C, Morikawa K, Zhang M, Saeki K, Takahashi Y, Nakamichi A, Kokabu S: Geranylgeraniol-induced myogenic differentiation of C2C12 cells. *In vivo*, 1427-1431, 2018
- ⑥ Matsubara T, Takakura N, Urata M, Muramatsu Y, Tsuboi M, Yasuda K, Addison WN, Zhang M, Matsuo K, Nakatomi C, Shigeyama-Tada Y, Kaneuji T, Nakamichi A, Kokabu S, Geranylgeraniol induces PPAR γ expression and enhances the biological effects of a PPAR γ agonist in adipocyte lineage cells. *In Vivo*, 1339-1344, 2018
- ⑦ Kokabu S, Rosen V: BMP3 expression by osteoblast lineage cells is regulated by canonical Wnt signaling. *FEBS Open Bio*, 2017.
- ⑧ Matsubara T, Kokabu S, Nakatomi C, Kinbara M, Maeda T, Yoshizawa M, Yasuda H, Takano-Yamamoto T, Baron R, Jimi E: The actin-binding protein PPP1r18 regulates maturation,

actin organization, and bone resorption activity of osteoclasts. *Mol Cell Biol*, 38(4), e00425-17, 2017.

- ⑨ Matsubara T, Kinbara M, Maeda T, Yoshizawa M, Kokabu S, Takano-Yamamoto T: Regulation of osteoclast differentiation and actin ring formation by the cytolinker protein plectin, *Biochem Biophys Res Commun*, 489, 472-6, 2017.
- ⑩ Kokabu S, Nakatomi C, Matsubara T, Ono Y, Addison WN, Lowery JW, Urata M, Hudnall AM, Hitomi S, Nakatomi M, Sato T, Osawa K, Yoda T, Rosen V, Jimi E: The transcriptional co-repressor TLE3 regulates myogenic differentiation by repressing the activity of the MyoD transcription factor. *J Biol Chem*, 292, 12885-94, 2017.
- ⑪ Kokabu S, Lowery JW, Toyono T, Sato T, Yoda T: On the Emerging Role of the Taste Receptor Type 1 (T1R) Family of Nutrient-Sensors in the Musculoskeletal System. *Molecules*, 22, E469, 2017.

[学会発表] (計 3 件)

- ① Zhang M and Matsuo K: The basic study on the molecular mechanism of type II diabetic periodontitis. The 8th Conference of Asian International Association of Dental Traumatology, Mahidol University, Kingdom of Thailand, November 2017.
- ② Urata M, Matsubara T, Kokabu S, Nakatomi C, Zhang M, Hirata-Tsuchiya S, Kitamura C, Jimi E: Identification of the binding region of NF- κ B-p65 on Smad4. Asia-Pacific Conference in FUKUOKA 2017 (May 2017, Kitakyushu)
- ③ 浦田真梨子, 松原琢磨, 中富千尋, 土屋-平田志津, 古株彰一郎, 張 皿, 北村知昭, 自見英治郎: BMPによる骨形成促進を目的とした Smad4 と NF- κ B p65 の会合領域の検討. 第59回歯科基礎医学会 (2017年9月, 松本)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 松原琢磨

ローマ字氏名: MATSUBARA Takuma

所属研究機関名: 九州歯科大学

部局名: 歯学部

職名: 助教

研究者番号 (8桁): 00423137

研究分担者氏名: 松尾 拓

ローマ字氏名: MATSUO Kou

所属研究機関名: 九州歯科大学

部局名: 歯学部

職名: 教授

研究者番号 (8桁): 70238971

研究分担者氏名: 古株彰一郎

ローマ字氏名: KOKABU Shoichiro

所属研究機関名: 九州歯科大学

部局名: 歯学部

職名: 教授

研究者番号 (8桁): 30448899

研究分担者氏名: 自見英治郎

ローマ字氏名: JIMI Eijiro

所属研究機関名: 九州大学

部局名: 歯学研究院

職名: 教授

研究者番号 (8桁): 40276598

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 浦田真梨子

ローマ字氏名: URATA Mariko

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