

平成 23 年 5 月 10 日現在

機関番号：33602

研究種目：新学術領域研究(研究課題提案型)

研究期間：2008～2010

課題番号：20200019

研究課題名(和文) 骨代謝を調節するカーボンナノチューブの分子機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of molecular mechanism of carbon nanotube regulating bone metabolism

研究代表者

溝口 利英 (MIZOGUCHI TOSHIHIDE)

松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師

研究者番号：90329475

研究成果の概要(和文)：カーボンナノチューブは、骨組織における生体材料への応用が期待されているため、その骨作用の解明が必要であった。今回我々は、① Multiwalled carbon nanotube (MWCNTs)は、in vivoにおいてBMP誘導性の異所性骨形成を促進すること、② MWCNTsはBMP誘導性異所性骨中に出現する破骨細胞の形成を抑制すること、③ MWCNTsはin vitroにおいてRANKL誘導性のNFATc1の核移行を抑制することにより、破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化を抑制すること、④ MWCNTsは破骨細胞の骨吸収活性、生存活性を抑制すること、⑤ MWCNTsは骨芽細胞における石灰化培地中の石灰化を促進すること、⑥ MWCNTs周囲には石灰化培養液によりCaやNaから構成される結晶が析出すること、⑦ 骨芽細胞培養において、培養液中のCa濃度を上昇させると、ALPの染色性および、osteocalcinの遺伝子発現が増加することを明らかにした。以上より、MWCNTsを生体材料に応用する場合に、骨組織修復などに有利に働く可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Since attention has paid to the use of carbon nanotubes as biomaterials in contact with bone, it is critical to understand the reaction of bone cells to carbon nanotubes. In the present studies, we revealed following things. ① Multiwalled carbon nanotube (MWCNTs) enlarged BMP-induced ectopic bone size in vivo. ② MWCNTs inhibited the osteoclastic differentiation from osteoclast precursors in BMP-induced ectopic bone. ③ MWCNTs suppressed osteoclastogenesis by inhibition of RANKL-induced nuclear translocation of NFATc1 in vitro. ④ MWCNTs inhibit osteoclastic bone resorption and survival. ⑤ MWCNTs enhanced calcification by osteoblasts in calcification medium. ⑥ Ca and Na deposited around the MWCNTs by calcification medium. ⑦ The ALP activity and the expression level of osteocalcin in osteoblasts were enhanced by high calcium concentrations in culture medium. These results indicated that MWCNTs have beneficial effect on bones when they are used as biomaterials.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2009年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2010年度	8,300,000	2,490,000	10,790,000
年度			
年度			
総計	25,300,000	7,590,000	32,890,000

研究分野：分子細胞生物学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：破骨細胞, カーボンナノチューブ, RANKL, NFATc1, エピタキシー, M-CSF, 転写因子, 骨芽細胞

1. 研究開始当初の背景

セラミックスやポリエチレン単体に比較し、カーボンナノチューブ (CNT) を組み入れた複合体はきわめて強い力学特性を示すため、CNT を骨や歯の生体材料とすることを目指して研究してきた。我々の研究グループは異所性骨形成および骨折治癒実験系を用い、CNT 繊維材である VGNF (vapor grown carbon nanofiber) と VGCF (vapor grown carbon fiber) に骨形成促進能と骨吸収抑制能がある可能性を示した。マクロファージや骨芽細胞に対する CNT の作用は、内外から多数報告されていたが、そのメカニズムの詳細は良くわかっていなかった。

2. 研究の目的

これまでの所見および報告より、CNT は転写調節因子であることや基質小胞性石灰化の調節因子であるという仮説を考えた。この「CNT は生理活性物質である」という仮説を基礎に、CNT の骨作用に関する分子機構の解明を目指した。

3. 研究の方法

(1) 破骨細胞に対する CNT の作用

① 異所性骨形成実験系

5 μg のリコンビナント human BMP をコラーゲンペレットに添加した。さらに BMP に加え 500 μg の 80n-multiwalled carbon nanotube (80n-MWCNTs) 添加ペレットも作成し、両ペレットを ddY マウス背部筋膜下に移植した。2 週および 3 週後にペレットを摘出し、X-線写真を撮影した。また、パラフィン切片を作成し、TRAP 染色後、破骨細胞数を計測した。

② MWCNT の細胞増殖に対する作用

マウス頭蓋骨由来骨芽細胞、および M-CSF によるマウス骨髄マクロファージの培養系に、80n-MWCNTs、150n-MWCNTs、およびカーボンブラック (CB: コントロール) を 0.5、5、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加し、24、48、72 時間後に培地を回収した。Alamar Blue により細胞増殖を測定した。

③ 破骨細胞分化に対する MWCNT の作用

マウス頭蓋骨由来骨芽細胞とマウス骨髄細胞の共存培養下に活性型ビタミン D_3 を添加し、破骨細胞分化を誘導した。培養系に、80n-MWCNTs、150n-MWCNTs、および CB を 5

$\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加し、6 日後に固定し、TRAP 染色後、破骨細胞数を計測した。骨芽細胞培養系に活性型ビタミン D_3 を添加し、同時に 80n-MWCNTs、150n-MWCNTs、および CB を 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加し、24 時間後に RNA を回収し、PCR 法により RANKL、OPG、および M-CSF の発現を調べた。マウス骨髄細胞を M-CSF により培養し、骨髄マクロファージに分化させた。その後、M-CSF および RANKL を添加し、3 日間培養し、破骨細胞分化を誘導した。培養系に、80n-MWCNTs、150n-MWCNTs、および CB を 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加し、6 日後に固定し、TRAP 染色後、破骨細胞数を計測した。

④ MWCNTs の破骨細胞分化におけるシグナル伝達への作用

マウス骨髄マクロファージに RANKL を添加後 20 分および 24 時間後に細胞破砕液を回収し、ウエスタンブロッティングにより、I κ B α 、p38、リン酸化 p38、および NFATc1 を各種抗体にて検出した。NFATc1、および NF- κ B p65 の核移行は、細胞を 4%パラホルムアルデヒドで固定後、各種抗体を反応させ、FITC 標識した 2 次抗体を用いて検出した。核は、プロピジウムイオダイドを用いて検出した。

⑤ 破骨細胞の活性化および生存における MWCNTs の作用

コラーゲンゲル上のマウス骨芽細胞、およびマウス骨髄細胞の共存培養により、成熟破骨細胞を得た。成熟破骨細胞を dentine slice 上に撒き、骨吸収活性を測定した。また、成熟破骨細胞を骨芽細胞非存在下で培養し、破骨細胞の生存を測定した。それぞれの培養系に、80n-MWCNTs、150n-MWCNTs、および CB を 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加し、破骨細胞の活性化、および生存に対する影響を調べた。破骨細胞を 4%パラホルムアルデヒドで固定し、樹脂包埋後、電子顕微鏡にて観察した。

(2) 骨芽細胞に対する CNT の作用

① 骨芽細胞様細胞への MWCNTs の添加実験

マウス頭蓋骨由来骨芽細胞、MC3T3-E1 および骨髄間質細胞 PA6 を用い、通常の培養液と石灰化培養液にそれぞれ MWCNTs、カーボンブラック (CB) および界面活性剤 (CMC) を添加して 3-6 週間培養した。骨芽細胞の増殖および石灰化を評価した。

② MWCNTs の石灰化促進作用機構の解析

MWCNTs を石灰化培養液に加え、1 週間後に走査型電子顕微鏡 (SEM) での観察および元素

分析を行った。また同時期に培養皿底面に残った MWCNTs を回収し、そこに付着する Ca を定量した。コントロールとしてカーボンブラック (CB) を添加した群でも同様に Ca を定量した。次に Ca 濃度の異なる 3 種類の培養液で初代骨芽細胞培養を行い、1 週間後に ALP 染色および骨芽細胞の発現する遺伝子を real time PCR 法で定量した。

4. 研究成果

(1) 破骨細胞に対する CNT の作用

① 異所性骨形成実験系

BMP 誘導性の異所性骨形成実験において、80 n-multiwalled carbon nanotubes (80n-MWCNTs) は、異所性骨中の破骨細胞形成を有意に抑制した(雑誌発表 16, Fig. 1, a and b)。80n-MWCNTs により、骨吸収が抑制された結果、移植 3 週間後の 80n-MWCNTs 含有 BMP ペレットにおける異所性骨は、BMP 単独ペレットと比較し、有意に大きくなった(雑誌発表 16, Fig. 1, c and d)。

② MWCNT の細胞増殖に対する作用

80n-MWCNTs, 150n-MWCNTs, およびカーボンブラック (CB: コントロール) 添加において、骨芽細胞の細胞増殖には影響しなかった。一方、M-CSF 誘導性の骨髄マクロファージの増殖は、全ての群で 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の濃度では抑制されなかった。

③ 破骨細胞分化に対する MWCNT の作用

骨芽細胞と骨髄マクロファージの共存培養における破骨細胞分化誘導系では、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の 80n-MWCNTs, および 150n-MWCNTs の添加は破骨細胞分化を抑制した。一方、80n-MWCNTs, 150n-MWCNTs, および CB は、骨芽細胞における RANKL, M-CSF, および OPG の発現には影響しなかった。

M-CSF と RANKL 誘導性の骨髄マクロファージの破骨細胞分化系において 80n-MWCNTs, 150n-MWCNTs, および CB 添加による破骨細胞分化抑制は認められなかった(雑誌発表 19, Fig. 3, a)。しかし、80n-MWCNTs および 150n-MWCNTs による骨髄マクロファージの 24 時間のプレトリートは破骨細胞分化を抑制した。一方、CB によるプレトリートは、破骨細胞分化を抑制しなかった(雑誌発表 16, Fig. 3, b)。また、MWCNTs および CB は 24 時間で骨髄マクロファージに取り込まれることが明らかになった(雑誌発表 16, Fig. 3, c)。

④ MWCNTs の破骨細胞分化におけるシグナル伝達への作用

骨髄マクロファージにおける RANKL 誘導性の p38MAP キナーゼのリン酸化、I κ B α の分解、そして NFATc1 の発現上昇には、80nM-MWCNTs の添加は影響しなかった(雑誌発表 16, Fig. 3, d and e)。しかし、80n-MWCNTs は、RANKL 誘導性の NFATc1 の核移行を抑制し、NF- κ B

p65 の核移行は抑制しなかった。一方、CB の添加は、その両者を抑制しなかった。

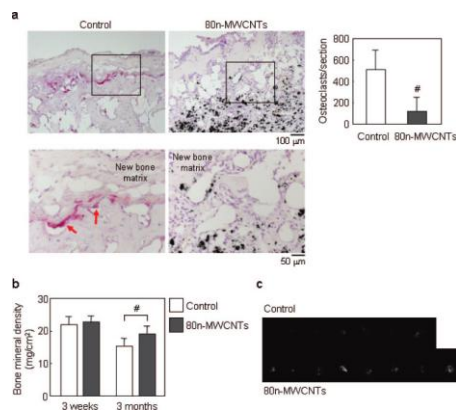


Figure 1. Ectopic bone formation was induced by implantation of collagen/80n-MWCNT or collagen disks impregnated with rhBMP-2. After implantation for 2 weeks, 3 weeks, or 3 months, the implants were recovered. (a) Sections prepared from the implants recovered after 2 weeks were examined by enzymatic histochemical staining for TRAP and then subjected to hematoxylin staining. Red arrows indicate TRAP-positive cells (osteoclasts). The number of TRAP-positive cells was counted in each section. # $p < 0.018$ vs control. (b) BMD of the implants recovered after 3 weeks and 3 months. # $p = 0.00876$ vs control. (c) Soft X-ray images of the ossicle formed after 3 months of implantation. Data are expressed as the mean \pm standard deviation. $n = 7$ for control group, $n = 8$ for 80n-MWCNTs group.

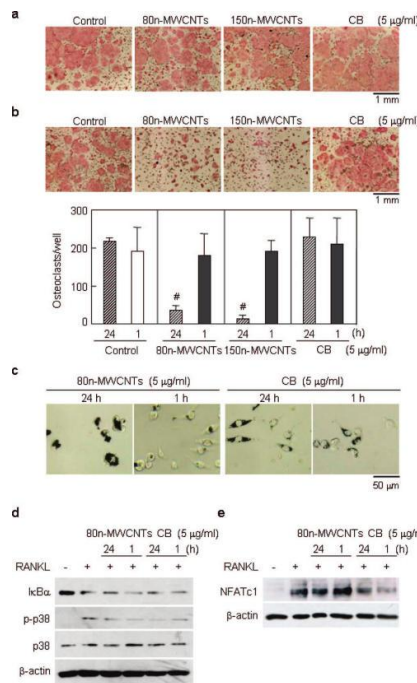


Figure 3. MWCNTs incorporated into BMMs inhibited the differentiation of BMMs into osteoclasts. (a) BMMs were cultured for 3 days with RANKL (100 ng/ml) and M-CSF (25 ng/ml) in the presence or absence of 80n-MWCNTs, 150n-MWCNTs, or CB. Cells were fixed and stained for TRAP. $n = 4$. (b) BMMs were treated with or without 80n-MWCNTs, 150n-MWCNTs, or CB for 24 h or 1 h. BMMs were further cultured for 3 days in the presence of RANKL (100 ng/ml) and M-CSF (25 ng/ml), fixed, and stained for TRAP. $n = 4$. # $p < 0.001$ vs control. (c) Phase-contrast microscopy of BMMs treated with 80n-MWCNTs or CB. BMMs were incubated for 24 h with 80n-MWCNTs or CB, fixed, and observed under a phase-contrast microscope. (d, e) Neither 80n-MWCNTs nor CB attenuated RANKL-induced signals in BMMs. BMMs were cultured with or without 80n-MWCNTs or CB under the same conditions as those in the experiments in (b). BMMs were then treated for 20 min with RANKL (100 ng/ml) to activate NF- κ B and p38 MAPK (d). BMMs were treated with RANKL (100 ng/ml) for 24 h to induce NFATc1 (e). Cell lysates were subjected to SDS-PAGE, followed by immunoblotting with specific antibodies.

⑤ 破骨細胞の活性化および生存における MWCNTs の作用

50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の MWCNTs は、破骨細胞の活性化、および生存を抑制した。一方、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の CB はその両者には影響しなかった。また、電子顕微鏡解析の結果、80nM-MWCNTs は、破骨細胞に取り込まれ、ミトコンドリアの近傍に存在することが明らかになった。

以上より、MWCNTs は、破骨細胞に取り込まれ、NFATc1 の核移行を何らかの機構により抑制し、破骨細胞の分化、活性化、および生存を抑制することが明らかになった。MWCNTs の

これらの機能を応用し、生体内における骨吸収抑制性の生体材料への利用が考えられる。今後、臨床応用に向けた研究をさらに進めたいと考えている。

(2) 骨芽細胞に対する CNT の作用

⑥ 骨芽細胞様細胞への MWCNTs の添加実験
MWCNTs の骨芽細胞による石灰化に対する影響について検討した。MWCNTs やカーボンブラック (CB)、および界面活性剤 (CMC) 添加による骨芽細胞増殖への影響は認められなかった。石灰化については MWCNTs 群で石灰化の亢進が認められた。骨芽細胞の ALP 活性は各群間に差は認められなかった。MC3T3-E1 において、培養 5 週目 MWCNT 群では石灰化を認めたが、PA6 では、6 週目でも石灰化は認められなかった。骨芽細胞培養系において MWCNTs を添加すると、骨芽細胞の増殖や ALP 活性に影響せず石灰化を促進することが明らかになった。さらにこの作用は骨芽細胞系の細胞に特徴的な現象であることが分かった。以上より、MWCNTs を生体材料に応用する場合に、骨組織修復などに有利に働く可能性が示唆された (学会発表 7)。

⑦ MWCNTs の石灰化促進作用機構の解析

MWCNTs が石灰化を促進する機構について解析し、次の事象を見出した。走査型電子顕微鏡観察では、MWCNTs 周囲には石灰化培養液による培養 1 週の時点で結晶が析出しており、元素分析を行うと、Ca や Na など培養液中に存在する様々な元素であった。次に Ca を定量すると、CMC と比較し、多くの Ca が析出し、また MWCNTs 濃度依存的に Ca は増加していた。次に骨芽細胞培養において、培養液中の Ca 濃度を上昇させると、ALP 染色は濃度依存的に強くなり、また成熟骨芽細胞であることを示す osteocalcin の遺伝子発現も、濃度依存的に増加していた。MWCNTs は、骨芽細胞が存在しない状態でも Ca を引き寄せており、MWCNTs 周囲の Ca 濃度は局所的に高まると考えられる。またその上昇した Ca 濃度の影響により、骨芽細胞の成熟化が促され、MWCNTs は相乗的に骨芽細胞による石灰化を促進することが考えられた (学会発表 1, 2)。

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 40 件)

- (1) Ninomiya T(1), Hosoya A(2), Koide M(4), Nakamura H(9), Ozawa H(10) (他 5 名)
Prostaglandin E₂ receptor EP4-selective agonist (ONO-4819) increases bone formation by modulating mesenchymal cell differentiation. *Eur J Pharmacol.* (査読有)2011; 650:396-402.
- (2) Yonezawa T(1), Ninomiya T(4), Ozawa

H(8) (他 8 名) Harmine, a b-carboline alkaloid, inhibits osteoclast differentiation and bone resorption *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Pharmacol.* (査読有)2011; 650:511-518

- (3) Kariya Y(1), Ninomiya T(5), Nakamichi Y(6), Udagawa N(7) (他 4 名) Rab27a and Rab27b are involved in stimulation-dependent RANKL release from secretory lysosomes in osteoblastic cells. *J Bone Miner Res.* (査読有)2011; 26:689-703
- (4) Lee JM(1), Hosoya A(4) (他 7 名) Runx3 is a crucial regulator of alveolar differentiation and lung tumorigenesis in mice *Differentiation* (査読有)2011; 81: 261-268.
- (5) Takahashi N(1), Mizoguchi T(4) (他 2 名) Identification of cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors in vivo. *Adv Exp Med Biol.* (査読有)2010; 658:21-30.
- (6) Aoki S(1), Nakamichi Y(4), Ninomiya T(5), Takahashi N(6), Udagawa N(7) (他 3 名) Function of OPG as a traffic regulator for RANKL is crucial for controlled osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* (査読有)2010; 25:1907-1921.
- (7) Tanaka K(1), Ninomiya T(4) (他 3 名) Deficiency of vitamin A delays bone healing process in association with reduced BMP2 expression after drill-hole injury in mice. *Bone.* (査読有)2010; 47:1006-1012.
- (8) Nakamura H(1), Ninomiya T(3), Hosoya A(4), Ozawa H(6) (他 3 名) Localization of Thy-1-positive cells in the perichondrium during endochondral ossification. *J Histochem Cytochem* (査読有)2010; 58:455-462.
- (9) Hiraga T, Ninomiya T, Hosoya A, Nakamura H Administration of the bisphosphonate Zoledronic Acid during tooth development inhibits tooth eruption and formation, and induces dental abnormalities in rats. *Calcified Tissue Int* (査読有)2010; 56:502-510.
- (10) Hosoya A(1), T. Ninomiya T(2), Ozawa H(7), Nakamura H(8) (他 3 名) Potential of periodontal ligament cells to regenerate alveolar bone. *J Oral Biosci.* (査読有)2010; 52: 72-80.
- (11) Lee KS (1), Hosoya A(13) (他 19 名) Runx3 is required for the

- differentiation of lung epithelial cells and suppression of lung cancer. *Oncogene*. (査読有)2010; 29:3349-3361.
- (12) Hosoya A (1) (他 6 名) Immunohistochemical localization of cytokeratins in the junctional region of ectoderm and endoderm. *Anat Rec (Hoboken)*. (査読有)2010; 293:1864-1872.
- (13) Zhao C(1), Hosoya A(4), Nakamura H (6) (他 3 名) Temporomandibular joint response to mandibular deviation in rabbits detected by 3D micro-CT imaging. *Arch Oral Biol*. (査読有)2010; 55:929-937.
- (14) Koide M, Kinugawa S, Takahashi N, Udagawa N. Osteoclastic bone resorption induced by innate immune responses. *Periodontol 2000*. (査読有)2010; 54:235-246.
- (15) Koide M(1), Ninomiva T (3), Mizoguchi T(4), Yamashita T (5), Nakamura H(9), Takahashi N(10), Udagawa N(11)(他 4 名) Diphenylhydantoin inhibits osteoclast differentiation and function through suppression of NFATc1 signaling. *J Bone Miner Res*. (査読有)2009; 24:1469-1480.
- (16) Narita N(1), Nakamura H(3), Mizoguchi T(6), Ozawa H(11), Udagawa N(12), Takahashi N(14)(他 9 名) Multiwalled carbon nanotubes specifically inhibit osteoclast differentiation and function. *Nano Lett*. (査読有)2009; 9:1406-1413.
- (17) Takahashi M(1), Mizoguchi T(2), Nakamichi Y (4), Yamashita T (7), Udagawa N(10), Takahashi N(12) (他 6 名) Docetaxel inhibits bone resorption through suppression of osteoclast formation and function different manners. *J. Bone Miner. Metab*. (査読有)2009; 27:24-35.
- (18) Mizoguchi T(1), Udagawa N(3), Yamashita T(5), Hosoya A(6), Ninomiva T(7), Nakamichi Y(12), Takahashi N(20)(他 13 名) Identification of cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors in vivo. *J Cell Biol*. (査読有)2009; 184:541-554.
- (19) de Freitas PH (1), Ninomiva T (3), Udagawa N(7)(他 7 名) Intermittent parathyroid hormone administration without leading to enhanced bone formation in osteoclast-less *c-fos*^{-/-} mice. *J Bone Miner Res*. (査読有)2009; 24:1586-1597.
- (20) Kodama N (1), Ninomiva T (5) (他 4 名) A local bone anabolic effect of rhFGF2-impregnated gelatin hydrogel by promoting cell proliferation and coordinating osteoblastic differentiation. *Bone*. (査読有)2009; 44:699-707.
- (21) Tomimori Y (1), Koide M (3), Nakamichi Y (4), Ninomiva T (5), Udagawa N(6) (他 2 名) Evaluation of pharmaceuticals with a novel fifty hour animal model of bone loss. *J Bone Miner Res*. (査読有)2009; 24:1194-1205.
- (22) Gonzales C (1), Ninomiva T (4) (他 7 名) An in vivo 3D micro-CT evaluation of tooth movement after the application of different force magnitudes in rat molar. *Angle Orthodontist*. (査読有)2009; 79:703-714.
- (23) Hiraga T, Ninomiva T, Hosoya A, Takahashi M, Nakamura H Formation of bone-like mineralized matrix by periodontal ligament cells in vivo: a morphological study in rats. *J Bone Miner Metab*. (査読有)2009; 27:149-157.
- (24) Kawahara I, Koide M, Tadokoro O, Udagawa N, Nakamura H, Takahashi N, Ozawa H The relationship between calcium accumulation in osteoclast mitochondrial granules and bone resorption. *Bone*. (査読有)2009; 45:980-986.
- (25) Hosoya A (1) (他 4 名) Expression of p63 during early craniofacial development of the mouse embryo. *Dev Reprod*. (査読有)2009; 13:89-95.
- (26) Cho KW (1), Hosoya A (4) (他 5 名) ERK activation is involved in tooth development via FGF10 signaling. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. (査読有)2009; 312:901-911.
- (27) Cai J (1), Hosoya A (5) (他 6 名) Chick tooth induction revisited. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. (査読有)2009; 312:465-472.
- (28) Uchiyama M (1), Nakamichi Y (2), Udagawa N(6) (他 5 名) Dental pulp and periodontal ligament cells support osteoclastic differentiation. *J Det Res*. (査読有)2009; 88: 609-614.
- (29) Shanmugarajan S (1), Koide M (3) (他 5 名) IL-12 stimulates the osteoclast inhibitory peptide-1 (OIP-1/hSca) gene expression in CD4⁺ T cells. *J Cell*

- Biochem* (査読有)2009; 10: 104-111.
- (30)成田信代、斎藤直人、小澤英浩、破骨細胞の分化と機能に対するカーボンナノチューブの影響、*The Bone* (査読無)、23、2009、235-239.
- [学会発表] (計 21 件)
- (1) 清水政幸、多層カーボンナノチューブの石灰化に対する影響、日本整形外科学会基礎学術集会 (第 25 回)、2010 年 10 月 15 日、京都・国立京都国際会議場
- (2) Shimizu M、Multi-walled Carbon Nanotubes promote osteoblastic mineralization、7th Combined Meeting of Orthopaedic Research Societies (CORS)、2010 年 10 月 17 日、京都・国立国際会議場
- (3) Mizoguchi T、Isolation and characterization of osteoclast precursors in vivo、2nd International Bone and Mineral Society Davos Workshop 2010 年 3 月 16 日、ダボス、スイス
- (4) Mizoguchi T、Isolation and characterization of osteoclast precursors in vivo、Bone Research Seminar (第 4 回) 2010 年 2 月 19 日、東京・東京コンファレンスセンター
- (5) 溝口利英、In vivo における破骨細胞前駆細胞の同定と分化機構の解析、Osteoimmunology Forum (第 7 回) 2010 年 2 月 6 日、東京・東京大学
- (6) 溝口利英、Characterization of cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors、第 26 回内藤カンファレンス オステオバイオロジー、2009 年 11 月 5 日、兵庫・淡路夢舞台国際会議場
- (7) 清水政幸、カーボンナノチューブの骨芽細胞に対する影響、日本整形外科学会 (第 24 回)、2009 年 11 月 5 日、横浜・パシフィコ横浜
- (8) 溝口利英、生体内における破骨細胞前駆細胞の同定と性状解析、骨発生・再生研究会 (第 12 回)、2009 年 10 月 31 日、東京・慶応義塾大学
- (9) 溝口利英、破骨細胞前駆細胞の同定と動態解析、運動器科学研究会 (第 10 回)、2009 年 9 月 18 日、東京・東京ステーションコンファレンス
- (10) 溝口利英、「ミニシンポジウム」骨芽細胞/ストローマ細胞が支持する破骨細胞ニッチ、日本骨代謝学会学術集会 (第 27 回)、2009 年 7 月 24 日、大阪・大阪国際会議場
- (11) 溝口利英、Identification of cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors in vivo、硬組織研究セミナー (第 5 回)、2009 年 7 月 1 日、東京・

- 慶応義塾大学
- (12) Mizoguchi T、The influence of titanium-dioxide-doped phosphate-based glass on MC3T3-E1、87nd General Session & Exhibition of the IADR、2009 年 4 月 3 日、マイアミ・USA
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
溝口 利英 (MIZOGUCHI TOSHIHIDE)
松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師
研究者番号: 90329475
- (2) 研究分担者
小出 雅則 (KOIDE MASANORI)
松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師
研究者番号: 10367617
中道 裕子 (NAKAMICHI YUKO)
松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師
研究者番号: 20350829
山下 照仁 (YAMASHITA TERUHITO)
松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師
研究者番号: 90302893
細矢 明宏 (HOSOYA AKIHIRO)
松本歯科大学・歯学部・講師
研究者番号: 70350824
二宮 禎 (NINOMIYA TADASHI)
松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師
研究者番号: 00360222
- (3) 連携研究者
宇田川 信之 (UDAGAWA NOBUYUKI)
松本歯科大学・歯学部・教授
研究者番号: 70245801
高橋 直之 (TAKAHASHI NAOYUKI)
松本歯科大学・大学院歯学独立研究科・教授
研究者番号: 90119222
中村 浩彰 (NAKAMURA HIROAKI)
松本歯科大学・歯学部・教授
研究者番号: 50227930
小澤 英浩 (OZAWA HIDEHIRO)
松本歯科大学・大学院歯学独立研究科・教授
研究者番号: 60018413