

平成 23年 4月 21日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390473

研究課題名 (和文) 転写因子 NF- $\kappa$ B による破骨細胞分化の分子機構の解明と歯周病治療戦略への展開研究課題名 (英文) The molecular mechanisms by which NF- $\kappa$ B regulates osteoclastogenesis and its application for the treatment of periodontitis

研究代表者 自見 英治郎 (EIJIRO JIMI)

九州歯科大学・歯学部・歯学科・教授

研究者番号：40276598

研究成果の概要 (和文)：

転写因子 NF- $\kappa$ B のオルタナティブ活性化機構は、主に NF- $\kappa$ B-inducing kinase (NIK)、IKK $\alpha$ 、p100/p52 と RelB によって構成される。この活性化機構は、NIK によって p100 からプロセシングされた p52 が RelB とヘテロダイマーを構成し、標的遺伝子の発現を調節する。これまでに NF- $\kappa$ B の p50 および p52 サブユニット2重欠損マウスが破骨細胞の存在しない大理石骨病を呈することから、NF- $\kappa$ B が破骨細胞分化に必須であると考えられるが、その詳細な分子機構はよくわかっていない。我々は破骨細胞分化における NF- $\kappa$ B のオルタナティブ活性化機構の役割を解明するために、NIK 遺伝子の不活性化型変異によって p100 から p52 へのプロセシングが起きない Alymphoplasia (*aly/aly*) マウスの骨を解析した。*Aly/aly* マウスは破骨細胞数の減少による大理石骨病を呈した。In vivo の結果と同様に *aly/aly* マウス由来の骨髄細胞は野生型マウス由来の骨髄細胞と比較して RANKL 刺激による破骨細胞形成が抑制された。*aly/aly* マウス由来の細胞では野生型マウス由来の細胞と同様に RANKL 刺激による IkB $\alpha$  の分解や ERK のリン酸化が起こるが、p100 から p52 への分解が抑制された。さらに破骨細胞分化のマスターレギュレーターである NFATc1 の発現も低下していた。そこで、NFATc1 を遺伝子導入すると *aly/aly* マウス由来の骨髄細胞における破骨細胞形成の抑制は解除された。さらに構成的活性化型 IKK $\alpha$  および p52 を遺伝子導入しても同様に破骨細胞形成の抑制は解除された。次に p100 および p52 が存在しない NF- $\kappa$ B2 欠損マウス由来の骨髄細胞を用いて、プロセシングの起きない p100 ( $\Delta$ GRR) を遺伝子導入すると破骨細胞形成が抑制されたが、p52 を遺伝子導入すると破骨細胞形成の抑制が解除された。p100 が存在せずに p52 だけが存在する p100 欠損マウスでは破骨細胞形成の亢進による骨粗鬆症を呈することから、p100 と p52 の発現バランスが破骨細胞形成に重要であると考えられる。

一方、広範囲にわたる骨欠損は骨吸収を抑制しても骨欠損部位の骨を再生しなければ、骨としての機能を回復することができない。骨誘導タンパク質 (Bone Morphogenetic Protein : BMP) は *in vivo* で骨形成を誘導するだけでなく、*in vitro* で間葉系幹細胞から骨芽細胞分化を誘導するが、炎症の場で産生される腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor : TNF)  $\alpha$  は BMP による骨形成と骨芽細胞分化を抑制する。しかし、TNF $\alpha$  が BMP の効果を抑制する分子機構はよくわかっていない。そこで、本研究では TNF $\alpha$  による BMP シグナルの抑制メカニズムを解明することを目的とした。まず、マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞を用いて、TNF $\alpha$  が BMP2 刺激による骨芽細胞分化と BMP2 または Smad1 依存性の転写活性を著明に抑制することがわかった。TNF $\alpha$  は Smad1/5/8 のリン酸化および Smad1/4 の複合体の形成と核移行に影響しなかった。NF- $\kappa$ B の主要なサブユニットである p65 欠損マウス由来の線維芽細胞に p65 を遺伝子導入すると p65 の発現量依存的に BMP2 または Smad1 依存性の転写活性を抑制し、この抑制効果は NF- $\kappa$ B の抑制タンパク質であるドミナントネガティブ型の IkB $\alpha$  を発現させると解消された。TNF $\alpha$  刺激は Smad1 と Smad4 の会合を阻害しなかったが、Smad の標的遺伝子プロモーター領域の DNA への結合を阻害した。また、NF- $\kappa$ B の選択的阻害剤 Bay11-7082 で前処理すると TNF $\alpha$  による BMP 誘導性骨芽細胞分化の抑制が解除された。これらの結果より、TNF $\alpha$  は BMP 刺激による Smad の DNA への結合を阻害することで骨芽細胞分化を抑制すると考えられた。

研究成果の概要 (英文)

The alternative NF- $\kappa$ B pathway consists predominantly of NF- $\kappa$ B-inducing kinase (NIK), IKK kinase (IKK) $\alpha$ , p100/p52, and RelB. The hallmark of the alternative NF- $\kappa$ B signaling is the processing of p100 into p52 through NIK, thus allowing the binding of p52 and RelB. Although gene targeting of the p50 and p52 subunits of NF- $\kappa$ B has shown that NF- $\kappa$ B plays a critical role in osteoclast differentiation, the physiologic relevance of alternative NF- $\kappa$ B activation in bone biology, however, is not well understood.

To address this issue, we analyzed alymphoplasia (*aly/aly*) mice in which the processing of p100 to p52 does not occur owing to an inactive form of NIK. *Aly/aly* mice showed a mild osteopetrosis with significantly reduced osteoclast numbers. RANKL-induced osteoclastogenesis from bone marrow cells of *aly/aly* mice also was suppressed. RANKL still induced the degradation of I $\kappa$ B  $\alpha$  and activated classical NF- $\kappa$ B, whereas processing of p100 to p52 was abolished by the *aly/aly* mutation. Moreover, RANKL-induced expression of NFATc1 was impaired in *aly/aly* bone marrow. Overexpression of constitutively active IKK  $\alpha$  or p52 restored osteoclastogenesis in *aly/aly* cells. The transfection of either wild-type p100, p100  $\Delta$ GRR that cannot be processed to p52, or p52 into NF- $\kappa$ B2-deficient cells followed by RANKL treatment revealed a strong correlation between the number of osteoclasts induced by RANKL and the ratio of p52 to p100 expression. To determine the role of p100 itself without the influence of a concomitant lack of p52, we used p100-deficient mice, which specifically lack the p100 inhibitor but still express p52. p100-deficient mice have an osteopenic phenotype owing to the increased osteoclast. Our data suggest a pivotal role of the alternative NF- $\kappa$ B pathway, especially of the inhibitory role of p100, in both basal and stimulated osteoclastogenesis in bone resorption.

Bone morphogenetic proteins (BMPs) induce not only bone formation *in vivo* but also osteoblast differentiation of mesenchymal cells *in vitro*. Tumor necrosis factor (TNF)  $\alpha$  inhibits both osteoblast differentiation and bone formation induced by BMPs. However, the molecular mechanisms of these inhibitions remain unknown. In this study, we found that TNF  $\alpha$  inhibited the alkaline phosphatase activity and markedly reduced BMP2- and Smad-induced reporter activity in MC3T3-E1 cells. TNF  $\alpha$  had no effect on the phosphorylation of Smad1, Smad5, and Smad8 or on the nuclear translocation of the Smad1-Smad4 complex. In p65-deficient mouse embryonic fibroblasts, overexpression of p65, a subunit of NF- $\kappa$ B, inhibited BMP2- and Smad-induced reporter activity in a dose-dependent manner. Furthermore, this p65-mediated inhibition of BMP2- and Smad-responsive promoter activity was restored after inhibition of NF- $\kappa$ B by the overexpression of the dominant negative I $\kappa$ B  $\alpha$ . Although TNF  $\alpha$  failed to affect receptor-dependent formation of the Smad1-Smad4 complex, p65 associated with the complex. Chromatin immunoprecipitation and electrophoresis mobility shift assays revealed that TNF  $\alpha$  suppressed the DNA binding of Smad proteins to the target gene. Importantly, the specific NF- $\kappa$ B inhibitor, BAY11-7082, abolished these phenomena. These results suggest that TNF  $\alpha$  inhibits BMP signaling by interfering with the DNA binding of Smads through the activation of NF- $\kappa$ B.

#### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2009年度	3,700,000	1,110,000	4,800,000
2010年度	3,700,000	1,110,000	4,800,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,450,000	19,350,000

研究分野：口腔生化学

科研費の分科・細目：歯学、機能系基礎歯科学

キーワード：歯学、細胞・組織、転写因子

#### 1. 研究開始当初の背景

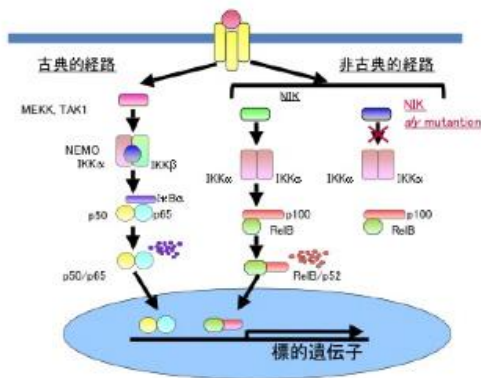
高齢者社会において、歯周病による歯の喪失は快適な日常生活を送る上で大きな問題となっている。歯周病によって歯の土台となる歯槽骨が吸収されると、歯を失うだけでなく義歯の安定も悪くなり、インプラントを植立することも困難になる。歯周病は破骨細胞による骨吸収の亢進が原因の1つであるが、これまでに開発されてきた骨吸収抑制剤の多くは破骨細胞だけを特異的に標的にしたものでない。さらに、ビスホスホ

ネート剤(BPs)は破骨細胞特異的とはいっても長期投与によって顎骨壊死が起こることが報告されている。このような背景から、歯周疾患における歯槽骨吸収の分子機構を解明し、破骨細胞特異的かつ可逆的に骨吸収を調節できる治療薬を開発する必要がある。

NF- $\kappa$ B は Rel Homology domain を共有する5つの転写因子の総称で、炎症反応、免疫応答、発生やがん化など様々な生命現象に深く関与する。NF- $\kappa$ Bは無刺激状態では抑制分子 I $\kappa$ Bと

の複合体として細胞質中に留まっている。しかし、炎症性サイトカインなどの刺激を受けると、IκB キナーゼによって IκBα がリン酸化され、さらに分解される結果、NF-κB が遊離され、核へ移行し、標的遺伝子のプロモーターに結合することで、標的遺伝子の発現を調節する。これを「古典的活性化経路」という。

近年 IκB の分解を伴わない新たな NF-κB の活性化機構が明らかとなった。無刺激状態では、p52 の前駆体 p100 が RelB と会合することで、細胞中に留まり RelB の転写活性を抑制するが、CD40 やリンホトキシンβなどのリンパ節形成に関わるサイトカインの刺激を受けると、NIK や IKKα が活性化され、p100 の C 末領域が分解される結果、RelB/p52 の複合体が形成され、核内で転写活性を示す。これを「オルタナティブ活性化経路」という (図1)。



(図1) NF-κBの活性化機構

NF-κB 分子群の遺伝子改変マウスの解析により、NF-κB が破骨細胞分化因子 RANKL (Receptor Activator of NF-κB Ligand) のシグナル分子としての役割を担い、骨リモデリングの調節に重要であることが明らかとなっている。

## 2. 研究の目的

このような背景から、転写因子 NF-κB を標的とした骨吸収抑制剤の開発を目的に、破骨細胞分化における NF-κB の役割を解明することを試みた。我々は、NIK 遺伝子に点変異を有する自然発症型免疫不全マウス、*aly/aly* マウスを用いて NIK の骨代謝における生理的役割について検討した。さらに、骨誘導因子 BMP と NF-κB のクロストークを解明し、骨欠損部位の骨再生へ応用するための基礎研究を行った。

## 3. 研究の方法

① **野生型、*aly/aly* および p52<sup>-/-</sup>マウスの骨組織の解析**: 4週齢の野生型、*aly/aly* および NF-κB2<sup>-/-</sup>マウスを安楽死させ、大腿骨・脛骨を摘出し、3.7%ホルムアルデヒドで固定した。レジン包埋後、組織切片を作製し、von Kossa 染色および酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い、石灰化した骨量と

破骨細胞数を比較した。

② **破骨細胞の分化誘導**: 野生型、*aly/aly* および NF-κB2<sup>-/-</sup>マウスの骨髄細胞を調製し、マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) 存在下で3日間、さらに M-CSF および RANKL 存在下で3日間培養した後に、細胞を固定し TRAP 染色を行った。TRAP 陽性多核 (3核以上) を破骨細胞として計測した。

③ **ウェスタンブロッティング**: 野生型、*aly/aly* および NF-κB2<sup>-/-</sup>マウスの骨髄細胞を調製し、M-CSF 存在下で3日間培養し、破骨細胞前駆細胞を RANKL で刺激し、経時的にタンパク質を調製した。調製したタンパク質を 10%ポリアクリルアミドゲル電気泳動し、抗 IκBα 抗体、抗 p100/p52 抗体、抗 c-Fos 抗体、抗 NFATc1 抗体、抗 β-actin 抗体を用いてプロットした。

④ **クロマチン免疫沈降法**: 野生型および *aly/aly* マウスの骨髄細胞を調製し、M-CSF 存在下で3日間培養することで誘導された破骨細胞前駆細胞を RANKL で刺激し、DNA-核タンパク質を調製した。調製したタンパク質を NFATc1 プロモーターおよび IκBα プロモーターを用いて免疫沈降を行った。

⑤ **レトロウイルスベクターを用いた破骨細胞前駆細胞への遺伝子導入方法**: 構成的活性型 IKKα (IKKα<sup>EE</sup>)、ドミナントネガティブ型 IKKα (IKKα<sup>KM</sup>) および RelB 遺伝子のウイルスベクターを野生型、*aly/aly* および NF-κB2<sup>-/-</sup>マウスの骨髄細胞に感染させた。蛍光顕微鏡で GFP の発現を確認した後に M-CSF および RANKL 存在下で3日間培養した後に、破骨細胞数を計測した。

⑥ **骨芽細胞分化マーカーの検討**: MC3T3-E1 細胞を未処理または、TNFα (10 ng/ml) で前処理し、30 分後に BMP2 (100 ng/ml) で処理し、72 時間後に骨芽細胞の分化マーカーであるアルカリホスファターゼ (ALP) 染色、および活性を測定した。

⑦ **BMP 標的遺伝子 Id-1 ルシフェラーゼ活性の測定**: MC3T3-E1 細胞に BMP の標的遺伝子である Id1 遺伝子のプロモーターにルシフェラーゼ遺伝子を繋いだコンストラクト Id1-Luc を遺伝子導入した。24 時間後に、MC3T3-E1 細胞を未処理または TNFα (10 ng/ml) で前処理し、30 分後に BMP2 (100 ng/ml) で処理した。24 時間後、BMP 刺激による Id1 のルシフェラーゼ活性を測定した。

⑧ **BMP2 刺激による Smad1 と 4 の会合におよぼす TNFα の効果**: MC3T3-E1 細胞を未処理または、TNFα (10 ng/ml) で前処理し、30 分後に BMP2 (100 ng/ml) で処理した。1 時間後、それぞれ抗 Smad1 抗体、抗 Smad4 抗体 および抗 p65 抗体を用いて免疫沈降を行いさらに抗 Smad1 抗体、抗 Smad4 抗体 および抗 p65 抗体を用いてブロッティングを行った。

⑨ **Smad の DNA 結合能におよぼす影響の検討**



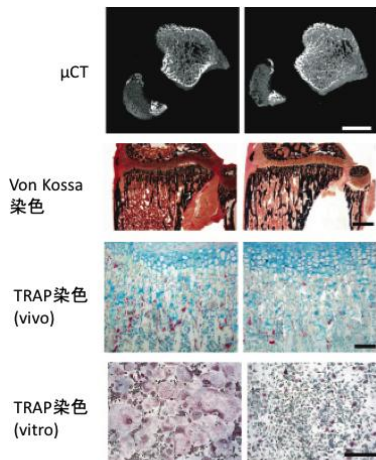
**① クロマチン免疫沈降法:**MC3T3-E1 細胞を未処理または、TNF $\alpha$  (10 ng/ml)で前処理し、30 分後に BMP2 (100 ng/ml)で処理した。ホルムアルデヒドで DNA とタンパク質を架橋し、それぞれ抗リン酸化 Smad1/5/8 抗体および抗 p65 抗体を用いて免疫沈降を行った。Id1 および Smad6プロモーター領域のプライマーを用いて PCR をおこなった。

**② ゲルシフトアッセイ:**MC3T3-E1 細胞を未処理または、NF- $\kappa$ B の選択的阻害剤 BAY11-7082 (1.0  $\mu$ M)で前処理し、さらに TNF $\alpha$  (10 ng/ml)で前処理 30 分後に BMP2 (100 ng/ml)で処理した。1時間後に核タンパク質を調製して、BMP 応答性領域を含むプローブを用いて、ゲルシフトアッセイ法を行った。また同様の刺激後に抗 Smad1,Smad4 抗体を用いてスーパーシフトを行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) NIK は破骨細胞形成に重要である

4週齢の野生型および *aly/aly*マウスの脛骨を採取し、非脱灰切片を作成し、 $\mu$ CT による解析、von Kossa 染色および TRAP 染色を行った。 $\mu$ CT および von Kossa 染色の結果より、*aly/aly*マウスは野生型マウスと比較して著明な骨量増加と TRAP 陽性の破骨細胞の減少が認められた。これらの結果から、*aly/aly*マウスでは破骨細胞数が減少することによって骨量の増加が引き起こされると考えられた(図2)。



(図2)WTおよび*aly/aly*マウスの骨組織像

##### (2) *aly/aly* マウス由来の破骨細胞前駆細胞では RANKL によって誘導される NF- $\kappa$ B の非古典的経路が抑制される

野生型および *aly/aly*マウス由来破骨細胞前駆細胞を RANKL で刺激し、経時的にタンパクを調製し、抗 I $\kappa$ B $\alpha$ 抗体を用いて NF- $\kappa$ B の古典的経路の活性化および抗 ERK 抗体を用いて MAPキナーゼの活性化を検討したところ、両者に差はなかった。また両細胞で RANKL 刺激後 p50 と p65 の I $\kappa$ B $\alpha$ プロモーターへの結合が認められたが、*aly/aly*マウス由来の細胞では p52 および

RelB は結合しなかった。さらに *aly/aly*マウスでは p100 から p52 へのプロセッシングが抑制された。これらの結果から、*aly/aly*マウスでは NF- $\kappa$ B 非古典的経路が抑制されていると考えられた。

##### (3) RANKL によって誘導される NFATc1 の発現は *aly/aly* マウスにおいて抑制される

野生型および *aly/aly*マウス由来破骨細胞前駆細胞を RANKL で刺激し、破骨細胞分化に必須の転写因子、c-Fos および NFATc1 の発現を検討したところ、*aly/aly*マウス由来の細胞では、NFATc1 の発現が抑制されていた。さらにクロマチン免疫沈降法でも p52 および RelB の NFATc1 プロモーターへの結合も抑制されていた。

そこで、レトロウイルスベクターを用いて *aly/aly*マウス由来破骨細胞前駆細胞に c-Fos および NFATc1 を強制発現させると、NFATc1 を発現させた場合で *aly/aly*マウスにおける破骨細胞形成の抑制が解除された。

##### (4) 構成的活性型 IKK $\alpha$ および p52 の過剰発現は *aly/aly* マウスにおける破骨細胞形成の抑制を解除する

次にレトロウイルスベクターを用いて NIK の下流因子である IKK $\alpha$ の構成的活性型および NF- $\kappa$ B2p52 を *aly/aly*マウス由来破骨細胞前駆細胞に強制発現させた。その結果、構成的活性型 IKK $\alpha$ および NF- $\kappa$ B2p52 を強制発現させると *aly/aly*マウスにおける破骨細胞形成の抑制が解除された。

##### (5) p100 から p52 へのプロセッシングは RANKL による破骨細胞形成に重要である

*aly/aly*マウスでは、p52 が存在しないことが破骨細胞分化の抑制に関与している可能性を検討するため、NF- $\kappa$ B2 の p100 と p52 の両分子を欠損している NF- $\kappa$ B2 $^{-/-}$ マウスの骨組織切片および破骨細胞形成能を検討した。NF- $\kappa$ B2 $^{-/-}$ マウスの骨組織は野生型マウスの骨組織と殆ど変化がなかった。また、各マウス由来の破骨細胞前駆細胞を用いて、破骨細胞を誘導すると、NF- $\kappa$ B2 $^{-/-}$ マウス由来の細胞では破骨細胞形成が若干増加していた。次に NF- $\kappa$ B2 $^{-/-}$ マウスの破骨細胞前駆細胞に NF- $\kappa$ B2WT, p100 が p52 にプロセッシングされない NF- $\kappa$ B2  $\Delta$  GRR, プロセッシング後の産物である p52 をそれぞれ遺伝子導入したところ、p100 存在下で破骨細胞形成が抑制され、p52 存在下で促進された。

以上の結果から、*aly/aly*マウスに見られる破骨細胞数の減少は、RANKL 刺激による NF- $\kappa$ B の非古典的経路の抑制が要因であり、さらに破骨細胞形成は p100 と p52 の発現バランスによって調節されていることが示唆された。

##### (6) TNF $\alpha$ は BMP2 刺激による骨芽細胞分化を

## 抑制する

マウス前骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞を BMP2 で刺激すると ALP 活性の上昇と多数の ALP 陽性細胞が出現した。しかし、TNF $\alpha$  で前処理した後に BMP2 で刺激すると、ALP 活性の上昇および ALP 陽性細胞の出現が抑制された。さらに、Id1-Luc を MC3T3-E1 細胞に遺伝子導入した後に、BMP2 で刺激すると転写活性が上昇したが、TNF $\alpha$  で前処理すると BMP2 による Id1 の転写活性が抑制された。

## (7) NF- $\kappa$ B, p65 サブユニットは BMP2/Smad シグナルを抑制する

TNF $\alpha$  のシグナル伝達分子として NF- $\kappa$ B の関与を検討した。NF- $\kappa$ B の p65 サブユニット遺伝子欠損 (p65 $^{-/-}$ ) マウス胎仔線維芽細胞に p65 遺伝子を強制発現すると NF- $\kappa$ B の転写活性は p65 の濃度に依存的に上昇した。一方、BMP2 で刺激すると、Id1 の転写活性は p65 の濃度依存的に抑制された。

## (8) TNF $\alpha$ は BMP2 刺激による Smad1 と Smad4 の会合を阻害しない

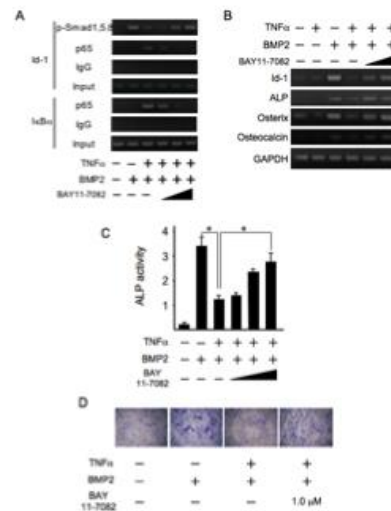
MC3T3-E1 細胞を BMP2 で刺激すると BMP 刺激依存的に Smad1 と Smad4 が会合した。次に TNF $\alpha$  で前処理した後に、BMP2 で刺激し、抗 Smad1, Smad4 および p65 抗体を用いて免疫沈降を行ったところ、TNF $\alpha$  の前処理によって Smad1 と Smad4 の会合は阻害されなかったが、p65 が Smad1,4 と会合した。また BAY11-7082 にて前処理を加えると p65 の会合は起こらなかった。

## (9) TNF $\alpha$ は NF- $\kappa$ B の活性化を介して Smad の DNA 結合を阻害する

TNF $\alpha$  で前処理後、BMP2 で刺激し、Smad1,4 の DNA への結合を Id-1 領域のプライマーおよび Smad のもう一つの結合領域である Smad6 の領域のプライマーを用いて、クロマチン免疫沈降法を行った。さらに Id-1 領域内に存在する Smad 結合領域である BMP Responsive Element : BRE 領域のプロンプを用いてゲルシフトアッセイ法で検討したところ、TNF $\alpha$  の前処理で Smad1,4 の DNA への結合が阻害された。

## (10) Bay11-7082 は TNF $\alpha$ による Smad の DNA 結合の抑制および骨芽細胞分化の抑制を解除する

また NF- $\kappa$ B の阻害剤である BAY11-7082 で前処理の後、TNF $\alpha$  および BMP2 処理を行い、クロマチン免疫沈降法、RT-PCR 法、ALP 染色および ALP 活性を測定したところ、BAY11-7082 の濃度依存的に TNF $\alpha$  による Smad1,4 の DNA への結合抑制、骨芽細胞分化マーカーの mRNA の発現抑制および ALP 染色および ALP 活性もほぼ回復した(図3)。



(図3) Bay11-7082の前処理はTNF $\alpha$ によるBMP2誘導性の骨芽細胞分化の抑制を解除する

以上の結果から、TNF $\alpha$ は BMP 刺激による Smad の DNA への結合を阻害することで骨芽細胞分化を抑制すると考えられ

## 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4件)

1. Maruyama T, Fukushima H, Nakao K, Shin M, Yasuda H, Weih F, Doi T, Aoki K, Alles N, Ohya K, Hosokawa R, Jimi E. Processing of the NF- $\kappa$ B2 precursor, p100, to p52 is critical for RANKL-induced osteoclast differentiation. *J Bone Miner Res.* 2010 25:1058-1067.
2. Soysa NS, Alles N, Weih D, Lovas A, Mian AH, Shimokawa H, Yasuda H, Weih F, Jimi E, Ohya K, Aoki K. The Pivotal role of the alternative NF- $\kappa$ B pathway in maintenance of basal bone homeostasis and osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* 2010 25: 809-818.
3. Jimi E, Hirata S, Shin M, Yamazaki M, Fukushima H. Molecular mechanisms of BMP-induced bone formation: cross-talk between BMP and NF- $\kappa$ B signaling pathways in osteoblastogenesis. *J Dent Sci Rev.* 2010 46:33-42. Review
4. Yamazaki M, Fukushima H, Shin M, Katagiri T, Doi T, Takahashi T, Jimi E. TNF $\alpha$  represses BMP signaling by interfering with the DNA binding of Smads through the activation of NF- $\kappa$ B. *J Biol Chem.* 2009 284:35987-35995.

[学会発表] (計21件)

1. 妹尾 吉訓, 福島 秀文, 片桐 岳信, 青木 和広, 永野 健一, 大谷 啓一, 細川隆司, 自見 英治郎 *aly/aly* マウスにおける骨形成メカニズムの解明 第52回歯科基礎医

- 学会学術大会ならびに総会 平成 22 年9月 20-22 日 千葉
2. 平田 志津、北村 知昭、寺下 正道、自見 英治郎 転写因子NF-κBはSmadのDNA結合を抑制することでBMPシグナルを抑制する 口腔先端応用医科学研究会 第3回学術会議 平成23年1月22日 東京
  3. Jimi E. The role of nuclear factor-κB in the immune system and bone 2011 SRC International Symposium on cell dynamics and bioimaging 2011 Feb. 23 Gwangju, Korea
  4. Jimi E. NF-κB, as a good target for inflammatory bone diseases. QOL2011 国際シンポジウム 平成 23 年2月9,10 日 新潟
  5. Hirata S, Kitamura C, Terashita M, Jimi E Transcription factor NF-κB, p65 inhibits BMP signal by the association with Smad4 QOL2011 国際シンポジウム 平成 23 年2月9,10 日 新潟
  6. Seo Y, Fukushima H, Maruyama T, Aoki K, Nagano K, Ohya K, Hosokawa R, Jimi E. Physiological and ectopic bone formation is increased in *aly/aly* mice. IADR 2011 March 17 San Diego
  7. 平田志津、自見英治郎、北村知昭、寺下正：BMP による骨芽細胞分化におけるNF-κB シグナルの生理的役割 第 130 回日本歯科保存学会春季大会、平成 21 年6月 11,12 日、札幌
  8. 丸山俊正、福島秀文、進正史、保田尚孝、青木和宏、細川隆司、自見英治郎：NF-κB2 の p100 から p52 へのプロセッシングは破骨細胞分化を調節する 第 27 回日本骨代謝学会学術大会、平成 21 年 7 月 24 日、大阪
  9. 平田志津、福島秀文、進正史、片桐岳信、北村知昭、寺下正道、自見英治郎：NF-κB による BMP シグナルの抑制機構の解明 第 51 回歯科基礎医学会、平成 22 年 9 月 10 日、新潟
  10. 山崎雅人、福島秀文、進正史、片桐岳信、高橋哲、自見英治郎：転写因子 NF-κB は BMP シグナルを抑制する第 51 回歯科基礎医学会、平成 21 年 9 月 10 日、新潟
  11. 福島秀文、進正史、丸山俊正、青木和広、大谷啓一、細川隆司、自見英治郎：NF-κB 非古典的経路における破骨細胞分化調節機構 第 51 回歯科基礎医学会、平成 22 年 9 月 10 日、新潟
  12. 自見英治郎：骨芽細胞分化における骨導因子 Bone Morphogenetic Protein と NF-κB のクロストーク 第7回日本再生歯科医学会(シンポジウム) 平成 21 年 9 月 12 日、福岡

13. 山崎 雅人、福島 秀文、片桐 岳信、高橋 哲、自見 英治郎：転写因子NF-κBは骨誘導因子BMPシグナルを抑制する 第50回歯科基礎医学会総会 平成20年9月23-25日 東京
14. 福島 秀文、中尾 加代子、自見 英治郎：NIK *aly* mutantによる骨代謝調節機構第50回歯科基礎医学会総会 平成20年9月23-25日 東京
15. 自見 英治郎：転写因子NF-κBによる骨代謝調節機構 第4回硬組織研究セミナー 平成20年12月16日 慶應義塾大学総合医科学研究棟 東京

(その他 6件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www2.kyu-dent.ac.jp/dept/biochem](http://www2.kyu-dent.ac.jp/dept/biochem/J/Home.html)

[/J/Home.html](http://www2.kyu-dent.ac.jp/dept/biochem/J/Home.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

自見 英治郎 (EIJIRO JIMI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：40276598

(2) 研究分担者

青木 和広 (KAZUHIRO AOKI)

東京医科歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：40272603

福島 秀文 (HIDEFUMI FUKUSHIMA)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：70412624

(3) 連携研究者：なし