

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月4日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592042

研究課題名（和文）ジェネティックエビデンスに基づいた NF- κ B 阻害による
BMP 誘導性骨形成の促進研究課題名（英文）Enhancement of the BMP-induced bone formation by the inhibition of
NF- κ B based on genetic evidence

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

研究成果の概要（和文）：我々は、NF- κ B の非古典的経路の活性化に重要な NF- κ B inducing kinase (*Nik*) 遺伝子に機能欠失型変異を有する自然発症型免疫不全マウス *alymphoplasia(alyl/aly)* マウスが破骨細胞形成の障害による大理石骨病を呈することを報告したが、野生型マウスと比較して骨形成速度、石灰化速度や骨芽細胞数などの骨形成のパラメーターも亢進していることがわかった。そこで、*aly/aly* マウス由来の骨芽細胞を用いて骨芽細胞分化における NF- κ B の非古典的経路の役割について検討した。*aly/aly* マウス由来の骨芽細胞では、野生型マウス由来骨芽細胞と比較して、 β グリセロリン酸とアスコルビン酸刺激によるアルカリホスファターゼ（ALP）活性の誘導や石灰化結節の形成が亢進した。さらに BMP2 刺激による ALP の上昇、オステオカルシン、*Id1*、*Osterix* や *Runx2* などの骨芽細胞の分化マーカーの mRNA の発現および Smad1/5/8 のリン酸化も亢進していた。さらに野生型および *aly/aly* マウスの背部筋膜下に BMP2 (4 μ g) を移植すると野生型と比較して *aly/aly* マウスでは、骨密度の高い海綿骨が充実した異所性骨が形成された。NF- κ B2 の p100 から p52 へのプロセシングの起きない p100 Δ GRR を NF- κ B2 欠損マウス由来の骨芽細胞に遺伝子導入すると BMP2 による ALP 活性と Smad1/5/8 のリン酸化が亢進した。一方、p100 が存在せず p52 だけが存在する p100 欠損マウス由来の骨芽細胞は野生型マウス由来の骨芽細胞と比較して BMP2 による ALP 活性と Smad1/5/8 のリン酸化が減弱した。また、p100 と p52 を BMP の受容体である ALK2 と共発現させると両者とも ALK2 と会合したが、p52 は ALK2 タンパク質の発現を減弱させ、p100 は逆に増強した。これらの結果より、NF- κ B の非古典的経路の p100 から p52 へのプロセシングは BMP の活性を調節することで骨芽細胞分化と骨形成を負に制御することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We previously reported that *alymphoplasia (aly/aly)* mice, which have a natural loss-of-function mutation in the *Nik* gene, which encodes a kinase essential for the processing of p100 to p52 in the alternative nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway, show mild osteopetrosis with an increase in several parameters of bone formation: bone formation rate, mineral apposition rate, and osteoblast number. We therefore investigated the molecular mechanisms triggered by the alternative NF- κ B pathway in the regulation of osteoblast differentiation using primary osteoblasts (POB) prepared from *aly/aly* mice. Alkaline phosphatase (ALP) activity and mineralization induced by the presence of β -glycerophosphate and ascorbic acid were enhanced in POB from *aly/aly* compared with wild-type (WT) mice. Furthermore, osteoblastic differentiation induced by bone morphogenetic protein 2 (BMP2), as shown by ALP activity, mRNA expression of *osteocalcin*, *Id1*, *Osterix* and *Runx2*, and Sma- and Mad-related protein (Smad)1/5/8 phosphorylation, was also enhanced in POB from *aly/aly* mice. The ectopic bone formation *in vivo* that was induced by BMP2 was enhanced in *aly/aly* mice compared with controls. Transfection of a mutant form of p100, p100 Δ GRR, which cannot be processed to p52, stimulated ALP activity and Smad phosphorylation. In contrast to p100 Δ GRR, overexpression of p52 inhibited these events. Both BMP2-induced ALP activity and Smad phosphorylation were reduced in POB from *p100*-deficient mice, which carry a homozygous deletion of the COOH-terminal ankyrin repeats of p100 but still express functional p52 protein. p52 and p100 Δ GRR interacted with a BMP receptor, ALK2, in overexpressed COS7 cells and changed the ALK2 protein levels in opposite

directions: p52 reduced ALK2 and p100 increased it. Thus, the alternative the NF- κ B pathway via the processing of p52 from p100 negatively regulates osteoblastic differentiation and bone formation by modifying BMP activity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学、形態系基礎歯科学

キーワード：骨再生、NF- κ B、骨芽細胞、BMP、骨代謝

1. 研究開始当初の背景

歯周病や顎骨腫瘍切除後の骨欠損は、患者の摂食・発音・審美性など QOL の低下に直結する。これらの治療では、骨造成による顎骨誘導と、それに引き続くインプラントなどの補綴による咬合再建が必要になる。近年、Guided Bone Regeneration : GBR 法の確立と、骨補填材の進歩により、予定している咬合再構築に有利な骨質・骨形態を重視した補綴主導型の骨誘導が重要視されている (Akano H *the Quintessence*. 2009 28:10:70-86)。しかし、顎骨欠損状態によっては外科処置を伴う上に咬合再建に至るまでに6か月以上の治療期間がかかる場合もあり、迅速かつ質の高い効率的な骨誘導法が求められている。

この効率的骨誘導には、「適切な感染・炎症のコントロール」、「PRP (Platelet-Rich Plasma) など骨誘導因子の応用や生体親和性の高い骨補填材の選択」、さらに「フラップデザインや、メンブレンによる十分な骨誘導スペースの確保」が重要である (Huang GT, et.al., *J Dent Res*. 2009 88:792-806)。

BMP (Bone Morphogenetic Protein) は BMP は 1965 年 Urist らによって骨基質中に存在し、異所性の骨形成を誘導するサイトカインとして発見された (Urist, MR. *Science* 1965 150:893-899)。現在、20 種類の BMP の cDNA がクローニングされている。BMP が受容体に結合すると BMP I・II 型受容体が活性化され、細胞内情報伝達分子である Smad1/5/8 をリン酸化する。活性化された Smad1/5/8 は、Smad4 とヘテロ 3 量体を形成して核に移行し、標的遺伝子の発現を調節し骨形成を誘導する (Jimi E, et. al. *J Dent Sci Rev*. 2012 148261)。現在、歯科や整形外科領域で BMP2 と BMP7 の臨床応用を目指した研究がおこなわれているが、十分な骨を誘

導するためには大量の BMP が必要であること、炎症などにより効果が減弱すること、また大量の BMP の投与が炎症・疼痛を惹起するという理由から一般的に普及していない。

転写因子 NF- κ B は、p50, p65, cRel, p52 および RelB の 5 つの分子がホモおよびヘテロダイマーを形成し、炎症の発症や維持、免疫応答などの様々な生命現象を調節する。NF- κ B の活性化機構は IL-1, TNF α などの炎症性サイトカインによる I κ B の分解を伴う古典的経路と、NIK (NF- κ B-inducing kinase) 依存的に p100 のプロセッシングを伴う非古典的経路が存在する (Hayden MS, et. al. *Cell*. 2008 132:344-62)。我々は歯周病などの炎症性骨破壊を抑制する薬剤として NF- κ B の阻害剤である NBD ペプチドを開発し、LPS を用いた骨破壊モデルやコラーゲン関節炎を強力に抑制することを報告してきた (Jimi E, et. al. *Nat Med*. 2004 10:617-624, Fukushima H et. al. *Bone* 2005 36:267-275)。炎症時に産生される TNF α は BMP による骨芽細胞分化を抑制するが、我々は NF- κ B の阻害剤が TNF α による BMP の骨芽細胞分化の抑制を解除することを報告してきた (Yamazaki M, et.al. *J Biol. Chem*. 2009 284:35987-95)。これらの結果は NF- κ B シグナルをうまく制御することで BMP の効率的な骨誘導が可能であることを示唆する。

我々は、NF- κ B シグナル制御下での BMP の投与による効率的骨形成の誘導が可能であるか明らかにするために NF- κ B 分子の遺伝子改変マウスの骨組織を解析した。NIK に機能欠失型の点変異を持つ *aly/aly* マウスの骨を解析したところ、破骨細胞数の減少による骨吸収の低下と、骨形成の亢進による骨量の増加が見られた (Maruyama T, et.al. *J Bone Miner Res*. 2010 25:1058-67)。前述の様に NF- κ B は様々な生命現象に深く関わることから遺伝子改変マウスの多くは、胎生致死など非常に重

篤な表現型を示すが、*aly/aly* マウスは獲得免疫の異常があるものの、重篤な表現型はなく、我々の「骨吸収の抑制効果と骨再生の促進効果を同時に発揮できる」というコンセプトに合致する。そこで本研究では、*aly/aly* マウスおよび *aly/aly* マウス由来の骨芽細胞を用いて、(1) NIK と BMP-Smad シグナルとの相互作用を分子レベルで解明する。(2) 骨形成における非古典的経路の役割を明らかにする。(3) *aly/aly* マウスの NIK 点変異部分を標的としたペプチドを開発し、低濃度の BMP による骨形成誘導の可能性を検討する。さらに既存の NF- κ B 阻害剤と骨形成誘導能と副作用について比較する。

2. 研究の目的

歯周病などの骨欠損に対する咬合再建では、速やかな質の高い骨誘導が求められる。強力な骨誘導因子である BMP は、臨床応用が有望視されているが、今のところ期待通りの結果は得られていない。これまで我々は、炎症時に産生される TNF α が BMP の効果を抑制すること、さらに、この抑制効果は TNF α のシグナルの伝達分子である NF- κ B を選択的に阻害することで解除されることを報告した。今回我々は、BMP シグナルと NF- κ B シグナルのクロストークを解明し、骨吸収の抑制効果と骨再生の促進効果を同時に発揮できる画期的な創薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) BMP 含有コラーゲンペレットの移植による

異所性骨化の検討:野生型および *aly/aly* マウスに BMP2(4 μ g)含有コラーゲンペレットを移植し、2週間後、3週間後にカルセインを腹腔投与し、4週間後に誘導された骨を摘出する。

① 肉眼的解析:形成された骨の軟 X 線および μ CT を撮影し、さらに pQCT で骨密度を測定する。

② 組織学的解析:骨形成のマーカーである von Kossa 染色および破骨細胞のマーカーである酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ染色を行なう。また蛍光顕微鏡でカルセインラベルを観察し、骨形成速度を比較する。

③ 生化学的解析:形成された骨から脱灰液を調製し、Ca/P 比を測定する。骨から全 RNA を調製し、骨芽細胞分化マーカー(アルカリホスファターゼ:ALP、オステオカルシン:OCN など)の発現を検討する。

(2) BMP 刺激による骨芽細胞と細胞内シグナル伝達経路の検討:生後 1 日齢の野生型および *aly/aly* マウスの頭蓋冠より酵素処理によって初代骨芽細胞を調製する。

① 骨芽細胞分化の検討:各マウス由来の初代骨芽細胞を BMP2 で刺激し、72 時間後に

ALP 活性を測定する。また、経時的に全 RNA を調製し、Real Time PCR で ALP や OCN の発現を検討する。

② 細胞内シグナル伝達経路の検討:各マウス由来の初代骨芽細胞を BMP2 で刺激し経時的にタンパク質を調製し、Smad1/5/8 のリン酸化、Smad1 と Smad4 の複合体形成および Smad1 の DNA 結合能をそれぞれウエスタンブロット法、免疫沈降法およびゲルシフトアッセイ法を用いて検討する。

③ 抑制型 Smad の発現検討:各マウス由来の初代骨芽細胞を BMP2 で刺激し経時的に全 RNA を調製し、抑制型 Smad(Smad6、Smad7)の発現を検討する。

4. 研究成果

(1) プロテアソーム阻害剤 Lactacystin による BMP 誘導性骨芽細胞分化促進作用の検討

骨誘導因子 Bone Morphogenetic Protein (BMP) は異所性に骨を誘導する唯一のサイトカンであるが、臨床応用には大量の BMP が必要であること、およびコストがかかることが問題である。一方、プロテアソームの阻害剤をマウスに投与すると骨形成が亢進することが報告されているが、その作用メカニズムは不明な点が多い。そこで、プロテアソームの阻害剤として Lactacystin を用い、BMP による骨芽細胞分化誘導における Lactacystin の効果と作用メカニズムを検討した。

マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞を Lactacystin (2.5, 5.0, 10, 20 μ M) で前処理し 30 分後に PBS で洗浄した後に BMP2(100 ng/ml)で刺激し、72 時間後に ALP 活性を測定したところ、Lactacystin 濃度依存的に BMP2 刺激による ALP 活性の上昇が認められ、10 μ M でプラトーに達した。そこで以下の実験では Lactacystin の濃度を 10 μ M で用いた。また Lactacystin による ALP 活性の上昇は転写レベルで制御されることがわかった。また C2C12 細胞を未処理または Lactacystin で前処理した後に BMP2 (0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ng/ml) で刺激し、72 時間後に ALP 活性を測定したところ、BMP 25 ng/ml の濃度以上で lactacystin 前処理群は BMP2 単独処理群と比較して ALP 活性の上昇が認められた。BMP2 の代わりに BMP4 および BMP7 を用いた場合でも、BMP2 刺激同様に lactacystin 前処理群は BMP4 または BMP 7 単独処理群と比較して ALP 活性の上昇が認められた。骨芽細胞の分化マーカーである I型コラーゲン、オステオネクチンおよび OCN、BMP 刺激によって誘導される Id1, Osterix および Rnx2 の発現、さらに BMP 応答遺伝子 Id1 の転写活性も BMP2 単独処理と比較して Lactacystin の前処理群で発現が上昇した。次に C2C12 細胞を Lactacystin 未処理または前処理した後、BMP2 で刺激し、経時的にタンパク質を調製し、Smad1/5/8 のリン酸

化を検討したところ、Lactacystin 前処理群で Smad1/5/8 のリン酸化の亢進が認められた。さらに抗リン酸化 Smad1/5/8 抗体を用いてクロマチン免疫沈降をおこなったところ、未処理群と比較して Lactacystin 前処理群でリン酸化 Smad1/5/8 が長い時間 DNA に結合することがわかった。さらに C2C12 細胞に FLAG-Smad1, V5-Q207D (構成的活性型 BMP 受容体) を遺伝子導入した後、Lactacystin を 4 時間作用させた後にタンパク質を調製した。Smad1/5/8 のリン酸化、Smad1 の発現レベルを検討したところ、V5-Q207D を遺伝子導入すると FLAG-Smad1 の発現レベルが低下するが、Lactacystin を作用させることで、FLAG-Smad1 の発現レベルが回復した。さらに Smad1 の発現レベルに依存的に Smad1 のリン酸化も亢進した。同様に V5-Q207D による Smad1 の転写活性の亢進も Lactacystin を作用させることで、さらに上昇した。以上の結果より、プロテアソームの阻害剤は、Smad1 の分解を抑制することで、BMP/Smad シグナルを増強し、骨芽細胞分化を亢進すると考えられる。

(2) 転写因子 NF- κ B の非古典的経路による骨芽細胞分化と骨形成調節機構の解明

転写因子 NF- κ B は、細胞増殖や免疫反応等の生命現象に深く関わっている。我々はこれまでに NF- κ B の非古典的経路に重要な p100 から p52 へのプロセッシングに関わる NIK 遺伝子に機能欠損型の点変異を有する *aly/aly* マウスでは骨吸収の低下と骨形成の亢進を伴う大理石骨病を呈することを報告した。しかし、NF- κ B の非古典的経路による骨芽細胞分化の分子機構については明らかにされていない。そこで本研究では *aly/aly* マウス由来の初代骨芽細胞を用いて NF- κ B の非古典的経路による骨芽細胞分化における役割について検討した。*aly/aly* マウスおよび野生型マウス由来骨芽細胞を α グリセロリン酸およびアスコルビン酸で刺激すると、*aly/aly* マウス由来の骨芽細胞では ALP 活性および石灰化が亢進した。同様に BMP2 で刺激すると、*aly/aly* マウス由来の骨芽細胞で ALP 活性および Smad1/5/8 のリン酸化が亢進した。*aly/aly* マウス由来の骨芽細胞に野生型 NIK を遺伝子導入すると、ALP 活性および Smad1/5/8 のリン酸化は抑制された。*aly/aly* マウスおよび野生型マウス背部筋膜下に BMP2 含有コラーゲンペレットを埋入すると *aly/aly* マウスでは野生型マウスと比較して海綿骨の充実した異所性骨が誘導され、その骨密度も高かった。次に、プロセッシングの起きない p100 Δ GRR を *Nfkb2* 欠損マウス由来の骨芽細胞に遺伝子導入すると、ALP 活性および Smad1/5/8 のリン酸化が亢進したが、p52 を遺伝子導入すると、どちらも抑制された。また、p52 だけが

存在する p100 欠損マウス由来の骨芽細胞では p52 を遺伝子導入した場合と同様に、ALP 活性および Smad1/5/8 のリン酸化が抑制された。p100 Δ GRR を BMP 受容体 ALK2 と共発現すると ALK2 の発現が上昇し、p52 を ALK2 と共発現すると ALK2 の発現が減少し、プロテアソームの阻害剤 ラクタシスチンを添加すると ALK2 の発現減少は部分的に回復した。以上の結果より、NF- κ B の非古典的経路が BMP 受容体の発現量を調節することにより骨形成を制御することが示唆された。

(3) 骨形成における NF- κ B2 のプロセッシングの役割の解明

aly/aly マウスでは、骨吸収の抑制と骨形成の亢進が認められるが、この骨量増加が p100 のプロセッシングの阻害、または NIK が別の下流分子の機能を抑制することに起因するのか、不明である。そこで、*aly/aly* マウスと p100 と p52 を共に欠損する NF- κ B2 欠損 (NF- κ B2^{-/-})マウスを交配 (*aly/aly*/NF- κ B2^{-/-})し、骨の表現型を解析し、細胞レベルで検討した。6 週齢雄の野生型、*aly/aly* および *aly/aly*/NF- κ B2^{-/-}マウスの骨形態計測を行ったところ、*aly/aly*/NF- κ B2^{-/-}マウスでは *aly/aly* マウスで認められた骨量の増加は見られなかった。また、各遺伝子型マウス由来の骨芽細胞を BMP2 で刺激すると、*aly/aly* マウス由来の骨芽細胞で野生型マウス由来の骨芽細胞と比較して、ALP 活性および Smad1/5/8 のリン酸化が亢進したが、*aly/aly*/NF- κ B2^{-/-}マウス由来の骨芽細胞では、ALP 活性および Smad1/5/8 のリン酸化は野生型マウス由来の骨芽細胞と同レベルであった。これらの結果より、*aly/aly* マウスに見られる骨量の増加は、NIK の別の下流分子ではなく、p100 のプロセッシングの阻害に起因すると考えられる。すなわち、NF- κ B2 の 100 から p52 へのプロセッシングは骨代謝調節に重要であると考えられる。

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 9 件)

- ① Jimi E, Hirata S, Osawa K, Terashita M, Kitamura C, Fukushima H. The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects. *Int J Dentistry* 2012;148261. doi: 10.1155/2012/148261.
- ② Tadashi Yoshida, Fumio Soga, Min Zhang. Clinical Discussion Regarding Replantation of a Detached Tooth- Long-term follow-up of immature permanent tooth. *J Assoc Dent traumatol*. 2012, 8(1):68-74.
- ③ M Oda, T Tanaka, S Kito, S

- Matsumoto-Takeda, K Otsuka, Y Hayashi, N Wakasugi-Sato, I Yoshioka, M Habu, S Kokuryo, M Kodama, S Nogami, I Miyamoto, N Yamamoto, A Ishikawa, M Zhang, K Matsuo, S Shiiba, Y Seta, Y Yamashita, T Takahashi, K Tominaga, Y Morimoto. Magnetic resonance angiography with fresh blood imaging for identification of hemangiomas and blood vessels around hemangiomas in oral and maxillofacial regions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol** 2012, 113(4):559-566. doi: org/10.1016/j.oooo.2011.10.003.
- ④ Seo Y, Fukushima H, Maruyama T, Nakao Kuroishi K, Osawa K, Nagano K, Aoki K, Weih F, Doi T, Zhang M, Ohya K, Katagiri T, Hosokawa R, Jimi E. Accumulation of p100, a precursor of NF- κ B2, enhances osteoblastic differentiation *in vitro* and bone formation *in vivo* in *aly/aly* mice **Mol Endocrinol** 2011, 26:414-422. doi: 10.1210/me.2011-1241.
- ⑤ Tsutsumi K, Matsuda M, Kotani M, Mizokami A, Murakami A, Takahashi I, Terada Y, Kanematsu T, Fukami K, Takenawa T, Jimi E, Hirata M. Involvement of PRIP, phospholipase C-related, but catalytically inactive protein, in bone formation. **J Biol Chem**. 2011, 286:31032-31042. doi:10.1074/jbc.M111.235903.
- ⑥ Ito Y, Fukushima H, Katagiri T, Seo Y, Hirata S, Zhang M, Hosokawa R, Jimi E. Lactacystin, a proteasome inhibitor, enhances BMP-induced osteoblastic differentiation by increasing active Smads. **Biochem Biophys Res Commun**. 2011, 407:225-229. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.03.003.
- ⑦ Zhang M, matsuo K, Yamashita Y, Takahashi T. Leiomyomatous hamartoma of the midline maxillary gingival presenting as a congenital epulis: A case report with a immunohistochemical study. **In J Oral and Maxillofac Surg**. 2011, 40:1322-1326. doi:10.1016/j.ijom.2011.05.009.
- ⑧ K Matsuo, Y Akasaki, K Adachi, M Zhang, A Ishikawa, E Jimi, T Nishihara, R Hosokawa. Promoting effects of thymosin β 4 on granulation tissue and new bone formation after tooth extraction in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**, 2011, 114:17-26. doi:org/10.1016/j.tripleo.2011.05.025.
- ⑨ Zhang M, Asano K, Ohnishi K, Matsuo K. Immunohistochemical study of the ED1 antibody in wound healing and dentin bridge formation after pulpotomy in the rat molar. **J Assoc Dent Traumatol**. 2010, 6(1):28-35.
- [学会発表] (計 14 件)
- ① 張 皿、松尾 拓、中道 郁夫、自見 英治郎 糖尿病性歯周炎発症の分子機構の解明と治療薬開発のための基礎研究。九州歯学会, 平成 24 年 5 月 19 日 九歯大。
- ② 張 皿、大澤 賢司、松尾 拓、福島 秀文、自見 英治郎 糖尿病性歯周炎発症における骨吸収の分子機構の解明。第 54 回歯科基礎医学会 奥羽大学, 平成 24 年 9 月 15 日 福島。
- ③ 大澤賢次、福島秀文、Alles Neil、青木和広、張 皿、大谷啓一、自見英治郎 : NF- κ B2 の p100 のプロセッシングは骨代謝において重要である, 日本歯科基礎医学会, 奥羽大学, 平成 24 年 9 月 15 日 福島
- ④ 自見英治郎 : Clinical Problem を見据えた転写因子 NF- κ B による骨代謝調節機構の解明 日本歯科基礎医学会, 奥羽大学, 平成 24 年 9 月 15 日 福島
- ⑤ 自見英治郎、平田志津、福島秀文、寺下正道、北村知昭 : 効率的な骨再生を目指した BMP シグナル増強因子の探索 第 71 回九州歯科学会総会 平成 23 年 5 月 28, 29 日
- ⑥ M Zhang. Immunohistochemical Study of CGRP and Immunocompetent Cells in Wound Healing Following Rat Molar Pulpotomy. The 5th Conference of Asian International Association of Dental Traumatology. Sept. 4, 2011, Aichi Gakuin University, Nagoya, Japan.
- ⑦ 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 : NF- κ B 非古典的経路による骨形成の抑制 第 53 回歯科基礎医学会学術大会, 平成 23 年 9 月 30~10 月 2 日 岐阜
- ⑧ 自見英治郎 : 転写因子 NF- κ B による骨形成抑制機構 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部『医療系クラスターによる組織的大学院教育』の「骨と Ca クラスター」ミニリポート 平成 23 年 12 月 10 日 兵庫
- ⑨ 自見 英治郎、片桐 岳信、永野 健一、青木 和広、大谷 啓一、福島 秀文 *aly/aly* マウスでは BMP による Smad1/5/8 のリン酸化が亢進することで骨形成が亢進する 第 28 回 日本骨代謝学会学術集会 平成 22 年 7 月 21-23 日 京王プラザホテル 東京
- ⑩ 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 タワーホール船堀 船堀 千葉

- ⑪ 張 皿、松尾 拡、山下善弘、山本哲彰、高橋 哲：女兒の上顎正中部歯肉に発現したいわゆる平滑筋性過誤腫の1例。西日本臨床小児口腔外科学会 平成22年10月3日 大阪大学
- ⑫ 自見 英治郎 TNF α は NF- κ B の活性化を介して BMP2 による骨芽細胞分化を抑制する 第13回骨発生・再生研究会 平成22年11月13日 慶応義塾大学医学部総合医科学研究棟 東京
- ⑬ M Zhang, K Matsuo, T Tanaka: Immunohistochemical study of ED1 antibody in wound healing and dentin bridge formation after pulpotomy in rat molar. 第10回日本外傷歯学会 平成22年11月14, 2010. アクロス福岡国際会議場 福岡.
- ⑭ M Zhang, E Jimi and K Matsuo: Response of immunocompetent cells in dentin bridge formation after pulpotomy. JADR Nov. 21, 2010. Kyushu Dental University.

〔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

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

松尾 拡 (Kou Matsuo)
九州歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号：70238971

自見英治郎 (Eijiro Jimi)
九州歯科大学・歯学部・教授
研究者番号：40276598

(3) 連携研究者