

骨の発生および加齢に及ぼすカルシウム調節因子に関する 形態学的、分子細胞生物学的研究

新潟大学歯学部口腔解剖学第一講座 教授 小澤英浩

I. 本研究課題に関連する研究状況と重要性について

主に骨や歯などの硬組織にリン酸カルシウムの形で貯蔵されるカルシウムは、カルシウム調節ホルモンの制御下で骨と腎臓を中心に血中カルシウムの調節が行われる。血清中のカルシウムは、単に骨の構築材として存在するのではなく生体機能のもっとも基本的な必須ミネラルであり、生物学的重要性は極めて高い。そのため、骨代謝やカルシウム代謝に関与するホルモンや局所因子の内分泌学や発生学などの広い分野において中心的な研究課題となっている。カルシウム調節因子としては、副甲状腺ホルモン(PTH)、カルシトニン、活性型ビタミンD、エストロゲンなどが体液性因子として知られており、その標的細胞は主に骨と腎臓に存在する。カルシウム調節機構解明のためには、それら細胞の分化増殖およびその調節因子を明らかにする必要がある。本研究課題であるカルシウム調節因子と骨の発生や加齢に伴う骨代謝調節の変化に関する研究は、臨床的にも重要性が極めて高いと考えられる。特に副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHRP)、PTH/PTHRPレセプター、ビタミンDレセプターなどの遺伝子を欠損したマウス、あるいはそれらカルシウム調節因子を過剰産生するマウスなどの開発が盛んに行われており、すでに中間報告でも記載したとおり、我々の研究室でも様々な遺伝子欠損マウスを用いた解析が行われている。平成9年度から10年度にかけて行ったカルシウム調節因子と骨の発生と加齢に関する研究は、日本骨代謝学会、アメリカ骨代謝学会を含めた多くの学会や、また国際雑誌において評価を受けている。このような研究成果は単に基礎研究分野にとどまらず、臨床医学的にも必要な研究であり、さらには健康増進や疾患に対する抵抗性の維持にもつながるものと考えられる。

II. 本研究の目的および方向性

生体内のカルシウムは経口摂取された後、リン酸カルシウムの形で骨などに貯蔵されることから、骨は生体内のカルシウム恒常性を担う最も重要な器官であると考えられる。特に、骨に貯蔵されるカルシウムには単に物理学的骨基質として蓄えられるのではなく、骨の細胞によって生物学的に調節され、その際に多くのいわゆるカルシウム調節ホルモンによって骨の細胞は活性化される。

本研究は、骨の発生において骨芽細胞の最終分化を担う因子の多くがカルシウム調節因子であること、さらにこれらカルシウム調節因子が骨の加齢現象においても重要な関わりを持つことを背景にしており、主要なカルシウム調節因子が細胞分化と機能に及ぼす作用を骨の発生と加齢において形態学

的、分子細胞生物学的に検索することを目的にしている。我々は、申請時および中間報告時に掲げた研究項目を遂行してきており、そのほとんどが研究成果として学会発表・論文として報告されている(研究業績の項を参照)。さらに、申請時に掲げた研究計画から、現在まですでに2年間が経過しているため、その間の骨の発生・石灰化や加齢現象に関する研究テーマが新しく追加されている(各研究計画の成果および進行状況の項を参照)。申請時から現在に至るまでに行われた一連の研究は、表題に掲げた研究テーマに沿ったものとして、骨の先天奇形や骨組織の加齢・老化現象を解明するとともに、カルシウム摂取をはじめとする骨粗鬆症の予防・制御に関する基礎的研究も確立しており、高齢化社会に対応するものである。

一般的に骨の発生において、軟骨細胞と骨芽細胞の増殖分化には各種細胞成長因子の他に、骨代謝およびカルシウム代謝に重要な因子としてアルカリホスファターゼ(ALPase)、線維芽細胞増殖因子(FGF)、副甲状腺ホルモン(PTH)、副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHRP)、Bone Morphogenetic Protein(BMP)などの関与が知られている。そこで骨の発生過程における細胞機能調節機構を組織・細胞化学的局在や遺伝子発現の局在検索のみならず、gene targeting法で作製された各種遺伝子欠損マウスによるin vivoの検索も行った。その結果、軟骨細胞や骨芽細胞はその分化発生の過程ですでに細胞外カルシウム調節機能を獲得することが明らかにされた。すなわち、骨芽細胞はALPase活性を示し骨基質を石灰化する一方、PTHやPTHRPのようなカルシウム調節因子に反応する細胞として分化し、カルシウム恒常性維持のために骨組織からカルシウムの流出および流入を調節する可能性が示唆された。さらに、生体内における石灰化はリン酸カルシウム結晶であるヒドロキシアパタイトとして骨や歯の基質に貯蔵されるが、その機構には血中のリンやリン酸のトランスポーターが重要な役割を果たすことが知られている。そこで、その機構を明らかにする方法として、リン酸・ナトリウムトランスポーター遺伝子欠損マウスの骨の解析が考えられる。このようなカルシウム調節因子は骨の発生、形態形成にも深く関与しており、それを裏付ける研究結果として軟骨無形性症の原因の一つがFGFレセプターtype3(FGFR3)遺伝子のpoint mutationによること、PTH/PTHRPレセプターの遺伝子異常がJansen型骨幹端骨異形成症を誘因することなどが報告されている。さらに低アルカリホスファターゼ症は骨格の低成長を誘発し、これら因子の欠損は重篤な骨格異常を示すことが知られている。この点に関しては、低アルカリホスファターゼ症の起因であるALPaseのpoint mutationの部位が同定されており、遺伝子組み替えにより変異型ALPase cDNAを作製しCHO cellなどにtransfectionする事で、低アルカリホスファターゼ症を細胞レベルからアプローチすることも可能である。

以上から、骨の細胞の分化発生におけるカルシウム調整因子の細胞生物学的な作用を検索する事は、基本的な細胞機能を解明する上でも重要であることがわかる。また、腎臓および副甲状腺と協調してカルシウム調節の場として機能する骨は、加齢に伴い骨粗鬆症に代表される代謝骨疾患をはじめ、局所性因子による骨代謝回転の低下など、骨の細胞や骨基質に機能的・構造的変化を生じる。そこで、申請時にはこれらカルシウム調節因子が加齢現象に呼応してどのような動向を示すかについて検索する計画を立案した。具体的にはperipheral quantitative computer tomograph(pQCT)や数ミクロンの分解能を

示すmicro CTなどの骨形態の無観血的測定方法を応用して、人並びに実験動物における骨の加齢変化を微細形態のパラメーターも含めて測定し、経時的な骨の加齢現象を報告した(業績・シンポジウム参照)。これら老齢化に関するカルシウム調節因子として、特に閉経後の骨粗鬆症はエストロゲン産生の減少が主因とされている。そこで我々は卵巣摘出ラット(OVXラット)などの実験動物を用いて、骨組織の加齢現象を解明するために、上述のpQCT、micro CTなどにより骨形態を定量的に解析するとともに、共焦点レーザー走査型顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡による微細形態観察も導入し、コンピュータによる組織細胞レベルでの定量的解析を行っている。

以上、本研究はカルシウム調節因子が骨の発生や形態形成に及ぼす基本的メカニズムを明らかにし、それが生理的な加齢・老化という生体内寿命プログラムに呼応してどのように変化するか、骨の組織形態計測的研究やin situ hybridization法など分子生物学的手法も加えて組織レベルから分子細胞レベルまで一貫した形態学的・分子生物学的検索を行うことを目的としている。

Ⅲ. 各研究計画の成果および進行状況

研究計画の成果及び進行状況に関しては、申請時の研究計画および中間報告に対応させて、現時点の研究成果を以下に記載した。また、骨の発生における骨芽細胞や軟骨細胞の分化調節である線維芽細胞増殖因子に関する研究、カルシウム感受性レセプターの骨の細胞における研究、さらにカルシウムを調節する副甲状腺ホルモンやカルシトニンやその受容体に関する研究、加齢現象に伴う骨粗鬆症様病変の骨密度および石灰化に関する研究、さらにはエストロゲンをはじめとする骨代謝調節因子が加齢現象と呼応して骨密度に与える影響に関する研究を行っている。さらに、前述したとおり、これらカルシウム調節因子に関する追加的研究が、平成10年度中に新たに企画・進行し、一部は研究の終了と論文投稿がなされている。これらの研究成果は、免疫電顕、pQCT、micro CT、共焦点レーザー顕微鏡などによる骨形態計測的研究に加え、in situ hybridization, RT-PCR, Northern analysisなど分子生物学的なアプローチによっても達成されている。以下に具体的に行われた研究内容等を記載する。

A: カルシウム調節因子が骨の発生および細胞の機能分化に果たす役割

【実験計画1】軟骨細胞と骨芽細胞の初期分化におけるFGFレセプターの遺伝子発現の細胞学的検索 (終了、論文投稿中)

線維芽細胞増殖因子(FGF)にはacidicおよびbasicFGFなどのリガンドがあるばかりでなく、レセプターとしてのFGFR1(=Flg)、FGFR2(=Bek)、FGFR3、FGFR4が存在し、これらの遺伝子発現を骨芽細胞の分化段階に応じて検索する。またラット頭頂骨から骨原性細胞や骨芽細胞を摘出しRT-PCRにてその発現量を検索するとともに、胎仔の軟骨および骨組織におけるこれらFGF受容体の遺伝子発現パターンとタンパク局在をそれぞれin situ hybridizationと免疫組織化学にて検索した(1997年 日本骨代謝学会発表、プレナリーポスター)。本研究成果は、現在のところ論文投稿中である。

【実験計画2】 ラット骨髄内にbFGF投与で誘導される骨組織の解析(終了、論文投稿中)

bFGFをラット骨髄内に局所投与することで形成された骨の性状を骨基質タンパクやALPaseを中心に検索した。その結果、bFGF投与後すでに1日目でALPase陽性細胞の形成が認められるとともに、骨基質タンパクの中でもオステオポンチンの産生がいち早く観察された。このことは、骨髄内間質系細胞が骨芽細胞系細胞に分化する過程で、ALPaseのみならず、オステオポンチンも早期のマーカーとなりうることが示唆された。本研究はMicro. Res. Tech. に掲載された。

【実験計画3】 副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)および線維芽細胞増殖因子レセプターIII (FGFR3) 遺伝子二重欠損マウスにおける軟骨・骨の異常解析(現在進行中、アメリカ骨代謝学会発表)

軟骨・骨の分化発生にPTHrPおよびFGFR3が重要な役割を果たしていることが明らかにされている。我々はカナダ、Montreal, McGill UniversityとアメリカのWashington Universityとの共同研究としてFGFR3(-/-)/PTHrP(-/-)マウスの軟骨・骨形成異常について解析中である。FGFR3(-/-)/PTHrP(-/-)マウスの軟骨異常はPTHrP(-/-)マウスにきわめて類似していることから、軟骨分化においてFGFR3よりもPTHrPが上流で機能する可能性が強く示唆されている。現在、観察された異常について詳細に検索を進めている。

【実験計画4】 骨の細胞のカルシウム受容体の遺伝子発現に関する研究(終了、論文受理)

副甲状腺や腎臓などの臓器に発現されている血中カルシウム感受性レセプター (Calcium Sensing Receptor, Science, 1995) は、血中カルシウム濃度を調節する器官である骨組織にも存在することが考えられる。そこでカルシウム感受性レセプターを発現する骨芽細胞系細胞の分化段階の同定を行うとともに、明海大学の久米川らのグループとの共同研究として骨基質吸収系細胞である破骨細胞に細胞外カルシウム濃度を感受する機能が備わっているか、RT-PCR、Northern解析、免疫組織化学などにより検索したところ、破骨細胞にカルシウム受容体が存在することを、遺伝子発現および免疫組織化学的に明らかにした(1997年、日本骨代謝学会発表)。本研究成果はBBRCに掲載された。

【実験計画5】 低アルカリホスファターゼ血症の起因である変異型ALPaseの細胞内プロセッシングとその局在について(終了、論文受理)

低アルカリホスファターゼ症は、重篤例においては骨格異常を呈する疾患であり、先天致死に至る場合も多くある。臨床的に低アルカリホスファターゼ症を示した患者から得られた細胞のALPaseの point mutationが明らかにされている。そこで、変異型ALPaseを遺伝子組み替えにて作製し、CHO cellやCOS cellにtransfectionする事で、野性型および変異型ALPaseの活性、translationを受けた後の粗面小胞体などによる品質管理機構を細胞生物学的に解析した。その結果、酵素活性を全く持たない変異型ALPaseは粗面小胞体の品質管理機構によって細胞膜には輸送されないこと、さらに粗面小胞体・ゴル

ジ系を経由する過程でマイクロゾームに取り込まれ分解される可能性が明らかにされた。本研究成果はBBRCに掲載された。

【実験計画6】 組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子欠損マウスの骨芽細胞、軟骨細胞の機能異常に関する検索(現在進行中)

アルカリホスファターゼは生物学的石灰化に重要な役割を果たす細胞膜酵素であり、1996年に組織非特異アルカリホスファターゼ(Tissue non-specific ALPase: TNALPase)遺伝子欠損マウスが開発され、それらは長管骨の成長遅延と歯のエナメル形成不全を示すことが報告されている。そこで我々は骨芽細胞と軟骨細胞におけるアルカリホスファターゼの役割を解析する目的で、TNALPase遺伝子欠損マウスにおける骨芽細胞や軟骨細胞の分化度ならびにその石灰化能と骨基質の骨密度を解析している最中である。将来的に、アルカリホスファターゼと石灰化の検索の延長として、後述する血中カルシウムに対する感受性レセプター(Calcium Sensing Receptor)や副甲状腺ホルモン(PTH)、副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHRP)などのカルシウム骨代謝調節因子やそのレセプターの遺伝子発現について検索を行う予定である。

【実験計画7】 培養骨芽細胞の分化過程におけるリン、カルシウムと細胞外基質の産生について(終了、論文受理)

骨化していない胎生期ラットの頭蓋、または新生仔ラットの頭蓋骨から骨原性細胞を単離培養し、7、14、21日後に分化しつつある骨芽細胞を微細構造学的に同定するとともに、抗Bone-Sialoprotein、抗オステオポンチン、抗オステオカルシン抗体を用いて免疫電顕学的に観察した。さらに、X-ray microanalysisによってカルシウムおよびリンの局在を培養細胞と形成された骨様基質における局在で明らかにした。以上の結果、オステオポンチン、Bone-Sialoproteinは石灰化部位やいわゆるラミナリミタンスに一致して局在し、石灰化基質との関連性が強く示唆された。本研究はAnatomical Recordに掲載された。

B: 加齢に伴うカルシウム調節因子と骨代謝について

【実験計画1】 pQCTとmicro CTを用いた新しい骨量計測法と骨組織形態計測法の応用(終了、論文受理)

近年開発されたpQCTとmicro CTを用いて正常なヒトの骨量測定を行い、加齢に伴う骨量の変化を明らかにすることが、本研究の目的である。しかしながら、ヒトの加齢変化を経時的に追うことは、長期の研究期間を必要とするとともに従来報告されてきた内容から前進していない。そこで我々は、国内メーカーとの共同研究でOsteoprotegerin(別名、OCIF: osteoclast inhibitory factor)の遺伝子欠損マウスを形態学的に検索したところ、臨床的に観察されるヒトの加齢変化に呼応した骨粗鬆症に非常に類

似した骨組織像を呈することが明らかとなった。そこで、これらのマウスの経時的な骨組織変化を観察するために、マウスを屠殺、固定することなく、高分解能複合型X線検査装置およびmicro CT(日鉄エレクトックス)を用いて、通常の光学顕微鏡またはそれ以上の分解能をもって観察することに成功した。今後、さらに共焦点レーザー顕微鏡附属の骨形態計測システムにより高分解能の計測を行い、加齢に伴うそれぞれの骨組織の動態ならびに特徴を定量的に解析する予定である。本研究はBBRCに受理された。

【実験計画2】 骨粗鬆症モデルである卵巣摘出(OVX)ラットを用いた顎関節頭の関節軟骨および骨組織の加齢変化について(終了、論文受理)

臨床的に食物の摂取を行う口腔機能は歯、顎骨、咀嚼筋で行われる咀嚼に負っているところが大きく、加齢に伴い摂食を含めたQuality of Lifeの改善も急務である。従って、骨粗鬆症モデルとして卵巣摘出(OVX)ラットを用い、顎関節頭の関節軟骨およびその補強構造を示す骨組織の加齢変化について、テトラサイクリン・カルセイン二重ラベルを用いて生後1カ月から最高16カ月に至るまでの骨組織像と骨代謝回転を検索した(1997年、日本骨形態計測学会 発表)。その結果、OVX老齢ラットではエストロゲンの欠乏のために顎関節の骨梁が有意に減少することが、我々の用いた形態計測法にて明らかにされた。本研究はさらに、骨代謝回転の検索方法に新しい解析方法を取り入れており、骨形態計測ソフトを用いた画像解析にて骨形成および骨吸収の測定をより容易かつ正確に行えることを明らかにした。本研究成果はJ Prosthet Dentに掲載された。

【実験計画3】 PTH投与ラットにおける顎関節頭の関節軟骨および骨組織の加齢変化について(終了、論文投稿中)

上述の研究に引き続き、OVXを施した老齢ラットに副甲状腺ホルモン(PTH)を投与することで、顎関節の骨梁減少に対してPTHが予防的・抑制的に作用することを、同様の方法にて検索した。その結果、PTH間欠投与群ではOVXによる骨梁減少が認められないばかりか、あらかじめPTHを投与すると、その後のOVXの骨梁減少が認められないことから、事前のPTH投与はエストロゲン減少に対して予防的に作用する事が示唆された。第17回日本骨形態計測学会にて発表。

【実験計画4】 カルシウム調節因子が老齢化した骨の改造現象に及ぼす細胞生物学的研究(現在進行中)

最初に、成長段階と老齢化した骨における骨代謝回転を細胞生物学的に比較検討する目的で、骨芽細胞や破骨細胞の細胞間情報伝達に関与していると考えられるカドヘリン、インテグリン、CD44などの接着分子などを検索する。また基質タンパクであるオステオポンチン、Bone-Sialoprotein、オステオカルシンなどの局在や性状についても共焦点レーザー顕微鏡を用いて検索し、3次元、画像解析的に解析する。これらを踏まえて、老齢化マウスにおける各カルシウム調節因子である活性型ビタミン

D、エストロゲン、PTH、カルシトニンなどに対する感受性やカルシウム感受性レセプターなどについても発現量や局在を検討するとともに、骨基質タンパクの発現およびその局在を詳細に検索する予定である。

IV. 本研究に関する研究成果(業績目録)

【著 書】

- 小澤英浩：骨組織の基本構造と微細形態学的特徴 プラクティカル内科シリーズ4. 骨粗鬆症、南江堂、149-161(230頁)、1998年
- 小澤英浩：骨の基本構造 最新骨粗鬆症、ライフサイエンス出版、(印刷中)、1998年
- 小澤英浩：微細構造学的に見た骨代謝 カルシウムと骨代謝—最新の進歩—、雪印株式会社健康生活研究所編、147-176(285頁)、1998年
- 網塚憲生、小澤英浩：カルシトニン—基礎と臨床—；カルシトニン受容体と副甲状腺ホルモン受容体との関連・異同について、60-65pp, ライフサイエンス出版 東京、1998年
- 池亀美華、小澤英浩：カルシトニン—基礎と臨床—；骨に対する作用 A. 形態学的研究78-84pp, ライフサイエンス出版 東京、1998年
- 網塚憲生、小澤英浩：骨とカルシウム —骨の細胞とカルシウム調節機構— カルシウムブック、ライフサイエンス出版株式会社、東京(印刷中)

【原 著】

- Hoshi, K., Amizuka, N., Oda, K., Ikehara, Y., Ozawa, H : Immunolocalization of tissue non-specific alkaline phosphatase in mice. *Histochem. Cell Biol.* 107 : 183-192, 1997
- Tanaka, M., Amizuka, N., Kim, Kang Jung., Itoh, Tatsuo., and Ozawa, H : Histochemical examination of ectopic bone formation induced in rat bone marrow. *Journal bone and Mineral Metabolism*, 15(2) : 67-76, 1997
- Kremer, R., Goltzman, D., Amizuka, N., Webber, M. M., Rhim, J. S. : ras Activation of human prostate epithelial cells induces overexpression of parathyroid hormone-related peptide. *Clinical Cancer Research* 3 : 855-859, 1997
- Hoshi, K., Amizuka, N., Sakou, T., Kurokawa, T. and Ozawa, H. : Fibroblasts of spinal ligaments pathologically differentiate into chondrocytes induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2 : Morphological examinations for ossification of spinal ligaments. *Bone* 21(2) : 155-162, 1997
- Sato, K., Nohtomi, K., Demura, H., Takeuchi, A., Kobayashi, T., Kazama, J. and Ozawa, H. : Saccharated ferric oxide(SFO)-induced osteomalacia : In vitro inhibition by SFO of bone formation and 1,25-dihydroxy-vitamin D production in renal tubules. *Bone* 21(1) : 59-66, 1997

- Amizuka, N., Takahashi, N., Udagawa, N., Suda, T. and Ozawa, H. : An Ultrastructural study of cell-cell contact between mouse spleen cells and calvaria-derived osteoblastic cells in a co-culture system for osteoclast formation. *Acta Histochem. Cytochem.* 30(4)351-362, 1997
- Hoshi, K., Amizuka, N., Kurokawa, T. and Ozawa, H. : Ultrastructure and immunolocalization of transforming growth factor-beta in chondrification of murine ligamentous fibroblasts and endochondral calcification induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Acta Histochem. Cytochem.* 30(4) : 371-379, 1997
- Nakamura, H., Yamada, M., Fukae, M., Yanagisawa, T. and Ozawa, H. : The Localization of CD44 and Moesin in Osteoclasts after Calcitonin Administration in Mouse Tibiae. *Journal bone and Mineral Metabolism* 15 : 184-192, 1997
- Nakamura, H. and Ozawa, H. : Immunolocalization of CD44 and the ezrin-radixin-moesin (ERM) family in the stratum intermedium and papillary layer of the mouse enamel organ. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 45 : 1481-1492, 1997
- Amizuka, N., Lee, H. S., Kwan, M. Y., Arazani, A., Warshawsky, H. and Ozawa, H., White, J. H. and Goltzman, D. : Cell-specific expression of the parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor gene in rat kidney from kidney-specific and ubiquitous promoters. *Endocrinology* 138 : 469-481, 1997
- Hiraga, T., Tanaka, S., Ikegame, M., Koizumi, M., Iguchi, H., Nakajima, T. and Ozawa, H. : Morphology of bone metastasis. *European Journal of Cancer* 34(2) : 230-239, 1998
- Amizuka, N., Yamada, M., Watanabe, J., Hoshi, K., Fukushi, M., Oda, K., Ikehata, Y., and Ozawa, H. 1998. Morphological examination of bone synthesis via direct administration of basic fibroblast growth factor into rat bone marrow. *Micro. Res. Tech.* 41 : 313-322.
- Beck, L., Karaplis, A. C., Amizuka, N., Hewson, S., Ozawa, H., and Tenenhouse, H. S. 1998. Targeted inactivation of the Npt2 in mice leads to severe renal phosphate wasting, hypercalciuria, and skeletal abnormalities. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 95 : 5372-5377.
- Fukushi, M., Amizuka, N., Hoshi, K., Ozawa, H., Kumagai, H., Omura, S., Misumi, Y., Ikehata, Y., and Oda, K. 1998. intracellular retention and degradation of tissue-nonspecific alkaline phosphatase with a Gly317-Asp substitution associated with lethal hypophosphatasia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 246 : 613-618.
- Kameda, T., Mano, H., Yamada, Y., Takai, H., Amizuka, N., Kobori, M., Izumi, N., Kawashima, H., Ozawa, H., Ikeda, K., Kameda, A., Hakeda, Y., and Kumegawa, M. 1998. Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245 : 419-422.
- Tanaka M, Ejiri S, Kohno S, Ozawa H, Nakajima M, Medina R, Toyooka E : Effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats : *J Prosthet Dent*, 79(6) , 685-690, 1998.
- Mizuno, A., Amizuka, N., Irie, K., Murakami, A., Fujise, N., Kanno, T., Sato, Y., Nakagawa, Yasuda, H., Mochizuki, S., Gomibuchi, T., Yano, K., Shima, N., Washida, N., Tsuda, E., Morinaga, T., Higashio, K., and

- Ozawa, H. 1998. Severe osteoporosis in mice lacking Osteoclastogenesis inhibitory factor/Osteoprotegerin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 247 : 610-615.
- Kabasawa, Y., Ejiri, S., Matsuki, Y., Hara, K. and Ozawa, H. : Immunoreactive localization of transforming growth factor- β type II receptor-positive cells in rat tibiae. *Bone* 22(2) : 93-98, 1998.
- Tanaka, Y., Mine, S., Hanagiri, T., Hiraga, T., Morimoto, I., Figdor, C. G., Kooyk, Y. V., Ozawa, H., Nakamura, T., Yasumoto, K. and Eto S. : Constitutive up-regulation of integrin-mediated adhesion of tumor-infiltrating lymphocytes to osteoblasts and bone marrow-derived stromal cells. *Cancer research* 58 : 4138-4145, 1998.
- Irie, K., Zalzal, S., Ozawa, H., Mckee, M. D. and Nanci, A. : Morphological and immunocytochemical characterization of primary osteogenic cell cultures derived from fetal rat cranial tissue. *The Anatomical Record* 252 : 554-567, 1998.
- Karaplis A, He MB, Nguyen A, Young ID, Semeraro D, Ozawa H, Amizuka N. : Blomstrand chondrodysplasia caused by a missense mutation in the human parathyroid hormone receptor-1. in press. *Endocrinology*.
- Hoshi K, Kenmotsu S, Takeuchi Y, Amizuka N, Ozawa H : The Primary calcification in bones follows removal of decorin and fusion of collagen fibrils. in press *J Bone Miner. Res.* 1998.
- Amizuka N, Kwan M, Goltzman D, Ozawa H, White JH : Cell-specific Regulation of parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide (PTHrP) receptor promoter activity by $1\alpha, 25$ dihydroxyvitamin D₃ in bone and cartilage. in press *J Clin Invest.* 1998.
- Ito M, Amizuka N, Nakajima T, Ozawa H : Ultrastructural and cytochemical observation of apoptotic osteoclasts induced by bisphosphonate. submitted *Bone* 1998.
- Amizuka, N. Ikegame M, Kawashima H, Ozawa H. Immunolocalization and gene expression of fibroblast growth factor receptors in embryonic epiphyseal cartilage and bone. submitted *Acta Histochem. Cytochem.* 1998
- Hoshi K, Amizuka N, Kurokawa T, Nakamura K, Shiro R, Ozawa H : High bone turnover associated with increased angiogenesis in melorheostosis : Histopathological studies. in press *Orthopedics*.
- Khairul Matin MHM, Nakamura H, Sato K, Kusakari H, Ozawa H : Effort to maintain alveolar bone mass after tooth extradtion : histological analysis of the root socket after rhBMP-2 administration in rat. submitted *J. Dent. Res.*
- Horiuchi K, Amizuka N., Takeshita S, Takamatsu H, Katsuura M, Ozawa H, Toyama Y, Bonewald LF, Kudo A. Identification and Characterization of a novel protein, Periostin (OSF-2) with restricted expression to periosteum and periodontal ligamant and increased expression by transforming factor. submitted *J Bone Miner Res.*
- Hoshi K, Ozawa H. : Matrix vesicle calcification in additive bone formation. submitted. *Calcif. Tissue Int.*
- Fujii K, Tanaka Y, Hoshi K, Nakamura H, Ozawa H, Eto S. Upregulation of ICAM-I and VCAM-I by CD44

cross linking on osteoblasts enhances osteogenesis. submitted J. Exp. Med.

Tanizawa T, Yamaguchi A, Uchiyama Y, Miyaura C, Ikeda T, Ejiri S, Nagai Y, Yamato H & Nakamura T. :
Early reduction in bone formation and elevated bone resorption in ovariectomized rats with special refer-
ence to acute inflammation. submitted Bone.

Tanaka M, Ejiri S, Nakajima M, Kohno S, and Ozawa H. : Changes of cancellous bone mass in rat mandibular
condyle following ovariectomy. submitted Bone.

Nakajima M, Ejiri S, Tanaka M, Toyooka E, Kohno S and Ozawa H. : Effect of intermittent administration of
human parathyroid hormone(1-34) on the mMandibular condyle of ovariectomized rats. sumitted, J Bone
Miner. Metab.

Izumi N, Amizuka N, Oda K, Ikehara Y, Ozawa H. : Ultrastructural alteration of osteoclasts treated with bre-
feldin A and wortmannin. submitted Acta Histo. Cyto.

【総 説】

Nakamura, H. and Ozawa, H. : CD44 and the ERM family in bone cells. Acta Histochem. Cytochem.

30(2) : 125-134, 1997

網塚憲生、小澤英浩：軟骨の分化増殖における形態学的、細胞生物学的知見THE BONE 11(3) : 39-52,
1997

小澤英浩：骨組織の微細構造と機能に関する最近の知見 日本界面医学界雑誌28 : 1-12, 1997

網塚憲生、小澤英浩、David Goltzman, John White : 骨と腎ではPTH/PTHrPレセプターの遺伝子発現は
異なるプロモーター領域で調節される。日本骨代謝学会誌15 : 1-7, 1997

小澤英浩：骨の構造と機能 1 -骨の基本構造と骨形成系細胞- 歯界展望11月号1123-1136、1998年

小澤英浩：骨の構造と機能 2 -骨吸収と破骨細胞- 歯界展望12月号1377-1392、1998年

小澤英浩：骨・基礎講座 1. 骨のリモデリングのメカニズム クインテッセンス・デンタル・イン
プラントロジー 5 (1) : 73-75、1998年

小澤英浩：骨・基礎講座 2. 骨の基本構造 クインテッセンス・デンタル・インプラントロジー 5
(2) : 68-72、1998年

小澤英浩：骨・基礎講座 3. 骨の細胞たち クインテッセンス・デンタル・インプラントロジー 5
(3) : 48-50、1998年

小澤英浩：骨・基礎講座 4. 骨の細胞たちⅡ クインテッセンス・デンタル・インプラントロジー
5 (4) : 78-83、1998年

小澤英浩：骨・基礎講座 5. 骨の細胞たちⅢ クインテッセンス・デンタル・インプラントロジー
5 (5) : 70-74、1998年

小澤英浩：骨・基礎講座 6. 骨の細胞たちⅣ クインテッセンス・デンタル・インプラントロジー
5 (6) : 62-69、1998年

- 小澤英浩：骨改造現象の形態学 日本臨牀56(6)：24(1382)-41(1399)、1998年
- 小澤英浩：破骨細胞におけるカルシトニンのカルシトニンレセプターへの作用 Osteoporosis Japan 6 (2)：143(311)-148(316)、1998
- 小澤英浩：骨改造現象の微細形態学的見解 日本補綴歯科学会雑誌42(3)：359-368、1998
- 小澤英浩：インプラント周囲骨の再生—微細構造学的にみた骨代謝— 日本歯科医学会誌 17：130-133、1998
- 小澤英浩：骨芽細胞と破骨細胞の超微細構造と機能 実験医学16(1)：96(1414)-107(1425)、1998
- 小澤英浩：骨の微細構造と機能。Proceedings of clinical electron microscopy, 19：5-7、1998
- 樺澤裕未、江尻貞一、松木 裕、原 耕二、小澤英浩：成長期ラット脛骨におけるTGF- β II型レセプターの局在と遺伝子発現の検討 新潟歯学会雑誌 第28巻1号81-82、1998年
- 大橋直子、江尻貞一、花田晃治、小澤英浩：成長ラット下顎軟骨の加齢に伴うI、II、Xコラーゲンの局在変化に関する免疫組織化学的研究 新潟歯学会雑誌 第28巻1号85-86、1998年
- 江尻貞一、小澤英浩：EELSによる基質小胞の観察。最近の研究から。電子顕微鏡、33：214-216、1998年
- 泉 直也、網塚憲生、小澤英浩：電子顕微鏡観察のための硬組織迅速脱灰法。技術情報。電子顕微鏡、33：202 - 204、1998年
- 小澤英浩：歯科臨床のための骨の科学、骨の微細構造 月刊ザ・クインテッセンス18(1)：176-185、1999年
- 江尻貞一：歯科臨床のための骨の科学、骨の形態とそれに影響を及ぼす要因 月刊 ザ・クインテッセンス18(1)：170-175、1999年
- 網塚憲生：歯科臨床のための骨の科学、発達障害と先天異常 クインテッセンス出版、東京(印刷中)

【国際学会発表】

- Kabasawa, Y., Ejiri, S, Matsuki, Y., Hara, K., Ozawa, H. : Distribution of transforming growth factor- β type II receptor-positive cells in rat tibiae. 75th General Session of the IADR March 19-23, 1997 J. Dental Research 76. Special Issue 340, 1997
- Ikegami, M., Ishibashi, O., Amizuka, N., Ozawa, H., Kawashima, H. : Tensile stress induced cytodifferentiation of osteoblastic cells and up-regulation of BMP-4 mRNA in murine calvarial sutures. 19th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Sept. 10-14, 1997, Cincinnati J Bone Miner Res 12 : s283, 1997
- Hoshi, K., Kenmotsu, S., Takeuchi, Y., Amizuka, N., Ozawa, H. : Collagen calcification, following removal of decorin and fusion of collagen fibrils. 19th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Sept. 10-14, 1997, Cincinnati, J Bone Miner Res 12 : s301, 1997
- Irie, K., Zalzal, S., Sampath, K. T., Ozawa, H., McKee, M. D., Nanci, A. : Immunocytochemical characteriza-

- tion of matrix produced in vitro by rat cranial tissue mesenchymal cells treated with osteogenic protein-1. 19th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Sept. 10-14, 1997, Cincinnati, J Bone Miner Res 12 : s427, 1997
- Amizuka, N., Kwan, M., Goltzman, H., Ozawa, H., White, J. H. : Cell-specific downregulation of the PTH/PTHrP receptor by 1, 25(OH)₂D₃ in vivo and in vitro. 19th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Sept. 10-14, 1997, Cincinnati, J Bone Miner Res 12 : s466, 1997
- Tanaka M, Ejiri S, Toyooka E, Nakajima M, Ozawa H, Kohno S, Hirai H and Koishikawa A : Effect of ovariectomy on alveolar bone in rat mandible. The second international conference on osteoporosis, Nov. 15-16, 1997, Osaka
- Nakajima N, Ejiri S, Tanaka M, Toyo-oka E, Kohno S, Ozawa H : Effects of PTH-intermittent administration on the mandibular condyle of ovariectomized rat. Journal of dental research, 1998, vol 77, Abstracts of Papers, 725. 76th General Session of the IADR, Nice, France, June 24-27, 1998.
- Hoshi K, Ejiri S, Ozawa H : The mechanism of bone matrix calcification : Biophysical and cytochemical approaches. The 6th International Conference on the Chemistry and Biology of Mineralized Tissues. November 2 - 6, 1998, Vittel, France.
- Amizuka N, Wang D, Colvin JS, Ozawa H, Goltzman D, Ornitz DM, Henderson JE : Phenotype of FGFR3/PTHrP double knockout mouse resembles that of PTHrP single knockout mutant. S347, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998
- Amizuka N, Fukushi M, Oda K, Ozawa H : Nucleolar localization and extracellular secretion of PTHrP results from alternative translation utilizing CTG and ATG codons. S358, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998
- Amizuka N, Fukushi M, Oda K, Ozawa H : Nucleolar localization and extracellular secretion of PTHrP results from alternative translation utilizing CTG and ATG codons. S358, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998
- Ito M, Amizuka N, Oda K, Shiraishi Y, Nakajima T, Ozawa H : Ultrastructural and cytobiological study on possible interactions between PTHrP-secreting tumor cells and bone cells. S465, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998.
- Horiuchi K, Amizuka N, Takeshita S, Ozawa H, Toyama Y, Kudo A : Periostin (OSF-2) is a novel protein which is expressed in periosteum and supports cell adhesion. S538, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral

Society. 1998

Ishiduka Y, Mochizuki R, Takatsuka M, Yanai K, Niida S, Maeda M, Amizuka N, Kawashima H, Ozawa H, Fukamizu A : Molecular cloning and characterization of a novel protein, C16N, that induces hydroxyapatite-resorptive cells. S564, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998

Ejiri S, Sahni M, Bartkiewicz M, Neff L, Sabatokos G, Levy J, Ozawa H, Baron R : The microinjection of Cbl fusion protein affects organization of F-actin osteoclasts. S165, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998

Neff L, Ejiri S, Baron R : CSF-1 induces podosome disruption, redistribution of cytoskeletal proteins and translocation of c-Cbl and Rho A in osteoclasts. S216, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research and the International Bone and Mineral Society. 1998.

Irie K, Nanci A, Ozawa H : Chondrocyte differentiation in growth plate after the administration of Etidronate disodium (HEBP). S433, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998

Hoshi K, Ejiri S, Ozawa H : Proteoglycan and alkaline phosphatase act as accumulators of Ca and P in calcified nodules of bone matrix. S436, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998

Kazama JJ, Fukagawa M, Yamato H, Murayama H, Arakawa M, Ozawa H, Kurokawa K : Quantitative analysis of rat cancellous bone microarchitectural change using microfocus-computed tomography and semiautomatic image analyzer system. S521, Bone. Program and Abstract, Second Joint Meeting of the American Society for Bone and Mineral research and the International Bone and Mineral Society. 1998

Kazama JJ, Fukagawa M, Sato M, Murayama H, Yamato H, Arakawa M, Ozawa H, Kurokawa K : Early changes of microstructures of trabecular bone in uremic rats : Semiquantitative analysis by microfocus X-ray computed tomography. Journal of American Society of Nephrology, Vol. 9 Sep 1998, Program and Abstracts issue, P546A

Iguchi S, Nishi S, Narita I, Arakawa M, Hoshi K, Amizuka N, Ozawa H : The expression of osteopontin in cisplatin nephropathy, the model of tubular injury. Journal of American Society of Nephrology, vol. 9 Sep 1998, Program and Abstracts issue, p. 595A

Tanaka S, Ito M, Amizuka N, Asano H, Kamira U, Funatsu Y, Miyata K, Ozawa H. Bisphosphonate YM529 inhibits tumor-induced osteolysis in nude rats with bone metastases. Cancer-Induced Bone Disease. Switzerland. March. 1999. in press

【国内学会】

特別講演

- 小澤英浩：骨代謝に関する微細形態学的・細胞生物学的知見 第51回日本口腔科学会総会 1997年4月17-18日 新潟プログラム・抄録集 p. 82
- 小澤英浩：骨代謝の形態学的最近の知見 第98回日本補綴歯科学会学術大会 1997年10月16日、新潟日本補綴歯科学会雑誌41、98回特別号：7
- 小澤英浩：骨組織の微細構造学的・細胞生物学的知見 第12回日本整形外科学会基礎学術集会 1997年10月17日、新潟日正会誌71(8), S1412, 1997

シンポジウム

- 小澤英浩：骨の形態学的研究「ルーベからEELSまで」シンポジウム 硬組織の細胞生物学 第102回日本解剖学会全国学術集会 1997年3月26-28日 名古屋プログラム予稿集 p. 16(SD2)
- 泉 直也 網塚憲生、小澤英浩：電子顕微鏡観察のための硬組織迅速脱灰法、日本電子顕微鏡学会関東支部第22回講演会「原子をとらえる・細胞をとらえる」医・生物系プログラム、主題：バイオイメージング, I. バイオイメージングの基礎技術, 1998. 3. 14, 東京
- 小澤英浩：硬組織吸収に関する最近の形態学的知見 平成10年度日本臨床矯正歯科医会北海道大会シンポジウム 1998年6月22日 札幌
- 入江一元、小澤英浩：骨組織の神経とその機能 ―骨代謝調節の可能性― 第40回 歯科基礎医学会歯科基礎医学会雑誌 Vol. 40, No. 2 16, 1998年
- 江尻貞一：EELSの硬組織研究への応用 日本電子顕微鏡学会 第43回シンポジウムEELS研究の最前線 千葉 1998年10月29日
- 江尻貞一：実験動物の骨構造解析への μ CTの応用 日本電子顕微鏡学会 第43回シンポジウム, μ CTを用いた骨形態の観察 千葉 1998年10月30日
- 網塚憲生、入江一元、小澤英浩：OCIF遺伝子欠損マウスにおける組織化学的・微細構造学的観察 第14回 ビタミンDワークショップ 同プログラム・抄録集18p, 1999年

一般発表

- 中島正光、江尻貞一、河野正司、田中みか子、豊岡英一、小澤英浩：卵巣摘出ラット下顎頭の短期的変化および長期的変化に関する形態計測学的研究 日本補綴歯科学会関東支部学術大会 平成9年2月15日 東京プログラム、講演内容抄録 p. 10
- 大橋直子、花田晃治、江尻貞一、小澤英浩：ラット下顎頭軟骨の加齢変化に関する組織学的、免疫組織化学的研究 第10回日本軟骨代謝学会 平成9年2月28日、3月1日 浜松プログラム 抄録集p. 92
- 網塚憲生、山田まりえ、小澤英浩：ラット脛骨骨髓内bFGF投与による異所性骨の形態学的検索 第

- 102回日本解剖学会全国学術集会 1997年3月26-28日 名古屋解剖誌72:293(1D17), 1997
- 渡邊淳一、網塚憲生、久米川正好、小澤英浩：破歯細胞と破骨細胞のbisphosphonateおよびcalcitoninに対する形態変化の比較について 第102回日本解剖学会全国学術集会 1997年3月26-28日 名古屋解剖誌72:296(1D31), 1997
- 星 和人、網塚憲生、小澤英浩：組織非特異型アルカリホスファターゼの免疫局在 第102回日本解剖学会全国学術集会 1997年3月26-28日 名古屋解剖誌72:293(3A31), 1997
- 伊藤将広、網塚憲生、中島民雄、小澤英浩：破骨細胞の細胞死に関する微細構造学的・細胞組織化学的研究 第30回新潟歯学会総会 1997年4月19日新潟歯学会誌27:69, 1997
- 田中みか子、豊岡英一、江尻貞一、中島正光、河野正司、小澤英浩、平井秀和、小石川篤：マイクロCTおよび骨形態計測法による卵巣摘出ラットの歯槽骨の観察 第8回日本老年歯科医学会、1997年6月18, 19日、東京
- 中島正光、江尻貞一、田中みか子、河野正司、豊岡英一、小澤英浩：卵巣摘出ラット下顎頭におけるhPTH(1-34)の予防的・治療的間欠投与の有効性 第17回日本骨形態計測学会 1997年7月4, 5日 香川 日本骨形態計測学会雑誌Vol. 7, No. 2, 1997
- 星 和人、監物新一、竹内靖博、網塚憲生、小澤英浩：コラーゲン性石灰化はデコリンの脱却とコラーゲン細線維の癒合を伴いながら進行する 第15回日本骨代謝学会、1997年7月24-26日、大宮 日骨代謝誌15(2):39, 1997
- 亀田 剛、真野 博、山田芳司、網塚憲生、泉 直也、小堀正人、宮澤浩史、森 芳久、川島博行、小澤英浩、池田恭治、亀田 晃、羽毛田慈之、久米川正好：カルシウム受容体(CaSR)は破骨細胞の存在し骨吸収活性の制御に関与する 第15回日本骨代謝学会 1997年7月24-26日 大宮 日骨代謝誌15(2):61, 1997
- 網塚憲生、池亀美華、小澤英浩：軟骨および骨組織における線維芽細胞増殖因子レセプターの発現と局在について第15回日本骨代謝学会、1997年7月24-26日、大宮 日骨代謝誌15(2):234, 1997
- 泉 直也、網塚憲生、小澤英浩：破骨細胞におけるカルシトニンレセプターの細胞内局在について 第15回日本骨代謝学会、1997年7月24-26日、大宮 日骨代謝誌15(2):309, 1997
- 渡邊淳一、網塚憲生、小澤英浩：カルシトニンで誘導される破骨細胞の破歯細胞の細胞死における細胞生物学的検索 第15回日本骨代謝学会、1997年7月24-26日、大宮 日骨代謝誌15(2):310, 1997
- 近藤尚知、春日井昇平、網塚憲生、向山 仁、尾澤昌悟、菊川郁雄、黒田真司、大谷啓一、小澤英浩、大山喬史：骨形成過程におけるPTH/PTHrP receptorの解析 第15回日本骨代謝学会 1997年7月24-26日、大宮 日骨代謝誌15(2):311, 1997
- 網塚憲生、小澤英浩：1,25(OH)2D3による副甲状腺ホルモンレセプターの遺伝子発現制御に関する細胞生物学的検索 第15回日本骨代謝学会、1997年7月24-26日、大宮 日骨代謝誌15(2):312, 1997
- 渡邊淳一、網塚憲生、池亀美華、野田 忠、小澤英浩：破歯細胞におけるcalcitoninレセプターの局在

- について 第39回歯科基礎医学会、1997年10月1-2日、北九州 歯科基礎医学会雑誌39: suppl. 441, 1997
- 福士真理子、網塚憲生、小澤英浩、織田公光：低アルカリホスファターゼ症における突然変異型組織非特異的アルカリホスファターゼの生合成について 第39回歯科基礎医学会、1997年10月1-2日、北九州 歯科基礎医学会雑誌39: suppl. 455, 1997
- 網塚憲生、福士真理子、織田公光、小澤英浩：副甲状腺ホルモン関連ペプチドの細胞内局在について 第39回歯科基礎医学会、1997年10月1-2日、北九州 歯科基礎医学会雑誌39: suppl. 456, 1997
- 星 和人、網塚憲生、監物新一、小澤英浩：生物学的石灰化における骨芽細胞分化マーカーの免疫細胞化学的局在 第12回日本整形外科学会基礎学術集会、1997年10月16-17、新潟 日整会誌71(8), S1516, 1997
- 竹石英之、入江一元、草刈 玄、小澤英浩：ラット頭頂骨の垂直的骨増生におけるrhBMP-2とe-PTFE膜の併用に関する組織学的研究、第99回日本補綴歯科学会学術大会、仙台、1998年5月29、30 第99回日本補綴歯科学会学術大会 学会抄録集42: 154, 1998
- 網塚憲生、小澤英浩：副甲状腺ホルモン関連ペプチドの細胞外分泌および核小体内移行について、第103回日本解剖学会全国学術集会、1998. 4. 1, 大阪
- 泉 直也、網塚憲生、小澤英浩：破骨細胞のゴルジ体の形態と機能に関する微細構造学的、細胞化学的研究、第103回日本解剖学会全国学術集会、1998. 4. 1, 大阪
- 入江一元、小澤英浩：Etidronate Disodium (HEBP) 投与による石灰化阻害と非コラーゲン性蛋白質の局在、第103回日本解剖学会全国学術集会、1998. 4. 1, 大阪
- 星 和人、網塚憲生、小澤英浩：コラーゲン性石灰化機構の解明、第103回日本解剖学会全国学術集会、1998. 4. 1, 大阪
- 望月礼子、柳内和幸、石塚保行、谷口圭子、高塚美紀、網塚憲生、川島博行、小澤英浩、深水昭吉：骨・脳特異的因子Neurochondrinのノックアウトマウスは胚性致死となる 第21回日本分子生物学会、横浜、1998, 12, 16-19
- 田中みか子、江尻貞一、中島正光、豊岡英一、河野正司、小澤英浩：卵巣摘出ラット下顎頭の前方領域と後方領域における部位特異的な骨組織の反応性について：第18回日本骨形態計測学会、1998. 6. 24, 岡山、日本骨形態計測学会雑誌 8 (2), S26.
- 星 和人、小澤英浩：骨蛋白基質としてのアルカリホスファターゼ 第18回日本骨形態計測学会、1998. 6. 24, 岡山、日本骨形態計測学会雑誌 8 (2), S35.
- 豊岡英一、江尻貞一、中島正光、田中みか子、河野正司、小澤英浩、平井秀和、小石川篤：卵巣摘出ラット抜歯部に対向する挺出歯槽骨のマイクロCTによる観察：第9回日本老年歯科医学会、1998. 7. 5, S仙台、第9回日本老年歯科医学会-総会・学術大会-プログラム・抄録集、43.
- 田辺啓太、大平育夫、下平智香、韓 臨麟、岡本 明、子田晃一、岩久正明：CO₂レーザー装置によるウ蝕除去に関する研究—ウ蝕除去効果及び象牙質処理面の検討—日本歯科保存学会1997年度春

季学会(第106回)、新潟、1997-6-5, 6. 日歯保存誌、40(Spring Issue) : 96, 1997.

網塚憲生、小澤英浩：副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)のalternative translationによる核小体移行と細胞外分泌に関する分子生物学的・細胞生物学的検索 日本骨代謝学会雑誌Vol. 16 No. 2, 74, 1998年

星 和人、小澤英浩：プロテオグリカンとアルカリホスファターゼは骨気質の石灰化球に局在し、協調して石灰化結晶の集積を制御する。日本骨代謝学会雑誌 Vol. 16 No. 2, 106, 1998年

伊藤将広、中島民雄：PTHrP産生腫瘍細胞による局所的骨吸収の細胞生物学的・形態学的検索、第52回日本口腔科学会総会 1998年4月16日、17日 愛媛・松山

渡邊淳一、網塚憲生、野田 忠、小澤英浩：Bisphosphonateにより誘導される破菌細胞のアポトーシスに関する細胞化学的検索 平成10年度新潟歯学会第1回例会 1998年7月11日、新潟

大橋直子、花田晃治、小澤英浩、朔 敬：ラット脛骨における基底膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカンの局在、第40回 歯科基礎医学会、名古屋、10月17日、歯科基礎医学会雑誌、抄録集 119, 1998年

網塚憲生、福士真理子、織田公光、小澤英浩：副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)の核小体移行はalternative translationに起因する。第40回 歯科基礎医学会、名古屋、10月17日、歯科基礎医学会雑誌、抄録集 119, 1998年

近藤由香理、入江一元、小澤英浩：破骨細胞の分化に関連する骨髄間質系細胞の形態学的特徴。第40回 歯科基礎医学会、名古屋、10月17日、歯科基礎医学会雑誌、抄録集 147, 1998年

福士真理子、網塚憲生、小澤英浩、織田公光：組織非特異的アルカリホスファターゼの変異による酵素活性および細胞内局在の変化について。第40回 歯科基礎医学会、名古屋、10月17日、歯科基礎医学会雑誌、抄録集 180, 1998年

竹石英之、入江一元、柴崎伸恭、草刈 玄、小澤英浩：ラット頭頂骨の垂直的増生におけるrhBMP-2とe-PTFE膜の併用に関する組織形態学的研究 平成10年度 新潟歯学会 第2回例会 プログラム6p

西野幾子、網塚憲生、小澤英浩：op/opマウスへのM-CSF投与による骨基質改変について 平成10年度 新潟歯学会 第2回例会 プログラム6p

福士真理子、網塚憲生、小澤英浩、織田公光：致死型低ホスファターゼ症…突然変異型組織非特異的アルカリホスファターゼ(Gly³¹⁷→Asp)の細胞内における保持と分解 平成10年度 新潟歯学会 第2回例会 プログラム7p

中島正光、江尻貞一、田中みかこ、豊岡英一、河野正司、小澤英浩：卵巣摘出ラット下顎骨に対するヒト副甲状腺ホルモン(1-34)間欠投与の効果 平成10年度 新潟歯学会 第2回例会 プログラム8p

V. 本調査・研究の特徴点

本研究ではカルシウムの恒常性を担う骨を発生期と老齢期において、骨の細胞の分化増殖や基質合成、あるいは加齢現象にともなう骨代謝回転の変化を形態学的、分子細胞学的に検索することに特徴がある。従来、カルシウム調節因子に対する研究の多くは、成人もしくは動物実験的に幼若な動物が用いられており現実の臨床を考慮すると骨格成長や代謝疾患があまり認められない時期に相当することから、我々の研究で発生期と老齢期における骨のカルシウム調節因子の作用機序に関してそれぞれ検索を行った。発生期に関しては分子生物学の急速な発展にともないgene knock outマウスの開発が盛んに行われており、それらを用いることにより従来検索が難しかった骨格の先天異常に関する解析を可能にすることができ、すでにいくつかの論文を報告した。つまり、骨芽細胞や軟骨細胞がまだ機能的にカルシウム代謝に参加していない初期発生において、カルシウム調節因子がそれらの細胞分化や増殖を抑制していることを明らかにした。これらの結果を踏まえて、加齢に伴う骨粗鬆症や骨代謝回転の低下に潜在する細胞生物学的メカニズムを形態学的、分子細胞学的手法を用いて解析した。解析方法にはperipheral quantitative computer tomograph (pQCT)やmicro CTなどをはじめとする無観血的に行える測定法を導入した。このように、本研究は臨床応用への検討を含めながら、骨の加齢現象とカルシウム調節因子との関係を総合的に解析することが特徴である。