

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03778

研究課題名（和文）ヒト肉腫幹細胞とオルガノイドモデルを用いた肉腫進展・転移メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of mechanisms of sarcoma progression and metastasis using human sarcoma stem cells and organoid models

研究代表者

松峯 昭彦（Matsumine, Akihiko）

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：00335118

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,400,000円

研究成果の概要（和文）：オルガノイドモデルは、細胞を3次元培養することにより得られる人為的に創出された器官に類似した組織体である。今回、骨肉腫幹細胞を特徴づける遺伝子群を同定し、それらが発現する細胞から骨肉腫オルガノイドを作成した。さらに、遺伝子Xは骨肉腫の新たな治療薬の分子ターゲットとなり得ることを解明した。今後新たな骨肉腫治療薬の開発につながると考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肉腫の進展・肺転移のメカニズムに関する基礎的な研究は、2次元培養下での肉腫細胞を用いられてきたが、実際の3次元的に構成される肉腫とは大きく異なることが問題であった。我々の研究により、実際の3次元の肉腫の姿を試験管内で再現できることがわかり、治療薬の開発に大きく寄与すると考えられる。また、我々が見出した遺伝子Xは、骨肉腫の新たな治療薬の分子ターゲットとなり得ると考える。

研究成果の概要（英文）：Organoid models are artificially created organ-like tissue bodies obtained by three-dimensional culture of cells. In this study, we identified a group of genes that characterize osteosarcoma stem cells and created osteosarcoma organoids from cells expressing these genes. Furthermore, gene X was identified as a potential molecular target for new osteosarcoma therapeutics. We believe that this will lead to the development of new osteosarcoma therapeutics.

研究分野：整形外科学

キーワード：肉腫 幹細胞 オルガノイドモデル 転移 浸潤

1. 研究開始当初の背景

肉腫は、骨や軟部組織などの中胚葉由来の組織から発生する悪性腫瘍である(図1)。抗がん剤治療の導入により生命予後は改善したが、40%の症例は多発肺転移を来し、現在においても有効な治療法は存在しない。肉腫治療薬の研究開発が進まない理由として、肉腫は希少疾患であるうえに、さらに200種類以上の異なった組織型が存在するため、多数の臨床サンプルを用いた解析が困難。実際の肉腫には、空間的・時間的な腫瘍内 heterogeneity が存在し、単層培養での抗腫瘍効果を指標に開発された治療薬は、実際の肉腫には低い治療効果しか認めないことが多い。単層培養では再現できない肉腫細胞間、肉腫細胞-間質細胞間、肉腫細胞-基質間のコミュニケーションが、肉腫進展には重要であることなどが挙げられる。したがって、治療薬開発のためには、実際の肉腫を試験管内で再現し、解析できるような研究モデルを構築することが課題である。

近年、「自己複製能」と「多分化能」「薬剤抵抗性」などの性質を有する“がん幹細胞”の存在が明らかとなっている。肉腫幹細胞は、肉腫薬物療法の重要な標的となり得ることから、side population 法や ALDH, CD133, CD117/Stro-1, CD271 などをマーカーとした分離が試みられているが[1,2]、確立した肉腫幹細胞は存在しない。肉腫の発生・進展、転移のメカニズムを解明し、治療薬を開発するためには肉腫幹細胞の分離・同定が必要である。

一方、多能性幹細胞や生検サンプルからの細胞を利用したオルガノイド研究が盛んになってきた。オルガノイドモデルは、細胞を3次元培養することにより得られる人為的に創出された器官に類似した組織体であり、解剖学的・機能的に生体に近い特徴を示すことから、これまで解析が困難であった様々な生命現象に迫ることが可能であり、肉腫の進展・分化を解明するためには最適のモデルと考えられる。研究代表者らは、これまでアルジネートを scaffold とする骨肉腫細胞株の3次元培養に取り組み一定の成果を挙げてきた[3,4](図2)。しかし、このモデルでは腫瘍-基質、腫瘍-間質細胞などの腫瘍細胞周囲の微小環境が充分再構成されておらず、さらに改良したオルガノイドモデルの確立が急務であるとの考えに至った。

2. 研究の目的

- (1) ヒト臨床サンプルおよびマウス骨肉腫細胞株を用いて、数千の細胞の個々の遺伝子発現プロファイリングができる sc-RNAseq を行い、肉腫を構成する多様な細胞を機能的に分類し、肉腫幹細胞に特異的に発現する分子群を同定し、肉腫幹細胞集団を分離・抽出する。
- (2) 分離した肉腫幹細胞を用いて真の肉腫に近い性質を持ったヒト肉腫オルガノイドモデルを構築する。培地にニッチ刺激因子(IGF-2, BMP, FGF など)を添加することにより、生体内の肉腫を mimic する条件を決定し肉腫の進展・進化を再現する。さらにヒト肉腫オルガノイドをマウスに移植することで、オルガノイドと肺転移巣に共通して含まれる細胞群を抽出し、肺転移に必須のマーカーを同定する。
- (3) この研究で確立した肉腫幹細胞と肉腫オルガノイドモデルを用いて、肉腫進展・肺転移のメカニズムを明らかにするとともに、新たな治療薬の分子ターゲットの同定を目指す。

3. 研究の方法

(1) 細胞および細胞培養

細胞はヒト骨肉腫細胞株である HOS, SaOS2, マウス骨肉腫細胞株 LM8、そして38歳男性、左上腕骨に発生した骨肉腫(初診時肺転移あり)からの初代培養細胞株を用いた。初代細胞は生検組織を実験用ハサミで細片化した後、ディスペーゼで高所処理して細胞を回収した。スフェロイドの形成は、マトリジェル基底膜マトリックス(Corning社)を用いた。培養細胞株は10% 牛血清添加 DMEM を、初代培養細胞は、20% 牛血清添加 DMEM を用いて 37℃、5% CO₂ 下

図1 大腿骨に発生した骨肉腫

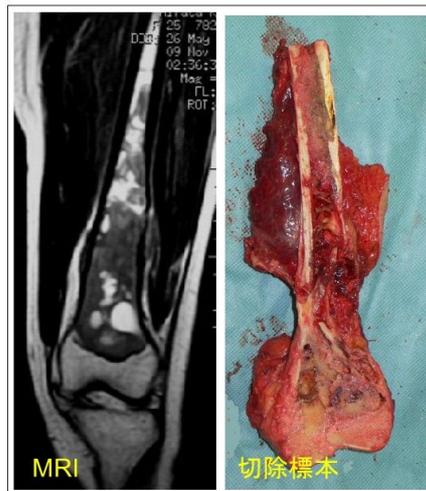
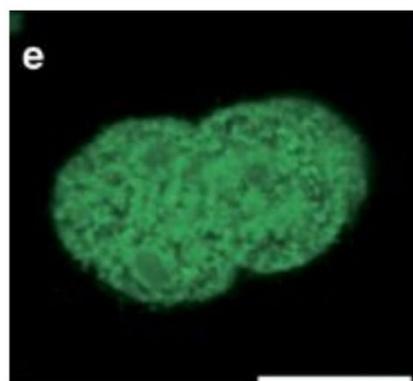


図2 アルジネートビーズ内に形成された骨肉腫オルガノイド



で培養を行った。

(2) 培養細胞の固定、HE 染色、蛍光免疫染色

培養細胞 2% PFA/0.1% TritonX-100 で 15 分間固定した後、HE 染色または免疫蛍光染色を行った。スフェロイド内部構造の観察は、15%および 30% Sucrose 処理した後、凍結組織包埋剤 (OCT コンパウンド) に包埋後、クライオスタットにて薄切することにより行った。細胞の免疫染色、ウエスタンブロッティングに使用した抗体を列挙する。Anti-VEGF Receptor 1 抗体 [Y103] (ab32152) (Abcam)、VEGF Receptor 2 (55B11) Rabbit mAb #2479 (Cell Signaling Technology)、PDGF Receptor (28E1) Rabbit mAb #3169 (Cell Signaling Technology)、Oct-3/4 抗体 (C-10): sc-5279 (Santa Cruz Biotechnology)、Anti-Nanog 抗体 (ab80892) (Abcam)、Anti-CD133 抗体 (ab19898) (Abcam)。

(3) 電子顕微鏡解析

スフェロイドを Glutaraldehyde, osmium tetroxide で固定後、エタノールで脱水、isoamyl acetate, liquid carbon dioxide 処理し、gold palladium で metal coating した後、Transmission Electron microscope H7650 (Hitachi)にて観察した。

(4) 細胞の分化誘導

形成されたスフェロイドにニッチ刺激因子 (IGF-2, BMP, FGF など) を添加することにより、分化誘導を確認した。

(5) アリザリンレッド染色

石灰化した骨結節の染色は、カルシウムに対し結合する色素・アリザリンレッド S を成分とする染色キット (石灰化染色キット: コスモ・バイオ株式会社) を用いた。

(6) マウスへの骨肉腫幹細胞移植実験

マウスは C3H マウスを用いた。C3H マウスにマウス骨肉腫細胞株から誘導されたスフェロイド 1 つ (細胞数は約 100) を背部皮下に移植した。

(7) 1 細胞遺伝子発現解析

LM8 からスフェロイドを 200 個単離し、1 細胞遺伝子発現解析 (scRNA-seq) を行った。scRNA-seq のライブラリー調製は Chromium (10xGenomics) を用いた。

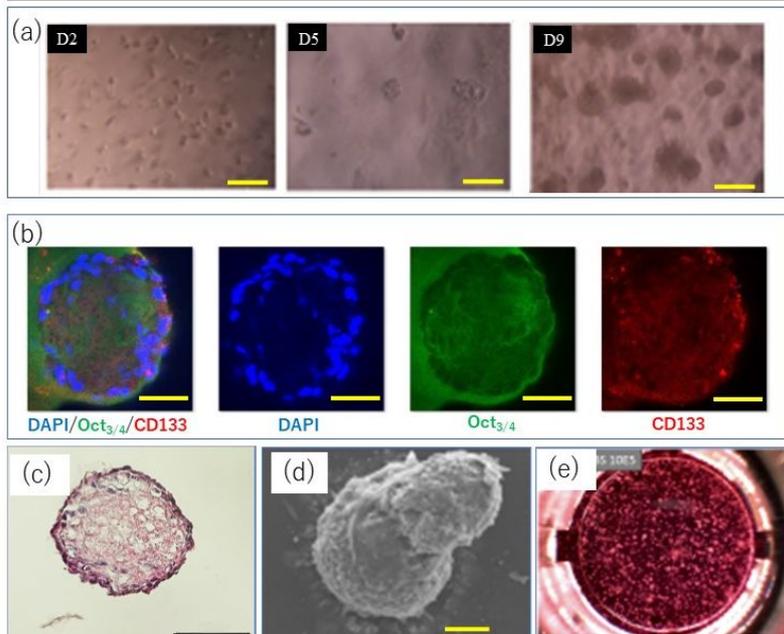
4. 研究成果

(1) 骨肉腫幹細胞の単離

まず、左上腕に発生した 33 歳男性の骨肉腫患者の生検組織から作成した初代骨肉腫培養細胞から骨肉腫幹細胞を単離することを試みたが、当初培養骨肉腫細胞の培地内での増殖が不安定であったため、マウス骨肉腫細胞株 (LM8) を用いて、マトリジェル内で 3 次元培養を行うことで幹細胞単離を行った。LM8 を 10%FBS 添加培地で培養し、これを 24 穴プレート上のマトリジェルに植え替え、37

で 3 次元培養を行った。5000細胞/wellの濃度で細胞培養を開始した場合には、約 5 個のスフェロイドが形成されることから、LM8 のうち 0.1% 程度の細胞が 3 次元培養可能となる幹細胞の特性を持っていると考えられた。(図 3 a) また、このスフェロイドにおける幹細胞マーカー遺伝子の発現を Real-time PCR で確認したところ、親株に対して Oct3/4, CD133, Nanog など幹細胞マーカー遺伝子が高発現していることが確認できた。また、これらの遺伝子のタンパクレベルでの発現を免疫蛍光浅色で確認したところ、Oct3/4, CD133, Nanog が

図3 作成した骨肉腫オルガノイド



強く発現していることを、確認できた。(図3 b)。さらにこの、スフェロイドの凍結切片を作製して内部構造を確認したところ、細胞はスフェロイドの外層1~2層に存在し、内部には結合組織が満たされていることがわかった(図3 c)。さらに、電子顕微鏡でのSEM像では球形のスフェロイドを観察することができた(図3 d)。さらに、このスフェロイドに骨分化刺激因子(IGF-2, BMP, FGF)を投与したところ、アリザリンレッド染色で強く染色されることがわかった(図3 e)。以上のことから、我々が分離した骨肉腫細胞スフェロイドは、骨肉腫幹細胞の性質を有していると考えられた。さらに、スフェロイド構成細胞がドキシソルピシンに対して薬剤抵抗性であることを確認した。

(2) LM8のスフェロイドを用いた scRNA-seq 解析を行った。scRNA-seq のライブラリー調製は Chromium (10xGenomics) を用いた。得られたデータから肉腫幹細胞らしい特徴を持つ細胞集団を推定しその集団のマーカーを同定するのが目的である。その結果、肉腫幹細胞を特徴付ける5つの候補遺伝子(遺伝子Xを含む)を抽出した。そのマーカー遺伝子でピックアップした細胞は、より強い多分化能を持つこと スフェロイド形成能を保持していること 自己複製能を有していること 10個の細胞をC3Hマウスに移植しただけで、安定的に腫瘍を形成することを確認した(図4)。

図4 骨肉腫オルガノイドのマウスへの移植実験



(3) 抽出した候補遺伝子のうち、治療への最も良いターゲットを同定するために、現在並行して行っている肉腫細胞株を用いた研究データを参考にした。9種類の肉腫細胞株を用いて CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats / CRISPR associated proteins) スクリーニングの手法で、細胞増殖に強く関与する遺伝子の網羅的解析を行い、さらに Cancer Dependency Map 上のデータを活用し、肉腫増殖に必須の6遺伝子を抽出した。その内、遺伝子Xは、我々が抽出した骨肉腫幹細胞を特徴付ける5つの遺伝子のうちの1つでもあった。遺伝子Xの発現量と予後との関係を Kaplan-Meier 法で検証したところ、遺伝子Xは予後悪化因子であることがわかった(図5)。遺伝子Xは、データベースの解析から多くの癌で高発現しており(図6) 肝臓癌、頭頸部癌、白血病(AML)では、高発現群は予後不良であることから、遺伝子Xの阻害剤は肉腫以外の治療薬としても有望と考えている。現在、shRNAを用いて遺伝子Xのノックダウンを行い、増殖能(細胞増殖曲線)、細胞周期(Flow Cytometry)、アポトーシスなど in vitro での形質の変化を解析している。

図5 肉腫において遺伝子X高発現群は予後が悪い

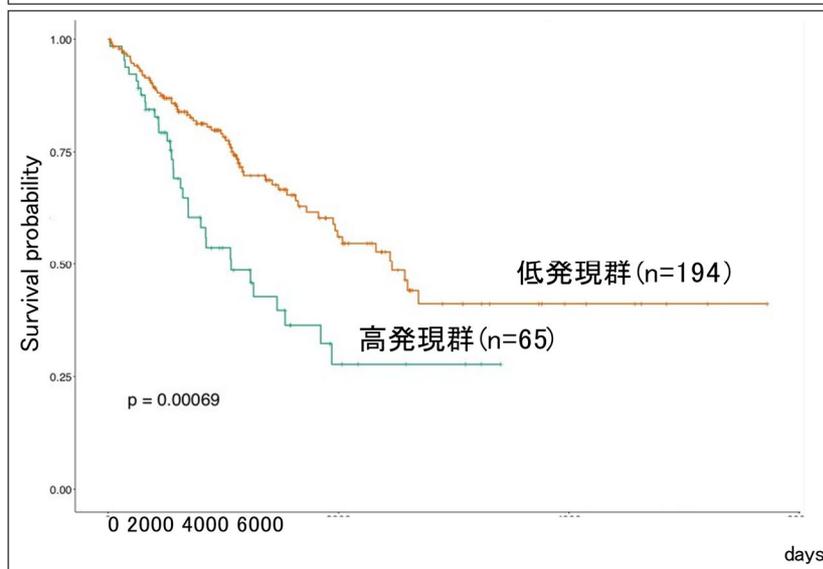
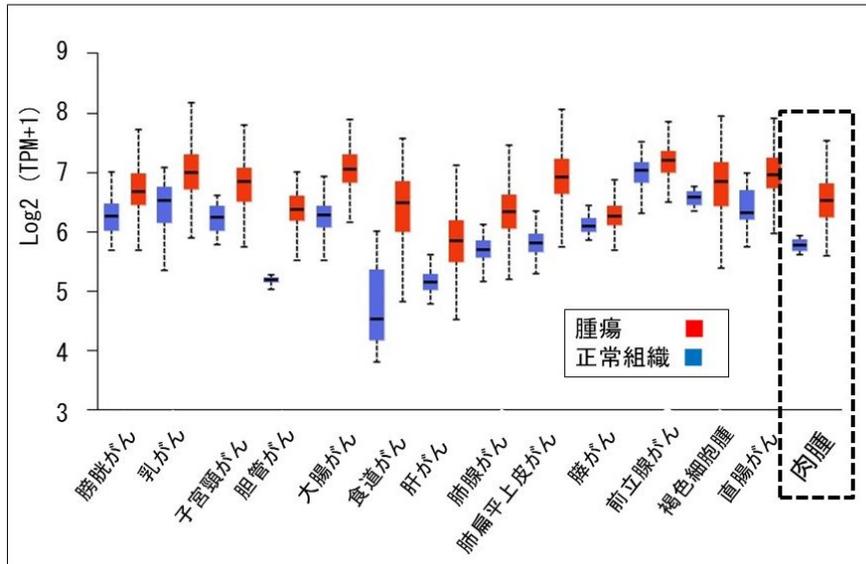


図6 各種癌における遺伝子Xの発現量



(4) マトリジェル内のオルガノイドに数種類の成長因子を添加することで得られたオルガノイドは病理組織学的には、一部骨肉腫の特徴を兼ね備えてはいるものの、基質形成に乏しいため、血管内皮細胞と間葉系細胞との共培養が必須であるとの仮説を立てた。得られた肉腫幹細胞を用いて生体内の肉腫に近い性質を持った肉腫オルガノイドモデルの構築を目指した。間葉系幹細胞 (MSC) との共培養を行ったところ、腫瘍細胞が産生する類骨の形成が劇的に増加し、病理組織組織学的にも骨肉腫に近い形態を示すことを確認しつつある。

< 引用文献 >

Jubelin C, Muñoz-Garcia J, Cochonneau D, Moranton E, Heymann MF, Heymann D. Biological evidence of cancer stem-like cells and recurrent disease in osteosarcoma. *Cancer Drug Resist.* 16;5:184-198, 2022.

Menéndez ST, Gallego B, Murillo D, Rodríguez A, Rodríguez R. Cancer Stem Cells as a Source of Drug Resistance in Bone Sarcomas. *J Clin Med.*10:2621, 2021.

Akeda K, Nishimura A, Satonaka H, Shintani K, Kusuzaki K, Matsumine A, Kasai Y, Masuda K, Uchida A. Three-dimensional alginate spheroid culture system of murine osteosarcoma. *Oncol Rep.* 22:997-1003, 2009.

Nishimura A, Akeda K, Matsubara T, Kusuzaki K, Matsumine A, Masuda K, Gemba T, Uchida A, Sudo A. Transfection of NF-κB decoy oligodeoxynucleotide suppresses pulmonary metastasis by murine osteosarcoma. *Cancer Gene Ther.* 18:250-9, 2011.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計38件（うち査読付論文 38件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakamura Tomoki, Matsumine Akihiko, Toda Yu, Takenaka Satoshi, Outani Hidetatsu, Fujiwara Tomohiro, Nishida Yoshihiro, Tsukushi Satoshi, Tome Yasunori, Kawamoto Teruya, Kito Munehisa, Shinohara Naohiro, Tomita Masato, Torigoe Tomoaki, Sudo Akihiro, Kawano Hiroataka | 4. 巻 14 |
| 2. 論文標題 Long-Term Results of Kyocera Modular Limb Salvage System after Resection of Tumors in the Distal Part of the Femur: Report from Japanese Musculoskeletal Oncology Group Study | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Cancers | 6. 最初と最後の頁 870 ~ 870 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14040870 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamagishi Atsushi, Nakajima Hideaki, Kokubo Yasuo, Yamamoto Yusuke, Matsumine Akihiko | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Polarization of infiltrating macrophages in the outer annulus fibrosus layer associated with the process of intervertebral disc degeneration and neural ingrowth in the human cervical spine | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 The Spine Journal | 6. 最初と最後の頁 877 ~ 886 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2021.12.005 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Honjoh Kazuya, Watanabe Shuji, Kubota Arisa, Matsumine Akihiko | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Negative impact of short-level posterior lumbar interbody fusion in patients with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis extending to the lumbar segment | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery: Spine | 6. 最初と最後の頁 392 ~ 398 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2021.5.SPINE21412 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Kubota Arisa, Takeura Naoto, Matsumine Akihiko | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Symptom-based characteristics and treatment efficacy of neuropathic pain related to spinal disorders | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science | 6. 最初と最後の頁 323 ~ 327 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2021.08.016 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|--------------------------------|
| 1. 著者名 Yamamoto Yusuke, Kokubo Yasuo, Nakajima Hideaki, Honjoh Kazuya, Watanabe Shuji, Matsumine Akihiko | 4. 巻 Publish Ahead of Print |
| 2. 論文標題 Distribution and Polarization of Hematogenous Macrophages Associated with the Progression of Intervertebral Disc Degeneration | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Spine | 6. 最初と最後の頁 149 ~ 158 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BRS.0000000000004222 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Honjoh Kazuya, Watanabe Shuji, Kubota Arisa, Matsumine Akihiko | 4. 巻 47 |
| 2. 論文標題 Relationship Between Vertebral Bone Marrow Edema and Early Progression of Intervertebral Disc Wedge or Narrowing After Lumbar Decompression Surgery | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Spine | 6. 最初と最後の頁 114 ~ 121 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BRS.0000000000004108 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Kubota Arisa, Maezawa Yasuhisa, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Ohmori Hironori, Matsumine Akihiko | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Short-Term Outcome and Predictors of Therapeutic Effects of Intradiscal Condoliase Injection for Patients with Lumbar Disc Herniation | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Spine Surgery and Related Research | 6. 最初と最後の頁 264 ~ 271 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.22603/ssrr.2020-0126 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Aiba Hisaki, Ikuta Kunihiro, Asanuma Kunihiro, Kawanami Katsuhisa, Tsukushi Satoshi, Matsumine Akihiko, Ishimura Daisuke, Nagano Akihito, Shido Yoji, Kozawa Eiji, Yamada Kenji, Wasa Junji, Kimura Hiroaki, Sakai Takao, Murakami Hideki, Sakai Tomohisa, Nakamura Tomoki, Nishida Yoshihiro | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Effect of Neoadjuvant Therapies on Soft Tissue Sarcomas with Tail-like Lesions: A Multicenter Retrospective Study | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cancers | 6. 最初と最後の頁 3901 ~ 3901 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13153901 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Tsukamoto Tadashi, Tsujii Masaya, Odake Kazuya, Iino Takahiro, Nakamura Tomoki, Matsumine Akihiko, Sudo Akihiro | 4. 巻 55 |
| 2. 論文標題 Febuxostat reduces muscle wasting in tumor-bearing mice with LM8 osteosarcoma cells via inhibition of reactive oxygen species generation | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Free Radical Research | 6. 最初と最後の頁 711 ~ 721 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10715762.2021.1947502 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Kubota Arisa, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Matsumine Akihiko | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Clinical and imaging features of surgically treated low lumbar osteoporotic vertebral collapse in patients with Parkinson's disease | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 14235-14243 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-93798-1 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Kubota Masafumi, Kokubo Yasuo, Miyazaki Tsuyoshi, Matsuo Hideaki, Naruse Hiroaki, Shouji Kazuki, Shimada Seiichiro, Matsumine Akihiko | 4. 巻 32 |
| 2. 論文標題 Effects of knee extension exercise starting within 4?h after total knee arthroplasty | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology | 6. 最初と最後の頁 803 ~ 809 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00590-021-03042-9 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Takahashi Ai, Kamei Erina, Sato Yuri, Shimada Seiichiro, Tsubokawa Misao, Ohta Genrei, Ohshima Yusei, Matsumine Akihiko | 4. 巻 100 |
| 2. 論文標題 Infant with right hemiplegia due to acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD) | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Medicine | 6. 最初と最後の頁 e25468 ~ e25468 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000025468 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Honjoh Kazuya, Watanabe Shuji, Kubota Arisa, Matsumine Akihiko | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Risk Factors and Prevention of C5 Palsy After Anterior Cervical Decompression and Fusion | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Spine Surgery: A Spine Publication | 6. 最初と最後の頁 E274 ~ E279 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BSD.0000000000001187 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Kubota Arisa, Matsumine Akihiko | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Pathomechanism and prevention of further surgery after posterior decompression for lumbar spinal canal stenosis in patients with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The Spine Journal | 6. 最初と最後の頁 955 ~ 962 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2021.01.009 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Ono Kumiko, Matsumine Akihiko, Noguchi Megumi, Asano Kayoko, Yasuda Masaaki, Takedani Hideyuki | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Surgical treatment of haemophilic pseudotumor with severe bone destruction: a case report | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Modern Rheumatology Case Reports | 6. 最初と最後の頁 414 ~ 420 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/24725625.2021.1876339 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Goto Mikinobu, Matsumine Akihiko, Yamaguchi Seiji, Takahashi Hiroyuki, Akeda Koji, Nakamura Tomoki, Asanuma Kunihiro, Matsushita Tomiharu, Kokubo Tadashi, Sudo Akihiro | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Osteoconductivity of bioactive Ti-6Al-4V implants with lattice-shaped interconnected large pores fabricated by electron beam melting | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Biomaterials Applications | 6. 最初と最後の頁 1153 ~ 1167 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0885328220968218 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Asanuma Kunihiro, Nakamura Tomoki, Asanuma Yumiko, Okamoto Takayuki, Kakimoto Takuya, Yada Yuki, Hagi Tomohito, Kita Kouji, Nakamura Koichi, Matsumine Akihiko, Sudo Akihiro | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Prognostic Significance of Thrombomodulin <sc>mRNA</sc> in High Grade Soft Tissue Sarcomas after 10?years | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Orthopaedic Surgery | 6. 最初と最後の頁 1726 ~ 1732 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/os.12779 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Izubuchi Yuya, Nakajima Hideaki, Honjoh Kazuya, Imamura Yoshiaki, Nojima Takayuki, Matsumine Akihiko | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Primary intradural extramedullary Ewing sarcoma: A case report and literature review | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Oncology Letters | 6. 最初と最後の頁 2347 ~ 2355 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.11786 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Takahashi Ai, Naruse Hiroaki, Kitade Ippei, Shimada Seiichiro, Tsubokawa Misao, Kokubo Yasuo, Matsumine Akihiko | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 Functional outcomes after the treatment of hip fracture | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 PLOS ONE | 6. 最初と最後の頁 652 ~ 658 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0236652 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Honjoh Kazuya, Watanabe Shuji, Kubota Arisa, Matsumine Akihiko | 4. 巻 737 |
| 2. 論文標題 Distribution and polarization of microglia and macrophages at injured sites and the lumbar enlargement after spinal cord injury | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience Letters | 6. 最初と最後の頁 135152 ~ 135152 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2020.135152 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Tsujii Masaya, Matsumine Akihiko, Nakamura Tomoki, Satonaka Haruhiko, Sudo Akihiro | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 Vastus lateralis myocutaneous flap for ischial skin wound following the treatment of epithelioid sarcoma using pazopanib | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Wound Care | 6. 最初と最後の頁 335 ~ 339 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12968/jowc.2020.29.6.335 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Kubota Arisa, Matsumine Akihiko | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 Differences in clinical and radiological features of thoracic disc herniation presenting with acute progressive myelopathy | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Spine Journal | 6. 最初と最後の頁 829 ~ 836 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00586-020-06485-6 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Sugita Daisuke, Nakajima Hideaki, Kokubo Yasuo, Takeura Naoto, Yayama Takafumi, Matsumine Akihiko | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Cyclic tensile strain facilitates ossification of the cervical posterior longitudinal ligament via increased Indian hedgehog signaling | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 7231 ~ 7235 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-64304-w | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Izubuchi Yuya, Suzuki Koji, Imamura Yoshiaki, Katayama Hajime, Ohshima Yusei, Matsumine Akihiko | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Primary Rosai-Dorfman disease of bone arising in the infantile ilium: A case report | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Experimental and Therapeutic Medicine | 6. 最初と最後の頁 2983 ~ 2988 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/etm.2020.8568 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Endo Makoto, Takahashi Shunji, Araki Nobuhito, Sugiura Hideshi, Ueda Takafumi, Yonemoto Tsukasa, Takahashi Mitsuru, Morioka Hideo, Hiraga Hiroaki, Hiruma Toru, Kunisada Toshiyuki, Matsumine Akihiko, Goda Kazato, Kawai Akira | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Time lapse analysis of tumor response in patients with soft tissue sarcoma treated with trabectedin: A pooled analysis of two phase II clinical trials | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Medicine | 6. 最初と最後の頁 3656 ~ 3667 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.2991 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Kitade Ippei, Nakajima Hideaki, Takahashi Ai, Matsumura Mayumi, Shimada Seiichiro, Kokubo Yasuo, Matsumine Akihiko | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Kinematic, kinetic, and musculoskeletal modeling analysis of gait in patients with cervical myelopathy using a severity classification | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 The Spine Journal | 6. 最初と最後の頁 1096 ~ 1105 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2020.01.014 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Matsuo Hideaki, Kubota Masafumi, Shimada Seiichiro, Kitade Ippei, Matsumura Mayumi, Nonoyama Tadayoshi, Koie Yusuke, Naruse Hiroaki, Takahashi Ai, Oki Hisashi, Kokubo Yasuo, Matsumine Akihiko | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 The Effect of Static Stretching Duration on Muscle Blood Volume and Oxygenation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Strength and Conditioning Research | 6. 最初と最後の頁 379 ~ 385 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1519/JSC.0000000000003457 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Kuroda Hiroyuki, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Matsumine Akihiko | 4. 巻 32 |
| 2. 論文標題 Risk factors and preventive measures for C5 palsy after cervical open-door laminoplasty | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neurosurgery: Spine | 6. 最初と最後の頁 592 ~ 599 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3171/2019.10.SPINE19993 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Heng Marilyn, Gupta Abha, Chung Peter W., Healey John H., et al. | 4. 巻 125 |
| 2. 論文標題 The role of chemotherapy and radiotherapy in localized extraskeletal osteosarcoma | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 European Journal of Cancer | 6. 最初と最後の頁 130 ~ 141 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejca.2019.07.029 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Honjoh Kazuya, Nakajima Hideaki, Hirai Takayuki, Watanabe Shuji, Matsumine Akihiko | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Relationship of Inflammatory Cytokines From M1-Type Microglia/Macrophages at the Injured Site and Lumbar Enlargement With Neuropathic Pain After Spinal Cord Injury in the CCL21 Knockout (plt) Mouse | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 525 ~ 531 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2019.00525 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Takeura Naoto, Nakajima Hideaki, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Takahashi Ai, Matsumine Akihiko | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Role of macrophages and activated microglia in neuropathic pain associated with chronic progressive spinal cord compression | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 51656 ~ 51661 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52234-1 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Nakajima Hideaki, Watanabe Shuji, Honjoh Kazuya, Kitade Ippei, Sugita Daisuke, Matsumine Akihiko | 4. 巻 44 |
| 2. 論文標題 Long-term Outcome of Anterior Cervical Decompression With Fusion for Cervical Ossification of Posterior Longitudinal Ligament Including Postsurgical Remnant Ossified Spinal Lesion | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Spine | 6. 最初と最後の頁 E1452 ~ E1460 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BRS.00000000000003173 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Asanuma Kunihiro, Nakamura Tomoki, Asanuma Yumiko, Kakimoto Takuya, Yada Yuki, Hagi Tomohito, Kita Kouji, Matsumine Akihiko, Sudo Akihiro | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Serum thrombomodulin as a metastatic and prognostic marker in soft tissue sarcomas | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Biomarkers | 6. 最初と最後の頁 163 ~ 170 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/CBM-182075 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamaguchi Itaru, Kokubo Yasuo, Yamashita Taro, Ueda Mitsuharu, Okoshi Takakazu, Matsumine Akihiko, Ando Yukio, Naiki Hironobu | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Class I small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) colocalise with the A _β 2M amyloid deposits: implications for the roles of SLRP core proteins in the pathogenesis of dialysis-related amyloidosis | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Amyloid | 6. 最初と最後の頁 140 ~ 141 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13506129.2019.1582498 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Sakamoto Takumi, Miyazaki Tsuyoshi, Watanabe Shuji, Takahashi Ai, Honjoh Kazuya, Nakajima Hideaki, Oki Hisashi, Kokubo Yasuo, Matsumine Akihiko | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Intraarticular injection of processed lipoaspirate cells has anti-inflammatory and analgesic effects but does not improve degenerative changes in murine monoiodoacetate-induced osteoarthritis | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders | 6. 最初と最後の頁 335 ~ 339 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-019-2710-1 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Kakimoto Takuya, Matsumine Akihiko, Asanuma Kunihiro, Matsubara Takao, Nakamura Tomoki, Sudo Akihiro | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 The clinical outcomes of total femur prosthesis in patients with musculoskeletal tumors | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 SICOT-J | 6. 最初と最後の頁 23 ~ 23 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1051/sicotj/2019020 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Hattori Tetsuya, Matsumine Akihiko, Uchida Katsunori, Nojima Takayuki, Sudo Akihiro | 4. 巻 58 |
| 2. 論文標題 Benign Fibrous Histiocytoma of the Talus: A Case Report | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Foot and Ankle Surgery | 6. 最初と最後の頁 762 ~ 765 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.jfas.2018.11.009 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Kakimoto Takuya, Matsumine Akihiko, Kageyama Shinichi, Asanuma Kunihiro, Matsubara Takao, Nakamura Tomoki, Iino Takahiro, Ikeda Hiroaki, Shiku Hiroshi, Sudo Akihiro | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 Immunohistochemical expression and clinicopathological assessment of the cancer testis antigens NY2ES0?1 and MAGE?A4 in high?grade soft?tissue sarcoma | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Oncology Letters | 6. 最初と最後の頁 3937 ~ 3943 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2019.10044 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

| | | |
|-------------------------------|--------------|---------------|
| 産業財産権の名称 骨を固定するためのプレート | 発明者 松峯昭彦 | 権利者 福井大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特許第6835321号 | 取得年 2021年 | 国内・外国の別 国内 |

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|--------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 出淵 雄哉 (Izubuchi Yuya) (20795041) | 福井大学・学術研究院医学系部門・特別研究員 (13401) | |
| 研究分担者 | 林 寛敦 (Hayashi Tomoatsu) (30583215) | 東京大学・定量生命科学研究所・特任助教 (12601) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|---|--|----|
| 研究 分 担 者 | 秋山 徹 (Akiyama Tetsu) (70150745) | 東京大学・定量生命科学研究所・特任教授 (12601) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |