

令和 4 年 4 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H06393

研究課題名（和文）関節軟骨の生体恒常性の維持および破綻機構の統合的理解に基づく革新的医療技術の開発

研究課題名（英文）Development of innovative medical technology based on integrated understanding of both protection and destruction of articular cartilage homeostasis.

研究代表者

西村 理行 (Nishimura, Riko)

大阪大学・歯学研究科・教授

研究者番号：60294112

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 141,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、関節軟骨が恒常性を維持する分子メカニズムを明らかにするために、遺伝子発現の調節機構およびその細胞内シグナルの役割を中心に検索し、関節軟骨細胞の形成に必要な転写因子群および細胞内シグナル伝達経路を明らかにした。一方、変形性関節症などで観られる関節軟骨の破壊に関与するメカニズムも見出した。さらにこれらの知見に基づいて、変形性関節症に対する創薬を目指した標的分子の同定とスクリーニングシステムの開発に成功し、変形性関節症の治療戦略の基盤構築に貢献した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで不明であった関節軟骨細胞の細胞生物学および分子生物学的特性に対する理解が進展した。特に、成長軟骨細胞ではほとんど発現が観られない、関節軟骨表層細胞に特異的かつその機能に重要であるPrg4およびGdf5の発現機構を、分子、細胞、および個体レベルで解明することができた。また、Prg4遺伝子およびGdf5遺伝子を制御する転写因子ならびに細胞内シグナルを同定した。これらの研究成果は、新規性および独創性に富み高い学術的意義を有する。

また本研究により、関節軟骨細胞の再生や変形性関節症の創薬スクリーニングシステムの開発基盤を構築することができ、社会的にも重要な役割を果たすと期待される。

研究成果の概要（英文）：In this research project, to elucidate the molecular mechanism of articular cartilage homeostasis, we focused on the roles of the regulatory mechanism of gene expression and its intracellular signaling, and identified transcription factors and intracellular signaling pathways required for the formation of articular cartilage chondrocytes. We also found the mechanisms involved in the destruction of articular cartilage, which is observed in osteoarthritis and other joint diseases. Based on these findings, they succeeded in identifying target molecules and developing a screening system for drug discovery against osteoarthritis, contributing to the establishment of a foundation for therapeutic strategies for osteoarthritis.

研究分野：骨・軟骨生物学

キーワード：変形性関節症 軟骨 転写因子 細胞内シグナル 関節軟骨細胞 ゲノム編集 創薬

## 1. 研究開始当初の背景

関節軟骨細胞は、幹細胞性を有し、一生涯、硝子軟骨として機能することが運命づけられており、顎関節、膝関節および股関節等の関節運動の一躍を担っている。しかし関節軟骨細胞および関節軟骨基質が、加齢、炎症あるいは過度の機械的刺激によって破壊されると、変形性関節症などの関節疾患が発症する。近年の超高齢社会の到来により、変形性関節症の患者数は増加の一途を辿っており、2000万人にも膨れ上がり、大きな社会問題になっている。したがって、変形性関節症に対するより有効な新規治療法の開発と早期診断法の確立が渴望されている。その実現には、変形性関節症の発症メカニズムを細胞ならびに分子レベルで解明することが必要不可欠である。変形性関節症の関節破壊部位では、成長軟骨細胞の肥大化とその後に生じる軟骨基質の分解に似た病理組織学的所見と遺伝子発現パターンが認められるため、これまでの変形性関節症に関する研究は、成長軟骨細胞の肥大化と軟骨基質の分解のメカニズムを基盤にして展開されてきた。成長軟骨細胞を用いたこれらの研究成果は、変形性関節症の病態の理解とその発症メカニズムの解明に貢献を果たしてきた。しかし関節軟骨細胞が、成長軟骨細胞とは異なる特性を多々有していることが明らかになりつつある。例えば、関節軟骨細胞は、1) 幹細胞性を有する、2) 増殖能が非常に低い、3) 増殖因子 GDF5 やプロテオグリカン Prg4 を特異的に発現する、とその特徴は成長軟骨細胞と大きく異なっている。さらに関節軟骨細胞の幹細胞性が、どのようなメカニズムで維持あるいは破綻するかは全く不明である。したがって、変形性関節症の発症メカニズムの理解をさらに深めるためには、関節軟骨細胞を主体にした新しい切り口の研究が不可欠である。

## 2. 研究の目的

本研究計画では、研究代表者らが軟骨代謝研究で培ってきた豊富な知見、経験および技術を基盤として、関節軟骨細胞の特性を細胞ならびに遺伝子レベルで解き明かし、関節軟骨細胞の幹細胞性の維持機構を的確に理解するとともに、変形性関節症を引き起こすシグナルを究明し、その発症メカニズムを *in vitro* ならびに *in vivo* で解明することを目指した。究極的には、関節軟骨細胞の維持と破綻の機構を統合的に理解し、変形性関節症の新規治療法と早期診断法の開発基盤の確立に貢献することを目的として、本研究計画を立案、遂行した。

研究代表者らは、関節軟骨の細胞および分子レベルでの研究を実現するために、関節軟骨細胞を選択的に分離培養する技術と関節軟骨の器官培養法を確立した。また Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) あるいはレチノイン酸 (RA) を関節軟骨細胞に添加し、変形性関節症の関節軟骨細胞の状態を *in vitro* で再現するシステムも開発に成功している。さらにこれらの培養システムを用いて網羅的遺伝子クローニングを行い、関節軟骨細胞の維持と破綻に関わる分子の探索に必要な基盤データを構築している。これらの準備状況に基づいて、下記の課題を中心に研究計画を実施した。

(1) 関節軟骨細胞に特異的な転写因子を同定し、関節軟骨細胞への分化誘導能に対する関与を、*in vitro* および *in vivo* で検討した。

(2) 関節軟骨細胞の幹細胞性の維持に必要な分子を特定し、その機能的役割を解明する。また同定された分子が、変形性関節症を抑制できるか否かを検索した。抑制効果が認められた分子は、変形性関節症に対する“正の創薬標的”として検討した。

(3) 変形性関節症の発症に関わる分子を同定し、変形性関節症の病態における関与の解明を目指した。同定した変形性関節症関連分子は、分子細胞生物学的手法によって、その機能あるいは発現を阻害し、変形性関節症の発症への阻害効果を検討した。変形性関節症への関与が認められた分子は、変形性関節症に対する“負の創薬標的”とした。さらに同定された候補分子が分泌タンパク質の場合は、変形性関節症モデルマウスでの当該分子の体内動態を測定し、変形性関節症の診断マーカーとしての可能性を検討した。

(4) 変形性関節症の創薬標的分子の発現あるいは機能を制御する薬剤をスクリーニングするために、種々のノックインマウスを作製し、新規ハイスループットアッセイシステム (HTS 系) を開発した。この HTS 系を用いて、ヒット化合物の探索を行った。

(5) 関節軟骨細胞特異的転写因子群を導入し、関節軟骨細胞に分化誘導できるダイレクトリブログラミング技術の開発を行い、関節軟骨細胞の再生療法の開拓を目指した。

## 3. 研究の方法

(1) 遺伝子クローニングは、Microarray 解析に加えて、RNA-seq 解析、シングルセル RNA-seq (scRNA-seq) 解析、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を応用した enChIP クローニング法、質量分析法にて実施した。またエピゲノム情報をゲノムワイドに解析するために、ATAC-seq 解析ならびに ChIP-seq 解析を活用した。遺伝子クローニングの実施においては、解析の目的に合った遺伝子クローニング手法の選択が必要であり、遺伝子クローニングに用いるサンプルの良否が非常に重要である。そこで、各々の実験目的に合致するように、*in vitro* あるいは *in vivo* への適切な刺激や条件を予備実験にて入念に確認した。例えば、細胞や組織で指標となる遺伝子やタンパク質の発現を RT-qPCR 法やウエスタンブロッティング法にて確認した。また、生理的あるいは病理的状況を反映させるために、様々なノックアウト (KO) マウス、ノックイン (KI) マウスおよびトランスジェニックマウスを作製し、その細胞や組織を用いた遺伝子クローニング法

を開発し、研究を展開した。

(2) 研究計画に必要な遺伝子改変マウスの作製は、ES細胞での相同組み替えによる従来の作製法に加えて、CRISPR/Cas9 ゲノム編集法を活用して、KO マウスおよび KI マウスを作製した。特に、様々なエピトープタグや点変異を挿入する場合には、CRISPR/Cas9 ゲノム編集法は非常に有効であった。

(3) 遺伝子、タンパク質および細胞における発現あるいは機能解析は、多岐に渡る細胞生物学的手法、分子生物学的手法、生化学的解析および遺伝子工学アプローチを駆使した。また細胞への遺伝子導入は、細胞種の特性に合わせて、通常のトランスフェクション、アデノウイルス、レトロウイルス、レンチウイルスおよびアデノ随伴ウイルスにて行った。また組織学的解析は、HE染色、サフラニン染色、免疫染色、in situ hybridization 法および whole mount in situ hybridization 法にて行った。さらに、発光イメージングシステム、蛍光実体顕微鏡および共焦点顕微鏡を用いて、ライブイメージングによる解析も活用した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 関節軟骨細胞に特異的な転写因子の同定と機能解析

マウス関節軟骨の表層細胞 (Super Facial Zone 細胞: SFZ 細胞) に特異的なプロテオグリカンである Prg4 遺伝子を制御する転写因子の同定を行うために、enChIP 法にて Prg4 遺伝子プロモーター領域に結合する転写因子のスクリーニングを行った。その結果、Prg4 遺伝子を制御する転写因子群を同定した。まず関節軟骨における転写因子群の機能を解析するために、レトロウイルスおよびレンチウイルスを用いて SFZ 細胞、マウス初代軟骨細胞および未分化間葉系細胞株 C3H10T1/2 に当該転写因子の遺伝子を過剰発現させると、Prg4 の発現が著明に誘導されることを見出した。一方、レトロウイルスによる shRNA システムにてノックダウン実験を行うと、SFZ 細胞における Prg4 遺伝子の発現が顕著に抑制された。ChIP 解析の結果、Prg4 遺伝子プロモーター領域への結合も確認した。また当該転写因子が Prg4 遺伝子プロモーター活性を促進することもルシフェラーゼアッセイによって確認した。この遺伝子のノックアウトマウスを作製し、Prg4 の発現を in situ hybridization にて検索すると、関節軟骨表層部における Prg4 の発現が消失していた。さらに関節軟骨特異的コンディショナル KO (cKO) マウスを作製し、Prg4 の発現を RT-qPCR 法にて解析すると、対照マウス群に比較して、関節軟骨における Prg4 遺伝子の発現が有意に減少することも見出した。変形性関節症における重要性を明らかにするために、cKO マウスに半月板不安定化 (DMM) 処理を行った。DMM 処理にて誘発される変形性関節症の程度は、cKO マウスでは対照マウス群に比べて著しく増悪していた。したがって、この転写因子は、SFZ 細胞に特異的に高発現し、Prg4 遺伝子の発現制御と関節軟骨の恒常性維持において中心的役割を果たしていると考えられた。

次に上記転写因子に結合する転写制御因子を探索した結果、質量分析法により、リプレッサーが同定された。このリプレッサーも Prg4 遺伝子プロモーターに直接結合することが、ChIP 解析により確認できた。また免疫共沈降法実験により、このリプレッサーが上記転写因子に結合し、転写複合体を形成することが見出された。さらにこのリプレッサーが上記転写因子の Prg4 遺伝子誘導効果を阻害することが判明した。この実験結果に一致して、shRNA システムにてノックダウン実験を行ったところ、Prg4 の発現が有意に増加することを見出した。この際、SFZ 細胞に特異的に発現するサイトカインである Gdf5 の発現には影響を及ぼさなかった。そこで CRISPR/Cas9 ゲノム編集法を用いて、このリプレッサー遺伝子の KO マウスを作製すると、胎生致死で、著明な骨格形成不全を示した。以上の研究成果より、当該転写因子とリプレッサーの相反する作用のバランスが、SFZ 細胞の機能ならびに恒常性の維持に重要であることが明らかになり、本研究成果は学術的に大きな貢献を果たすとともに、変形性関節症に対する有力な創薬ターゲットを提供すると考えられた。

##### (2) 関節軟骨の恒常性維持に関わる分子の同定と機能解析

SFZ 細胞の幹細胞性に関与する分子として、SFZ 細胞特異的サイトカイン GDF5 に着目し、Gdf5 遺伝子座に蛍光タンパク質である ZsGreen 遺伝子を導入し、Gdf5 KO マウスを作製した。その結果、Gdf5 KO マウスは、歩行異常などの変形性関節症様症状を呈した。GDF5 と同じ BMP ファミリーに属し、軟骨細胞の分化と成熟に重要な役割を果たす BMP2 と比較し、GDF5 の細胞内シグナル、標的遺伝子の探索および SFZ 細胞に対する効果を検討した。GDF5 は、BMP2 と同様に Smad1/4/5 シグナルを活性化することをウエスタンブロッティングならびに Smad 反応性ルシフェラーゼレポーター遺伝子を用いた実験にて確認した。また SFZ 細胞、マウス肢芽細胞および C3H10T1/2 細胞に GDF5 あるいは BMP2 を作用させ Microarray 解析を行ったところ、GDF5 および BMP2 は、ほぼ同様の遺伝子群の発現を上昇させることが判明した。GDF5 をマウス肢芽細胞に作用させると、予想外にも GDF5 は BMP2 と同様に肢芽細胞のアルシアンブル陽性軟骨基質の産生と石灰化を増加させた。また BMP2 と拮抗する TGF- $\beta$  を作用させると、GDF5 あるいは BMP2 による石灰化作用が抑制された。興味あることに、mass culture 条件下で SFZ 細胞に BMP2 を作用させると石灰化が促進されたが、GDF5 は SFZ 細胞の石灰化を誘導しなかった。これらの実験結果から、GDF5 は SFZ 細胞特異的な作用を有し、この作用が SFZ 細胞の幹細胞性の維持に関与していると考えられた。そこで SFZ 細胞における GDF5 の標的遺伝子を同定するために、Gdf5 の発現していない状況下での解析を進めた。具体的には、Gdf5 KO マウスおよび野生型マウスから SFZ 細胞を採取し、RNA-seq 解析を実施した。その結果、Gdf5 KO マウス由来の SFZ 細胞では、転写因子 Pax1 の発現が減少していることが見出された。

Gdf5 KO マウスの関節軟骨における Pax1 の発現の低下は、免疫染色にて確認された。Pax1 は、硬組織の石灰化に抑制的に作用することが報告されているので、GDF5 は Pax1 の発現を増加させることにより、SFZ 細胞の石灰化を抑制して、その幹細胞性の維持に寄与していると推察された。

### (3) 変形性関節症に関する分子の同定と機能解析

ヒト変形性関節症データベースを基盤にして、変形性関節症の発症に関する遺伝子を探索した結果、転写因子 SoxC ファミリー転写因子に属する Sox4 および Sox11 を同定した。またマウス SFZ 細胞に IL-1 あるいはレチノイン酸 (RA) を作用させたサンプルを Microarray 解析、RNA-seq 解析および RT-qPCR 解析にて検索しても、Sox4 ならびに Sox11 の顕著な発現上昇を認めた。C3H10T1/2 細胞あるいはヒト軟骨細胞様株化細胞 SW1353 に Sox4 あるいは Sox11 アデノウイルスを添加すると、プロテオグリカン分解酵素である Adamts4 および Adamts5 の発現が著明に誘導することを見出した。また Sox4 が Adamts4 および Adamts5 遺伝子プロモーターに直接結合し、その転写活性を促進することを、ルシフェラーゼレポーターアッセイと ChIP 解析にて確認した。マウス関節軟骨器官培養系に Sox4 あるいは Sox11 アデノウイルスを感染させると、関節軟骨の破壊 (図 4) と Adamts5 と MMP13 の発現増加が観察された。さらに、ヒト変形性関節症患者では、関節軟骨組織の破壊に並行して、Sox4 および Sox11 の発現が増加することを見出した。したがって、Sox4 および Sox11 は、Adamts4、Adamts5 および MMP13 の発現を誘導することにより、変形性関節症の発症と進行に深く関与することが示され、変形性関節症の発症メカニズムおよび病態解明に貢献すると考えられた。

なお、本研究結果は、DMM 処置をしたマウス変形性関節症モデルでも再現を確認できており、ヒトの臨床研究に加えて、変形性関節症の in vivo 解析においても有用な指標を提供する点でも有意義であると思われる。

SFZ 細胞の Microarray および RNA-seq 解析による遺伝子発現プロファイルを検索した結果、古典的 Wnt のアンタゴニストである Frzb 遺伝子が SFZ 細胞において高発現していることを認めた。また SFZ 細胞に IL-1 あるいは RA を作用させると、Frzb の発現が著明に低下することを見出した。古典的 Wnt シグナルは、変形性関節症のリスクファクターであることが明らかにされており、その細胞内シグナル経路を探索した結果、転写制御因子である LEF1 と TAZ が結合し、転写因子 Runx2 と転写複合体を形成することを見出した。さらに Frzb の発現制御機構を探索したところ、転写因子 Osterix および Msx2 の過剰発現が Frzb の発現を低下させること、Osterix あるいは Msx2 のノックダウンが Frzb の発現を低下させることを示した。また Osterix および Msx2 は、Frzb 遺伝子プロモーターの転写活性を亢進し、Frzb 遺伝子プロモーター領域への結合が ChIP 解析にて確認された。免疫共沈降法により、Osterix と Msx2 の物理的結合も認めた。以上の実験結果より、Frzb の遺伝子発現は、Osterix と Msx2 により制御されていることが明らかとなった。

### (4) 変形性関節症の創薬標的分子の HTS 系の開発

目的とする HTS 系を開発に当たっては、ア) CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を用いても目的の軟骨様細胞株へのノックイン効率が非常に低い、イ) ノックインした細胞のクローンによって形質が異なるなどの問題点を解決するために、SFZ 細胞の関節保護機能に必須である Prg4 の遺伝子のストップコドン直前に高感度ルシフェラーゼシステム発光タグをノックインしたマウスを作製した。ルシフェラーゼ活性は、簡便、鋭敏かつ再現性高く検出可能であり、Prg4 遺伝子にノックインしていることから、内在性の Prg4 タンパク質発現に一致した網羅的検索が可能である。実際に、この Prg4 KI マウスから採取した SFZ 細胞にて、高いルシフェラーゼ活性を確認することができ、Prg4 KI マウスから SFZ 細胞を分離培養し、変形性関節症の新規治療薬をスクリーニングできる HTS 系の樹立に成功した。この HTS 系を用いて、低分子化合物ライブラリーをスクリーニングし、Prg4 の発現を増加させる約 20 個のヒット化合物を得ることができた。これらヒット化合物は、Prg4 の発現を増加させる変形性関節症の治療薬の開発に大きく貢献すると期待される。また GDF5 の発現を増加させる薬剤および関節破壊酵素である MMP3 の発現を抑制する薬剤を開発するために、Gdf5 KI マウスおよび Mmp3 KI マウスを作製し、HTS 系として機能することも確認している。本研究で構築に成功した、ルシフェラーゼタグ KI マウスによる HTS 系への応用は、変形性関節症のみならず、多くの疾患の創薬スクリーニングに大きな貢献を果たすと期待される。

### (5) ダイレクトリプログラミング法による関節軟骨細胞再生の基盤構築

SFZ 細胞に特異的に高発現する転写因子として、Hox ファミリー遺伝子群を見出した。アデノウイルスを用いて線維芽細胞に過剰発現実験を行うと、Prg4 遺伝子が有意に増加した。さらに上記 Gdf5 KI マウス由来の SFZ 細胞を用いて、ルシフェラーゼ活性を指標に GDF5 の発現を上昇させる転写因子を探索した。その結果、SFZ 細胞への過剰発現により、ルシフェラーゼ活性が促進されることを明らかにした。この結果に一致して、SFZ 細胞への過剰発現は、Gdf5 mRNA の発現を促進することが RT-qPCR 解析にて示された。一方、SFZ 細胞にてノックダウン実験を行うと、Gdf5 mRNA およびルシフェラーゼの発現あるいは活性が減少することも確認した。Hox ファミリー遺伝子の過剰発現は、Gdf5 遺伝子プロモーター活性を促進し、ChIP 解析により Gdf5 遺伝子プロモーターへの結合が認められた。しかし過剰発現およびノックダウン実験では、Prg4 の発現には効果を示さなかった。これらの研究結果より、Hox ファミリー遺伝子は、GDF5 の発現を制御し、関節軟骨細胞への分化において重要な役割を果たしていると考えられた。したがっ

て、Hox ファミリー遺伝子は、関節軟骨細胞のダイレトリプログラミング法の開発に有用であると思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Takahata Yoshifumi, Hagino Hiromasa, Kimura Ayaka, Urushizaki Mitsuki, Yamamoto Shiori, Wakamori Kanta, Murakami Tomohiko, Hata Kenji, Nishimura Riko	4. 巻 23
2. 論文標題 Regulatory Mechanisms of Prg4 and Gdf5 Expression in Articular Cartilage and Functions in Osteoarthritis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23094672	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishihara Shota, Hata Kenji, Hirose Katsutoshi, Okui Tatsuo, Toyosawa Satoru, Uzawa Narikazu, Nishimura Riko, Yoneda Toshiyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 The lactate sensor GPR81 regulates glycolysis and tumor growth of breast cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-10143-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Katada Ryogo, Tanaka Junichi, Takamatsu Koki, Hata Kenji, Yasuhara Rika, Ohnuma Shintaro, Takakura Ikuko, Nishimura Riko, Shirota Tatsuo, Mishima Kenji	4. 巻 586
2. 論文標題 Induction of salivary gland-like cells from epithelial tissues transdifferentiated from mouse embryonic fibroblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 55 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.11.064	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 Takahata Yoshifumi, Hagino Hiromasa, Kimura Ayaka, Urushizaki Mitsuki, Kobayashi Sachi, Wakamori Kanta, Fujiwara Chika, Nakamura Eriko, Yu Kayon, Kiyonari Hiroshi, Bando Kana, Murakami Tomohiko, Komori Toshihisa, Hata Kenji, Nishimura Riko	4. 巻 4
2. 論文標題 Smoc1 and Smoc2 regulate bone formation as downstream molecules of Runx2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02717-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Eriko, Hata Kenji, Takahata Yoshifumi, Kurosaka Hiroshi, Abe Makoto, Abe Takaya, Kihara Miho, Komori Toshihisa, Kobayashi Sachi, Murakami Tomohiko, Inubushi Toshihiro, Yamashiro Takashi, Yamamoto Shiori, Akiyama Haruhiko, Kawaguchi Makoto, Sakata Nobuo, Nishimura Riko	4. 巻 4
2. 論文標題 Zfhx4 regulates endochondral ossification as the transcriptional platform of Osterix in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02793-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ono Koichiro, Hata Kenji, Nakamura Eriko, Ishihara Shota, Kobayashi Sachi, Nakanishi Masako, Yoshida Michiko, Takahata Yoshifumi, Murakami Tomohiko, Takenoshita Seiichi, Komori Toshihisa, Nishimura Riko, Yoneda Toshiyuki	4. 巻 4
2. 論文標題 Dmrt2 promotes transition of endochondral bone formation by linking Sox9 and Runx2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01848-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishimura R, Hata K, Takahata Y, Murakami T, Nakamura E, Ohkawa M, Ruengsinpinya L.	4. 巻 21
2. 論文標題 Role of Signal Transduction Pathways and Transcription Factors in Cartilage and Joint Diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21041340.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahata Y, Murakami T, Hata K, Nishimura R.	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular Mechanisms Involved in the Progression and Protection of Osteoarthritis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr Mol Pharmacol	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1874467213666200417122933	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 Akiba Kazuhisa, Narumi Satoshi, Nishimura Riko, Kato Fukui Yuko, Takada Shuji, Hasegawa Yukihiro, Fukami Maki	4. 巻 87
2. 論文標題 SOX9 is colocalized with paraspeckle protein NONO in cultured murine sertoli cells and features structural characteristics of intrinsically disordered proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 1124 ~ 1125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mrd.23425	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 Ruengsinpinya Lerdluck, Murakami Tomohiko, Nakamura Eriko, Takahata Yoshifumi, Hata Kenji, Nakaminami Yuri, Okae Hiroaki, Nishimura Riko	4. 巻 533
2. 論文標題 G protein subunit 1 is an important mediator of the late stage of endochondral ossification	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 90 ~ 96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.08.119	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 Murakami Tomohiko, Takahata Yoshifumi, Hata Kenji, Nishimura Riko	4. 巻 62
2. 論文標題 Role of interleukin-1 and inflammasomes in oral disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 242 ~ 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2020.07.003	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 Takahata Yoshifumi, Nakamura Eriko, Hata Kenji, Wakabayashi Makoto, Murakami Tomohiko, Wakamori Kanta, Yoshikawa Hiroshi, Matsuda Akio, Fukui Naoshi, Nishimura Riko	4. 巻 33
2. 論文標題 Sox4 is involved in osteoarthritic cartilage deterioration through induction of ADAMTS4 and ADAMTS5	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 619 ~ 630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201800259R	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 Murakami Tomohiko, Ruengsinpinya Lerdluck, Nakamura Eriko, Takahata Yoshifumi, Hata Kenji, Okae Hiroaki, Taniguchi Shun'ichiro, Takahashi Masafumi, Nishimura Riko	4. 巻 202
2. 論文標題 Cutting Edge: G Protein Subunit 1 Negatively Regulates NLRP3 Inflammasome Activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1942 ~ 1947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1801388	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 Tanaka Junichi, Ogawa Miho, Hojo Hironori, Kawashima Yusuke, Mabuchi Yo, Hata Kenji, Nakamura Shiro, Yasuhara Rika, Takamatsu Koki, Irie Tarou, Fukada Toshiyuki, Sakai Takayoshi, Inoue Tomio, Nishimura Riko, Ohara Osamu, Saito Ichiro, Ohba Shinsuke, Tsuji Takashi, Mishima Kenji	4. 巻 9
2. 論文標題 Generation of orthotopically functional salivary gland from embryonic stem cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1 ~ 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-06469-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawane Tetsuya, Qin Xin, Jiang Qing, Miyazaki Toshihiro, Komori Hisato, Yoshida Carolina Andrea, Matsuura-Kawata Viviane Keiko dos Santos, Sakane Chiharu, Matsuo Yuki, Nagai Kazuhiro, Maeno Takafumi, Date Yuki, Nishimura Riko, Komori Toshihisa	4. 巻 8
2. 論文標題 Runx2 is required for the proliferation of osteoblast progenitors and induces proliferation by regulating Fgfr2 and Fgfr3	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-31853-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kida Jumpei, Hata Kenji, Nakamura Eriko, Yagi Hiroko, Takahata Yoshifumi, Murakami Tomohiko, Maeda Yoshinobu, Nishimura Riko	4. 巻 8
2. 論文標題 Interaction of LEF1 with TAZ is necessary for the osteoblastogenic activity of Wnt3a	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-28711-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishimura Riko, Hata Kenji, Nakamura Eriko, Murakami Tomohiko, Takahata Yoshifumi	4. 巻 149
2. 論文標題 Transcriptional network systems in cartilage development and disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Histochemistry and Cell Biology	6. 最初と最後の頁 353 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00418-017-1628-7	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 Wakabayashi Hiroki, Wakisaka Satoshi, Hiraga Toru, Hata Kenji, Nishimura Riko, Tominaga Makoto, Yoneda Toshiyuki	4. 巻 36
2. 論文標題 Decreased sensory nerve excitation and bone pain associated with mouse Lewis lung cancer in TRPV1-deficient mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 274 ~ 285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-017-0842-7	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 Nishimura Riko, Hata Kenji, Takahata Yoshifumi, Murakami Tomohiko, Nakamura Eriko, Yagi Hiroko	4. 巻 24
2. 論文標題 Regulation of Cartilage Development and Diseases by Transcription Factors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Bone Metab	6. 最初と最後の頁 147 ~ 147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11005/jbm.2017.24.3.147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hata Kenji, Takahata Yoshifumi, Murakami Tomohiko, Nishimura Riko	4. 巻 24
2. 論文標題 Transcriptional Network Controlling Endochondral Ossification	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Bone Metab	6. 最初と最後の頁 75 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11005/jbm.2017.24.2.75	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 西村 理行、波多 賢二、中村 恵理子	4. 巻 28
2. 論文標題 軟骨の発生と恒常性維持機構のメカニズム	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Calcium	6. 最初と最後の頁 353-359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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10件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Kobayashi S, Hata K, Takahata Y, Murakami T, Uzawa N, Nishimura R.
2. 発表標題 Identification of Chondrocyte-specific Sox9 Enhancers Important for Skeletal Development
3. 学会等名 ASBMR 2021 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林 紗知, 波多 賢二, 高畑 佳史, 村上 智彦, 西村 理行
2. 発表標題 軟骨細胞におけるSox9遺伝子のエンハンサー領域の同定と機能解析
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hata K, Ono K, Nakamura E, Kobayashi S, Takahata Y, Murakami T, Nishimura R
2. 発表標題 Dmrt2 promotes transition of endochondral ossification by linking Sox9 and Runx2
3. 学会等名 48th annual meeting of the European Calcified Tissue Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nishimura R.
2. 発表標題 Regulation of bone and cartilage development by transcription factors.
3. 学会等名 9th Japan-Thai-Korea Dental Symposium. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波多 賢二、村上 智彦、高畑 佳史、西村 理行
2. 発表標題 転写制御と骨格系疾患の分子機構
3. 学会等名 第60回 歯科基礎医学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishimura Riko
2. 発表標題 Role of transcription factors in cartilage development and diseases
3. 学会等名 15th Bone Biology Forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村 理行
2. 発表標題 内軟骨性骨形成過程における転写因子の役割
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会学術集会学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahata Yoshifumi, Wakamori Kanta, Fujiwara Chica, Nakamura Eriko, Hata Kenji, Murakami Tomohiko, Nishimura Riko
2. 発表標題 Identification and functional analysis of novel target genes regulated by Runx2.
3. 学会等名 IFMRS 3rd Herbert Fleisch Workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Riko Nishimura
2. 発表標題 Regulation of endochondral ossification by transcriptopn factors and diseases
3. 学会等名 5th Seoul Symposium on Bone Health & 29th Spring Scientific Congress of Korean Society for Bone and Mineral Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西村 理行
2. 発表標題 関節軟骨の生体恒常性の維持および破綻機構の統合的理解に基づく革新的医療技術の開発
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Riko Nishimura and Hendrik Terheyden	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Quintessence Publishing Deutschland	5. 総ページ数 -
3. 書名 Cell-to-Cell Communication; Cell Atlas; Visual Biology in Oral Medicine	

〔産業財産権〕

〔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	波多 賢二  (Hata Kenji)  (80444496)	大阪大学・歯学研究科・准教授    (14401)	
研究分担者	高畑 佳史  (Takahata Yoshifumi)  (60635845)	大阪大学・歯学研究科・助教    (14401)	
研究分担者	村上 智彦  (Murakami Tomohiko)  (50510723)	大阪大学・歯学研究科・講師    (14401)	

	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
連携研究者	名井 陽  (Myoui Akira)  (10263261)	大阪大学・医学部附属病院・教授    (14401)	

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