

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03786

研究課題名(和文) 加齢によるサルコペニア疾患病態理解のためのエピゲノム制御機構解明

研究課題名(英文) Clarification epigenetic regulatory mechanisms underlying ageing-related sarcopenia

研究代表者

今井 祐記 (Imai, Yuuki)

愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・教授

研究者番号：10423873

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：DNAメチル化は、細胞特性の決定に関わる重要なエピジェネティック制御の一つである。我々はエピジェネティックな制御因子であるUhrf1の発現が増殖中の筋芽細胞では活性化されるが、静止衛星細胞や分化した細胞では発現しないことを明らかにした。そこで、マウスの衛星細胞のUhrf1やDnmt1を欠損させると、その増殖や分化が阻害され、筋再生が顕著に阻害されることを確認した。またUhrf1およびDnmt1が細胞種特異的な遺伝子発現を制御することで、筋衛星細胞の増殖と分化を制御する重要なエピジェネティクス制御因子であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

健康長寿獲得のためには、要支援の最大要因であるサルコペニアなどの運動機能退行メカニズムの理解とその予防・治療法の開発が必須である。そのために遺伝的要因の同定と、老化などの環境因子を含めた後天的要因の理解が必要である。本研究では、後天的要因のエフェクターと考えられるエピゲノム制御として、DNAの維持メチル化が骨格筋の恒常性維持に必須であり、特に筋再生において重要な役割を果たしていることを見出した。

研究成果の概要(英文)：We demonstrate that a key epigenetic regulator, ubiquitin like with PHD and RING finger domains 1 (Uhrf1), is activated in proliferating myogenic cells but not expressed in quiescent satellite cells or differentiated myogenic cells in mice. Ablation of Uhrf1 or Dnmt1 in mouse satellite cells impairs their proliferation and differentiation, leading to failed muscle regeneration. Uhrf1-deficient myogenic cells exhibited aberrant upregulation of transcripts, including Sox9, with the reduction of DNA methylation level of their promoter and enhancer regions. These findings show that Uhrf1 and Dnmt1 are critical epigenetic regulators of proliferation and differentiation in satellite cells, by controlling cell-type-specific gene expression via maintenance of DNA methylation.

研究分野：整形外科学

キーワード：サルコペニア 筋衛星細胞 エピジェネティクス Uhrf1 Dnmt1

1. 研究開始当初の背景

本邦をはじめとする先進諸国では人口の高齢化がますます進行し、わが国においては 65 歳以上人口割合（高齢化率）が 27.3%（平成 29 年版内閣府高齢白書）となり、今後益々高齢化率が上昇し続けることが推計されている。超高齢社会において、高齢者が健やかに生活できることは、医療・介護の両面からきわめて重要であり、健康長寿の獲得は現時点での大きな課題である。中でも、“要支援”となる原因は、第 1 位である「関節疾患」と第 3 位である「骨折・転倒」を合わせて 32.4%を占める（平成 28 年厚生労働省国民生活基礎調査）ことから、運動器疾患をいかに予防/治療するかが、健康長寿獲得の焦点となっている。

多様な疾患に対する新たな予防/治療方法の開発には、病態の詳細な分子メカニズムを明らかにすることがきわめて重要である。遺伝的要因については、近年、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) の進展にともない、単一遺伝子病に加えて、一塩基多型 (SNPs) などの“ゲノム”情報解読によるさまざまなアプローチにより、多因子疾患である加齢による運動機能低下の病態解明が進みつつある (Estrada et al. Nat Genet 2012 など)。“ゲノム”に由来する遺伝的要因に加えて、力学的負荷やホルモン欠乏など様々な後天的要因との関連を考慮することが必須である。また後天的要因のエフェクター、つまり加齢によるエピゲノム変化の蓄積が理解されつつある。エピゲノムとは、ゲノム DNA 塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現を制御する生物学的メカニズムであり、DNA メチル化修飾やヒストン蛋白質の化学修飾・クロマチン構造変換などである。このことから、加齢による運動機能低下メカニズムの解明にはゲノム情報のみならず、ゲノムからの遺伝子発現を制御する“エピゲノム”を理解することが重要である。これまで、変形性関節症軟骨細胞における DNA メチル化修飾のプロファイルなどが報告されてはいるものの (Jeffries et al. Arthritis Rheumatol. 2014)、国内外を問わず、加齢による運動機能の低下や進展に関わる“エピゲノム制御因子”の同定、生体における恒常性維持や疾患制御への関与などの機能解析には至っていない。

2. 研究の目的

申請者の先行研究で、運動器疾患モデルを用いたゲノムワイド遺伝子発現解析においてエピゲノム制御因子を探索したところ、Uhrf1 (Ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1)が最も大きな発現変動を示した。このことから、この分子の発現変動が、加齢に伴う運動器疾患の発症、進展に関与していることが考えられた。(Yamashita et al. Development 2018)骨格筋は、運動機能の中心であり、その萎縮はサルコペニア病態と直結するため、運動器研究において、極めて重要な組織である。そこで、本研究の目的は、Uhrf1 の“骨格筋”を中心とした運動器における生体内高次機能を明らかにすることである。

Uhrf1 は、単一分子で DNA メチル化の認識及び修飾、ヒストンメチル化認識、ヒストンユビキチン化修飾などの複雑なエピゲノム制御を担うことが発見され、特に多様なガン細胞で高発現していることから、近年注目されつつある分子である (Liu et al. Nat Commun. 2013、Nishiyama et al. Nature 2013、Gelato et al. Mol Cell 2014 など)。しかしながら、Uhrf1 遺伝子欠損マウスは胎児期致死であり、疾患を含めた運動器の生物学的現象における機能はまったく不明である。このことから、本研究課題のごとく運動器、特に筋肉での Uhrf1 機能解析は、国内外を含めて全く報告がなく、極めて独自性が高いと言える。しかしながら、運動器は、多様な組織から形成され、その機能を発揮することから、単一の組織での機能解析のみでは、十分な理解に至ったとは言え

ず、軟骨組織に加え、骨格筋を含めた多組織での機能を明らかにすることで、複数の構成要素をもつ運動器の統合的な理解が初めて可能になる。そこで、これまでの研究成果をさらに発展させ、Uhrf1 の“骨格筋”を中心とした運動器における生体内高次機能を明らかにすることにより、運動器全体におけるエピゲノム制御機構を統合的に理解することを目的とするが、本研究では筋肉に特化して実施する。

3. 研究の方法

- ①Uhrf1 の運動器(主に骨格筋)における機能を、遺伝子欠損マウスを用いて明らかにする。
- ②Uhrf1 遺伝子欠損マウスへの疾患モデル(筋損傷など)により病態への関与を明らかにする。
- ③マウス初代培養細胞および培養細胞株に対し、次世代シーケンサを用いて RNA-seq 及びゲノムワイドなメチル化 DNA 解析 (MeDIP-seq) との統合的解析を実施することで、加齢により蓄積されるエピゲノム変化がもたらす筋萎縮疾患病態を担う分子 = 治療標的分子の同定を行う。また、先行研究で同定された軟骨細胞との比較を行うことで、これまで全く不明である DNA メチル化による細胞種特異的な遺伝子発現調節メカニズムの解明に挑む。

以下に研究方法の詳細を示す。

①細胞種特異的 Uhrf1 遺伝子欠損マウスの作出及び解析

筋衛星細胞特異的 Cre 発現マウス (Pax7Cre^{ERT2}) と Uhrf1 flox マウスとの交配により、筋衛星細胞特異的 Uhrf1 遺伝子欠損マウス(Uhrf1^{Pax7^{-/-}})を作出する。Uhrf1^{Pax7^{-/-}}については、7週齢マウスに対して、腹腔内へのタモキシフェン投与(5日連続)により成体での Uhrf1 遺伝子欠損を誘導する。筋力測定の後、四肢の各種筋を採取し、筋重量、筋線維タイプ、筋線維横断面積(CSA)などを中心とした組織学的解析を実施し、Uhrf1 の骨格筋細胞の増殖分化機能への作用を同定する。

②Cardiotoxin を用いた筋損傷モデルの作出及び解析

ヘビ毒素ファミリーの一つで PKC 特異的阻害作用を有する Cardiotoxin を用いた筋損傷(CTX)を前脛骨筋(TA)に誘導し、損傷後、0・4・14・28日後に TA を回収する。その後、重量、組織学的な筋損傷からの回復、CSA を解析する。加えて、筋衛星細胞や筋芽細胞特異的な分子である Pax7 や MyoD に対する免疫染色、膠原線維に対するマッソン・トリクローム染色など、各種の特殊染色を実施することで、筋損傷からの回復における Uhrf1 の機能を組織学的に評価する。同時に RNA を抽出して、MyoD や Myogenin などの筋分化マーカーの発現変動を qPCR により解析する。CTX 技術は既に確立済みであり、実験の遂行に支障はない。

③筋衛星細胞初代培養を用いた機能解析およびゲノムワイドな統合的解析

1)筋衛星細胞の増殖様式機能解析

Uhrf1^{Pax7^{-/-}}及び対照群から、長趾伸筋(EDL)を傷つけないように回収。single myofiber 培養法により、myofiber 上における筋衛星細胞の増殖様式を解析する。増殖率に加え、筋衛星細胞の分化度を規定する Pax7 及び MyoD に対する免疫染色を myofiber に対して実施し、定量的に増殖様式の評価を行う。

2)筋衛星細胞の単離と分化表現型解析による Uhrf1 の重要度を評価する

マウスの全身骨格筋を回収し、コラゲナーゼおよびディスパーゼ処理ののち、FACS Aria を用いた蛍光セルソーティングを実施することで、高純度(線維芽細胞や血球系細胞を含まない)筋衛星細胞をえる。このようにして得られた対照群および Uhrf1^{Pax7^{-/-}}マウス由来の筋衛星細胞から筋管形成分化実験を行い、MF20 を始めとした筋線維に対する免疫染色ならびに分化マーカーを定量的 RT-PCR にて評価する。

3)ゲノムワイドな統合的解析 (RNA-seq & MeDIP-seq) による治療標的分子の同定

上記のごとく採取した各マウスの細胞から、RNA 及び DNA を回収する。得られた RNA 及び免疫沈降法により濃縮したメチル化 DNA からライブラリを作成し、次世代型シーケンサを用いて、RNA-seq 及び MeDIP-seq を実施する。上記2種類のゲノムワイド解析の結果を、これまでの研究で培ってきたパイオインフォマティクスを駆使することで統合的に解析する。これらの結果から、骨格筋における Uhrf1 の分子機能ならびに Uhrf1 による遺伝子発現制御機構、直接的な標的遺伝子を明らかにする。この分子がサルコペニア疾患病態の治療標的分子となることが推察されるため、この候補遺伝子の KO マウスを CRISPR/Cas9 によるゲノム編集により作成し、骨格筋表現型解析を実施する。

さらに、先行研究で得られた軟骨細胞における Uhrf1 欠損による遺伝子発現変動遺伝子群や DNA メチル化情報とも、統合解析を実施することで、運動器における細胞腫特異的な Uhrf1 の分子機能を明確にする。

4 . 研究成果

DNA維持メチル化を担うUhrf1 (Ubiquitin-Like PHD And RING Finger Domain 1)の発現が筋損傷後早期に顕著に増加していることを見出した。そこで、筋分化におけるUhrf1の機能を解析するため、まずマウス筋芽細胞株であるC2C12に対し、CRISPR/Cas9によりUhrf1のKO株を樹立した。この細胞を分化誘導したところ、筋管形成は著明に抑制され、筋関連遺伝子は著明な発現低下を認めた。また、間葉系幹細胞からの脂肪細胞分化に必須の転写因子であるPpar γ およびCebpa α の発現上昇を認めたことから、Uhrf1は筋芽細胞としての特徴の維持に必須の因子であると考えられた。次に、骨格筋再生の中心的役割を担う筋衛星細胞特異的にCreを発現する(Pax7-CreERT2)マウスとUhrf1 floxマウスを交配し、タモキシフェン誘導性筋衛星細胞特異的Uhrf1KO (scKO)マウスを作成、解析した。非損傷時ではcKOマウス前脛骨筋に表現型異常は認めなかったため、CTXによる筋損傷後の筋再生能を評価した。その結果、筋重量回復は有意に低下し、組織学的解析では顕著な筋線維断面積の低下を認めた。また、長趾伸筋の単一筋線維の浮遊培養による筋線維上の筋衛星細胞の増殖、分化を経時的に確認したところ、scKOマウスにおいて筋衛星細胞の増殖および分化が抑制された。対照群およびUhrf1^{Pax7 $^{-/-}$} マウス由来の筋衛星細胞から筋管形成分化実験を行い、MF20を始めとした筋線維に対する免疫染色した結果、Uhrf1遺伝子欠損筋衛星細胞は、増殖能および分化能の低下を認めた。その原因を探索するため、単離した筋衛星細胞から抽出したRNAおよびDNAを用いて、次世代型シーケンサを用いて、RNA-seq 及びMBD2-seqを実施した。パイオインフォマティクス統合解析の結果、Uhrf1によりメチル化されるDNAにより発現制御される遺伝子の一つとしてSox9を同定した。Sox9に対するsiRNAを用いて発現抑制実験を行ったところ、Uhrf1の欠損により抑制された細胞増殖能が部分的に回復することを見出した (Sakai et al. iScience 2022)。

さらに野生型マウスの前脛骨筋をヘビ毒の注射で障害させ、4、7、14日目に採取し、DNAメチル化因子Dnmt1、Dnmt3a、およびDnmt3bのmRNA発現を調べた。結果、野生型マウスを用いた筋再生モデルではmRNAレベルでDnmt3a、Dnmt3bよりもDnmt1の発現が大きく増加していた。Pax7CreERT2; Dnmt1f/fマウスを作成し、タモキシフェンを腹腔内投与することで、筋衛星細胞に特異的にDnmt1をノックアウトした。Dnmt1f/fマウスにも同様に投与しコントロールとした。cKOマウス(タモキシフェンを投与したPax7CreERT2; Dnmt1f/fマウス)と2種類のコントロールマウスCon1 コーンオイルを投与したPax7CreERT2; Dnmt1f/fマウス)およびCon2 (タモキシフェンを投与したDnmt1f/fマウス) の左前脛骨筋(n=5)にCardiotoxinを注入し、筋損傷後14日目に採取

した。外観の観察と筋重量を測定し、筋再生は筋線維断面積(CSA)を計測し評価した。その結果、cKOでは外観上の筋再生不良と筋重量の有意な低下を認めた。またCSAも有意に減少しており、Dnmt1が筋肉の再生に必須の因子であることが示唆された。さらに筋衛星細胞を用いてRNA-seqを行った結果、Dnmt1のノックアウトで289個の遺伝子発現が上昇しており、これらに対するGO解析ではアポトーシスや細胞接着に関連する遺伝子群が抽出された。Dnmt1をノックアウトした筋衛星細胞の培養では細胞数の減少を認めた (Iio et al. BBRC 2021)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 22件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Sakakibara Iori, Yanagihara Yuta, Himori Koichi, Yamada Takashi, Sakai Hiroshi, Sawada Yuichiro, Takahashi Hirotaka, Saeki Noritaka, Hirakawa Hiroyuki, Yokoyama Atsushi, Fukada So-ichiro, Sawasaki Tatsuya, Imai Yuuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Myofiber androgen receptor increases muscle strength mediated by a skeletal muscle splicing variant of Mylk4	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102303 ~ 102303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102303	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 Ikedo Aoi, Imai Yuuki	4. 巻 559
2. 論文標題 Estrogen receptor in mature osteoblasts regulates the late stage of bone regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 238 ~ 244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.04.112	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 Kohara Yukihiko, Kitazawa Riko, Haraguchi Ryuma, Imai Yuuki, Kitazawa Sohei	4. 巻 154
2. 論文標題 Macrophages are requisite for angiogenesis of type H vessels during bone regeneration in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116200 ~ 116200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2021.116200	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 Xia Yuhan, Ikedo Aoi, Lee Ji-Won, Imura Tadahiro, Inoue Kazuki, Imai Yuuki	4. 巻 590
2. 論文標題 Histone H3K27 demethylase, Utx, regulates osteoblast-to-osteocyte differentiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 132 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.102	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 該当する

1. 著者名 Sakai Hiroshi, Sawada Yuichiro, Tokunaga Naohito, Tanaka Kaori, Nakagawa So, Sakakibara Iori, Ono Yusuke, Fukada So-ichiro, Ohkawa Yasuyuki, Kikugawa Tadahiko, Saika Takashi, Imai Yuuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Uhrf1 governs the proliferation and differentiation of muscle satellite cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103928 ~ 103928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.103928	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 Ueyama Hideki, Ohta Yoichi, Imai Yuuki, Suzuki Akinobu, Sugama Ryo, Minoda Yukihide, Takaoka Kunio, Nakamura Hiroaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Topical co administration of zoledronate with recombinant human bone morphogenetic protein-2 can induce and maintain bone formation in the bone marrow environment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Musculoskeletal Disorders	6. 最初と最後の頁 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12891-021-03971-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 Iio Hiroyuki, Kikugawa Tadahiko, Sawada Yuichiro, Sakai Hiroshi, Yoshida Shuhei, Yanagihara Yuta, Ikedo Aoi, Saeki Noritaka, Fukada So-ichiro, Saika Takashi, Imai Yuuki	4. 巻 534
2. 論文標題 DNA maintenance methylation enzyme Dnmt1 in satellite cells is essential for muscle regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 79 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.116	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 Saeki Noritaka, Imai Yuuki	4. 巻 18
2. 論文標題 Reprogramming of synovial macrophage metabolism by synovial fibroblasts under inflammatory conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12964-020-00678-8	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 Kanou Masanobu, Nakamura Katsuyuki, Horie Kyohei, Sakai Hiroshi, Yanagihara Yuta, Sakakibara Iori, Yamana Kei, Imai Yuuki	4. 巻 4
2. 論文標題 Polyamine pathway is associated with muscle anabolic effects by androgen receptor ligand	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JCSM Rapid Communications	6. 最初と最後の頁 57 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rco2.28	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 Kiel Douglas P, Kemp John P, Rivadeneira Fernando, Westendorf Jennifer J, Karasik David, Duncan Emma L, Imai Yuuki, Miller Ralph, Flannick Jason, Bonewald Lynda, Burrill No?l	4. 巻 35
2. 論文標題 The Musculoskeletal Knowledge Portal: Making Omics Data Useful to the Broader Scientific Community	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 1626 ~ 1633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.4147	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 Seko Daiki, Fujita Ryo, Kitajima Yuriko, Nakamura Kodai, Imai Yuuki, Ono Yusuke	4. 巻 15
2. 論文標題 Estrogen Receptor Controls Muscle Growth and Regeneration in Young Female Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 577 ~ 586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2020.07.017	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 Kohara Yukihiro, Haraguchi Ryuma, Kitazawa Riko, Imai Yuuki, Kitazawa Sohei	4. 巻 21
2. 論文標題 Hedgehog Inhibitors Suppress Osteoclastogenesis in In Vitro Cultures, and Deletion of Smo in Macrophage/Osteoclast Lineage Prevents Age-Related Bone Loss	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2745 ~ 2745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21082745	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 Sakai Hiroshi, Sato Takahiko, Kanagawa Motoi, Fukada So-ichiro, Imai Yuuki	4. 巻 1
2. 論文標題 Androgen receptor in satellite cells is not essential for muscle regenerations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Results	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/exp.2020.14	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 Nishihara Eriko, Okada Masahiro, Kiyoi Takeshi, Shudou Masachika, Imai Yuuki, Hato Naohito	4. 巻 47
2. 論文標題 Evaluation of the structure of the otoconial layer using micro-computed tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 734 ~ 739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2020.02.013	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 Sawada Yuichiro, Kikugawa Tadahiko, Iio Hiroyuki, Sakakibara Iori, Yoshida Shuhei, Ikedo Aoi, Yanagihara Yuta, Saeki Noritaka, Gy?rffy Bal?zs, Kishida Takeshi, Okubo Yoichiro, Nakamura Yoshiyasu, Miyagi Yohei, Saika Takashi, Imai Yuuki	4. 巻 146
2. 論文標題 GPRC5A facilitates cell proliferation through cell cycle regulation and correlates with bone metastasis in prostate cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1369 ~ 1382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.32554	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 該当する

1. 著者名 ONO Yuichi, MIYAKOSHI Naohisa, KASUKAWA Yuji, IMAI Yuuki, NAGASAWA Hiroyuki, TSUCHIE Hiroyuki, AKAGAWA Manabu, NAGAHATA Itsuki, YUASA Yusuke, SATO Chiaki, KAWATANI Masahito, SHIMADA Yoichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Micro-CT imaging analysis for the effects of ibandronate and eldecacitol on secondary osteoporosis and arthritis in adjuvant-induced arthritis rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 197 ~ 205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.40.197	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 Haraguchi, Kitazawa, Kohara, Ikedo, Imai, Kitazawa	4. 巻 20
2. 論文標題 Recent Insights into Long Bone Development: Central Role of Hedgehog Signaling Pathway in Regulating Growth Plate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5840 ~ 5840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20235840	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 Uematsu Atsushi, Kido Kohki, Takahashi Hirotaka, Takahashi Chikako, Yanagihara Yuta, Saeki Noritaka, Yoshida Shuhei, Maekawa Masashi, Honda Mamoru, Kai Tsutomu, Shimizu Kouhei, Higashiyama Shigeki, Imai Yuuki, Tokunaga Fuminori, Sawasaki Tatsuya	4. 巻 294
2. 論文標題 The E3 ubiquitin ligase MIB2 enhances inflammation by degrading the deubiquitinating enzyme CYLD	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 14135 ~ 14148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.010119	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 Kojima Ai, Sakaue Tomohisa, Okazaki Mikio, Shikata Fumiaki, Kurata Mie, Imai Yuuki, Nakaoka Hirotomo, Masamoto Junya, Uchita Shunji, Izutani Hironori	4. 巻 14
2. 論文標題 A simple mouse model of pericardial adhesions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cardiothoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13019-019-0940-9	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 Hayashi Kazunori, Suzuki Akinobu, Terai Hidetomi, Ahmadi Sayed Abdullah, Rahmani Mohammad Suhrab, Maruf Mohammad Hasib, Habibi Hasibullah, Hori Yusuke, Yamada Kentaro, Hoshino Masatoshi, Toyoda Hiromitsu, Takahashi Shinji, Tamai Koji, Ohyama Shoichiro, Imai Yuuki, Nakamura Hiroaki	4. 巻 44
2. 論文標題 Fibroblast Growth Factor 9 Is Upregulated Upon Intervertebral Mechanical Stress-Induced Ligamentum Flavum Hypertrophy in a Rabbit Model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Spine	6. 最初と最後の頁 E1172 ~ E1180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BRS.0000000000003089	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 該当する

1. 著者名 Ikedo Aoi, Kido Kohei, Ato Satoru, Sato Koji, Lee Ji Won, Fujita Satoshi, Imai Yuuki	4. 巻 7
2. 論文標題 The effects of resistance training on bone mineral density and bone quality in type 2 diabetic rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14046 ~ e14046
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14046	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 Yanagihara Yuta, Inoue Kazuki, Saeki Noritaka, Sawada Yuichiro, Yoshida Shuhei, Lee Jiwon, Iimura Tadahiro, Imai Yuuki	4. 巻 122
2. 論文標題 Zscan10 suppresses osteoclast differentiation by regulating expression of Haptoglobin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 93 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2019.02.011	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43件 (うち招待講演 17件 / うち国際学会 17件)

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 Pathophysiology of Sarcopenia
3. 学会等名 The 4th International Congress of Osteoporosis SEOUL (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuma Haraguchi, Riko Kitazawa, Yukihiro Kohara, Yuuki Imai, Sohei Kitazawa
2. 発表標題 Role of Hedgehog signal modulator gene, Hedgehog Interacting Protein (Hhip), in growing long bone
3. 学会等名 The American Society for Bone and Mineral Research 2021 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yukihiro Kohara, Riko Kitazawa, Ryuma Haraguchi, Yuuki Imai, Sohei Kitazawa
2. 発表標題 Macrophages are requisite for angiogenesis of type H vessels during bone regeneration in mice
3. 学会等名 The American Society for Bone and Mineral Research 2021 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noritaka Saeki, Kazuki Inoue, Maky Ideta-Otsuka, Watamori Kunihiko, Shinichi Mizuki, Katsuto Takenaka, Katsuhide Igarashi, Hiromasa Miura, Yuuki Imai
2. 発表標題 Stabilization of UHRF1 in synovial fibroblasts is a novel therapeutic strategy for rheumatoid arthritis.
3. 学会等名 The American Society for Bone and Mineral Research 2021 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Sakai, Yuichiro Sawada, Naohito Tokunaga, So Nakagawa, Iori Sakakibara, Yusuke Ono, So-ichiro Fukada, Tadahiko Kikugawa, Takashi Saika, Yuuki Imai
2. 発表標題 Uhrf1 governs the proliferation and differentiation of muscle satellite cells
3. 学会等名 The 19th Protein Island Matsuyama International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aoi Ikedo, Yuuki Imai
2. 発表標題 Estrogen receptor in mature osteoblasts regulate the late stage of bone regeneration
3. 学会等名 The 19th Protein Island Matsuyama International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Sakai, Takahiko Sato, Motoi Kanagawa, So-ichiro Fukada, Yuuki Imai
2. 発表標題 Japan XR Science Forum 2021 in Paris
3. 学会等名 Androgen receptor in satellite cells is not essential for muscle regeneration (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 Exchange between the Academy and the Japanese Society for Bone and Mineral Research (Annual Meeting 2019)
3. 学会等名 48th Annual European Calcified Tissue Society Congress(ECTS@Home) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aoi Ikedo, Yuuki Imai
2. 発表標題 Estrogen receptor in mature osteoblasts regulates the late stage of fracture healing
3. 学会等名 48th Annual European Calcified Tissue Society Congress(ECTS@Home) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Sakai, Yuichiro Sawada, Naohito Tokunaga, Kaori Tanaka, So Nakagawa, Iori Sakakibara, Yusuke Ono, So-ichiro Fukada, Yasuyuki Ohkawa, Tadahiko Kikugawa, Takashi Saika, Yuuki Imai
2. 発表標題 Uhrf1 governs the proliferation and differentiation of muscle satellite cells
3. 学会等名 第7回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 骨格形成のバイオロジーについて
3. 学会等名 第36回日本整形外科学会基礎学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原幸弘，北澤理子，原口竜摩，今井祐記，北澤 莊平
2. 発表標題 Calreticulinは破骨細胞分化を直接抑制するだけでなく、骨細胞でのSclerostin発現を抑制する
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 佐伯法学，井上和樹，大塚まき，渡森一光，水木伸一，竹中克斗，五十嵐勝秀，三浦裕正，今井祐記
2. 発表標題 エピジェネティック制御因子UHRF1は関節リウマチの多様な増悪因子を抑制する
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 池戸葵，今井祐記
2. 発表標題 成熟骨芽細胞のエストロゲン受容体 は骨再生過程の後期を制御する
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 柳原裕太, 今井祐記
2. 発表標題 Dnmt1は成長板軟骨細胞の増殖・分化を制御し四肢の発達を正常に維持する
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 原口竜摩, 小原幸弘, 今井祐記, 北澤理子, 北澤 莊平
2. 発表標題 ヘッジホッグシグナル調節因子Hhipの骨伸長過程における役割
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 小原幸弘, 北澤理子, 原口竜摩, 今井祐記, 北澤莊平
2. 発表標題 分泌型Calreticulinは破骨細胞形成を抑制する
3. 学会等名 第62回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原口竜摩, 小原幸弘, 今井祐記, 北澤理子, 北澤莊平
2. 発表標題 ヘッジホッグシグナル調節因子Hhipの骨格形成過程における役割
3. 学会等名 第62回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井大史, 今井祐記
2. 発表標題 骨格筋間葉系前駆細胞におけるアンドロゲン受容体の解析
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池戸葵, 山下美智子, 星野麻衣子, 今井祐記
2. 発表標題 脂肪組織におけるAromataseは骨量維持に作用する
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐伯法学, 井上和樹, 大塚まき, 渡森一光, 水木伸一, 竹中克斗, 五十嵐勝秀, 三浦裕正, 今井祐記
2. 発表標題 UHRF1は関節リウマチの多様な憎悪因子を抑制する
3. 学会等名 第6回日本骨免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 高齢者運動器疾患に対する治療標的分子の解析：運動器相互連関の観点から
3. 学会等名 第63回日本老年医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池戸葵, 山下美智子, 星野麻衣子, 今井祐記
2. 発表標題 脂肪組織におけるAromataseは骨量維持に作用する
3. 学会等名 第29回日本ステロイドホルモン学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryuma Haraguchi, Yukihiro Kohara, Riko Kitazawa, Yuuki Imai, Sohei Kitazawa
2. 発表標題 Specific role of Hh signaling pathway in bone resorption
3. 学会等名 The American Society for Bone and Mineral Research 2020 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 Mechanisms underlying prostate cancer bone metastasis identified by big data analyses
3. 学会等名 47th European Calcified Tissue Society Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 Application of Big Data for Musculoskeletal Cell Differentiation Using DNase-seq
3. 学会等名 The 17th Asia-Oceania Congress of Endocrinology and the 8th Seoul International Congress of Endocrinology and Metabolism (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 East meets West talk: Integrative analyses of genome-wide data
3. 学会等名 47th European Calcified Tissue Society Congress(ECTS@HOME) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 ポリアミンによる骨格筋増強または筋萎縮予防効果の検証
3. 学会等名 第1回プロダクティブ・エイジング コンソーシアム国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 なぜ基礎医学研究は大切なのか 基礎研究と実臨床との相互連関
3. 学会等名 第93回日本整形外科学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 ゲノムワイド統合解析による運動器研究
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 エピジェネティック制御因子 Uhrf1 による運動器制御メカニズムの解明
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宇野英章，酒井大史，今井祐記
2. 発表標題 筋線維特異的アンドロゲン受容体ノックアウトマウスの骨格筋再生の評価
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池戸葵，山下美智子，星野麻衣子，今井祐記
2. 発表標題 脂肪組織の Aromatase は骨量維持に作用する
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柳原裕太，今井祐記
2. 発表標題 Dnmt1 は成長軟骨の正常発達に必須である
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小原幸弘, 原口竜摩, 今井祐記, 北澤理子, 北澤荘平
2. 発表標題 肝臓抽出液から分離・同定した新規破骨細胞形成阻害因子Calreticulin の機能解明
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐伯法学, 井上和樹, 大塚まき, 渡森一光, 水木伸一, 竹中克斗, 五十嵐勝秀, 三浦裕正, 今井祐記
2. 発表標題 DNA メチル化制御分子 UHRF1 は関節リウマチの病態増悪を抑制する
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 ゲノムワイド統合解析による運動器疾患治療標的の探索
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 アンドロゲン受容体による骨格筋制御
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井祐記
2. 発表標題 骨代謝メカニズムに基づく骨粗鬆症治療戦略
3. 学会等名 第53回中国・四国整形外科学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 酒井大史, 佐藤貴彦, 金川基, 深田宗一朗, 今井祐記
2. 発表標題 Androgen receptor in satellite cells is not essential for muscle regeneration
3. 学会等名 第6回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 Mechanisms underlying prostate cancer bone metastasis identified by Big Data analyses.
3. 学会等名 29th Australian and New Zealand Bone and Mineral Society Annual Scientific Meeting 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 The role of an epigenetic regulator, Uhrf1, in musculoskeletal biology
2. 発表標題 Yuuki Imai
3. 学会等名 29th Australian and New Zealand Bone and Mineral Society Annual Scientific Meeting 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuuki Imai
2. 発表標題 Mobility & Longevity Exemplifying research from Japan
3. 学会等名 Congress European Calcified Tissue Society 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 病態生理解析部門
<https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/imailab/>
 愛媛大学運動器健康科学研究ユニット
<https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/skeletal/>
 愛媛大学 プロテオサイエンスセンター
<http://www.pros.ehime-u.ac.jp/index.php>

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
連携研究者	酒井 大史 (Sakai Hiroshi) (00820804)	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・特任講師 (16301)	

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
---------	---------