

令和 5 年 4 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18053

研究課題名（和文）間葉系幹細胞のin vitroの軟骨分化能は軟骨組織修復能の指標となるか

研究課題名（英文）Is the in vitro chondrogenic potential of mesenchymal stem cells an indicator of their ability to repair cartilage tissue?

研究代表者

千々松 良太 (Chijimatsu, Ryota)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：60803210

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：関節軟骨欠損への間葉系幹細胞の局所移植治療において、in vitroで細胞が持つ軟骨分化能力と生体内移植後のin vivoでの軟骨修復能の関係を調査した。in vitroの解析から幹細胞の由来組織や動物種類によって軟骨分化に必要な分化因子が異なることが明らかになり、その中でもin vitroでのTGFβへの反応性が最も生体内移植時の応答と類似した結果が得られた。これらの結果をもって軟骨治療に有用な幹細胞をin vitroで事前に評価可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節軟骨欠損への間葉系幹細胞の局所移植治療において、幹細胞の軟骨分化能と軟骨治療効果との関連性が期待される一方で、幹細胞を未分化な状態で移植しても分化しないと報告が増えてきており、幹細胞の軟骨細胞への分化能の意義を見直す必要があった。本研究により、生体内で分化する細胞種と分化しない細胞種をin vitroで判別する手法が確立できており、今後の軟骨治療に有用な知見を提供できた。

研究成果の概要（英文）：We investigated the relationship between the chondrogenic differentiation ability of mesenchymal stem cells in vitro and their ability to repair cartilage in vivo following local transplantation for the treatment of articular cartilage defects. Analysis of in vitro data revealed that the differentiation factors necessary for chondrogenesis vary depending on the tissue origin and animal species of the stem cells. Among these factors, the responsiveness to TGFβ in vitro yielded the most similar results to the response observed in vivo after transplantation. These findings suggest that the efficacy of stem cells for cartilage repair can be evaluated in vitro, and thus may be useful for developing strategies for cartilage treatment.

研究分野：再生医療

キーワード：軟骨再生 間葉系幹細胞 滑膜幹細胞 脂肪幹細胞

1. 研究開始当初の背景

難治性の関節軟骨疾患(外傷性、加齢性変性)は罹患者の健康寿命を低下させる大きな要因であり、超高齢化社会を迎える我が国においてはこれらの関節疾患に対する治療法の開発が急務であると考えられる。これまで検証されてきた軟骨治療では、新たな軟骨組織を欠損部に供給するために正常な軟骨組織を犠牲にすることや、採取に伴う手術侵襲が大きいなどの欠点が問題視されていた。そこで新たな細胞源として、軟骨細胞への分化能を有する間葉系幹細胞(MSC)が注目されている。

MSCを軟骨欠損部へ移植する治療は既にヒトでの臨床研究が国内外でも多数報告され、その有効性が鑑みられるものの、実際に製品化されたMSC治療は未だ存在していない。その背景には、MSC移植による治療機構が不明瞭なことが挙げられる。生体から単離培養可能で、骨・軟骨・脂肪細胞への分化能を有する細胞は一概にMSCと称されるが、由来となる組織や培養方法によってその性状は大きく異なる。軟骨治療に用いるにあたってはその軟骨分化能は重要視すべき要件であると考えられる。Kogaらは骨髄、滑膜由来のMSCは脂肪や筋肉由来のMSCと比較してin vitroで軟骨分化能を高く有しており、それらMSCを軟骨欠損部に移植すると骨髄、滑膜由来MSCのみがin vivo環境で軟骨細胞に分化することを報告した(Cell Tissue Res. 333:207 2008)。このことより、MSCの軟骨分化能はin vitroとin vivoで相関性があるように思える。しかしながら、近年の研究では関節内に投与したMSCはその大半が移植後早期に消失し、生体内で軟骨細胞に分化するMSCは検出されないという報告も増えてきている(Tissue Eng Part A. 21:1131 2015; Clin Transl Sci. 8:467 2015; Osteoarthritis Cartilage. 24:1061 2-16)。その場合の組織修復機構は、MSCの分泌因子によりホスト由来修復が誘導されたとの考察が多い。これらの「修復メカニズムの違いがMSCの由来組織の違いやin vitroでの軟骨分化能の差」に起因するのかは明らかでない。

2. 研究の目的

生体内の各組織から単離されるMSCの中でも滑膜から単離培養できるMSCはその他組織由来のMSCと比較して軟骨分化能を高く有することが知られ(Arthritis Rheum. 52:2521 2005)、研究が先行している骨髄由来MSCと同様に軟骨治療に有望視されている細胞資源である。本邦でも数例の臨床研究(Clin Orthop Relat Res. 473:2316 2015; Am J Sports Med. 46:2384. 2018)が行われているヒト滑膜MSCであるが、申請者はin vitroの増殖能や軟骨分化能にはドナー間に大きな差異があることも見出し、それらは性別や年齢、疾患などでは予測できないことを報告している(Osteoarthritis Cartilage. 24:1413 2016)。また一方で、滑膜MSCと骨髄MSCはin vitroでの軟骨分化に必要な添加因子が異なることを申請者は見出しており、軟骨分化能を評価する際の条件次第でMSCの優劣が変わりえることを示唆する結果が得られている。現在本邦では、他家移植可能な骨髄MSC、滑膜MSCのバンク化が実施されており、将来的には軟骨治療に最適なMSCを選別する必要があるが、上述した通り、in vitroでのMSC性状の違い(由来組織、個人差)が軟骨治療にどのように影響するかは未だ検証されてはいない。本研究ではin vitroでのMSC性状と修復メカニズムとの関連を明らかにするとともに、治療効果の高いMSCの調製法、選別法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

(1) マウス体性幹細胞の樹立

8-10週齢のC57BL/6マウスの膝関節滑膜組織および鼠径部脂肪組織を外科的に採取し、500 U/mL collagenase type 1 (Worthington, USA)含有10%FBS-DMEMで1時間振盪培養した。70 µmのセルストレーナーを通した細胞懸濁液を1 ng/mL bFGF含有の10%FBS-DMEMで継代培養し、マウス滑膜幹細胞/マウス脂肪幹細胞とした。以後のアッセイには培養2週間以内の細胞を使用した。

(2) ヒト体性幹細胞の樹立

変形性膝関節症の人工関節置換術の際に得られた滑膜組織および膝周囲の皮下脂肪組織を使用した。ヒト脂肪幹細胞はハサミで細断後、500 U/mL collagenase type 1含有10%FBS-DMEMで1時間振盪培養し、遊離した細胞のみを培養に使用した。ヒト滑膜組織は細断後、0.25% trypsin-EDTAで30分処理して浮遊する脂肪様組織を除き、残った線維組織を500 U/mL collagenase type 1含有10%FBS-DMEMで1時間振盪培養し、遊離した細胞のみを培養に使用した。ヒト幹細胞は1 ng/mL bFGF含有の10%FBS-DMEMで継代培養し、3継代目で試験に使用した。

(3) 軟骨分化誘導

2x10⁵個の細胞をポリプロピレンチューブに加え、遠心して得られた細胞塊を軟骨分化誘導培地で培養した。軟骨分化誘導はDMEM, 1% ITS+Premix (Corning, NY, USA), 50 µg/mL L-ascorbic acid 2-phosphate (Sigma-Aldrich), 40 µg/mL L-proline (Sigma-Aldrich)を基礎培地とし、分化誘導因子としては100 ng/mL BMP2 (Medtronic, Dublin, Ireland)、10 ng/mL

TGF 1 (ORIENTAL YEAST, Tokyo, Japan) with 10 nM Dexamethasone (Sigma-Aldrich)を使用した。

(4) マウス軟骨欠損モデルへの移植試験

12週齢のマウス膝関節の大腿骨滑車部に直径0.5 mm、深さ0.5 mmの欠損を人工的に掘削した。そこに5x10⁴個の細胞からなる細胞塊を移植し、3-6週後に評価した。マウス幹細胞の移植にはC57BL/6を、ヒト幹細胞の移植にはC.B-17 SCIDマウスを使用した。

(5) マイクロCT

マウス膝関節組織をinspeXio SMX-100CT system (Shimadzu, Kyoto, Japan)でマイクロCT撮影し、軟骨欠損およびその下骨部の修復を評価した。75 kV, 140 mAの条件で、12 μm/voxelの解像度の画像を取得した。TRI/3D-BON software (RATOC System Engineering, Tokyo, Japan)を用いて、骨量、骨密度を計測した。

(6) 病理解析

病理解析用の組織は10%中性平衡ホルマリンで固定し、パラフィンブロックを作成した。骨を含む組織の場合は10% EDTA (pH 7.4)で脱灰を追加した。4 μm厚の切片を用意し、Safranin-O, Alcian blue (pH 1.0), TRAP染色、免疫染色に使用した。免疫染色に用いた抗体は右に示した。

IHC antibodies			1st Antibodies		
Target Antigen	Company	Catalog No.	Antigen Retrieval	1st Ab dilution	1st Ab reaction
COL1	CST	9144	Hyaluronidase (Sigma, 10 mg/mL), 37°C, 30 min	1/100	RT, 1hr
COL2	Kyowa Pharma Chemical	F-57	Protainase (Nichirei), 10 min	1/1000	RT, 1hr
COL3	Proteintech	22734-1-AP	(-)	1/4000	RT, 1hr
COL10	eBioscience	14-9771	Protainase (Nichirei), 10 min	1/1000	RT, 1hr
SOX9	CST	82630	(-)	1/300	4°C, O/N
Aggrecan	Proteintech	13880-1-AP	Hyaluronidase (Sigma, 10 mg/mL), 37°C, 30 min	1/500	RT, 1hr
pSmad1	abcam	ab73211	EDTA buffer pH 9.0 (abcam), 70°C, 30 min	1/100	4°C, O/N
pSmad2	abcam	ab138334	EDTA buffer pH 9.0 (abcam), 70°C, 30 min	1/100	4°C, O/N
himentin	abcam	ab16700	(-)	1/100	RT, 1hr
Pentilin	CST	3470	(-)	1/200	RT, 1hr

2nd Antibodies				
Target Antigen	Company	Catalog No.	Conjugate	Reaction
Rabbit IgG	NICHIREI BIOSCIENCES	424144	HRP	RT, 30 min
Mouse IgG	NICHIREI BIOSCIENCES	424134	HRP	RT, 30 min
Mouse IgG	NICHIREI BIOSCIENCES	414241	AP	RT, 30 min

(7) 遺伝子発現解析

軟骨分化誘導した細胞塊をジルコニアビーズを用いてホモジナイズし、TRI Reagent (Cosmo Bio, Tokyo, Japan)およびDirect-zol RNA Kit (Zymo Research, CA, USA)を用いてtotal RNAを抽出した。ReverTra Ace qPCR RT Master Mix (TOYOBO, Osaka, Japan)を用いてcDNAを合成し、THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (TOYOBO)およびThermal Cycler Dice Real Time System III (TaKaRa Bio, Shiga, Japan)を用いてqPCRを行った。プライマー配列は以下に示す。定量はGAPDH発現に対する発現レベルとして表現した。

Gene Name	Accession ID	Primer sequence
Gapdh	NM_008084.3	F AAGTCGGGTGAACGGATTTG R TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
Col2a1	NM_031163.3	F AAGGATGGTGGTGGCAAGKA R CGGAGGTCTTCTGTGATCG
Col1a1	NM_007742	F GACCGCATGGCCAAAGAAACA R TACTCTGGGTTCACAGCTCT
Col10a1	NM_009825	F GCGTAGGGTAGCAAAAGGG R TGCTTGTCTCTCTTACTTGG
Sox9	NM_011448	F TGAAGAAGCGACAAGCGGAG R AGATTGCCAGAGTGCCTCG
Acan	NM_01361500.1	F GCGTGGAGGATGGCCATGGA R TCTTCTCCCGAGGGTCTTA
Alk1	NM_00127259.1	F GGAGAAACGGCGAGAGTCA R TGCTTCTCTTGGTCTTCC
Alk2	NM_001355049.1	F CGCTGGAGCATTGACATCGA R CCGAAGCGACTAACCGTAT
Alk3	NM_009758.4	F GCTCCTAGGCATGGTATGA R GCAAGGTATCTCTTGGTCTG
Alk4	NM_007395.4	F TAGCACTTAGTCCCTCCGGA R GACATTGGCCGTAGCTTCT
Alk5	NM_009370.3	F GCTGCTGGATTAGTGGTT R TTGAAGCCACACAGCCCT
Alk6	NM_00127220.1	F TGCTGGAGATTGTTGGTGG R GGTTGGCCTGAGGAACATGA
Alk7	NM_00111030.1	F TCTCCTGGACCCACACTT R TCAGGCTGTGTGAACCTCA
Tgfr2	NM_009371.3	F GGATCGCATGTCAGAGT R AGAGCTCTGAGTCCCTGT
Bmpr2	NM_007561.4	F GGCTTGCTTAAATGGTGC R TGCTGACTATTGCAAGTCTG
Bmp2	NM_007553.3	F AKGTAGTGGAGAGCTTGA R CATGGTGGTGTGCCCTGT
Bmp4	NM_001316360.1	F CGGAGCTAGGTGAGTTCGG R AGAATCCATCAGGACCGGA
Bmp6	NM_007556.3	F GGTCGTGGAGAGTGTGGTT R CTTCGCTGCTGTGTTCG
Bmp7	NM_007557.3	F TTGCACCTGAAGCTATGCT R GGTTGGTGGCTTCATGTAG
Tgfb1	NM_011577.2	F CTCTTGATGCTGCGATGCG R GAGCGCTCTCTGAGATCCA
Tgfb3	NM_009368.3	F ATCTGTTCCGGCAGAATTC R ATTCTGCTGCTGTGCGCTT

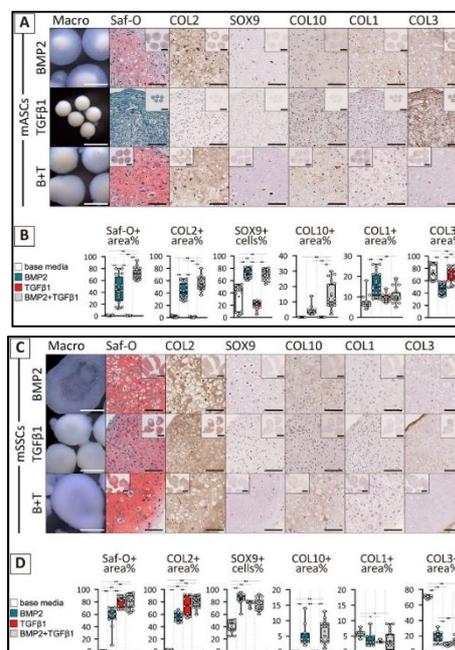
網羅的遺伝子発現解析 (RNAseq)にはNEBNext Ultra II RNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs, MA, USA)を用いてライブラリ調製を行い、150 bp paired endで1000万リード/検体を目安にIllumina HiSeq 4000 Systemでシーケンシングを行った。得られた塩基配列ファイルはTrimmomaticによるフィルタリング、STARによるヒトゲノム配列 (GRCh38.p13)へのマッピング、RSEMを用いた発現量算出を行い、以後はiDEP.91を使用してデータ解析を実施した。

4. 研究成果

(1) マウス幹細胞の軟骨分化誘導条件の違い

従来の研究では軟骨分化誘導因子としてTGF 1を使用している研究、BMP2を使用している研究とがあり、軟骨分化誘導条件は様ではなかった。そこでBMP2 TGF 1 BMP2 + TGF 1の3条件下で軟骨分化誘導を行い、マウス細胞種ごとの応答性の違いを比較した。軟骨分化が進行すると、半透明の外見/Safranin-O陽性の糖基質の沈着/2型コラーゲンの上昇/1型および3型コラーゲンの減少などが確認できる。

マウス脂肪幹細胞 (mASCs)はBMP2添加時に軟骨分化が確認され、TGF 1添加時には分化をきたさなかった。しかし、BMP2とTGF 1を併用するとCOL10陽性の後期軟骨分化まで誘導されることが認められた (右上図)。一方、マウス滑膜幹細胞 (mSSCs)においては、程度が異なるもののBMP2、TGF 1のどちらの条件でも軟骨分化をきたすことが確認された (右下図)。



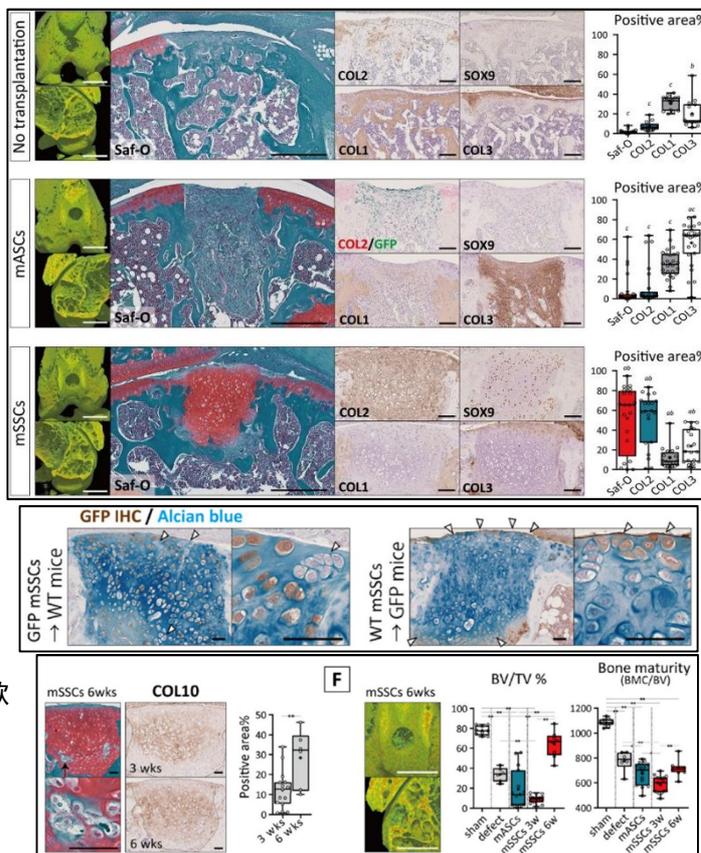
(2) マウス幹細胞の軟骨修復能の比較

次に、mASCs/mSSCsを膝軟骨欠損部へ移植した場合の

軟骨修復能を評価した。まず欠損を掘削するのみで、細胞を移植しない場合 (No transplantation)、下骨部は自然修復するものの、Safranin-O や 2 型コラーゲンなどの軟骨成分の修復は起こらない。

mASCs を移植した場合、欠損部が 3 型コラーゲン陽性の繊維組織で埋まり、軟骨部おろか下骨部の修復も妨げていた。移植細胞を GFP で追跡した結果からも、この繊維組織は移植した細胞が形成しているものであることが示唆された。一方で、mSSCs を移植した場合、移植部で軟骨組織を形成していることが確認された。

mSSCs を GFP で追跡してみると、移植した細胞が軟骨分化していることが確認されたが、それだけでなく周囲の細胞の軟骨分化も誘導している様子が観察された。mSSCs 移植群を長期に評価すると、下骨部での軟骨の終分化マーカー (COL10) の発現上昇や骨量の増加が確認され、内軟骨骨化が進行していることが認められた。

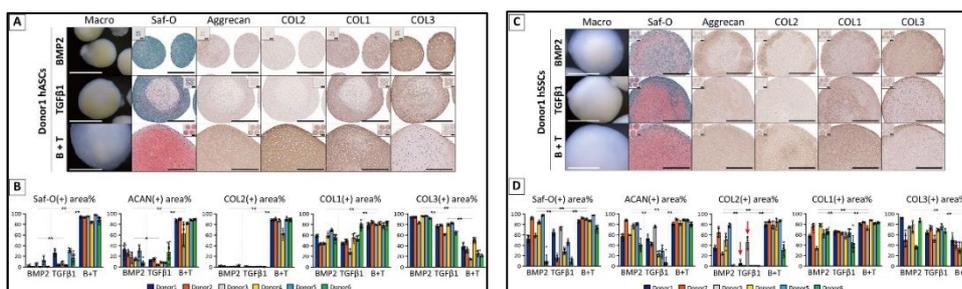


(3) ヒト幹細胞の軟骨分化条件の比較

次にヒト脂肪幹細胞 (hASCs) ヒト滑膜幹細胞 (hSSCs) における軟骨分化誘導条件を比較した。hASCs では BMP2 単剤、TGF 1 単剤での軟骨分化は確認されず、BMP2 と TGF 1 を併用した時のみ軟骨分化が確認できた。この結果は 6/6 例で同様であった。(下左図)

hSSCs では併用群で 6/6 例の軟骨分化が確認でき、5/6 例で BMP2 単剤の軟骨分化が確認できた。TGF 1 単剤時では Safranin-O や Aggrecan などの糖基質の沈着は認めたものの、2 型コラーゲンの発現は 2/6 例のみであった (下右図)。本来、生体内での滑膜は関節液中の糖基質の産生源でもあることから軟骨分化とは異なる機構として糖基質の産生があると推測された。

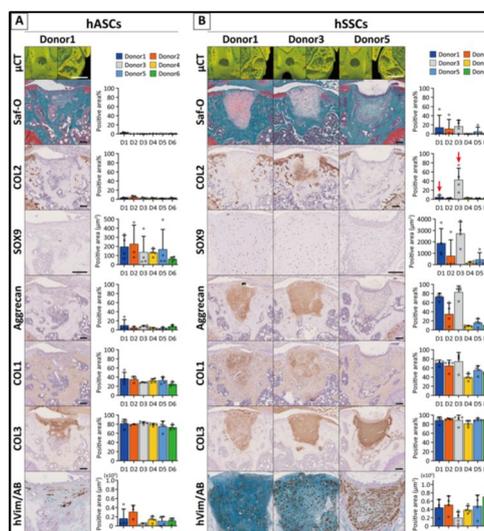
ヒトとマウスを比較した時、ヒトでは軟骨分化をきたしていても 1 型/3 型コラーゲンが陽性であり、関節軟骨ではなく線維軟骨への分化傾向にあることが認められた。



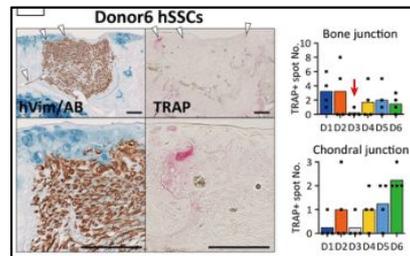
(4) ヒト幹細胞の軟骨修復能の比較

hASCs を免疫不全マウス関節軟骨欠損部に移植したところ、全例 (N=4 × 6 donor) において軟骨修復を認めなかった。下骨部の自然修復は進行しており、繊維組織中に移植したヒト細胞を検出することができた。

hSSCs では患者によって異なる結果が得られた。in vitro で TGF 1 に反応して 2 型コラーゲン弱陽性になった 2 donor のみ生体内での 2 型コラーゲン弱陽性の組織の形成が観察された。しかし、1 型コラーゲン/3 型コラーゲン陽性の線維軟骨様組織であった。また hASCs と比較して興味深いことに、軟骨分化をきたさなかった他 4 donor でも欠損部に多くの細胞が生着して線維組織を形成し、軟骨下骨部の自然修復を阻害している所見が得られた。



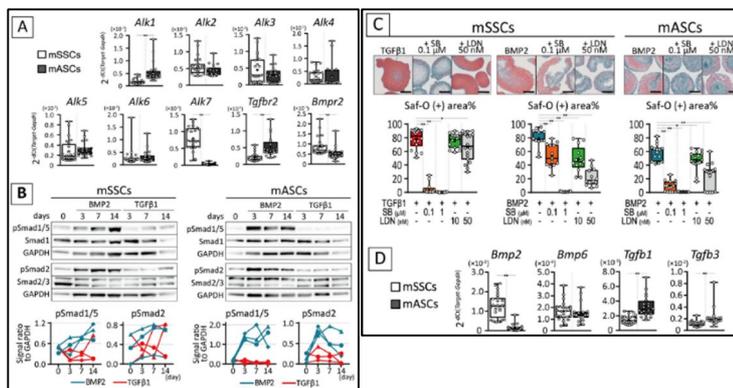
移植した hSSCs が軟骨分化を起こさずに生着している場合、下部部の浸食像が確認されたことから、TRAP 染色により破骨細胞を検出したところ、線維組織と下部部の境界および線維組織と軟骨部の境界で破骨細胞が確認された。一方、軟骨分化を起こしていた 2 donor においては周囲組織の浸食は見られなかったことから、移植前に幹細胞を事前に精査する必要性が示唆された。



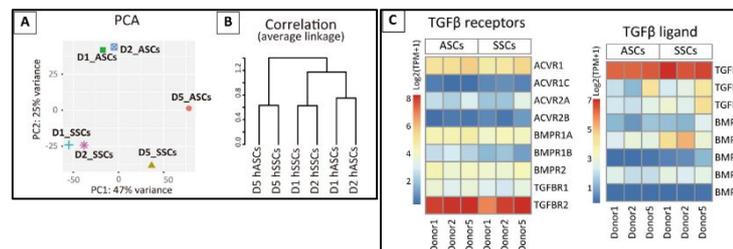
上記までのマウス幹細胞、ヒト幹細胞の結果をまとめると、in vitro の TGF- β 1 単剤での培養系で示した結果が軟骨欠損部移植後の反応と類似していることが認められた。

(5) TGF- β /BMP2 応答性の違いに関するシグナルパスウェイ関連分子の解析

mASCs, mSSCs で分化因子への応答性に違いが見られたが、その受容体発現には大差がなく、さらには BMP2 添加時の Smad2 のリン酸化、TGF β 1 添加時の Smad1/5 のリン酸化も両細胞で起こることから、分化応答性の違いはリガンドへの応答性の違いではないことが示唆された。興味深いことに、TGF- β での分化誘導時に BMP レセプター阻害剤 (LDN) を添加しても分化阻害しなかったが、BMP2 での分化誘導時に TGF レセプター阻害剤 (SB) を使用すると BMP2 誘導性の軟骨分化が阻害されることが分かった。このことは BMP2 誘導性であって TGF を産生したオートクラインの機構を示唆している。事実、BMP2 と TGF- β の併用は最も強力に軟骨分化を誘導する条件である。



ヒト幹細胞では由来組織の違いに加えて、患者間の違いが見られたが、網羅的遺伝子発現プロファイルからは軟骨分化能の違いを説明できなかった。さらにマウスの結果と同様に TGF- β レセプター/BMP2 レセプターおよび内因性リガンドの発現量にも差が見られなかった。



(6) 成果の総括

幹細胞の軟骨分化誘導因子は生物種、細胞種によって異なることが明らかになり、その中でも TGF- β の反応性を見ると生体に移植後の挙動を推測できる可能性が示唆された。この応答性は特定のマーカー遺伝子等で測れるものではなく、実際に in vitro の培養系をもって検査すべき項目である。また分化応答性が低い細胞の移植治療は反って移植部周囲組織を浸食してしまう恐れもあり事前検査の重要性も示すことができた。本研究の成果は、治療効果の高い MSC を in vitro の解析から探索可能にするための有益な知見・技術・評価系をもたらしとえられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計30件（うち査読付論文 30件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Bal Zeynep, Korkusuz Feza, Ishiguro Hiroyuki, Okada Rintaro, Kushioka Junichi, Chijimatsu Ryota, Kodama Joe, Tateiwa Daisuke, Ukon Yuichiro, Nakagawa Shinichi, Dede Eda iftci, Gizer Merve, Korkusuz Petek, Yoshikawa Hideki, Kaito Takashi	4. 巻 21
2. 論文標題 A novel nano-hydroxyapatite/synthetic polymer/bone morphogenetic protein-2 composite for efficient bone regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Spine Journal	6. 最初と最後の頁 865 ~ 873
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2021.01.019	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 Nakamoto Hideki, Katanosaka Yuki, Chijimatsu Ryota, Mori Daisuke, Xuan Fengjun, Yano Fumiko, Omata Yasunori, Maenohara Yuji, Murahashi Yasutaka, Kawaguchi Kohei, Yamagami Ryota, Inui Hiroshi, Taketomi Shuji, Taniguchi Yuki, Kanagawa Motoi, Naruse Keiji, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 73
2. 論文標題 Involvement of Transient Receptor Potential Vanilloid Channel 2 in the Induction of Lubricin and Suppression of Ectopic Endochondral Ossification in Mouse Articular Cartilage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1441 ~ 1450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.41684	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 Chijimatsu Ryota, Miwa Satoshi, Okamura Gensuke, Miyahara Junya, Tachibana Naohiro, Ishikura Hisatoshi, Higuchi Junya, Maenohara Yuji, Tsuji Shinsaku, Sameshima Shin, Takagi Kentaro, Nakazato Keiu, Kawaguchi Kohei, Yamagami Ryota, Inui Hiroshi, Taketomi Shuji, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 12
2. 論文標題 Divergence in chondrogenic potential between in vitro and in vivo of adipose- and synovial-stem cells from mouse and human	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cell Research & Therapy	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) 10.1186/s13287-021-02485-5	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 Takeda Yu, Chijimatsu Ryota, Vecchione Andrea, Arai Takahiro, Kitagawa Toru, Ofusa Ken, Yabumoto Masami, Hirotsu Takaaki, Eguchi Hidetoshi, Doki Yuichiro, Ishii Hideshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Impact of One-Carbon Metabolism-Driving Epitranscriptome as a Therapeutic Target for Gastrointestinal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7278 ~ 7278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22147278	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 Asai Ayumu, Konno Masamitsu, Ozaki Miyuki, Kawamoto Koichi, Chijimatsu Ryota, Kondo Nobuaki, Hirotsu Takaaki, Ishii Hideshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Scent test using <i>Caenorhabditis elegans</i> to screen for early-stage pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 1687 ~ 1696
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.28035	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 Kitakaze Masatoshi, Chijimatsu Ryota, Vecchione Andrea, Kitagawa Toru, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi, Ishii Hideshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Epithelial Cell Transformation and Senescence as Indicators of Genome Aging: Current Advances and Unanswered Questions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7544 ~ 7544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22147544	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 Kodama Joe, HA Anggraini, Ito T, M Miroslav, Sugimoto S, Kita H, Chijimatsu R, Ukon Y, Kushioka J, Okada R, Kamatani T, Hashimoto K, Tateiwa D, Tsukazaki H, Nakagawa S, Takenaka S, Makino T, Sakai Y, N David, Z Lenka, Hamaguchi Satoshi, Kaito Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Amine modification of calcium phosphate by low-pressure plasma for bone regeneration	5. 発行年 2021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/s41598-021-97460-8	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 Kaneko Taizo, Horiuchi Keisuke, Chijimatsu Ryota, Mori Daisuke, Nagata Kosei, Omata Yasunori, Yano Fumiko, Inui Hiroshi, Moro Toru, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 40
2. 論文標題 Regulation of osteoarthritis development by ADAM17/Tace in articular cartilage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 196 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-021-01278-3	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 Satoshi Miwa, Ryota Chijimatsu, Hideshi Ishii, Taku Saito	4. 巻 11
2. 論文標題 Concise review: Selecting the Source of Mesenchymal Stem Cells for Cartilage Regeneration Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of blood & lymph	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) 10.37421/2165-7831.2021.11.266	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 Takeda Yu, Chijimatsu Ryota, Ofusa Ken, Kobayashi Shogo, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi, Ishii Hideshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Cancer metabolism challenges genomic instability and clonal evolution as therapeutic targets	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	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) 10.1111/cas.15279	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 di Luccio Eric, Kaifuchi Satoru, Kondo Nobuaki, Chijimatsu Ryota, Vecchion Andrea, Hirotsu Takaaki, Ishii Hideshi	4. 巻 44
2. 論文標題 Nematode-Applied Technology for Human Tumor Microenvironment Research and Development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Issues in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 988 ~ 997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cimb44020065	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 Ofusa Ken, Chijimatsu Ryota, Ishii Hideshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Techniques to detect epitranscriptomic marks	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	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) 10.1152/ajpcell.00460.2021	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 SUGIMOTO Hikaru, MURAHASHI Yasutaka, CHIJIMATSU Ryota, MIWA Satoshi, YANO Fumiko, TANAKA Sakae, SAITO Taku	4. 巻 41
2. 論文標題 Primary culture of mouse adipose and fibrous synovial fibroblasts under normoxic and hypoxic conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 43~51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.41.43	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 Hamamoto Shuichi, Chijimatsu Ryota, Shimomura Kazunori, Kobayashi Masato, Jacob George, Yano Fumiko, Saito Taku, Chung Ung-il, Tanaka Sakae, Nakamura Norimasa	4. 巻 7
2. 論文標題 Enhancement of chondrogenic differentiation supplemented by a novel small compound for chondrocyte-based tissue engineering	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Orthopaedics	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) 10.1186/s40634-020-00228-8	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 Higuchi Junya, Yamagami Ryota, Matsumoto Takumi, Terao Tomohiro, Inoue Keita, Tsuji Shinsaku, Maenohara Yuji, Matsuzaki Tokio, Chijimatsu Ryota, Omata Yasunori, Yano Fumiko, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 14
2. 論文標題 Associations of clinical outcomes and MRI findings in intra-articular administration of autologous adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 332~340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2020.04.003	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 Kobayashi Masato, Chijimatsu Ryota, Yoshikawa Hideki, Yoshida Kiyoshi	4. 巻 530
2. 論文標題 Extracorporeal shock wave therapy accelerates endochondral ossification and fracture healing in a rat femur delayed-union model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 632~637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.07.084	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 Kushioka Junichi, Kaito Takashi, Chijimatsu Ryota, Okada Rintaro, Ishiguro Hiroyuki, Bal Zeynep, Kodama Joe, Yano Fumiko, Saito Taku, Chung Ung-il, Tanaka Sakae, Yoshikawa Hideki	4. 巻 10
2. 論文標題 The small compound, TD-198946, protects against intervertebral degeneration by enhancing glycosaminoglycan synthesis in nucleus pulposus cells	5. 発行年 2020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/s41598-020-71193-6	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 Kushioka Junichi, Kaito Takashi, Okada Rintaro, Ishiguro Hiroyuki, Bal Zeynep, Kodama Joe, Chijimatsu Ryota, Pye Melanie, Narimatsu Masahiro, Wrana Jeffrey L., Inoue Yasumichi, Ninomiya Hiroko, Yamamoto Shin, Saitou Takashi, Yoshikawa Hideki, Imamura Takeshi	4. 巻 8
2. 論文標題 A novel negative regulatory mechanism of Smurf2 in BMP/Smad signaling in bone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone Research	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/s41413-020-00115-z	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 Kobayashi Masato, Chijimatsu Ryota, Hart David A., Hamamoto Shuichi, Jacob George, Yano Fumiko, Saito Taku, Shimomura Kazunori, Ando Wataru, Chung Ung il, Tanaka Sakae, Yoshikawa Hideki, Nakamura Norimasa	4. 巻 15
2. 論文標題 Evidence that TD 198946 enhances the chondrogenic potential of human synovium derived stem cells through the NOTCH3 signaling pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 103 ~ 115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/term.3149	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 Maenohara Yuji, Chijimatsu Ryota, Tachibana Naohiro, Uehara Kosuke, Xuan Fengjun, Mori Daisuke, Murahashi Yasutaka, Nakamoto Hideki, Oichi Takeshi, Chang Song Ho, Matsumoto Takumi, Omata Yasunori, Yano Fumiko, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 36
2. 論文標題 Lubricin Contributes to Homeostasis of Articular Cartilage by Modulating Differentiation of Superficial Zone Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 792 ~ 802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.4226	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 Okamura Gensuke, Ebina Kosuke, Hirao Makoto, Chijimatsu Ryota, Yonetani Yasukazu, Etani Yuki, Miyama Akira, Takami Kenji, Goshima Atsushi, Yoshikawa Hideki, Ishimoto Takuya, Nakano Takayoshi, Hamada Masayuki, Kanamoto Takashi, Nakata Ken	4. 巻 22
2. 論文標題 Promoting Effect of Basic Fibroblast Growth Factor in Synovial Mesenchymal Stem Cell-Based Cartilage Regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 300 ~ 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22010300	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 Bal Zeynep, Korkusuz Feza, Ishiguro Hiroyuki, Okada Rintaro, Kushioka Junichi, Chijimatsu Ryota, Kodama Joe, Tateiwa Daisuke, Ukon Yuichiro, Nakagawa Shinichi, Dede Eda Ciftci, Gizer Merve, Korkusuz Petek, Yoshikawa Hideki, Kaito Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 A novel nano-hydroxyapatite/synthetic polymer/bone morphogenetic protein-2 composite for efficient bone regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Spine Journal	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) 10.1016/j.spinee.2021.01.019	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 Nakamoto Hideki, Katanosaka Yuki, Chijimatsu Ryota, Mori Daisuke, Xuan Fengjun, Yano Fumiko, Omata Yasunori, Maenohara Yuji, Murahashi Yasutaka, Kawaguchi Kohei, Yamagami Ryota, Inui Hiroshi, Taketomi Shuji, Taniguchi Yuki, Kanagawa Motoi, Naruse Keiji, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 -
2. 論文標題 TRPV2 is involved in induction of lubricin and suppression of ectopic endochondral ossification in articular joints	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	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) 10.1002/art.41684	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 Kitakaze Masatoshi, Uemura Mamoru, Hara Tomoaki, Chijimatsu Ryota, Motooka Daisuke, Hirai Toshiro, Konno Masamitsu, Okuzaki Daisuke, Sekido Yuki, Hata Tsuyoshi, Ogino Takayuki, Takahashi Hidekazu, Miyoshi Norikatsu, Ofusa Ken, Mizushima Tsunekazu, Eguchi Hidetoshi, Doki Yuichiro, Ishii Hideshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Cancer-specific tissue-resident memory T-cells express ZNF683 in colorectal cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	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/s41416-023-02202-4	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 Tani Shoichiro, Okada Hiroyuki, Onodera Shoko, Chijimatsu Ryota, Seki Masahide, Suzuki Yutaka, Xin Xiaonan, Rowe David W., Saito Taku, Tanaka Sakae, Chung Ung-il, Ohba Shinsuke, Hojo Hironori	4. 巻 -
2. 論文標題 Stem cell-based modeling and single-cell multiomics reveal gene-regulatory mechanisms underlying human skeletal development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 112276 ~ 112276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112276	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 Nagata Kosei, Hojo Hironori, Chang Song Ho, Okada Hiroyuki, Yano Fumiko, Chijimatsu Ryota, et al	4. 巻 13
2. 論文標題 Runx2 and Runx3 differentially regulate articular chondrocytes during surgically induced osteoarthritis development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	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/s41467-022-33744-5	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 Tachibana Naohiro, Chijimatsu Ryota, et al	4. 巻 8
2. 論文標題 RSP02 defines a distinct undifferentiated progenitor in the tendon/ligament and suppresses ectopic ossification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	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) 10.1126/sciadv.abn2138	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 Tatekawa Shotaro, Tamari Keisuke, Chijimatsu Ryota, Konno Masamitsu, Motooka Daisuke, Mitsufuji Suguru, Akita Hirofumi, Kobayashi Shogo, Murakumo Yoshiki, Doki Yuichiro, Eguchi Hidetoshi, Ishii Hideshi, Ogawa Kazuhiko	4. 巻 12
2. 論文標題 N(6)-methyladenosine methylation-regulated polo-like kinase 1 cell cycle homeostasis as a potential target of radiotherapy in pancreatic adenocarcinoma	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/s41598-022-15196-5	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 Chijimatsu Ryota, et al	4. 巻 25
2. 論文標題 Establishment of a reference single-cell RNA sequencing dataset for human pancreatic adenocarcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104659 ~ 104659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104659	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 Chijimatsu Ryota, Takeda Taiga, Tsuji Shinsaku, Sasaki Kohei, Kato Koichi, Kojima Rie, Michihata Noriko, Tsubaki Toshiya, Matui Aya, Watanabe Miharuru, Tanaka Sakae, Saito Taku	4. 巻 21
2. 論文標題 Development of hydroxyapatite-coated nonwovens for efficient isolation of somatic stem cells from adipose tissues	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 52 ~ 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2022.05.009	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Naohiro Tachibana, Ryota Chijimatsu, Hiroyuki Okada, Yuki Taniguchi, Takeshi Oichi, Hideki Nakamoto, So Kato, Toru Doi, Yoshitaka Matsubayashi, Yasushi Oshima, Fumiko Yano, Shingo Maeda, Sakae Tanaka, Taku Saito
2. 発表標題 Rspo2/Prg4-Positive Cells Contribute to Ligament/Tendon Homeostasis Through Suppression of Ectopic Endochondral Ossification
3. 学会等名 ASBMR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hisatoshi Ishikura, Ryota Chijimatsu, Hiroyuki Okada, Yutaka Suzuki, Junya Miyahara, Yasunori Omata, Fumiko Yano, Sakae Tanaka, Taku Saito
2. 発表標題 Motion is essential to maintain the synovial condition and joint homeostasis
3. 学会等名 ASBMR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junya Higuchi, Ryota Chijimatsu, Hisatoshi Ishikura, Fumiko Yano, Sakae Tanaka, Taku Saito
2. 発表標題 Molecular mechanisms underlying adipose-derived stem cell therapy for osteoarthritis
3. 学会等名 ASBMR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石倉 久年, 千々松良太, 岡田 寛之, 鈴木 穰, 宮原 潤也, 矢野 文子, 田中 栄, 齋藤 琢
2. 発表標題 関節運動は滑膜を介した関節恒常性維持機構に必須である
3. 学会等名 日本骨代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立花 直寛, 千々松良太, 岡田 寛之, 谷口 優樹, 尾市 健, 土肥 透, 矢野 文子, 前田 真吾, 田中 栄, 齋藤 琢
2. 発表標題 scRNA-seqを用いた頸椎後縦靭帯骨化症の発症における疾患感受性遺伝子RSP02の役割の検証
3. 学会等名 日本骨代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 樋口 淳也, 千々松良太, 石倉 久年, 矢野 文子, 田中 栄, 齋藤 琢
2. 発表標題 脂肪幹細胞による変形性関節症の病態制御機構
3. 学会等名 日本骨代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真壁 健太、小俣 康德、淺香 明子、柳原 大、千々松 良太、矢野 文子、田中 栄、齋藤 琢
2. 発表標題 抗コラーゲン抗体関節炎マウスを用いたbaricitinib の疼痛抑制作用の解析
3. 学会等名 日本整形外科学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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

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