

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H01173

研究課題名(和文) 静水圧メカノシグナル制御とその組織工学への応用

研究課題名(英文) Control of Mechano-signalling Evoked by Hydrostatic Pressure and Its Application to Tissue Engineering

研究代表者

牛田 多加志 (Ushida, Takashi)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・名誉教授

研究者番号：50323522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,310,000円

研究成果の概要(和文)：生理的に軟骨細胞に負荷されている物理刺激として知られている静水圧がどのようなシグナルを惹起し、軟骨細胞の遺伝子発現がどのように変化しているか、そして静水圧刺激が軟骨組織再生にどのように寄与するかを検証した。具体的には、Rasが静水圧刺激により活性化するかどうか無細胞系で検証し、Rasの上流からのシグナル無い状態でも活性化する可能性を示した。また、トランスクリプトーム解析を通じて、静水圧に应答する遺伝子群(mRNA, miRNA, lincRNA)も見いだした。さらに静水圧および圧縮応力を同時に負荷可能なシステムを開発し、軟骨組織再生に適した物理刺激負荷条件について策定することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

物理刺激が細胞に及ぼす影響については、特に張り応力、引っ張り応力について多く研究されてきており、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、骨芽細胞、筋芽細胞などで多くの成果が出ている。一方、静水圧刺激については、MPaオーダー負荷システムを構築することの困難さなどから、研究論文も少ないと言った背景がある。その中で本研究が明らかにした静水圧刺激に対する軟骨細胞の应答の、シグナルレベル、遺伝子発現レベルそして組織再生レベルでの知見は、この分野の研究の発展を促進させる学術的な意味を持つ。また我が国だけでも一千万人オーダーで罹患している変形性関節症治療の新たな指針の一つとなり得る意味での社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Hydrostatic pressure is known one of the physical stimulations which are physiologically loaded to articular chondrocytes. This research tried to verify which kinds of intracellular signals are evoked by hydrostatic pressure loading, then how gene expressions are changed, and how hydrostatic pressure loading promotes articular cartilage regeneration. For those purposes, we tried to verify whether Ras might be activated by hydrostatic pressure in vitro conditions, then we found the possibility that Ras itself is activated without any upper stream signals. Additionally, we found gene families (mRNA, miRNA, lincRNA) responding to hydrostatic pressure loading through transcriptome analysis. Then, we developed a system where chondrocytes can be simultaneously loaded with hydrostatic pressure and compressive stress. The system could design quasi-optimal conditions of physical stimulations adequate for articular cartilage regeneration.

研究分野：バイオメカニクス

キーワード：軟骨細胞 静水圧

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

関節軟骨は、80%の水分、20%のマトリックス、そして軟骨細胞により構成されている。したがって、荷重等の物理的負荷は、軟骨細胞には静水圧として負荷されていることが知られている。そして、静水圧刺激が軟骨細胞の形質、遺伝子発現をコントロールしていることも知られている。

動物細胞においては、～50 MPa においてアポトーシス、そして～100 MPa においてはネクローシスが惹起されることが知られている。しかしながら、50 MPa 以下の生理的または準生理的とされる静水圧に対しては、分子レベルでどのような現象が生じているのかについて、シグナルに関する少数の報告に留まっており、その実態について不明のままである。

そこで本研究では、物理的な状態量としての静水圧は、生理的な範囲においては、タンパク質の会合・解離およびタンパク質のコンフォメーション変化に可逆的に作用するのではないか。その可能性を検証すべく研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本研究開発においては、軟骨細胞に生理的静水圧 (～20 MPa) および準生理的静水圧 (～50 MPa) を負荷することにより惹起される細胞内シグナルを再構築系および細胞実験系を用いて実証する。細胞内シグナルについては、予備実験にてシグナルが惹起されることが確認された細胞増殖因子受容体直下の Ras-ERK シグナル経路に焦点を絞り、それらシグナル分子群の静水圧感受性の検証を行い、軟骨細胞のメカノシグナル制御機構について明らかにすることを第1の目標とする。また、静水圧負荷による遺伝子発現変化について、対象を mRNA、miRNA から長鎖遺伝子間ノンコーディング RNA に広げてトランスクリプトーム解析を実施し、静水圧刺激による軟骨細胞分化コントロールおよび軟骨組織再生というアウトプットに対する効果を体系的に評価することを第2の目標とする。さらに、*in vitro* での分化コントロール実験、軟骨組織再構築実験、さらに実験動物を用いた *in vivo* 評価実験を通じて、静水圧負荷が軟骨細胞分化コントロールおよび軟骨組織再生に対して有効であるかについて、総合的に評価することを第3の目標とする。これらの目標を達成することにより、静水圧負荷という物理的刺激が、生化学刺激と併せて、軟骨の再生医療の臨床応用および実現化にとって有効であることを実証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 研究課題1：再構築実験系における検証研究

静水圧による ERK 活性化においては、最初の増殖因子の刺激なしに ERK 活性化が生じていることになる。そこで、Ras 単独での活性化にターゲットを絞り、適切な *in vitro* アッセイ系を構築し、静水圧メカノシグナルのスタートポイントの同定を進めた。

#### 研究課題2：細胞実験系における検証研究

生理的・準生理的静水圧負荷システムの設計・開発および静水圧下リアルタイムイメージングシステムの開発を行う。静水圧負荷システムおよびリアルタイムイメージングシステムを用いて高静水圧下でのシグナル分子、特にカルシウムイオンに絞り、静水圧負荷によりどのように変動するかを細胞系において検証した。

#### 研究課題3：トランスクリプトーム解析(mRNA, miRNA, lincRNA)による体系化研究

研究課題2で実施される細胞実験系から得られた軟骨細胞を用いて、トランスクリプトーム情報の取得及び体系化を行い、「静水圧」という物理的刺激と「軟骨組織再生」という生物学的現象に介在する

## 【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

メカニズムの解析に繋げる。具体的には、静水圧負荷により新規に発現変動する mRNA, miRNA、長鎖遺伝子間ノンコーディング RNA のトランスクリプトーム解析を実施し、静水圧刺激による軟骨細胞分化コントロールおよび軟骨組織再生に対する効果を、種々のシグナルの統合的現象として評価した。

### 研究課題4：細胞分化・組織再生の *in vitro* 実証研究

細胞分化および組織形成に最適化された静水圧負荷を実施し、さらに静水圧と圧縮応力同時負荷システムを開発し、軟骨細胞分化コントロールおよび軟骨組織再生のための基盤的な技術を開発した。

### 研究課題5：細胞分化・組織再生の動物実験実証研究

家兔の骨軟骨損傷モデルを用い、組織染色及び ICRS スコアリングによる組織学的評価等を実施することにより、再生軟骨を評価可能な動物実験モデルを作製した。

## 4. 研究成果

### 研究課題1：再構築実験系における検証研究

申請者らの先導研究により、生理的静水圧を負荷された軟骨細胞では、ERK のリン酸化(活性化)が亢進することが示されており、活性化 ERK が核内に移行して遺伝子発現を変化させることが軟骨細胞の分化を誘導すると想定されている。そこで本研究では、静水圧による ERK 活性化メカニズムを再構成系で解明することを目的に、Ras 単独での活性化が静水圧負荷で惹起されるかどうか *in vitro* アッセイ系で検証した。そこで、Ras の活性化を FRET 強度の変化でモニターできる Raichu を用いて、Ras 活性化の静水圧感受性の検出とメカニズム解明を目指した研究を進めた。これまで Raichu の単離精製とこれを用いた Ras 活性化の測定ができるようになっていたが、Raichu 内の CFP と YFP が弱く相互作用しこれが圧力感受性を示すことが判明した。そこで GFP の二量体化を阻害する点変異を Raichu 内の CFP と YFP に導入した mRaichu を作成した。mRaichu は、Raichu に比して CFP と YFP の相互作用が弱く、Ras の圧力感受性についてのより定量的な測定が可能になった。その結果、静水圧刺激により Ras が活性化する可能性が示された。

### 研究課題2：細胞実験系における検証研究

静水圧負荷リアルタイムイメージングシステムを開発し、そのシステムを用いて高静水圧下でのシグナル分子、特にカルシウムイオンに絞って、静水圧負荷によりどのように変動するかを細胞系において検証した。具体的には、軟骨細胞に対し 0~18 MPa の静水圧負荷下でリアルタイム観察を行い、阻害剤を用いることで上流のシグナル伝達機構の解明を目指した。結果として、静水圧の大きさに依存して相違が見られるような細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度変化波形が得られた。さらに、阻害剤を投与した際の応答にも差が生じ、静水圧の大きさ依存的に機能する感知機構が異なる可能性や機能する感知機構の反応度合いが変化する可能性が示唆された。

### 研究課題3：トランスクリプトーム解析(mRNA, miRNA, lincRNA)による体系化研究

研究課題2で実施される細胞実験系から得られた軟骨細胞を用いて、トランスクリプトーム情報の取得及び体系化を行い、「静水圧」という物理的的刺激と「軟骨組織再生」という生物学的現象に介在するメカニズムの解析に繋げることを目的に、静水圧負荷群と無負荷群との間での比較を実施した。その結果、ras シグナルの関与が想定された。また、不飽和脂肪酸代謝関連遺伝子が大きく変動し、細胞膜ラフトの関与が示唆された。また、静水圧特異的な lincRNA, miRNA も単離され、先行研究における機能解析から、骨軟骨形成への関与が示唆された。さらに、静水圧処理により、エクソソームとして軟骨形成に関係する遺伝子を制御可能な miRNA が分泌されていること、細胞膜の動態の変化が起きる事など、これまであまり知られていなかった興味深い知見が明らかになった。

## 【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

### 研究課題4：細胞分化・組織再生の in vitro 実証研究

静水圧が惹起するシグナル伝達に関するデータおよびトランスクリプトーム解析による体系的データを元に、静水圧負荷による軟骨細胞分化コントロールおよび軟骨組織再生のための基盤的な技術の開発を進めた。具体的には、静水圧負荷と同時に圧縮応力負荷も可能なシステムを開発し、それぞれ単独での刺激負荷によるマトリックス産生、遺伝子発現変化、そしてその両方の刺激を同時に負荷した場合のマトリックス産生、遺伝子発現変化を定量することより、単独刺激および複合刺激の効果を検証することが可能となった。

### 研究課題5：細胞分化・組織再生の動物実験実証研究

これまでに日本白色家兎並びにラットを用いた異種同所性移植モデルによる in vivo 有効性評価法を確立し、両動物種での修復再生効果の同等性を確認し、本研究における動物実験系をラットに決定した。移植方法および手技について検討を実施した。そして動物実験におけるポジティブコントロールとなる多指症由来軟骨組織より作製した細胞シートを用いて、静水圧負荷技術により作製された再生軟骨組織を用いた場合の移植方法や手技を確立した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 23件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 6件）

|  |                   |
|--|-------------------|
| 1. 著者名<br>Minki Chang, Kevin Montagne, Yuma Omuro, Masashi Yasuno, Noriyasu Masumoto, Takashi Ushida, Katsuko S Furukawa | 4. 巻<br>28(1)     |
| 2. 論文標題<br>Alternative Model to Animal Experiments by Reproducing the Physical Environment of Living Cartilage           | 5. 発行年<br>2023年   |
| 3. 雑誌名<br>AAEX   | 6. 最初と最後の頁<br>1-7 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.11232/aatex.28.1  | 査読の有無<br>有        |
| オープンアクセス<br>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<br>-         |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Minki Chang, Kevin Montagne, Katsuko S Furukawa, Takashi Ushida,   | 4. 巻<br>41(7)         |
| 2. 論文標題<br>Intracellular calcium ion transients evoked by cell poking independently of released autocrine ATP in Madin-Darby canine kidney cells | 5. 発行年<br>2023年       |
| 3. 雑誌名<br>Cell Biochem Funct   | 6. 最初と最後の頁<br>845-856 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/cbf.3834.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Minki Chang, Yosuke Takahashi, Kyosuke Miyahira, Yuma Omuro, Kevin Montagne, Ryusei Yamada, Junki Gondo, Yu Kambe, Masashi Yasuno, Noriyasu Masumoto, Takashi Ushida, Katsuko S. Furukawa | 4. 巻<br>14          |
| 2. 論文標題<br>Simultaneous Hydrostatic and Compressive Loading System for Mimicking the Mechanical Environment of Living Cartilage Tissue  | 5. 発行年<br>2023年     |
| 3. 雑誌名<br>micromachines   | 6. 最初と最後の頁<br>e1632 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/mi14081632  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Hiroaki Sako, Mohieldin Youssef, Olga Elisseeva, Takayuki Akimoto, Katsuhiko Suzuki, Takashi Ushida, Tadashi Yamamoto | 4. 巻<br>Jul 26        |
| 2. 論文標題<br>microRNAs slow translating ribosomes to prevent protein misfolding in eukaryotes                                     | 5. 発行年<br>2023年       |
| 3. 雑誌名<br>EMBO J  | 6. 最初と最後の頁<br>e112469 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.15252/embj.2022112469.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Dongzhe Wang, Narintadeach Charoensombut, Kinyoshi Kawabata, Tsuyoshi Kimura, Akio Kishida, Takashi Ushida, Katsuko S. Furukawa | 4. 巻<br>10(7)      |
| 2. 論文標題<br>Effect of pressure conditions in uterine decellularization using hydrostatic pressure on structural protein preservation       | 5. 発行年<br>2023年    |
| 3. 雑誌名<br>Bioengineering  | 6. 最初と最後の頁<br>e814 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/bioengineering10070814  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kun Fang, Stefan Mueller, Motoki Ueda, Yasuhiro NAKAGAWA, Katsuko Furukawa, Takashi Ushida, Toshiyuki Ikoma and Yoshihiro Ito | 4. 巻<br>11 (38)         |
| 2. 論文標題<br>Cyclic stretch modulates cell morphology transition under geometrical confinement by covalently immobilized gelatin          | 5. 発行年<br>2023年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Materials Chemistry B  | 6. 最初と最後の頁<br>9155-9162 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1039/d3tb00421j  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Hamahashi Kosuke, Toyoda Eriko, Ishihara Miya, Mitani Genya, Sato Masato  | 4. 巻<br>7       |
| 2. 論文標題<br>Polydactyly-derived allogeneic chondrocyte cell-sheet transplantation with high tibial osteotomy as regenerative therapy for knee osteoarthritis | 5. 発行年<br>2022年 |
| 3. 雑誌名<br>npj Regenerative Medicine   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41536-022-00272-1  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Koichiro Maki, Michele M. Nava, Clementine Villeneuve, Minki Chang, Katsuko S. Furukawa, Takashi Ushida, Sara A. Wickstrom | 4. 巻<br>134 (2)         |
| 2. 論文標題<br>Hydrostatic pressure prevents chondrocyte differentiation through heterochromatin remodeling                              | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Cell Science  | 6. 最初と最後の頁<br>jcs247643 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1242/jcs.247643   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する            |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Narintadeach Charoensombut, Kinyoshi Kawabata, Jeonghyun Kim, Minki Chang, Tsuyoshi Kimura, Akio Kishida, Takashi Ushida, Katsuko S Furukawa | 4. 巻<br>Jan;133(1)  |
| 2. 論文標題<br>Internal radial perfusion bioreactor promotes decellularization and recellularization of rat uterine tissue                                 | 5. 発行年<br>2022年     |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Bioscience and Bioengineering   | 6. 最初と最後の頁<br>83-88 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jbiosc.2021.09.007   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>浜橋恒介, 佐藤正人                                      | 4. 巻<br>11(3)         |
| 2. 論文標題<br>変形性膝関節症に対する関節軟骨再生医療 自己・同種軟骨細胞シート移植の安全性と有効性について | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>整形外科Surgical Technique                          | 6. 最初と最後の頁<br>117-121 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                            | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>張 珉箕, 林恵範, 古川 克子, 牛田多加志                               | 4. 巻<br>41              |
| 2. 論文標題<br>機械的刺激負荷により惹起された細胞内PLC-IP3シグナル応答のFRETを用いたリアルタイムイメージング | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>日本臨床バイオメカニクス学会誌                                       | 6. 最初と最後の頁<br>283 ~ 286 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                                  | 査読の有無<br>無              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                          |
|---|--------------------------|
| 1. 著者名<br>JEONG Heonuk, YANG Xiaoguang, PEI Zihan, USHIDA Takashi, FURUKAWA Katsuko S.  | 4. 巻<br>15               |
| 2. 論文標題<br>Osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells by combination of surface topography and uniaxial stress | 5. 発行年<br>2020年          |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Biomechanical Science and Engineering  | 6. 最初と最後の頁<br>20 ~ 00009 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし  | 査読の有無<br>有               |
| オープンアクセス<br>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<br>-                |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Heonuk Jeong, Xiaoguang Yang, Takashi Ushida, Katsuko S Furukawa                               | 4. 巻<br>41              |
| 2. 論文標題<br>Suppressed osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cell by narrow microgrooves. | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Japanese Journal of Clinical Biomechanics  | 6. 最初と最後の頁<br>293 ~ 298 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Wenjing Huang, Hikaru Sasaki, Katsuko S Furukawa, and Takashi Ushida   | 4. 巻<br>41              |
| 2. 論文標題<br>A mismatch between local chondrocyte death and mechanical properties of porcine articular cartilage exposed to injurious compression. | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Japanese Journal of Clinical Biomechanics  | 6. 最初と最後の頁<br>305 ~ 312 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Kim Jeonghyun, Ushida Takashi, Montagne Kevin, Hirota Yasushi, Yoshino Osamu, Hiraoka Takehiro, Osuga Yutaka, Furuakwa Katsuko S. | 4. 巻<br>10         |
| 2. 論文標題<br>Acquired contractile ability in human endometrial stromal cells by passive loading of cyclic tensile stretch                     | 5. 発行年<br>2020年    |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>9014 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-020-65884-3  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Takizawa Daichi, Sato Masato, Okada Eri, Takahashi Takumi, Maehara Miki, Tominaga Ayako, Sogo Yasuyuki, Toyoda Eriko, Watanabe Masahiko | 4. 巻<br>14(9)           |
| 2. 論文標題<br>Regenerative effects of human chondrocyte sheets in a xenogeneic transplantation model using immune deficient rats                     | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine   | 6. 最初と最後の頁<br>1296-1306 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/term.3101   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Toyoda Eriko, Maehara Miki, Watanabe Masahiko, Sato Masato                                  | 4. 巻<br>22                |
| 2. 論文標題<br>Candidates for Intra-Articular Administration Therapeutics and Therapies of Osteoarthritis | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Molecular Sciences   | 6. 最初と最後の頁<br>3594 ~ 3594 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/ijms22073594  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Maehara Miki, Toyoda Eriko, Takahashi Takumi, Watanabe Masahiko, Sato Masato  | 4. 巻<br>22                |
| 2. 論文標題<br>Potential of Exosomes for Diagnosis and Treatment of Joint Disease: Towards a Point-of-Care Therapy for Osteoarthritis of the Knee | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Molecular Sciences   | 6. 最初と最後の頁<br>2666 ~ 2666 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/ijms22052666  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Umeki N, Shibata K, Noguchi TQP, Hirose K, Sako Y, Uyeda TQP  | 4. 巻<br>9          |
| 2. 論文標題<br>K336I mutant actin alters the structure of neighboring protomers in filaments and reduces affinity for actin-binding proteins. | 5. 発行年<br>2019年    |
| 3. 雑誌名<br>Sci Rep   | 6. 最初と最後の頁<br>5353 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-019-41795-w.   | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|  |                        |
|--|------------------------|
| 1. 著者名<br>Tsujioka M, Uyeda TQP, Iwadate Y, Patel H, Shibata K, Yumoto T, Yonemura S.  | 4. 巻<br>14             |
| 2. 論文標題<br>Actin-binding domains mediate the distinct distributions of two Dictyostelium talins through different affinities to specific subsets of actin filaments during directed cell migration | 5. 発行年<br>2019年        |
| 3. 雑誌名<br>PLoS One   | 6. 最初と最後の頁<br>e0214736 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0214736   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |

|  |                          |
|--|--------------------------|
| 1. 著者名<br>Wenjing Huang, Minami Nagasaka, Katsuko S. Furukawa, Takashi Ushida  | 4. 巻<br>142(6)           |
| 2. 論文標題<br>Local Strain Distribution and Increased Intracellular Ca <sup>2+</sup> Signaling in Bovine Articular Cartilage Exposed to Compressive Strain. | 5. 発行年<br>2020年          |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Biomechanical Engineering   | 6. 最初と最後の頁<br>061008-1~9 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1115/1.4045807  | 査読の有無<br>有               |
| オープンアクセス<br>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<br>-                |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Stefan Mueller, Motoki Ueda, Takashi Isoshima, Takashi Ushida, Yoshihiro Ito    | 4. 巻<br>8             |
| 2. 論文標題<br>Stretching of fibroblast cells on micropatterned gelatin on silicone elastomer | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Materials Chemistry B  | 6. 最初と最後の頁<br>416-425 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>oyoda E, Sato M, Takahashi T, Maehara M, Nakamura Y, Mitani G, Takagaki T, Hamahashi K, Watanabe M | 4. 巻<br>10          |
| 2. 論文標題<br>Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse)-like cells exist in synovial tissue           | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>Regenerative Therapy   | 6. 最初と最後の頁<br>17-26 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Nonaka K, Kawaguchi Y, Watanabe M   | 4. 巻<br>21(1)      |
| 2. 論文標題<br>Transcriptomic and Proteomic Analyses Reveal the Potential Mode of Action of Chondrocyte Sheets in Hyaline Cartilage Regeneration. | 5. 発行年<br>2019年    |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Molecular Sciences   | 6. 最初と最後の頁<br>E149 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

[学会発表] 計33件(うち招待講演 5件/うち国際学会 9件)

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>松田 瑛彦, 張 箕, 古川 克子, 牛田 多加志, 上田 太郎   |
| 2. 発表標題<br>HP dissociates Ras-GAP complex and releasing from transient HP enhances Ras activation |
| 3. 学会等名<br>第61回日本生物物理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2023年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松田 瑛彦, 張 箕, 古川 克子, 牛田 多加志, 上田 太郎                                |
| 2. 発表標題<br>in vitro measurement of Ras activity under hydrostatic pressure |
| 3. 学会等名<br>日本機械学会第34回バイオエンジニアリング講演会  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松田 瑛彦, 張 箕, 古川 克子, 牛田 多加志, 上田 太郎  |
| 2. 発表標題<br>Ras activity measurement under hydrostatic pressure using improved Raichu |
| 3. 学会等名<br>第60回日本生物物理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|                                    |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>古川克子                    |
| 2. 発表標題<br>メカノバイオエンジニアリング技術による組織再生 |
| 3. 学会等名<br>第21回日本再生医療学会総会          |
| 4. 発表年<br>2021年~2022年              |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松田 瑛彦, 張 箕, 古川 克子, 牛田 多加志, 上田 太郎  |
| 2. 発表標題<br>Establishment of in vitro system to measure Ras activity under hydrostatic pressure |
| 3. 学会等名<br>第59回日本生物物理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Minki Chang, Yuma Omuro, Yosuke Takahashi, Kyosuke Miyahira, Noriyasu Masumoto, Masashi Yasuno, Takashi Ushida, Katsuko S. Furukawa  |
| 2. 発表標題<br>Effect of combined stimulation of uniaxial compressive stress and hydrostatic pressure on a three-dimensional cartilage damage model |
| 3. 学会等名<br>The 11th Asian-Pacic Conference on Biomechanics (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>牧 功一郎, Nava Michele, Villeneuve Clementine, 張 箕, 古川 克子, 牛田 多加志, Wickstrom Sara |
| 2. 発表標題<br>静水圧作用下における軟骨細胞のクロマチンリモデリングが細胞周期に及ぼす効果  |
| 3. 学会等名<br>日本機械学会第33回バイオエンジニアリング講演会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>張 箕, 大室祐磨, 高橋洋介, 宮平恭輔, 古川克子, 牛田多加志 |
| 2. 発表標題<br>三次元軟骨損傷モデルに対する一軸圧縮応力と静水圧の複合刺激の効果   |
| 3. 学会等名<br>日本機械学会第33回バイオエンジニアリング講演会           |
| 4. 発表年<br>2021年                               |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Charoensombut Narintadeach, 王東, Ushida Takashi, Furukawa Katsuko |
| 2. 発表標題<br>組織工学におけるDNase と高静水圧の相互作用の応用                                      |
| 3. 学会等名<br>日本機械学会第33回バイオエンジニアリング講演会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Narintadaech Charoensombut1, Dongzhe Wang, Kinyoshi Kawabata, Jeong Hyun Kim, Tsuyoshi Kimura, Akio Kishida, Takashi Ushida, Katsuko S. Furukawa |
| 2. 発表標題<br>Enzymatic high hydrostatic pressure for uterine tissue decellularization   |
| 3. 学会等名<br>TERMIS 6th World Congress (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Dongzhe WANG, Narintadeach CHAROENSOMBUT, Tsuyoshi KIMURA, Akio KISHIDA, Takashi USHIDA, Katsuko FURUKAWA |
| 2. 発表標題<br>Study of the effects of pressure conditions in high hydrostatic pressure uterine decellularization        |
| 3. 学会等名<br>The 11th Asian-Pacic Conference on Biomechanics (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>1. Takahashi T, Uchiyama R, Okada E, Toyoda E, Maehara M, Kawaguchi Y, Morioka M, Yamashita A, Akamatsu T, Tsumaki N, Watanabe M, Sato M |
| 2. 発表標題<br>Cell surface markers expressed by autologous and allogeneic chondrocyte sheets.  |
| 3. 学会等名<br>ISSCR/JSRM 2021 Tokyo International Symposium (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>3. 佐藤正人                            |
| 2. 発表標題<br>細胞シートを用いた関節軟骨再生医療～先進医療までの道のりと今後の展開 |
| 3. 学会等名<br>第19回日本組織移植学会（招待講演）                 |
| 4. 発表年<br>2021年                               |

|                                   |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>5. 佐藤正人                |
| 2. 発表標題<br>細胞シート移植による変形性膝関節症の再生医療 |
| 3. 学会等名<br>第36回日本整形外科学会基礎学術集会     |
| 4. 発表年<br>2021年                   |

|                                 |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人                 |
| 2. 発表標題<br>再生医療の現状とスポーツ医学への応用   |
| 3. 学会等名<br>第2回埼玉県健康スポーツ医会（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2021年                 |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人  |
| 2. 発表標題<br>Cell Therapyは橋掛けと成り得るか？-早期OA介入としてのAPSの役割と可能性 - .    |
| 3. 学会等名<br>第一回日本Knee Osteotomy and Joint Preservation研究会（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人                          |
| 2. 発表標題<br>先進医療で実現する変形性膝関節症に対する軟骨細胞シート移植 |
| 3. 学会等名<br>第21回日本再生医療学会                  |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年                    |

|                                  |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人                  |
| 2. 発表標題<br>細胞シートを用いた変形性膝関節症の再生医療 |
| 3. 学会等名<br>第21回日本再生医療学会          |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年            |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>王東喆, Narintadeach Charoensombut, 木村剛, 岸田晶夫, 牛田多加志, 古川克子   |
| 2. 発表標題<br>Reducing pressure promotes in vivo regeneration of high hydrostatic pressure decellularized uterine |
| 3. 学会等名<br>第20回日本再生医療学会総会  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Narintadeach Charoensombut, 王東喆, 木村剛, 岸田晶夫, 牛田多加志, 古川克子  |
| 2. 発表標題<br>Enzymatic-high hydrostatic pressure for fabrication of decellularized esophagus and intestine scaffold |
| 3. 学会等名<br>第20回日本再生医療学会総会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Sato M  |
| 2. 発表標題<br>Regenerative medicine through the transplantation of chondrocyte sheets for the treatment of osteoarthritis of the knee |
| 3. 学会等名<br>JOSKAS-JOSSM2020 (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Sato M  |
| 2. 発表標題<br>Regenerative medicine for the treatment of osteoarthritis of the knee |
| 3. 学会等名<br>JAPAN HEALTHCARE UPDATE CONFERENCE (国際学会)                             |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>岡田恵里, 佐藤正人, 前原美樹, 豊田恵利子, 高橋匠, 渡部綾子, 白砂早織, 和才志帆, 赤松正, 渡辺雅彦. |
| 2. 発表標題<br>膝関節軟骨修復に用いる多指症軟骨由来細胞の収集                                    |
| 3. 学会等名<br>第19回日本再生医療学会総会   |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|                           |
|---------------------------|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人           |
| 2. 発表標題<br>運動器の再生医療       |
| 3. 学会等名<br>第19回日本再生医療学会総会 |
| 4. 発表年<br>2020年           |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人, 濱橋恒介, 三谷玄弥, 高垣智紀, 金城永俊, 芹ヶ野健司, 赤松正, 渡辺雅彦 |
| 2. 発表標題<br>細胞シートを用いた変形性膝関節症に対する再生医療                       |
| 3. 学会等名<br>第93回日本整形外科学会学術総会                               |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|                            |
|----------------------------|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人            |
| 2. 発表標題<br>リウマチ治療への再生医療の活用 |
| 3. 学会等名<br>第49回日本リウマチの外科学会 |
| 4. 発表年<br>2020年            |

|                                  |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>佐藤正人.                 |
| 2. 発表標題<br>PRP・APS療法はOA治療を変えるのか？ |
| 3. 学会等名<br>第33回日本軟骨代謝学会          |
| 4. 発表年<br>2021年                  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Naoki Hosokawa, Masahiro Kuragano, Keitaro Shibata, Taro Q.P. Uyeda, Kiyotaka Tokuraku |
| 2. 発表標題<br>Direction of the cooperative cluster formation of fimbrin along actin filaments        |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yosuke Yamazaki, Taro QP Uyeda  |
| 2. 発表標題<br>Self-regulatory mechanisms for the segregation of actin binding proteins on actin network |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Tenji Yumoto, Taro QP Uyeda  |
| 2. 発表標題<br>Establishment of observation system to evaluate whether two different actin binding proteins bind to actin mutually or accommodative |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Sato M  |
| 2. 発表標題<br>reatment of knee osteoarthritis with the APS Kit: the Japanese experience |
| 3. 学会等名<br>ICRS2019 (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Okada E, Sato M, Maehara M, Toyoda E, Takahashi T, Watanabe A, Shirasuna S, Wasai S, Akamatsu T, Watanabe M                    |
| 2. 発表標題<br>Evaluation of Allogeneic Chondrocytes Derived from Polydactyly Surgery for the Regenerative Treatment of Knee Joint Cartilage. |
| 3. 学会等名<br>7th Asian Biomaterials Congress (ABMC) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Maehara M, Sato M, Toyoda E, Takahashi T, Okada E, Akamatsu T, Matsumura K, Suong-Hyu S, Nagashima H, Watanabe M     |
| 2. 発表標題<br>Articular cartilage regeneration using polydactyly-derived chondrocyte sheets cryopreserved by vitrification method. |
| 3. 学会等名<br>Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society Asia Pacific Chapter (TERMIS-AP) (国際学会)           |
| 4. 発表年<br>2019年   |

〔図書〕 計1件

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>浜橋恒介, 佐藤正人                                      | 4. 発行年<br>2020年 |
| 2. 出版社<br>日本医事新報社   | 5. 総ページ数<br>232 |
| 3. 書名<br>長引く膝の痛みに対する治療戦略, 膝周囲骨切り術と軟骨細胞シートによる変形性膝関節症治療の可能性 |                 |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                     | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                  | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 上田 太郎<br>(Uyeda Taro)<br><br>(90356551)       | 早稲田大学・理工学術院・教授<br><br>(32689)          |    |
| 研究分担者 | 古川 克子<br>(Furukawa Katsuko)<br><br>(90343144) | 東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授<br><br>(12601) |    |
| 研究分担者 | 伊藤 弓弦<br>(Ito Yuzuru)<br><br>(30500079)       | 筑波大学・生命環境系・教授<br><br>(12102)           |    |

6. 研究組織（つづき）

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                    | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)              | 備考 |
|-------|--|------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 佐藤 正人<br><br>(Sato Masato)<br><br>(10056335) | 東海大学・医学部・教授<br><br><br><br>(32644) |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |