

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03788

研究課題名(和文) 骨軟骨棘に着目した早期変形性膝関節症の病態と画像解析研究

研究課題名(英文) Pathophysiological study and image analysis of early-stage knee OA by focusing on osteochondrocytes

研究代表者

岡田 保典 (Okada, Yasunori)

順天堂大学・大学院医学研究科・特任教授

研究者番号：00115221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：早期変形性関節症(OA)の病態解析により、以下のデータが得られた。OA関節骨軟骨棘軟骨部には間葉系幹細胞が多く含まれており、それらを解析できるスフェロイド培養法を開発した。OA滑膜ではIL-6誘導性HYBIDが関節液中ヒアルロン酸分解に関わることを示した。ノックアウトマウス膝OAモデルで、HYBIDがヒアルロン酸分解を介してOA進展に関わることを実証した。OA滑膜で高発現するADAMTS4はIL-1、TNF-、TGF-で発現亢進し、adalimumabとTAK1とALK5阻害剤で完全に抑制された。膝OA進展リスク因子の内側半月板逸脱は脛骨内側骨軟骨棘と相関することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

OAは運動器疾患の中でも最も頻度が高く、健康寿命延伸阻害の主因であるが、その進展機構や制御法に関する研究は遅れている。本研究で得られたHYBIDやADAMTS4に関するデータは、OA関節軟骨破壊早期に生じるヒアルロン酸-アグリカンネットワーク破壊の理解と制御にきわめて重要な情報を与えている。また、脛骨内側部の骨軟骨棘は内側半月板逸脱誘導を介してOA進展リスク因子となっており、本研究で骨軟骨棘をin vitroにおいて解析できる方法を開発したことは、OA進展制御に向けての今後の研究に重要な足掛かりになると期待される。

研究成果の概要(英文)：We examined pathophysiology of osteoarthritis (OA) and obtained the following data: 1) Cartilage part of osteophyte contained larger numbers of mesenchymal stem cells compared to OA cartilage and spheroid culture method for osteophytic and articular chondrocytes was established. 2) HYBID was efficiently up-regulated in OA synovial fibroblasts by IL-6 and involved in hyaluronan degradation in OA synovial fluid. 3) Knee OA models in HYBID knock-out mice indicated that HYBID plays a key role via hyaluronan degradation in OA progression. 4) ADAMTS4 is synergistically overexpressed in OA synovial fibroblasts by IL-1, TNF- and TGF-, and the expression is completely inhibited by combined treatment with adalimumab and inhibitors for TAK1 or ALK5. 5) MRI analyses of the patients with anterior cruciate ligament rupture or healthy elderlies showed that medial meniscus extrusion, a risk factor of knee OA progression, is closely related to medial tibial osteophyte.

研究分野：病理学

キーワード：変形性関節症 骨棘 ヒアルロン酸 HYBID 関節軟骨破壊

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

変形性関節症(OA)はきわめて罹患率の高い疾患であり、超高齢社会を迎えた我が国における健康寿命延伸の大きな妨げとなっている。OAは一般的には加齢や肥満などの全身的要因と関節局所への荷重負荷により、関節軟骨変性・破壊、滑膜炎の合併、骨軟骨棘(osteochondrophyte)形成により進展する慢性進行性疾患である。関節軟骨は軟骨細胞と細胞外マトリックス(ECM)からなる組織であり、後者はヒアルロン酸にアグリカンが結合したヒアルロン酸アグリカンネットワークとII型コラーゲン線維が主要成分である。OA関節軟骨破壊はヒアルロン酸アグリカンネットワークの分解に始まりコラーゲン線維分解へと進行し、関節軟骨から分解・放出されたECM分解産物はOA滑膜炎を誘導すると考えられている。骨軟骨棘は関節面辺縁部の関節軟骨滑膜移行部における骨膜周囲で過剰産生された軟骨・骨組織であり、内軟骨性骨化プロセスを経て形成される。

研究代表者は、一連のOA関節軟骨破壊研究の中で、ヒアルロン酸分解にはHYBID(hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization)が重要な役割を果たすことを見出し、アグリカン分解にはADAMTS4(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 4)が中心的役割を担っていることを明らかにしてきた。また、軟骨コラーゲン線維はMMP(matrix metalloproteinase)-1, 2, 3, 13, 14の共同作用により分解されることを示し、OA関節軟骨ECM分解機構を分子レベルでかなり明らかにしてきた。一方、骨軟骨棘の研究は著しく遅れており、骨軟骨棘形成に参画する細胞成分や組織内微小環境因子、骨軟骨棘細胞の増殖・分化能、ECM分解調節機構、膝OA進展への二次的作用など多くの不明点がある。また、T2 mapping Magnetic Resonance Imaging(MRI)による画像診断で、骨軟骨棘は膝OAでは早期より出現し、内側半月板逸脱(medial meniscus extrusion: MME)に関与する可能性が示唆されているが、骨軟骨棘形成に着目した早期膝OAの画像解析に関する研究は少ない。

## 2. 研究の目的

これらの背景を踏まえて、本研究では、膝OAの骨軟骨棘構成細胞や組織内微小環境、OA動物モデルを用いた骨軟骨棘形成機序やヒトOA関節滑膜での解析によるOA進展機構、骨軟骨棘に着目した早期膝OAの画像解析・診断法開発などを行い、骨軟骨棘における未解決な諸問題の解決にあたる。具体的には、以下の3研究項目を設けて、これらを有効に連動させて研究した。

(研究項目I). ヒト骨軟骨棘組織を構成する細胞と組織内微小環境因子解析

(研究項目II). OA進展に関わるHYBIDとADAMTS4の役割解析

(研究項目III). 骨軟骨棘に着目した早期膝OAの画像解析・診断法開発

これらの研究を通して、これまでブラックボックスとなっていた骨軟骨棘の研究を格段に進展させるとともに早期膝OAでの骨軟骨棘画像解析法の確立や診断・治療法の開発を目指す。

## 3. 研究の方法

(1)ヒトOA骨軟骨棘のスフェロイド(凝集体)による解析: 膝OA患者の人工関節置換術時に骨軟骨棘軟骨部と関節軟骨組織からタンパク質とmRNAを抽出するとともに、細胞を採取した。次いで、抽出したタンパク質をプロテオミクス解析にかけ、関節軟骨に比べて骨軟骨棘で高発現した分子に関して定量PCRを行った。また、単離した細胞を間葉系幹細胞マーカーであるCD44, CD73, CD90, CD105, CD166などに対する抗体でラベルしてフローサイトメータで解析した。さらに、TGF- $\beta$ を含む間葉系幹細胞用培養液などを用いて超低接着表面プレートでの3次元培養でスフェロイドを形成し、その大きさ、細胞数、mRNA発現レベルを検討した。

(2)マウス骨軟骨棘で発現する分子の同定と作用機構解析: C57BL/6Jマウスの膝関節内側側副靭帯切離による内側半月板不安定化(DMM)OAモデルを作製し、パラフィン切片からマイクロダイセクションにより骨軟骨棘軟骨部と関節軟骨を別々に採取し、プロテオミクス解析をした。骨軟骨棘軟骨部で高発現した分子については、免疫染色により骨軟骨棘での特異的発現を確かめた。マウス間葉系幹細胞をTGF- $\beta$ を含む幹細胞用培養液で3次元培養して軟骨分化させ、mRNA発現を定量PCRで検討した。

(3)OA滑膜組織におけるHYBIDとTMEM2(Transmembrane protein2)の発現と関節液中ヒアルロン酸解析: HYBIDとホモロジーを有するTMEM2分子がヒアルロン酸分解酵素として報告されたので、膝OA患者の滑膜組織におけるHYBIDとTMEM2の絶対的mRNA発現量(コピー数)をスタンダードカーブ法で計測した。また、関節液中のヒアルロン酸濃度と分子量をELISA法とゲル濾過法で測定し、HYBIDとTMEM2発現レベルとの相関を検討した。関節液中のHYBIDタンパク質量はイムノブロット法を用いて調べ、HYBIDとIL-6のOA滑膜での局在を免疫組織学的に検討した。

(4)HYBIDノックアウトマウス膝OAモデルでの解析: 我々が開発したHYBIDノックアウトマウスに内側半月板切除と内側側副靭帯切離による内側型膝OAとDMMOAモデルを作製し、病理組織学的にOA変化を検討し、野生型マウスにおけるHYBID発現を免疫組織学的に調べた。また、OA関節組織よりmRNAを抽出して種々の遺伝子発現を定量PCRで検討するとともに、抽出したヒアルロン酸の分子量をゲル濾過法で測定した。

(5) **HYBID 活性阻害物質開発**：17 種類の植物抽出エキスを HYBID 発現培養細胞に添加し、培地中に入れた高分子ヒアルロン酸の分解をゲル濾過法で検討した。ゲンノショウコとワレモコウの抽出エキスがヒアルロン酸分解活性をほぼ完全に抑制することを見出したので、定量 PCR とイムノブロット法で HYBID の発現レベルを検討した。また、21 名の健常日本人女性において、片側顔面皮膚にこれら抽出液、他側にプラセボ試薬を含むローションを 1 日 2 回、8 週間塗布して、皮膚弾力性とシワの改善効果を測定した。なお、本研究に参加した検者からはインフォームドコンセントを得た上で実施した。

(6) **OA 滑膜組織におけるアグリカナーゼ型 ADAMTS 分子の発現解析**：ヒト ADAMTS 遺伝子ファミリー分子のうち、9 種類 (ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15, 16, 18, 20) がアグリカン分解活性を有することから、OA 滑膜組織におけるこれらの ADAMTS 分子発現を RT-PCR と定量 PCR で解析した。また、培養 OA 滑膜線維芽細胞に IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、VEGF、HB-EGF を添加し、上記の ADAMTS 分子の発現変化を定量 PCR で測定した。ADAMTS4 が IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  で著しく発現亢進したので、これらサイトカインによる相加的および相乗的作用を定量 PCR とイムノブロット法で調べ、それらの下流シグナル分子 (TAK1、NF- $\kappa$ B、ALK1、ALK5) の働きを阻害剤を用いて検討した。また、抗関節炎薬 (高分子ヒアルロン酸、抗 TNF- $\alpha$  抗体、抗 IL-6 受容体抗体) の ADAMTS4 発現抑制効果を検討した。

(7) **膝 OA 患者における歩行速度と MRI 画像所見の相関解析**：74 名の膝 OA 患者 (女性 51 名と男性 23 名、平均年齢 72.2 歳) を対象として、MRI 検査により膝関節の構造変化 (軟骨損傷、骨挫傷、骨嚢胞、骨摩耗、骨棘、半月板損傷、半月板逸脱) を検討し、これらと 30 m 歩行での歩行速度との相関を比較・検討した。

(8) **十字靭帯損傷患者の画像解析と文京コホートでの膝関節画像解析研究**：30 症例の前十字靭帯損傷患者を対象として、十字靭帯再建術時と術後にレントゲン、MRI および T2 mapping MRI 検査を行い、OA 変化、内側半月板逸脱 (MME)、骨軟骨棘について経時的に観察した。また、MME と骨軟骨棘との関係について、上記の検査結果を比較・検討した。また、1,191 名からなる文京区に住む健常高齢者 (文京コホート) を対象にしてレントゲンと MRI 検査を行い、MME と脛骨内側骨軟骨棘との関連を詳細に検討した。また、MRI データを偽カラー化することで T2 mapping MRI と同程度に骨軟骨棘を測定できる方法を開発した。

#### 4. 研究成果

各研究項目において得られた主な研究成果は、以下の通りである。

(研究項目 I). **ヒト骨軟骨棘組織を構成する細胞と組織内微小環境因子解析**：

膝 OA 患者の骨軟骨棘軟骨部と関節軟骨組織由来抽出タンパク質のプロテオーム解析により骨軟骨棘において発現上昇あるいは下降している候補分子情報を獲得し、I 型や II 型コラーゲン、アグリカン、パーシカンなどの分子に関しては定量 PCR で増減を確かめた。また、フローサイトメータを用いて、間葉系幹細胞マーカー陽性細胞の比率が OA 関節軟骨細胞に比べて骨軟骨棘由来軟骨細胞では約 2 倍高いことを明らかにした。超低接着表面プレートでの 3 次元培養でスフェロイド形成法を確立し、幹細胞用培養液での培養下で骨軟骨棘由来の軟骨細胞が著しく大きく生育することを示し、発現する遺伝子プロファイルが骨軟骨棘組織でのそれに類似することを確かめた。また、OA 関節組織で過剰産生されるサイトカイン (TGF- $\beta$ 、IL-1、TNF- $\alpha$ 、IL-6 など) で刺激することで、骨軟骨棘由来軟骨細胞特異的にスフェロイドの細胞増殖あるいは細胞死を誘導するサイトカインを同定した (論文作成中)。

マウス DMM 膝 OA モデルの術後 2 週目の病理組織切片からレーザーマイクロダイセクションで関節軟骨と骨棘軟骨組織を分取し、プロテオミクス解析を行った結果、骨棘軟骨部に発現レベルが高い 7 分子を見出し、発現差が最も大きい分子に着目し、*in vitro* での解析を行った。三次元培養系でマウス間葉系幹細胞を軟骨分化させたところ、本分子の発現増加が確認され、その阻害剤投与により軟骨分化抑制を認めた。また、同様の現象はヒト OA 骨軟骨棘由来軟骨細胞スフェロイドにおいても確認された。本分子の作用機構を *in vitro* で解析するとともに、OA モデルマウス膝関節内への阻害剤投与による骨軟骨棘形成抑制効果を現在検討中である。

(研究項目 II). **OA 進展に関わる HYBID と ADAMTS4 の役割解析**：

OA 滑膜組織における HYBID と TMEM2 の絶対的な発現レベルを検討した結果、HYBID は正常滑膜に比較して有意に発現亢進しているのに対し、TMEM2 の発現亢進は認められなかった。HYBID は OA 滑膜組織の滑膜線維芽細胞様 B 型細胞と表層細胞下層の線維芽細胞で産生されており、発現レベルは関節液中 HYBID タンパク質濃度と正の相関を示し、OA 関節液中ヒアルロン酸低分子化率は滑膜組織での HYBID mRNA 発現レベルと関節液中 HYBID タンパク質濃度と正の相関を示した。培養 OA 滑膜線維芽細胞では、HYBID 発現は IL-6 刺激により有意に亢進し、高分子ヒアルロン酸の分解活性は、HYBID のノックダウンで消失し、IL-6 刺激で亢進した。IL-6 は OA 滑膜組織での表層細胞 (線維芽細胞様 B 型細胞とマクロファージ様 A 型細胞) や下層のマクロファージと線維芽細胞で産生されており、OA 滑膜組織では、オートクライン/パラクライン機構で IL-6 で刺激を受けた滑膜線維芽細胞様 B 型細胞や下層の線維芽細胞が HYBID を発現し、関節液中ヒアルロン酸分解に重要な役割を果たしていることが示唆された。

( Am J Pathol 190:1046-1058, 2020 )

HYBID ノックアウトマウスを用いて、2 種類の実験的膝 OA モデルを作製し、OA 進展での HYBID の役割を研究した。その結果、HYBID ノックアウトマウスでの関節軟骨破壊と骨棘形成は野生型マウスと比較して有意に抑制された。HYBID は、野生型マウスの OA 関節軟骨、滑膜、骨棘の細胞に局在し、顕著に発現亢進していたが、TMEM2 発現レベルはノックアウトと野生型マウス間で差はなかった。ノックアウトと野生型マウス膝 OA 関節組織では、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  が発現亢進していた。ノックアウトマウスでは、骨棘近辺の滑膜-骨膜移行部での新生血管数が減少しており、関節組織中には高分子ヒアルロン酸が貯留していた。また、野生型マウス OA 膝関節内への高分子ヒアルロン酸注射により、関節軟骨破壊と骨棘形成が抑制された。以上の結果から、OA 関節組織で高発現した HYBID はヒアルロン酸分解を通して関節軟骨破壊や骨棘形成を促進し、膝 OA 進展に関わることが示唆された ( Am J Pathol 191:1986-1998, 2021 )

植物の根・茎・葉抽出エキスイブラリーの抽出エキスを HYBID 発現培養細胞に添加したところ、ゲンノショウコ茎・葉抽出エキスとワレモコウ根茎抽出エキスはヒアルロン酸分解活性をほぼ完全に抑制し、HYBID の mRNA とタンパク質発現を低下させ、新規産生ヒアルロン酸は全て高分子ヒアルロン酸から構成されるようになった。健常日本人女性を対象とした小規模な臨床試験で、抽出エキス塗布により皮膚弾力性とシワの改善効果を認められた。これらのデータから、ゲンノショウコとワレモコウ抽出エキスは HYBID によるヒアルロン酸分解を抑制し、HYBID が関わる光皮膚老化症状改善に役立つ可能性が示唆された ( Int J Cosmet Sci 41:12-20, 2019; J Cosmet Dermatol 18:1052-1060, 2019 )

アグリカン分解を有する ADAMTS1, 4, 5, 8, 9, 15, 16, 18, 20 分子の OA 滑膜組織での発現を RT-PCR でスクリーニングし、ADAMTS1, 4, 5, 9, 16 が発現陽性であることを明らかにし、定量 PCR 法では正常滑膜組織と比較して ADAMTS4 のみが OA 滑膜組織で有意に発現亢進しており、主として滑膜表層細胞で産生されていることを免疫組織学的に示した。培養 OA 滑膜線維芽細胞を IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、VEGF、HB-EGF 刺激すると、IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  刺激により ADAMTS4 が最も強く発現亢進した。また、IL-1 $\alpha$  + TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  + TGF- $\beta$  および IL-1 $\alpha$  + TNF- $\alpha$  + TGF- $\beta$  刺激で相乗的に ADAMTS4 発現が亢進した。これらサイトカイン刺激下における細胞内シグナルを種々の阻害剤を用いて検討したところ、いずれの刺激においても TAK1 が中心的な経路であり、TGF- $\beta$  と TNF- $\alpha$  刺激では TAK1 経路に加えて ALK5  $\rightarrow$  Smad2/3 と NF- $\kappa$ B の経路を介していることが明らかとなった。また、IL-1 $\alpha$  + TNF- $\alpha$  + TGF- $\beta$  刺激下での ADAMTS4 発現は、Adalimumab と TAK1 と ALK5 経路阻害剤を組み合わせることで完全に抑制されることが示された。本データから、Adalimumab と TAK1 と ALK5 経路を標的とした新規治療法の開発が早期 OA の関節軟骨破壊抑制に有望と期待される ( Lab Invest 102:102-111, 2022 )

(研究項目 III). 骨軟骨棘に着目した早期膝 OA の画像解析・診断法開発 :

膝痛と MRI 所見との相関を重回帰分析で調べたところ、内側半月板逸脱 ( MME ) と軟骨損傷 ( cartilage lesion ) が有意に相関した。MRI 所見と歩行速度との間では、重回帰解析 ( 年齢、性別、身長、体重、膝アライメント、疼痛で調整 ) により MME のみが有意に相関し、MME の程度が大きいほど歩行速度が遅いことが示された。日常生活動作障害や転倒リスクが高まることが明らかになっている歩行速度 0.8 m/s 以下をカットオフにして ROC curve による解析をした結果、AUC は MME 以外の測定値では全て 0.70 以下であるのに対し、MME では 0.72 (0.60 - 0.84) と最も強い相関を示し、算出したカットオフ値 MME=6.2 mm で歩行速度 0.8 m/s 以下となる相対危険度は 2.19 ( 1.28-3.46, p=0.01 ) であった。これらのデータから、膝 OA 患者の MRI 所見のうち MME が歩行速度低下と最も関連性の高い因子であり、半月板の位置異常があると歩行速度を下げることに関節内圧上昇などを無意識に調節している可能性があることと推測された ( Osteoarthritis Cartilage Open 3:100176, 2021 )

前十字靭帯損傷を来した患者について、靭帯再建術前後で MRI と T2 mapping MRI で検討したところ、術後約 7 か月後には MME と脛骨内側骨軟骨棘幅は同様に増大していた。また、T2 mapping MRI で検出された MME は全ての OA 変化のうち脛骨内側骨軟骨棘幅とのみ有意に正の相関を示すことが明らかとなった。本データから、骨軟骨棘形成は十字靭帯損傷後の術後早期に生じ、T2 mapping MRI で検出された脛骨内側骨軟骨棘幅が MME と一致することを初めて示した ( 論文投稿中 )。また、千人以上の健常高齢者からなるコホートにおいて、X 線検査と MRI 検査を用いて検討し、偽カラー法を用いることにより MRI 画像を T2 mapping MRI とほぼ同等の解析ができる方法を開発した。本法を用いた解析の結果、本コホートの 85% 以上の対象者において、膝内側 OA、MME、脛骨内側骨軟骨棘が検出された。また、全ての膝 OA 変化のうち、MME は偽カラー法により計測された脛骨内側骨軟骨棘幅とのみ正の相関を示し、ほとんどの症例で MME と脛骨内側骨軟骨棘幅が一致することが判明した。これらのデータから、膝 OA 早期に出現する脛骨内側骨軟骨棘が内側半月板を脛骨に固定している冠状靭帯を内側へと圧排して、MME を来す可能性が推定され、今後のさらなる研究で実証することが重要と考えられた ( 論文投稿中 )

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Shiozawa J., de Vega S., Cilek M.Z., Yoshinaga C., Nakamura T., Kasamatsu S., Yoshida H., Kaneko H., Ishijima M., Kaneko K., and Okada Y.  | 4. 巻<br>190             |
| 2. 論文標題<br>Interleukin-6-stimulated expression of hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization is implicated in hyaluronan degradation in synovial fluids from knee osteoarthritis patients. | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Am J Pathol  | 6. 最初と最後の頁<br>1046-1058 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.ajpath.2020.01.003   | 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>Yoshida H., Aoki M., Komiya A., Sakai S., Sayo T., Okada Y., and Takahashi Y.  | 4. 巻<br>295             |
| 2. 論文標題<br>HYBID and hyaluronan synthase coordinately regulate hyaluronan metabolism in histamine-stimulated skin fibroblasts.   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>J Biol Chem  | 6. 最初と最後の頁<br>2483-2494 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1074/jbc.RA119.010457.  | 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>de Vega S., Yoshida H. and Okada Y.  | 4. 巻<br>2132            |
| 2. 論文標題<br>Expression and characterization of hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization: HYBID, alias KIAA1199 and CEMIP.   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Methods Mol Biol   | 6. 最初と最後の頁<br>129-138   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/978-1-0716-0430-4_13.  | 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>Dokoshi T., Zhang L., Li F., Nakatsuji T., Butcher A., Yoshida H., Shimoda M., Okada Y. and Gallo R.L.   | 4. 巻<br>30              |
| 2. 論文標題<br>Hyaluronan degradation by Cemip regulates host defense against Staphylococcus aureus skin infection.  | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Cell Rep   | 6. 最初と最後の頁<br>61-68     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.celrep.2019.12.001   | 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>塩澤淳、岡田保典                     | 4. 巻<br>71        |
| 2. 論文標題<br>HYBID (KIAA1199/CEMIP)      | 5. 発行年<br>2020年   |
| 3. 雑誌名<br>整形外科                         | 6. 最初と最後の頁<br>357 |
| 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>望月早月、岡田保典                      | 4. 巻<br>275               |
| 2. 論文標題<br>線維症とメタロプロテアーゼ-MMP・ADAM・ADAMTS | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>医学の歩み                          | 6. 最初と最後の頁<br>21450-21456 |
| 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>Yoshida Hiroyuki, Yamazaki Kohei, Komiya Aya, Aoki Mika, Nakamura Tomomi, Kasamatsu Shinya, Murata Takeshi, Sayo Tetsuya, Okada Yasunori, Takahashi Yoshito | 4. 巻<br>18                |
| 2. 論文標題<br>Inhibition of HYBID (KIAA1199)-mediated hyaluronan degradation and anti-wrinkle effect of Geranium thunbergii extract                                      | 5. 発行年<br>2019年           |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Cosmetic Dermatology   | 6. 最初と最後の頁<br>1052 ~ 1060 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/jocd.12813  | 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>Yoshida H., Yamazaki K., Komiya A., Aoki M., Kasamatsu S., Murata T., Sayo T., Cilek M. Z., Okada Y., Takahashi Y.                 | 4. 巻<br>41            |
| 2. 論文標題<br>Inhibitory effects of Sanguisorba officinalis root extract on HYBID (KIAA1199)-mediated hyaluronan degradation and skin wrinkling | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Cosmetic Science  | 6. 最初と最後の頁<br>12 ~ 20 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/ics.12505  | 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>Yoshida Hiroyuki, Okada Yasunori  | 4. 巻<br>20                |
| 2. 論文標題<br>Role of HYBID (Hyaluronan Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization), Alias KIAA1199/CEMIP, in Hyaluronan Degradation in Normal and Photoaged Skin | 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>5804 ~ 5804 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/ijms20225804  | 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>塩澤淳, 石島旨章, 金子和夫, 岡田保典  | 4. 巻<br>62                |
| 2. 論文標題<br>変形性膝関節症におけるHYBID (CEMIP/KIAA1199) の発現と役割 早期変形性膝関節症のバイオマーカーとしての可能性も含めて | 5. 発行年<br>2019年           |
| 3. 雑誌名<br>整形・災害外科  | 6. 最初と最後の頁<br>1519 ~ 1525 |
| 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>石島旨章, 金子晴香, 根岸義文, 百枝雅裕, 岡田保典, 金子和夫 | 4. 巻<br>77                |
| 2. 論文標題<br>変形性膝関節症における慢性疼痛                   | 5. 発行年<br>2019年           |
| 3. 雑誌名<br>日本臨床                               | 6. 最初と最後の頁<br>2027 ~ 2034 |
| 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>Arita Hitoshi, Kaneko Haruka, Ishibashi Masayoshi, Sadatsuki Ryo, Liu Lizu, Hada Shinnosuke, Kinoshita Mayuko, Aoki Takako, Negishi Yoshifumi, Momoeda Masahiro, Adili Arepati, Kubota Mitsuaki, Okada Yasunori, Kaneko Kazuo, Ishijima Muneaki | 4. 巻<br>3                     |
| 2. 論文標題<br>Medial meniscus extrusion is a determinant factor for the gait speed among MRI-detected structural alterations of knee osteoarthritis  | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Osteoarthritis and Cartilage Open   | 6. 最初と最後の頁<br>100176 ~ 100176 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.ocarto.2021.100176  | 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>Momoeda Masahiro, de Vega Susana, Kaneko Haruka, Yoshinaga Chiho, Shimoda Masayuki, Nakamura Tomomi, Endo Yoko, Yoshida Hiroyuki, Kaneko Kazuo, Ishijima Muneaki, Okada Yasunori | 4. 巻<br>191               |
| 2. 論文標題<br>Deletion of Hyaluronan-Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization (HYBID) Results in Attenuation of Osteoarthritis in Mice   | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>The American Journal of Pathology  | 6. 最初と最後の頁<br>1986 ~ 1998 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.ajpath.2021.07.008   | 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>Tsuji Shohei, Nakamura Shinsuke, Yamada Tetsuya, de Vega Susana, Okada Yasunori, Inoue Shintaro, Shimazawa Masamitsu, Hara Hideaki | 4. 巻<br>1764                  |
| 2. 論文標題<br>HYBID derived from tumor cells and tumor-associated macrophages contribute to the glioblastoma growth                             | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Brain Research   | 6. 最初と最後の頁<br>147490 ~ 147490 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.brainres.2021.147490   | 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>Cilek Mehmet Zeynel, de Vega Susana, Shiozawa Jun, Yoshinaga Chiho, Miyamae Yuka, Chijiwa Miyuki, Mochizuki Satsuki, Ito Masatoshi, Kaneko Haruka, Kaneko Kazuo, Ishijima Muneaki, Okada Yasunori | 4. 巻<br>102             |
| 2. 論文標題<br>Synergistic upregulation of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by cytokines and its suppression in knee osteoarthritic synovial fibroblasts   | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Laboratory Investigation  | 6. 最初と最後の頁<br>102 ~ 111 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41374-021-00685-4  | 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>塩澤 淳、石島 旨章、岡田 保典  | 4. 巻<br>39            |
| 2. 論文標題<br>特集 変形性関節症の病態・治療の最新知見 . 総論 変形性関節症における軟骨細胞外マトリックス分解の分子病態 | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Pharma Medica   | 6. 最初と最後の頁<br>19 ~ 23 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.34449/J0001.39.06_0019-0023        | 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>-             |



〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>塩澤淳、Susana de Vega、Mehmet Z. Cilek、良永知穂、中村智美、笠松慎也、吉田浩之、石島旨章、金子晴香、金子和夫、岡田保典 |
| 2. 発表標題<br>変形性膝関節症滑膜組織でのHYBID過剰発現は関節液中ヒアルロン酸（HA）分解に関わる。                               |
| 3. 学会等名<br>第109回日本病理学会総会  |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|                                |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名<br>岡田保典                |
| 2. 発表標題<br>変形性関節症の関節軟骨破壊と再生：概論 |
| 3. 学会等名<br>第64回日本リウマチ学会（招待講演）  |
| 4. 発表年<br>2020年                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>塩澤淳、Susana de Vega、中村智美、吉田浩之、石島旨章、金子晴香、金子和夫、岡田保典         |
| 2. 発表標題<br>変形性膝関節症（膝OA）の関節軟骨組織におけるヒアルロン酸分解酵素（HYBIDとTMEM2）の発現と発現調節機構 |
| 3. 学会等名<br>第35回 日本整形外科学会基礎学術集会                                      |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|                                     |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>岡田保典                     |
| 2. 発表標題<br>日本創傷治癒学会における50年の歩みと今後の展望 |
| 3. 学会等名<br>第50回日本創傷治癒学会（招待講演）       |
| 4. 発表年<br>2020年                     |

|                               |
|-------------------------------|
| 1. 発表者名<br>岡田保典               |
| 2. 発表標題<br>関節軟骨破壊と再生の基礎研究     |
| 3. 学会等名<br>第32回日本軟骨代謝学会（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2019年               |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>下田将之、清水英徳、望月早月、吉田浩之、塩澤淳、石島旨章、金子和夫、中村雅也、戸山芳昭、岡田保典 |
| 2. 発表標題<br>HYBIDの変形性関節症（OA）関節軟骨での発現亢進とヒアルロン酸（HA）分解における役割    |
| 3. 学会等名<br>第108回日本病理学総会                                     |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>塩澤淳、Susan de Vega、Mehmet Z. Cilek、良永知穂、中村智美、笠松慎也、吉田浩之、金子晴香、石島旨章、金子和夫、岡田保典 |
| 2. 発表標題<br>HYBIDは変形性膝関節症滑膜組織で過剰発現し関節液中ヒアルロン酸分解に関与する                                  |
| 3. 学会等名<br>第51回 日本結合組織学会学術集会   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yasunori Okada  |
| 2. 発表標題<br>Expression and roles of HYBID (Hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization), alias CEMIP/KIAA1199, in osteoarthritis |
| 3. 学会等名<br>The 11th International Conference on Proteoglycans（招待講演）（国際学会）  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>塩澤淳、Susana de Vega、Mehmet Z. Cilek、良永知穂、中村智美、笠松慎也、吉田浩之、金子晴香、石島旨章、金子和夫、岡田保典 |
| 2. 発表標題<br>IL-6を介した変形性関節症滑膜線維芽細胞によるHYBID ( KIAA1199 ) 過剰発現は関節液中ヒアルロン酸分解に関わる           |
| 3. 学会等名<br>第34回 日本整形外科学会基礎学術集会  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>塩澤淳、Susana de Vega、良永知穂、中村智美、吉田浩之、金子晴香、金子和夫、石島旨章、岡田保典 |
| 2. 発表標題<br>新規ヒアルロニダーゼHYBID及びTMEM2の膝OA関節軟骨組織における機能解析              |
| 3. 学会等名<br>JOSKAS 2021年  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>百枝雅裕、スサーナ・デ・ベガ、金子晴香、良永知穂、下田将之、中村朋美、遠藤洋子、吉田浩之、金子和夫、石島旨章、岡田保典   |
| 2. 発表標題<br>Hybid ( hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization ) によるヒアルロン酸分解はマウスでの変形性膝関節症 ( 膝OA ) を促進する |
| 3. 学会等名<br>日本結合組織学会  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

〔図書〕 計0件

〔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 | 金子 晴香<br>(Kaneko Haruka)<br><br>(50445516) | 順天堂大学・医学部・講師<br><br><br>(32620) |    |

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 | 石島 旨章<br><br>(Ishijima Muneaki)<br><br>(70365576)       | 順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・教授<br><br><br><br>(32620) |    |
| 研究分担者 | デベガ スサーナ<br><br>(Susana de Vega)<br><br>(30623590)      | 順天堂大学・医学部・非常勤助教<br><br><br><br>(32620)        |    |
| 研究分担者 | チレッキ メフメット・ゼイネル<br><br>(Cilek Mehmet)<br><br>(10827538) | 順天堂大学・医学部・博士研究員<br><br><br><br>(32620)        |    |

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