

ノウイルスベクターを線維芽細胞に感染させると、ほぼ全ての細胞に遺伝子導入ができ、CRYBP1 および FPM315 遺伝子を安定して発現可能であった。軟骨初代培養細胞に CRYBP1、FPM315 遺伝子を強制発現させると、ほとんどの細胞が軟骨の形質を失い、細胞死に至ることがわかった。

#### D. 考察

関節疾患の病因、病態に関しては不明な点が多く、関節軟骨破壊の進行を阻止し、軟骨再生を誘導しうる有効な治療法の開発は未だできていない。OA や RA の関節軟骨では、軟骨細胞の軟骨コラーゲン遺伝子発現が著明に低下しており、力学的負荷に耐えうるような軟骨基質の構築が失われている。しかし、変性軟骨での軟骨コラーゲン発現を誘導し、正常な軟骨構造を獲得する方法の開発は全く進んでいない。軟骨コラーゲン遺伝子発現制御のメカニズムについては、近年、SOX9 が胎生期の軟骨発生過程において促進的に作用し、CRYBP1 および FPM315 が軟骨組織以外での軟骨コラーゲン発現を負に調節していることが分かってきた。こうした研究は最近始まったばかりであり、これらを関節軟骨再生と結びつけた研究は全く行われていない。本研究では、変性に陥った軟骨を再生させ、関節軟骨破壊の進行を阻止する遺伝子治療の開発の一つの目的とし、そのための基礎研究として、SOX9 および CRYBP1、FPM315 という正と負の転写制御因子の関節軟骨における意義を明らかにし、関節軟骨細胞での軟骨コラーゲン発現が制御可能かを検討する。本年度の研究から、軟骨細胞に CRYBP1 および FPM315 を強制発現させると、細胞は軟骨の形質を失うことが明らかになった。正常関節軟骨では、CRYBP1 と FPM315 の発現は認められず、変性に陥った軟骨では CRYBP1、FPM315 の発現が上昇していることから、転写因子 CRYBP1 および FPM315 の発現増強が、関節軟骨の変性に関わる可能性が示唆される。今後は、変性軟骨細胞への SOX9 遺伝子を導入、あるいはアンチセンスベクター系による CRYBP1 と FPM315 の発現抑制によって、軟骨再生が惹起されるかを検討する。

一方、日本白色家兎から単離・培養した関節軟骨初代培養細胞や未分化間葉系幹細胞は、生体分解性ポリマー上でも培養可能であり、

軟骨細胞は軟骨の性質を維持できることが明らかになりつつある。さらに軟骨形質を長期間安定的に維持できる培養の方法を検討し、scaffold の形状等に検討を加え、周囲の組織との固着性の良い移植法を開発していく予定である。高齢化社会の到来に伴い、関節疾患の患者数は年間100万人を越えるペースで増加しており、大きな問題となっている。本研究において、十分な力学的強度を持った軟骨組織移植法が確立でき、さらに軟骨細胞分化の制御機構が明らかになれば、新しい関節疾患の治療法開発に道が開かれ、患者の受けるメリットは極めて大きいと考えられる。

#### E. 結論

関節軟骨での軟骨コラーゲンの発現は正と負の転写制御機構によりコントロールされているが、軟骨分化や再生にも関与している可能性があり、各種関節疾患における軟骨破壊の進行阻止や軟骨再生に応用できる可能性が考えられる。また、生体分解性ポリマー上でも軟骨細胞は軟骨の性質を維持したまま培養可能であり、自家軟骨細胞移植や間葉系幹細胞移植の担体として有用と考えられた。

#### F. 健康危険情報

本研究に関連して、健康管理上問題となるような事項はなかった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Teramoto M, Nakamasu K, Noshiro M, Matsuda Y, Gotoh O, Shen M, Tsutsumi S, Kawamoto T, Iwamoto Y, Kato Y. Gene structure and chromosomal location for a human bHLH transcriptional factor DEC1/Stra13 Sharp-2/ BHLHB2. J. Biochem, 129: 391-396, 2001.

Kurata K, Uemura T, Nemoto A, Tateishi T, Murakami T, Miura H, Iwamoto Y. Mechanical strain effect on bone-resorbing activity and mRNA expressions of marker enzymes in isolated osteoclast culture. J. Bone Miner. Res., 16: 722-730, 2001.

Shida J, Jingushi S, Izumi T, Ikenoue T, Iwamoto Y. Basic fibroblast growth factor regulates expression of growth factors in rat epiphyseal chondrocytes. J. Orthop. Res., 19:

259-264, 2001.

Ohnaka K, Shimoda S, Nawata H, Shimokawa H, Kaibuchi K, Iwamoto Y, Takayanagi R. Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 287: 337-342, 2001.

Miyaniishi K, Yamamoto T, Nakashima Y, Shuto T, Jingushi S, Noguchi Y, Iwamoto Y. Subchondral changes in transient osteoporosis in the hip. *Skeletal Radiol.*, 30: 255-261, 2001.

Maeda T, Yamada H, Nagamine R, Shuto T, Nakasima Y, Hirata G, Iwamoto Y. Involvement of CD4+CD57+T cells in the disease activity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumat.*, in press.

Yamashita A, Yonemitsu Y, Okano S, Nakagawa K, Nakashima Y, Irisa T, Iwamoto Y, Nagai Y, Hasegawa M, Sueishi K. Fibroblast growth factor-2 determines severity of joint disease in adjuvant-induced arthritis in rats. *J. Immunol.*, in press.

Urabe K, Jingushi S, Ikenoue T, Okazaki K, Sakai H, Li C, Iwamoto Y. Immature osteoblastic cells express the pro- $\alpha$ 2(XI)collagen gene during bone formation in vitro and in vivo. *J. Orthop. Res.*, 19: 1013-1020, 2001.

河野勤、三浦裕正、馬渡太郎、諸岡孝明、岩本幸英. 軟骨下骨組織の物性値の変化が関節軟骨に及ぼす影響についての力学的検討. *日本臨床バイオメカニクス学会誌* 22: 45-49, 2001.

松田秀一、岩本幸英. 軟骨欠損修復の現況. *骨・関節・靭帯* 14: 797-800, 2001.

## 2. 学会発表

Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Matsunobu T, Saikimura R, Yamada Y, Iwamoto Y. Coordinate expression of zinc-finger transcription factors, FPM315 and CRYBPI, during cartilage differentiation. 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, San Francisco, California, USA, February 25-28, 2001

Miyaniishi K, Tanaka K, Irisa T, Yamasita A, Jingushi S, Noguchi Y, Iwamoto Y. Histomorphometric changes of bone marrow fat

cells in corticosteroid-treated rabbits with osteonecrosis. 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, San Francisco, California, USA, February 25-28, 2001

Mawatari T, Miura H, Moro-oka T, Kawano T, Higaki H, Kawamura H, Iwamoto Y. Effect of VITAMIN K2 after the trabecular connectivity was lost in ovariectomized rats. 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, San Francisco, California, USA, February 25-28, 2001

Matsumoto Y, Tanaka K, Nakatani F, Matsunobu T, Saikimura R, Matsuda S, Iwamoto Y. VEGF stimulates chemotaxis of osteoclast precursor cells via FLT1-P13K-FAT pathway. 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, San Francisco, California, USA, February 25-28, 2001

Maeda T, Yamada H, Nagamine R, Shuto T, Nakashima Y, Hirata G, Iwamoto Y. Reliance of CD4+CD57+T cells to the activity of rheumatoid arthritis. 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society, San Francisco, California, USA, February 25-28, 2001

Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Matsunobu T, Saikimura R, Yamada Y, Iwamoto Y. A Kruppel-Associated Box-zinc finger protein, FPM315, inhibits tissue specific expression of Col11A2 gene. 4th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of the U.S.A., Canada, Europe and Japan, Rhodes, Greece, June 1-3, 2001

Hirata G, Shuto T, Matsuo A, Zhao H, Iwamoto Y. Activin inhibits angiogenesis-possible involvement of activin in pathogenesis in rheumatoid arthritis. 4th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of the U.S.A., Canada, Europe and Japan, Rhodes, Greece, June 1-3, 2001

田仲和宏、松本嘉寛、中谷文彦、崎村陸、松延知哉、山田吉彦、岩本幸英. Zinc finger 型転写因子 CRYBPI による II 型コラーゲン遺伝子エンハンサーの負の制御機構. 第 14 回日

本軟骨代謝学会、2001年3月9-10日、岐阜  
松尾篤、首藤敏秀、平田剛、岩本幸英。ビス  
フォスフォネートの TNF- $\alpha$  産生に及ぼす影響。  
第45回リウマチ学会総会、2001年5月14-16  
日、東京

平田剛、首藤敏秀、松尾篤、岩本幸英。慢性  
関節リウマチにおける滑膜炎でのアクチビンの  
関与。第45回リウマチ学会総会、2001年5月  
14-16日、東京

田仲和宏、松本嘉寛、中谷文彦、崎村陸、松  
延知哉、山田吉彦、岩本幸英。転写因子  
CRYBP1とFPM315の軟骨分化における共発  
現。第33日本結合組織学会、2001年6月7-  
9日、東京

松尾篤、首藤敏秀、趙洪普、平田剛、岩本幸  
英。ビスフォスフォネートによる関節炎および  
骨関節破壊制御：アジュバント関節炎ラット発  
症後投与による検討。第101回西日本整形  
災害外科学会、2001年6月30日-7月1日、  
久留米

平田剛、首藤敏秀、松尾篤、趙洪普、岩本幸  
英。慢性関節リウマチ滑膜における血管新  
生制御因子アクチビンとそのレセプターの発  
現。第19回日本骨代謝学会、2001年8月  
9-11日、名古屋

田仲和宏、松本嘉寛、中谷文彦、崎村陸、松  
延知哉、山田吉彦、岩本幸英。軟骨分化に  
おける Zinc-Finger 型転写因子 CRYBP1 と  
FPM315の共同発現。第16回日本整形外科  
学会基礎学術集会、2001年10月18-19日、  
広島

H. 知的財産権の出願、登録状況  
特になし。

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

自家修復能力を用いた軟骨欠損の修復法の確立  
- SOX9の遺伝子導入による軟骨細胞分化に関する研究-

分担研究者 石黒 直樹 名古屋大学大学院医学研究科機能構築医学専攻  
運動・形態外科学講座整形外科学教授

研究要旨

マウス完全長 SOX9 cDNA を含む発現ベクターを、骨髄間葉系細胞にリポフェクション法により遺伝子導入して、SOX9 タンパクを過剰に発現させたところ、アルシアンブルー陽性の軟骨細胞様細胞に分化した。これら遺伝子導入細胞をヌードマウスに移植したところ、4 週後に軟骨組織塊を形成した。

A. 研究目的

変形性関節症をはじめとする関節症では軟骨組織の広範な欠損が問題となる。軟骨組織の欠損は軟骨基質の消失と共に、関節症の進行に合わせて軟骨細胞の Apoptosis による減少が見られる。小さな軟骨欠損に対しては軟骨組織の移植による治療が行われているが、広範な軟骨欠損をとまなう変形性関節症に対してはドナー組織の不足が問題となる。したがって再生医学による問題解決が望まれている領域と考えられる。Tissue engineering の概念に基づく軟骨組織再生を臨床応用するには、採取が容易で欠損による機能障害を生じにくい組織（細胞）を、in vitro で軟骨細胞に分化させ移植することが望ましい。我々は骨髄間葉系細胞をドナーとし、軟骨分化誘導能をもつ転写因子 SOX9 の遺伝子導入により軟骨細胞に分化させ、軟骨組織の再生を図ることを目的とし、本研究を行う。本研究はドナー不足

解決につながる可能性が高く、将来の変形性関節症に対する治療法開発の糸口となる。

B. 研究方法

マウスの骨、軟骨より mRNA を抽出し、RT-PCR 法により完全長 SOX9 cDNA を精製する。それを骨髄間葉系細胞に遺伝子導入し、SOX9 蛋白を過剰に発現させることにより軟骨細胞へ分化させる。（軟骨細胞への分化は形態学的な変化、アルシアンブルー染色、II 型コラーゲン、アグリカンの mRNA の発現などを指標として評価する。）次いで、軟骨細胞様細胞に分化した遺伝子導入細胞をヌードマウスに移植し、in vivo での軟骨組織形成能を評価する。さらに家兎の軟骨欠損モデルを作製し、同様に遺伝子導入細胞の移植による軟骨再生を図る。

C. 研究結果

完全長 SOX9 cDNA を含む発現ベクターを、リポフェクション法により骨髄間葉系細胞に遺伝子導入した。蛍光マーカー（GFP）を指

標として SOX9 遺伝子の導入効率を検討し、リポフェクションにおける至適条件を決定した。至適条件で遺伝子導入された SOX9 タンパクを過剰に発現する骨髄細胞は、in vitro で条件を設定して培養を行うことにより、アルシアンブルー陽性の軟骨細胞様細胞に変化した。さらに、軟骨様細胞に分化した骨髄細胞を diffusion chamber に封入し、ヌードマウスの皮下に移植したところ、4 週後にアルシアンブルー陽性の軟骨塊を得た。

#### D. 考察

広範な軟骨欠損を生じる関節症に対する新しい治療戦略として、再生医学による軟骨組織再生は画期的な方法であるが、採取が容易で欠損による機能障害を生じにくい組織(細胞)を、in vitro で軟骨細胞に分化させ移植することが必要となる。従来の培養系での軟骨分化に関する研究は、成長因子やホルモンなどの添加によるものが主体であったが、転写因子である SOX9 は II 型コラーゲン遺伝子に直接結合して転写を調節しており、軟骨分化誘導能はより効率がよく、ドナー選択の幅が広がる可能性がある。HEK293 への SOX9 の遺伝子導入実験から、SOX9 蛋白の過剰発現は軟骨細胞への分化を強力に誘導することが明らかとなった。そこで、次に臨床的に採取が容易な骨髄細胞をドナーとして同様の研究を行ったところ、in vitro で軟骨細胞様細胞を、in vivo においても軟骨組織の形成を認めた。今後はさらに効率の良い遺伝子導入法と組み合わせることにより、この方法は十分に臨床応用可能と考えている。また本研究の実験手法は、CBFA1 など他の細胞分化に関与する転写因

子にも利用可能であり、tissue engineering において応用範囲が広く発展性が高い。

#### E. 結論

SOX9 の遺伝子導入による SOX9 タンパクの過剰発現は軟骨分化を誘導する。骨髄間葉系細胞への SOX9 の遺伝子導入による軟骨組織再生は臨床応用が可能で、広範な軟骨欠損を有する変形性関節症に対する画期的な治療となり得るものと考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1)Naoki Ishiguro, Takayasu Ito, Takeshi Oguchi, Toshihisa Kojima, Hisashi Iwata. Mirela Ionescu and A. Robin Poole. Relationships of Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors to Cartilage Proteoglycan and Collagen Turnover and Inflammation revealed by Analyses of Synovial fluids from Patients with Rheumatoid Arthritis *Arthritis & Rheumatism* 44 : 2503-2511, 2001
- (2)Naoki Ishiguro, Hideki Takagi, takayasu Ito, Takeshi Oguchi, Junki Takamatsu, Hisashi Iwata. Rapidly Destructive arthropathy of the hip in hemophilia. *Haemophilia* 7 :127-130, 2001
- (3)Yukio Hirashima, Naoki Ishiguro, Seiji Kondo, Hisashi Iwata. Osteoclast induction from bone marrow cells is due to pro-inflammatory mediator from macrophages exposed to polyethylene particles. A possible mechanism of osteolysis in failed THA *Journal of Biomedical Material Research* 56 : 177-183, 2001
- (4)Sakai T, Kambe F, Mitsuyama H, Naoki

Ishiguro, Kurokouchi K, Takigawa M, Iwata H, Seo H. TNF- $\alpha$  induces expression of genes for matrix degradation in human chondrocyte-like HCA-2/8 cells through activation of NF- $\kappa$ B: Abrogation of the TNF- $\alpha$  effect by proteasome inhibitors. Journal of Bone Mineral Research 16 : 1272-1280, 2001

(5)石黒直樹. 背を伸ばす再生術、開発：自骨髄から骨芽細胞培養、移植. 読売新聞中部 2002.1.16 掲載

## 2. 学会発表

(1)第 44 回日本リウマチ学会 横浜 2000.5.7-5.9 石黒直樹、伊藤隆安、高木英希、小口武、岩田久 慢性関節リウマチ患者での肺合併症スクリーニングとしての KL-6, SP-D 値の意義

(2)第 16 回日本整形外科学会 基礎学術集会 広島 2001.10.18-10.19 辻太一、近藤精司、石黒直樹、齊藤伸一郎、松山幸弘、岩田久 Prostaglandin E2 選択的 Agonist による椎間板由来細胞の Apoptosis

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

自家修復能力を用いた軟骨欠損の修復法の確立

分担研究者 越智光夫 島根医科大学整形外科教授

**研究要旨** コラーゲンゲル内培養において家兔間葉系幹細胞の至適培細胞密度が明らかとなった。また、軟骨細胞では超音波の使用や単層培養と三次元培養を組み合わせることで細胞数や器質産生能を亢進させることが可能であり、このことは間葉系幹細胞における培養にても有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

関節軟骨修復は現在までに確立された方法がない。近年、我々はこれに対しコラーゲンゲルを用いた自家培養軟骨細胞移植術を臨床応用開始し、短期ではあるが比較的良好な成績を収めている。しかし、今後、本法の治療成績をさらに向上させるためには、移植片の質的向上が考えられる。また、軟骨細胞の採取には限界がある。間葉系幹細胞(MSC)は TGF- $\beta$ 、Dexamethazone の入った無血清培地にて高密度浮遊培養を行うと軟骨基質を形成する細胞に分化すると報告されているため、軟骨細胞の代用細胞として用いることが考えられる。我々は MSC をコラーゲンゲルに包埋し TGF- $\beta$ 、Dexamethazone の入った培地で培養すると、軟骨基質を形成する細胞に分化させることに成功した。そこで我々は MSC が上記培養条件下での至適培養密度について検討した。

次に軟骨細胞を用いて、①超音波の照射や②単層培養と三次元培養を組み合わせることでさらに良質の移植片の作製が可能であるかについても検討を行った。

B. 実験方法

実験 1. MSC 培養における至適細胞密度の検討。

1.2kg の日本白色家兔の脛骨骨髓から骨髓液を採取し単層培養を行った。十分な細胞数になった時点でコラーゲンゲルに包埋した。このときゲル内の細胞密度を  $20 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6$ /ml の 3 群に分けた。これを TGF- $\beta$  (10ng/ml)、Dexamethazone ( $10^{-7}$ M) を加えた無血清培地にて 4 週間培養した。培養開始後 2 週、4 週でのコンドロイチン 4 硫酸 (C4S)、コンドロイチン 6 硫酸 (C6S)

の定量および C4S と C6S の比、RT-PCR による Type I, II コラーゲン、アグリカンの mRNA の発現、組織学的変化(トルイジンブルー染色、サフラニン O 染色、Type II コラーゲン免疫染色)を調べた。また家兔の膝、股、肩関節から酵素処理により単離した直後の軟骨細胞をゲルに  $2 \times 10^6$ /ml で包埋したものを対照とした。

実験 2. 軟骨細胞での移植片の良質化の検討。

実験 2-1: 超音波照射のコラーゲンゲル内軟骨細胞培養における細胞増殖、器質産生に及ぼす影響

家兔の膝、股、肩関節から酵素処理により単離した直後の軟骨細胞をゲルに  $2 \times 10^6$ /ml で包埋した。培養開始後から超音波刺激装置を用いて週 2 回、一回 20 分間、ゲルに照射した。培養開始後 3 週にて細胞数を測定するとともに生化学的検査として C4S、C6S の定量および C4S と C6S の比を定量するとともに、また、組織学的変化(トルイジンブルー染色、サフラニン O 染色、Type II コラーゲン免疫染色)についても調べた。

実験 2-2: 単層培養とコラーゲンゲル内培養の至適組み合わせ培養法

家兔の膝、股、肩関節から酵素処理により単離した直後の軟骨細胞を 3 週間培養した。この際に培養の組み合わせは①単層培養 3 週、②単層培養 2 週、コラーゲンゲル培養 1 週、③単層培養 1 週、コラーゲンゲル培養 2 週、④コラーゲンゲル培養のみ 3 週行った 4 群に分けた。評価は細胞数を測定するとともに C4S、C6S の定量および C4S と C6S の比、組織学的変化(トルイジンブルー染色、サフラニン O 染色、Type II コラ

ーゲン免疫染色)についておこなった。

### C. 研究結果

実験 1: コンドロイチン硫酸は  $20 \times 10^6$  個/ml のグループで最も多く産生されていたが、対照群に比べると低値であった。また、ゲルに包埋する細胞密度が高いグループほど全体の産生量に占める C6S の割合が高かった。type II コラーゲンの mRNA は密度の低いグループで最も発現されていた。組織学的検査では細胞密度が高いものほど細胞周囲にメタクロマジーを示す軟骨基質の産生を多量に認めた。

実験 2-1: 超音波照射によって軟骨細胞の増殖能を高めないが、CS や II 型コラーゲンなどの軟骨組織に特有な器質の産生を亢進させた。これは生化学的検索および組織学的検索にても証明できた。

実験 2-2: 4 群のうち②単層培養 2 週, コラーゲンゲル培養 1 週, ③単層培養 1 週, コラーゲンゲル培養 2 週, の 2 群にて細胞増殖および器質産生の面で他の群において有意に優れていた。中でも②単層培養 2 週, コラーゲンゲル培養 1 週の群では細胞数に、また、③単層培養 1 週, コラーゲンゲル培養 2 週, の群では CS 産生において有意に他の群より高値を示した。

### D. 考察

TGF- $\beta$ , Dexamethazone を併用したコラーゲンゲル培養でも MSC は軟骨基質を産生する細胞に分化することが分った。その場合、より成熟した軟骨基質を得るためには包埋する細胞密度を軟骨細胞より高くする必要があり、今回の実験にて  $20 \times 10^6$  個/ml の細胞密度の高いものほど有意に器質産生が高いことから、実験 2-2 の結果に示すように、MSC を用いた場合にても単層培養と三次元培養をうまく組み合わせることで、さらに良質の移植片の作製が可能であることが示唆された。また、培養時に超音波を照射することで、器質産生を亢進させる可能性も考えられる。

### E. 結論

MSC をコラーゲンゲルに包埋し TGF- $\beta$ , Dexamethazone 含有の培地で培養した場合、軟骨基質を産生した。細胞密度が産生される C6S の割合に影響を与える。

軟骨細胞を用いた実験では軟骨細胞では超音波の使用や単層培養と三次元培養を組み合わせることで細胞数や器質産生能を亢進させることが可能であった。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

学会発表

古川誠治, 越智光夫 ほか. ウサギ骨髄由来間葉系幹細胞のアテロコラーゲンゲル培養における細胞密度による影響. 日整会誌. 75(8), S931, 2001.

### 論文発表

Ochi M, Uchio Y, Kawasaki K, Wakitani S, Iwasa J. Transplantation of cartilage-like tissue made by tissue-engineering for the treatment of cartilage defects of the knee. J Bone Joint Surg. Br, (in press).

Nakanishi T, Kawasaki K, Uchio Y, Kataoka H, Ochi M. AG-041R, a Cholecystokinin-B /Gastrin Receptor antagonist, stimulates the repair of osteochondral defect in rabbit model. Eur J Pharmacol, (in press).

Tobita M, Ochi M, Uchio Y, Mori R, Iwasa J, Katsube K, Motomura T. Treatment of growth plate injury with autologous chondrocytes. Acta Orthop Scand, (in press).

Yamamoto T, Katoh M, Fukushima R, Kurushima T, Ochi M. Effect of glycosaminoglycan production on hardnedd of cultured cartilage fabricaterd by the collagen-gel embedding methods. Tissue Engineering, (in press).

Kuriwaka M, Ochi M, Uchio Y, Maniwa M, Adachi N, Mori R, Kawasaki K, Kataoka H. The optimum combination of monolayer and three-dimensional cultures for cartilage-like tissue by tissue engineering. Tissue Engineering, (in press).



- Nishikori T, Ochi M, Uchio Y, Maniwa S, Kataoka H, Kawasaki K, Katsube K, Kuriwaka M. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on proliferation and chondroitin sulfate synthesis of cultured chondrocytes embedded in Atelocollagen® gel J Biomed Mat Res, 59: 201-206, 2002.
- Maniwa S. Ochi M. Motomura T. Nishikori T. Chen J. Naora H. Effects of hyaluronic acid and basic fibroblast growth factor on motility of chondrocytes and synovial cells in culture. Acta Orthop Scand 72(3): 299-303, 2001.
- Ochi M. Uchio Y. Tobita M. Kuriwaka M. Current concepts in tissue engineering technique for repair of cartilage defect. Artificial Organs. 25(3):172-9, 2001.
- Ochi M. Kawasaki K. Kataoka H. Uchio Y. Nishi H. AG-041R, a gastrin/CCK-B antagonist, stimulates chondrocyte proliferation and metabolism in vitro. Biochem Biophys Res Com, 283(5):1118-23, 2001.
- Maniwa S. Nishikori T. Furukawa S. Kajitani K. Ochi M. Alteration of collagen network and negative charge of articular cartilage surface in the early stage of experimental osteoarthritis. Arch OrthopTrauma Surg, 121(4):181-5, 2001.

E. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

別紙 5

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

特になし

2023

## 別紙5

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Takahira N. et al.	Gluteal muscle necrosis following transcatheter angiographic embolisation for retroperitoneal haemorrhage associated with pelvic fracture.	Injury	32	27-32	2001
Yokoyama K. et al.	Free vascularized fibular graft vs. Ilizarov method for post-traumatic tibial bone defect.	J Reconstr Microsurg	17	17-25	2001
Nakamura K. et al.	Changes in nitric oxide, superoxide, and blood circulation in muscles over time after warm ischaemic reperfusion in rabbit rectus femoris muscle.	Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg	35	13-17	2001
占部憲ら	関節の再生医学	Clinical Calcium	12(2)	22-28	2002
Yuko Mikuni-Takagaki. et al.	The Role of Calcium Channels in Osteocyte Function.	Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions	2	255-258	2002
小向 啓ら	In vivo パパイン投与で変性させた家兎膝関節の摩擦測定.	日本臨床バイオメカニクス学会誌	22	65-68	2001
酒井利奈ら	等価数理モデルに基づく人工股関節固定方針の再考察.	日本臨床バイオメカニクス学会誌	22	415-420	2001
酒井利奈ら	等価数理モデルに基づく人工股関節	日本人工関節学	31	249-250	2001

	固定法の理念の再考察.	会誌			
新栄俊尊ら	医療器具の加振による生体組織への押し込み力の低減.	医用電子と生体工学	39(4)	292-296	2002
Ochi M. et al.	Transplantation of cartilage-like tissue made by tissue-engineering for the treatment of cartilage defects of the knee.	J Bone Joint Surg. Br,		in press	
Nakanishi T. et al.	AG-041R, a Cholecystokinin-B/Gastrin Receptor antagonist, stimulates the repair of osteochondral defect in rabbit model.	Eur J Pharmacol		in press	
Tobita M. et al.	Treatment of growth plate injury with autologous chondrocytes.	Acta Orthop Scand		in press	
Yamamoto T. et al.	Effect of glycosaminoglycan production on hardnedd of cultured cartilage fabricaterd by the collagen-gel embedding methods.	Tissue Engineering		in press	
Kuriwaka M. et al.	The optimum combination of monolayer and three-dimensional cultures for cartilage-like tissue by tissue engineering.	Tissue Engineering		in press	
Nishikori T. et al.	Effects of low-intensity pulsed ultrasound on proliferation and chondroitin sulfate synthesis of cultured chondrocytes embedded in Atelocollagen <sup>®</sup> gel.	J Biomed Mat Res	59	201-206	2002
Maniwa S. et al.	Effects of hyaluronic acid and basic fibroblast growth factor on motility of chondrocytes and synovial cells in culture.	Acta Orthop Scand	72(3)	299-303	2001
Ochi M. et al.	Current concepts in tissue engineering technique for repair of cartilage defect.	Artificial Organs	25(3)	172-9	2001

Ochi M. et al.	AG-041R, a gastrin/CCK-B antagonist, stimulates chondrocyte proliferation and metabolism in vitro.	Biochem Biophys Res Commun	283(5)	1118-23	2001
Maniwa S. et al.	Alteration of collagen network and negative charge of articular cartilage surface in the early stage of experimental osteoarthritis.	Arch OrthopTrauma Surg	121(4)	181-5	2001
Teramoto M. et al.	Gene structure and chromosomal location for a human bHLH transcriptional factor DEC1/Stral3 Sharp-2/ BHLHB2.	J. Biochem	129	391-396	2001
Kurata K. et al.	Mechanical strain effect on bone-resorbing activity and mRNA expressions of marker enzymes in isolated osteoclast culture.	J. Bone Miner. Res.	16	722-730	2001
Shida J. et al.	Basic fibroblast growth factor regulates expression of growth factors in rat epiphyseal chondrocytes.	J. Orthop. Res.	19	259-264	2001
Ohnaka K. et al.	Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	287	337-342	2001
Miyanishi K. et al.	Subchondral changes in transient osteoporosis in the hip.	Skeletal Radiol.	30	255-261	2001
Maeda T. et al.	Involvement of CD4+CD57+T cells in the disease activity of rheumatoid arthritis.	Arthritis Rheumat.		in press	
Yamashita A. et al.	Fibroblast growth factor-2 determines severity of joint disease in adjuvant-induced arthritis in rats.	J. Immunol.		in press	
Urabe K. et al.	Immature osteoblastic cells express the pro- $\alpha$ 2(XI)collagen gene during bone formation in vitro and in vivo.	J. Orthop. Res.	19	1013-1020	2001

河野勤ら	軟骨下骨組織の物性値の変化が関節軟骨に及ぼす影響についての力学的検討.	日本臨床バイオメカニクス学会誌	22	45-49	2001
松田秀一ら	軟骨欠損修復の現況.	骨・関節・靭帯	14	797-800	2001
Naoki Ishiguro. et al.	Relationships of Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors to Cartilage Proteoglycan and Collagen Turnover and Inflammation revealed by Analyses of Synovial fluids from Patients with Rheumatoid.	Arthritis Arthritis & Rheumatism	44	2503-2511	2001
Naoki Ishiguro. et al.	Rapidly Destructive arthropathy of the hip in hemophilia.	Haemophilia	7	127-130	2001
Yukio Hirashima. et al.	Osteoclast induction from bone marrow cells is due to pro-inflammatory mediator from macrophages exposed to polyethylene particles. A possible mechanism of osteolysis in failed THA.	Journal of Biomedical Material Research	56	177-183	2001
Sakai T. et al.	TNF- $\alpha$ induces expression of genes for matrix degradation in human chondrocyte-like HCA-2/8 cells through activation of NF- $\kappa$ B: Abrogation of the TNF- $\alpha$ effect by proteasome inhibitors.	Journal of Bone Mineral Research	16	1272-1280	2001
石黒直樹ら	背を伸ばす再生術、開発：自骨髄から骨芽細胞培養、移植.	読売新聞中部		1.16 掲載	2002