総　　説

間葉系幹細胞の stemness を維持するシグナル伝達経路

帖佐　直幸[1)]，菊池－青松　恵美子[2)]，西平　宗功[3)]，横田　　潤[4)]，
高橋　典子[1)]，近藤　尚知[4)]，杉山　芳樹[3)]，三浦　廣行[2)]，石崎　　明[1)]
[1)] 岩手医科大学生化学講座細胞情報科学分野
（主任：石崎　　明　教授）
[2)] 岩手医科大学歯学部口腔保健育成学講座歯科矯正学分野
（主任：三浦　廣行　教授）
[3)] 岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座口腔外科学分野
（主任：水城　春美　教授）
[4)] 岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座
（主任：近藤　尚知　教授）

（受付：2014年８月８日）
（受理：2014年８月19日）

（1）はじめに

再生医療や細胞治療は，身体の一部の機能不全や欠損による重篤な疾患を治療できる革新的な方法として注目されている．これらの治療に用いる細胞ソースとしてヒト成体由来の体細胞に加え，近年では体性幹細胞や胚性幹細胞（embryonic stem cells：ES 細胞）など，多分化能を有した幹細胞が対象とされてきている．最近，生命倫理的な問題や免疫学的な拒絶反応をクリアできると考えられる人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cells：iPS 細胞）が登場し，再生医療が社会的に大きな期待を集めている．

間葉系幹細胞（mesenchymal stem cells: MSC）は自己複製能に加えて骨芽細胞，脂肪細胞，軟

Signaling pathways for maintaining the stemness of mesenchymal stem cells

Naoyuki CHOSA [1)], Emiko Aomatsu-KIKUCHI [2)], Soko NISHIHIRA [3)], Jun YOKOTA [4)], Noriko TAKAHASHI [1)], Hisatomo KONDO [4)], Yoshiki SUGIYAMA [3)], Hiroyuki MIURA [2)], Akira ISHISAKI [1)]
[1)] Division of Cellular Biosignal Sciences, Department of Biochemistry, Iwate Medical University
(Chief : Prof. Akira ISHISAKI)
2-1-1, Nishitokuta, Yahaba-cho, Shiwagun, Iwate 028-3694, Japan
岩手県紫波郡矢巾町西徳田 2-1-1（〒028-3694）
[2)] Division of Orthodontics, Department of Developmental Oral Health Science, Iwate Medical University School of Dentistry
(Chief : Prof. Hiroyuki MIURA)
[3)] Division of Oral Surgery, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Iwate Medical University School of Dentistry
(Chief : Prof. Harumi MIZUKI)
[4)] Department of Prosthodontics and Oral Implantology, Iwate Medical University School of Dentistry
(Chief : Prof. Hisatomo KONDO)
[2-4)] 1-3-27, Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan
岩手県盛岡市中央通 1-3-27（〒020-8505）

骨細胞，線維芽細胞といった間葉組織構成細胞への多分化能を有した体性幹細胞である[1)]．これまでに，ヒト MSC は骨髄液，皮下脂肪，関節軟骨ならびに滑膜など生体組織から幅広く採取されている[2-5)]．一方，MSC としての定義は主として細胞表面マーカーの発現パターンによって確定される．すなわち 1）プラスチック製のカルチャーディッシュに接着し，2）CD73（5'-nucleotidase, ecto : NT5E），CD90（Thy-1 cell surface antigen : THY1），CD105（endoglin : ENG）が何れも陽性で，3）CD34, CD45（leukocyte common antigen : LCA），HLA-DR，CD14，CD11b（integrin αM : ITGAM），CD79a（immunoglobulin-associated α），CD19 が陰性，さらには 4）*in vitro* において骨芽細胞，脂肪細胞，軟骨細胞への分化能を有することと定められている[6)]．ごく最近，CD271（low-affinity nerve growth factor receptor : LNGFR; p75 neurotrophin receptor : p75NTR）陽性，CD90 陽性，CD106（vascular cell adhesion molecule-1 : VCAM-1）強陽性を全て満たす MSC（$CD271^+$/$CD90^+$/$CD106^{high}$）は，自己複製能，多分化能ともに高い活性を保持していることが報告された[7)]．

多分化能を有した MSC を再生医療や細胞治療に利用するためには，生体内から採取された MSC を *in vitro* で増殖させ，その後生体内へと戻す必要がある[8)]．しかしながら，MSC を *in vitro* で長期培養すると自己複製能，多分化能ともに減弱することが報告されている[9)]．本総説では MSC の重要な細胞表面マーカーである CD271 と CD106 の発現に着目し，我々の研究で明らかとなった MSC の自己複製能や多分化能といった stemness の維持に関する調節機構を紹介する．

（2）SCRG1 による CD271 の発現調節

MSC の自己複製能，多分化能ならびに遊走能を維持する因子を同定するために，我々は DNA マイクロアレイを用いて MSC が骨芽細胞へと分化する過程で mRNA 発現量が変動する遺伝子を調査した．その結果，機能未知のシステインリッチサイトカイン様ペプチド SCRG1（scrapie responsive gene 1）が骨分化に伴って大きく減少することを見出した[10)]．SCRG1 はスクレイピーに感染したマウスの脳組織で発現が上昇する遺伝子として同定され[11)]，最近の研究ではスクレイピー感染に起因する伝染性海綿状脳症（transmissible spongiform encephalopathies : TSE）に伴う神経変性やオートファジーとの関連性が報告されている[12-13)]．SCRG1 は N 末端に 20 残基のシグナルペプチドを含む 98 アミノ酸残基で構成され，脊椎動物で高度に保存された遺伝子であるが[14-16)]，その機能は明らかとなっていない．

我々はシグナルペプチドを有した SCRG1 が細胞外へと分泌されることに着目し，SCRG1 の細胞膜受容体を探索した．架橋剤を用いた共免疫沈降法で解析した結果，SCRG1 は BST-1（bone marrow stromal cell antigen-1, CD157）ならびに integrin β1 と複合体を形成すること，さらにはこの複合体形成が focal adhesion kinase（FAK）のリン酸化を誘導することを明らかにした[10)]（図 1）．BST-1 は CD38 ファミリーの NADase/ADP-ribosyl cyclase 活性を有する外酵素（ectoenzyme）であり，CD38 が細胞膜貫通型であるのに対して BST-1 は glycosyl phosphatidylinositol（GPI）―アンカーを有する細胞膜表面タンパク質である[17-18)]．BST-1 は間質[19)]や骨髄由来細胞の表面に発現する糖タンパク質として発見され[20)]，細胞遊走活性や血管外漏出を制御する因子として報告された[21)]．アゴニスト・モノクローナル抗体を用いた研究によって，BST-1 は integrin β1 または β2 と複合体を形成することで[22)] FAK のリン酸化を誘導することが明らかとなっている[23-24)]．さらに phosphoinositide 3-kinase（PI3K）や mitogen-activated protein kinase（MAPK）シグナル伝達経路を活性化することで[25)]，白血球の接着や血管外遊走を制御することも報告されている[26)]．しかしながら，生体内における BST-1 のリガンドならびに MSC における機能は明らかになっておらず，我々の研究が BST-1 の生体内のリガンドを明らかにした最初の報告

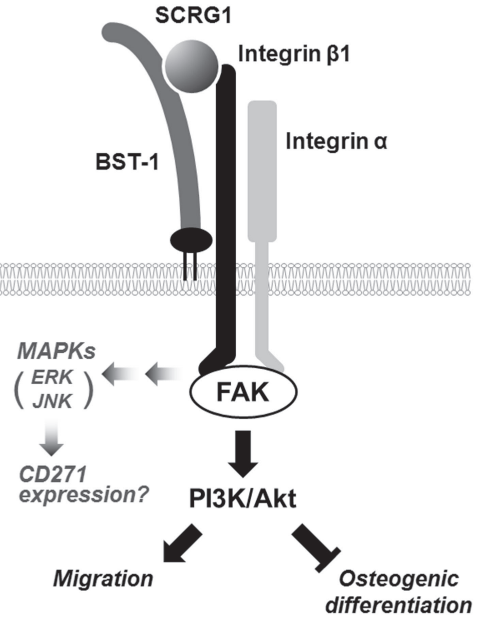

図 1：SCRG1 によるシグナル伝達経路の模式図．細胞外に分泌された SCRG1 は細胞膜受容体 BST-1 ならびに integrin β1 と複合体を形成する．この複合体形成を起因として FAK のリン酸化が誘導され，その後 MAPK 経路や PI3K/Akt 経路が活性化される．PI3K/Akt 経路は MSC の遊走活性を促進するとともに骨芽細胞分化を抑制する．なお，MAPK 経路の機能は明らかになっていない．

である．

一般的に integrin を介した FAK のリン酸化は細胞骨格再編成を伴う遊走活性の発現に重要な役割を担うことから [27]，我々は MSC の遊走に及ぼす SCRG1 の影響を検証した．その結果，SCRG1 は MSC にオートクリン・パラクリンに作用することで FAK/PI3K/Akt 経路を活性化し，MSC の遊走を促進することが示された [10]（図 1）．細胞遊走は幹細胞ホーミング機構と密接に関連する．MSC の効率的なホーミングには走化性因子である monocyte chemotactic protein-1（MCP-1）や stromal cell-derived factor-1（SDF-1, CXCL12）とその受容体 CCR2，CXCR4 に起因するシグナル伝達経路，さらには integrin を中心とした細胞―細胞外マトリックス（extracellular matrix : ECM）接着因子が重要な役割を担う [28]．これら MSC のホーミング機構を調節する因子と，SCRG1 による MSC の遊走活性促進効果の関連性を明らかにすることは今後の課題である．

前述のように CD271^{+}/CD90^{+}/CD106^{high} を示す MSC は高い自己複製能と多分化能を有する [7]．多分化能を維持しながら分裂する能力は本来 MSC の持つ重要な特徴であり，生体内より採取された幹細胞プールを維持するための前提条件である．すなわち自己複製能や多分化能といった stemness の維持は，再生医療や細胞治療における MSC の効率的な使用のために必須である．興味深いことに，SCRG1 を添加して長期培養されたヒト骨髄由来初代培養 MSC は，CD271 の発現，自己複製能ともに長期培養前と比較して遜色なく維持された [10]．この事実は，SCRG1 が MSC の自己複製能や多分化能の維持を正に調節する可能性を示唆している．これまでに，MSC の自己複製能ならびに多分化能の維持には ES 細胞マーカーである転写因子 octamer-binding transcription factor-4（OCT-4）や nanog homeobox（NANOG）が重要な役割を担うことが報告されている．すなわち，OCT-4 や NANOG は DNA（cytosine-5-）-methyltransferase-1（DNMT1）のプロモーター領域に結合し，発現誘導された DNMT1 は細胞増殖抑制因子である p21（Cip/Waf1）や p16（INK4A），さらには細胞の分化促進に関連する遺伝子群の働きを抑制することで効率よい自己複製能を実現する [29]．さらに CD271^{+} の MSC は OCT-4 や NANOG の発現を誘導するための Wnt シグナルの活性増強が報告されている [30−31]．我々の初代培養 MSC の長期培養に関連した研究において，SCRG1 が OCT-4 の発現を維持することが示された [10]．しかしながら CD271 の発現を制御するシグナル伝達経路の詳細は明らかでなく，今後検討が必要である．

一方，SCRG1 は長期培養 MSC の自己複製能のみならず骨分化能も維持するとともに，骨芽細胞分化誘導に対しては抑制的に作用した．MSC の骨芽細胞分化については，hypoxia inducible factor-1 α（HIF1 α）－ TWIST 経路による細

胞増殖抑制因子 p21 の発現調節が骨芽細胞分化を制御することが報告されている[32−35]．すなわち HIF1αによる TWIST 経路の活性化は，MSC の細胞増殖を抑制するとともに骨芽細胞分化を促進する[36]．前述のように OCT-4 は p21 の発現を抑制することから，我々は SCRG1 による OCT-4 発現促進に伴う p21 の発現抑制が骨芽細胞分化能の維持に関与していると予測している．

我々の研究成果は，SCRG1 が受容体 BST-1 を介して OCT-4 の発現を促進することで，*in vitro* における MSC の自己複製能ならびに骨芽細胞分化能を維持することを示した[10]．この成果は，組換え SCRG1 等を利用することで *ex vivo* における MSC の効率的な増殖を実現する可能性を示唆している．一方で SCRG1 は MSC において MAPK カスケードの構成因子である extracellular signal-regulated kinase 1/2（ERK1/2）や c-jun N-terminal kinase（JNK）のリン酸化も誘導する（図 1）．現在，SCRG1/BST-1 に起因した MAPK カスケードの活性化がどのような細胞動態を誘導するかの全容は明らかになっておらず，今後 SCRG1 を再生医療や細胞治療へと応用する過程でより詳細な検証が必要である．

（3）細胞間接着による CD106 の発現調節

我々は MSC を培養する過程で CD106 の発現が細胞密度依存的に増加することを見出した[37]．主として血管内皮細胞に発現する CD106 は，リンパ球に発現するリガンド integrinα4β1（very late antigen-4 : VLA-4）や integrinα4β7（lymphocyte Peyer's patch adhesion molecule : LPAM）を介してリンパ球の血管外遊走に関与する[38−39]．一方，CD106 は炎症性サイトカインである TNF-α や IL-1β で発現が誘導され，特に MSC における CD106 の発現誘導は創傷組織へのホーミングを促進する[40−41]．我々は MSC の細胞密度依存的な CD106 の発現増加は，N-cadherin を介した細胞間接着に起因する nuclear factor-κB（NFκB）経路の活性化で誘導されることを明らかにした[37, 42]（図 2）．Cadherin は Ca^{2+} 依存性細胞膜貫通型タンパク質のファミリーメンバーで，細胞間の接着結合（adherens junction : AJ）における主要構成因子である．古典的な cadherin として上皮細胞の AJ を構成する E-cadherin の他，N-cadherin，P-cadherin，R-cadherin，VE-cadherin が知られている[43−44]．N-cadherin は様々な細胞で発現し[45]，MSC においても N-cadherin が優位に発現する[46]．N-cadherin を介した AJ の形成は結合組織における生理機能の調節に特に重要であり，細胞の接着や移動[47]，創傷治癒[48]，転移の制御[49]，胚発生[50−51]ならびに線維性結合組織の形成[52−53]を制御する．

一方で MSC における CD106 の発現誘導は，受容体型チロシンキナーゼである platelet-derived growth factor（PDGF）受容体（PDGF receptor : PDGFR）の阻害剤でも有意に抑制された[42]．一般的に，PDGFR はそのリガンドである PDGF の作用によってチロシンキナーゼ活性を発揮する．これまでに PDGF は 4 種類のアイソフォーム（A，B，C，D）が PDGF-AA，PDGF-AB，PDGF-BB のホモあるいはヘテロダイマーとして機能することが報告されている[54]．これらのうち主として血小板によって産生される PDGF-BB は組織修復に際して最も強い活性を示し[54]，組換え PDGF-BB は既に顎顔面口腔領域における骨欠損の治療に応用されている[55−58]．PDGF の細胞膜受容体である PDGFR は，2 つのアイソフォーム（α，β）が PDGFRα/α，PDGFRα/β，PDGFRβ/β のホモあるいはヘテロダイマーとして存在する[54]．MSC や骨芽細胞前駆細胞は主として PDGFR αを発現しており，PDGFR α陽性の MSC は高い骨芽細胞分化能力を示す[59]とともに PDGF-BB によって遊走活性も促進される[60]．さらに最近の我々の研究で，MSC における TGF-β 誘導性の骨芽細胞分化を PDGF-BB が相乗的に促進することが明らかとなった[61]．したがって，PDGF-BB に対する MSC の高い感受性が示唆されるが，興味深いことに PDGF-BB は MSC における CD106 の発現誘導に影響を与えなかった[42]．そこで細胞内シグナル伝達経路を詳細に検討した結果，MSC の N-cadherin

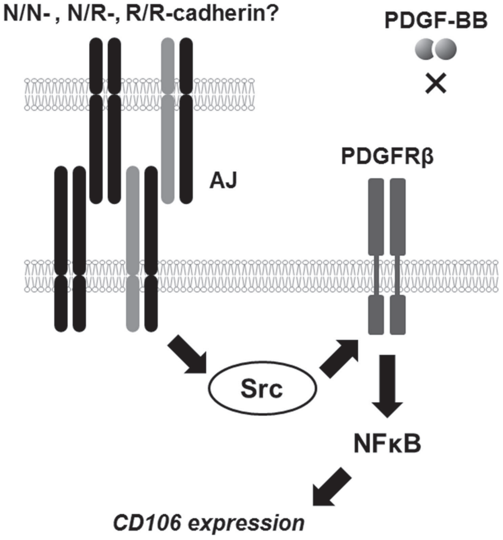

図２：細胞間接着に起因する細胞内シグナル伝達経路の模式図．N/N-，N/R- または R/R-cadherin を介した細胞間接着（AJ の形成）は Src チロシンキナーゼのリン酸化ならびに PDGFR β をリガンド非依存的に活性化する．これらのシグナル伝達経路を介して最終的に NF κ B 経路が活性化され，CD106 の mRNA 発現が誘導される．なお，PDGF-BB は CD106 の発現を誘導しない．

を介した細胞間接着が Src チロシンキナーゼならびに PDGFR β をリガンド非依存的に活性化することが示された[37, 42]．さらにこの PDGFR β の活性化は NF κ B 経路を活性化することで CD106 の発現を誘導することが示唆された[37, 42]（図 2）．

これまでの記述は主として骨髄由来 MSC で報告された内容であるが，口腔領域においても歯髄や歯根膜における MSC の存在が報告されている[62]．我々の乳歯ならびに永久歯歯髄由来 MSC を比較解析した結果から，多分化能を有し，かつ細胞遊走能の高い乳歯由来 MSC に R-cadherin の発現が認められた[63]．古典的 cadherin のファミリーメンバーである R-cadherin は N-cadherin と 74％の相同性を示し[64]，網膜の血管新生[65]，筋[66]，血管ならびに神経形成[64]において重要な役割を担っている．興味深いことに，マウス筋芽細胞株 C2C12 の R-cadherin の発現は BMP-2 で誘導され，さらに骨芽細胞分化によって消失することが報告されている[67]．この事実は，R-cadherin の発現が間葉系細胞の骨芽細胞分化を抑制する可能性を示唆している．一般的に cadherin はホモ二量体として存在するが，R-cadherin はホモ二量体以外にも N-cadherin とヘテロ二量体を形成することが報告されている[68]．MSC における cadherin の発現パターンは今後詳細に検討する必要があるが，R-cadherin のホモ二量体あるいは N-cadherin とのヘテロ二量体形成の有無，さらには CD106 の発現誘導や多分化能維持への関与を検討する予定である（図 2）．すでに我々は歯髄由来 MSC の長期培養に伴って R-cadherin の発現が減少していくことを確認している（未発表データ）．したがって，MSC の自己複製能や多分化能といった stemness の維持における R-cadherin の役割は大変興味深い．

（4）おわりに

細胞の再生能力を引き出しながら臓器・組織を再生させる組織工学（tissue engineering）は 1）細胞，2）成長因子によるシグナル伝達経路の活性化および 3）スキャフォールドという三要素の重要性が提唱され[69]，今日までに広く認知されるようになった．一方で，主として幹細胞を中心とした組織再生性細胞の研究も盛んに実施されており，幹細胞ソースとしての歯髄，歯根膜も注目されている．歯・歯周組織の再生医学においても歯根膜組織には骨芽細胞，セメント芽細胞，線維芽細胞および血管内皮細胞などへの多分化能を有する MSC が存在することが明らかとなっている[62]．また，歯髄組織に存在する MSC は象牙芽細胞への分化能をはじめとする多分化能を有することが報告されている[70]．歯周組織再生において，特に歯槽骨やセメント質の再生誘導は現在の歯周治療においての重要課題であり，骨芽細胞やセメント芽細胞の分化制御の分子メカニズムの解明を目指した研究が国内外で活発に進められている．

最近になって MSC には多分化能以外にも炎

症抑制作用，免疫抑制作用，損傷組織へのホーミングなど様々な能力を有することが明らかになってきた．特に MSC が産生する様々なサイトカインやケモカインがこれらの作用を制御すると考えられており[71－74]，このような MSC の性質や能力を利用した細胞治療への応用も今後は発展すると考えられる．

我々の研究で，SCRG1 を添加して長期培養された MSC において CD271 の発現，自己複製能，さらには骨芽細胞分化能も長期培養前と遜色なく維持されることが示された[10]．また，MSC の N-cadherin を介した細胞間接着は Src チロシンキナーゼならびに PDGFR β をリガンド非依存的に活性化し，CD106 の発現を誘導することが明らかとなった[37, 42]．すなわち *in vitro* における MSC の長期培養において，細胞間接着が保持された環境下に SCRG1 を添加することで，その stemness を維持することが可能である（図 3）．具体的には，組換え SCRG1 を利用することで骨再生を目指した細胞治療への応用，さらには MSC の潜在的能力を高める治療法開発への応用等，新規再生医療，細胞治療法への貢献が期待される．

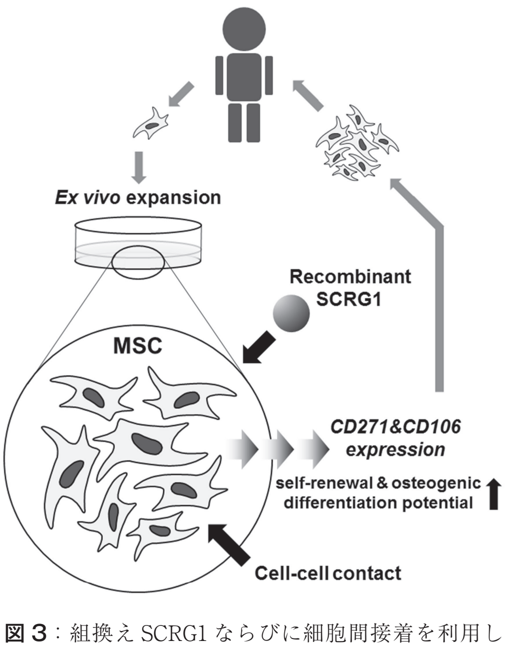

図３：組換え SCRG1 ならびに細胞間接着を利用した効率的な MSC 増殖モデルの模式図．再生医療や細胞治療を目的とした幹細胞ソースとしての MSC の利用において，生体より採取された MSC を *in vitro* で細胞間接着が保持された環境下に組換え SCRG1 を添加して培養・増殖させることで，MSC の stemness（自己複製能・多分可能）維持が期待される．

謝　　辞

本総説では主として岩手医科大学生化学講座細胞情報科学分野を中心とした歯学部内共同研究による成果を紹介した．研究実施にあたり実験のご協力をいただいた大学院生や懇切丁寧なご助言を賜りました諸先生方に深謝いたします．本研究は JSPS 科研費 17791328，19791370，25463053，圭陵会学術振興会研究助成 100 の助成を受けて行われた．

参 考 文 献

1）Prockop, DJ. : Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science, 276 : 71-74, 1997.
2）Campagnoli, C., Roberts, IA., Kumar, S., Bennett, PR., Bellantuono, I., Fisk, NM.: Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. Blood, 98 : 2396-2402, 2001.
3）In't Anker, PS., Scherjon, SA., Kleijburg-van, der Keur, C., Noort, WA., Claas, FH., Willemze, R., Fibbe, WE., Kanhai, HH. : Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. Blood, 102 : 1548-1549, 2003.
4）Nakahara, H., Dennis, JE., Bruder, SP., Haynesworth, SE., Lennon, DP., Caplan, AI. : In vitro differentiation of bone and hypertrophic cartilage from periosteal-derived cells. Exp. Cell Res., 195 : 492-503, 1991.
5）Zuk, PA., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, DA., Huang, JI., Mizuno, H., Alfonso, ZC., Fraser, JK., Benhaim, P., Hedrick, MH. : Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol. Biol. Cell, 13 : 4279-4295, 2002.
6）Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, DJ., Horwitz, E. : Minimal criteria for defining multipotent mesenchy-

mal stromal cells. Cytotherapy, 8 : 315-317, 2006.
7）Mabuchi, Y., Morikawa, S., Harada, S., Niibe, K., Suzuki, S., Renault-Mihara, F., Houlihan, DD., Akazawa, C., Okano, H., Matsuzaki, Y. : LNGFR（+）THY-1（+）VCAM-1（hi+）cells reveal functionally distinct subpopulations in mesenchymal stem cells. Stem Cell Rep., 1 : 152-156, 2013.
8）Mosna, F., Sensebé, L., Krampera, M. : Human bone marrow and adipose tissue mesenchymal stem cells : a user's guide. Stem Cells Dev., 19 : 1449-1470, 2010.
9）Muraglia, A., Cancedda, R., Quarto, R. : Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model. J. Cell Sci., 113 : 1161-1166, 2000.
10）Aomatsu, E., Takahashi, N., Sawada, S., Okubo, N., Hasegawa, T., Taira, M., Miura, H., Ishisaki, A., Chosa, N. : Novel SCRG1/BST1 axis regulates self-renewal, migration, and osteogenic differentiation potential in mesenchymal stem cells. Sci. Rep., 4 : 3652, 2014.
11）Dandoy-Dron, F., Guillo, F., Benboudjema, L., Deslys, JP., Lasmézas, C., Dormont, D., Tovey, MG., Dron, M. : Gene expression in scrapie. Cloning of a new scrapie-responsive gene and the identification of increased levels of seven other mRNA transcripts. J. Biol. Chem., 273 : 7691-7697, 1998.
12）Dron, M., Bailly, Y., Beringue, V., Haeberlé, AM., Griffond, B., Risold, PY., Tovey, MG., Laude, H., Dandoy-Dron, F. : Scrg1 is induced in TSE and brain injuries, and associated with autophagy. Eur. J. Neurosci., 22 : 133-146, 2005.
13）Dron, M., Bailly, Y., Beringue, V., Haeberlé, AM., Griffond, B., Risold, PY., Tovey, MG., Laude, H., Dandoy-Dron, F. : SCRG1, a potential marker of autophagy in transmissible spongiform encephalopathies. Autophagy, 2 : 58-60, 2006.
14）Dron, M., Dandoy-Dron, F., Guillo, F., Benboudjema, L., Hauw, JJ., Lebon, P., Dormont, D., Tovey, MG. : Characterization of the human analogue of a Scrapie-responsive gene. J. Biol. Chem., 273 : 18015-18018, 1998.
15）Dron, M., Tartare, X., Guillo, F., Haik, S., Barbin, G., Maury, C., Tovey, M., Dandoy-Dron, F. : Mouse scrapie responsive gene 1（Scrg1）: genomic organization, physical linkage to sap30, genetic mapping on chromosome 8, and expression in neuronal primary cell cultures. Genomics, 70 : 140-149, 2000.
16）Dandoy-Dron, F., Griffond, B., Mishal, Z., Tovey, MG., Dron, M. : Scrg1, a novel protein of the CNS is targeted to the large dense-core vesicles in neuronal cells. Eur. J. Neurosci., 18 : 2449-2459, 2003.
17）Ishihara, K., Hirano, T. : BST-1/CD157 regulates the humoral immune responses in vivo. Chem. Immuno., 75 : 235-755, 2000.
18）Malavasi, F., Deaglio, S., Funaro, A., Ferrero, E., Horenstein, AL., Ortolan, E., Vaisitti, T., Aydin, S. : Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. Physiol. Rev., 88 : 841-886, 2008.
19）Kaisho, T., Ishikawa, J., Oritani, K., Inazawa, J., Tomizawa, H., Muraoka, O., Ochi, T., Hirano, T. : BST-1, a surface molecule of bone marrow stromal cell lines that facilitates pre-B-cell growth. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 91 : 5325-5329, 1994.
20）Goldstein, SC., Todd, RF. 3rd. : Structural and biosynthetic features of the Mo5 human myeloid differentiation antigen. Tissue Antigens, 41 : 214-218, 1993.
21）Funaro, A., Ortolan, E., Bovino, P., Lo Buono, N., Nacci, G., Parrotta, R., Ferrero, E., Malavasi, F. : Ectoenzymes and innate immunity: the role of human CD157 in leukocyte trafficking. Front. Biosci., 14 : 929-943. 2009.
22）Lavagno, L., Ferrero, E., Ortolan, E., Malavasi, F., Funaro, A. : CD157 is part of a supramolecular complex with CD11b/CD18 on the human neutrophil cell surface. J. Biol. Regul. Homeost. Agents, 21 : 5-11, 2007.
23）Hussain, AM., Lee, HC., Chang, CF. : Functional expression of secreted mouse BST-1 in yeast. Protein Expr. Purif., 12 : 133-137, 1998.
24）Okuyama, Y., Ishihara, K., Kimura, N., Hirata, Y., Sato, K., Itoh, M., Ok, LB., Hirano, T. : Human BST-1 expressed on myeloid cells functions as a receptor molecule. Biochem. Biophys. Res. Commun., 228 : 838-845, 1996.
25）Lo Buono, N., Parrotta, R., Morone, S., Bovino, P., Nacci, G., Ortolan, E., Horenstein, AL., Inzhutova, A., Ferrero, E., Funaro, A. : The CD157-integrin partnership controls transendothelial migration and adhesion of human monocytes. J. Biol. Chem., 286 : 18681-18691, 2011.
26）Funaro, A., Ortolan, E., Ferranti, B., Gargiulo, L., Notaro, R., Luzzatto, L., Malavasi, F. : CD157 is an important mediator of neutrophil adhesion and migration. Blood, 104 : 4269-4278, 2004.
27）Zhao, X., Guan, JL. : Focal adhesion kinase and its signaling pathways in cell migration and angiogenesis. Adv. Drug Deliv. Rev., 63 : 610-615, 2011.
28）Belema-Bedada, F., Uchida, S., Martire, A., Kostin, S., Braun, T. : Efficient homing of multipotent adult mesenchymal stem cells depends on FROUNT-mediated clustering of CCR2. Cell Stem Cell, 2 : 466-575, 2008.
29）Tsai, CC., Su, PF., Huang, YF., Yew, TL., Hung, SC. : Oct4 and Nanog directly regulate Dnmt1 to maintain self-renewal and undifferentiated state

in mesenchymal stem cells. Mol. Cell, 47 : 169-182, 2012.
30) Churchman, SM., Ponchel, F., Boxall, SA., Cuthbert, R., Kouroupis, D., Roshdy, T., Giannoudis, PV., Emery, P., McGonagle, D., Jones, EA. : Transcriptional profile of native CD271+ multipotential stromal cells : evidence for multiple fates, with prominent osteogenic and Wnt pathway signaling activity. Arthritis Rheum., 64 : 2632-2643, 2012.
31) Yang, Y. : Wnt signaling in development and disease. Cell. Biosci., 2 : 14, 2012.
32) Fehrer, C., Brunauer, R., Laschober, G., Unterluggauer, H., Reitinger, S., Kloss, F., Gülly, C., Gassner, R., Lepperdinger, G. : Reduced oxygen tension attenuates differentiation capacity of human mesenchymal stem cells and prolongs their lifespan. Aging. Cell, 6 : 745-757, 2007.
33) D'Ippolito, G., Diabira, S., Howard, GA., Roos, BA., Schiller, PC. : Low oxygen tension inhibits osteogenic differentiation and enhances stemness of human MIAMI cells. Bone, 39 : 513-522, 2006.
34) Tamama, K., Kawasaki, H., Kerpedjieva, SS., Guan, J., Ganju, RK., Sen, CK. : Differential roles of hypoxia inducible factor subunits in multipotential stromal cells under hypoxic condition. J. Cell. Biochem., 112 : 804-817, 2011.
35) Tsai, CC., Chen, YJ., Yew, TL., Chen, LL., Wang, JY., Chiu, CH., Hung, SC. : Hypoxia inhibits senescence and maintains mesenchymal stem cell properties through down-regulation of E2A-p21 by HIF-TWIST. Blood, 117 : 459-469, 2011.
36) Yew, TL., Chiu, FY., Tsai, CC., Chen, HL., Lee, WP., Chen, YJ., Chang, MC., Hung SC. : Knockdown of p21 (Cip1/Waf1) enhances proliferation, the expression of stemness markers, and osteogenic potential in human mesenchymal stem cells. Aging Cell, 10 : 349-361, 2011.
37) Nishihira, S., Okubo, N., Takahashi, N., Ishisaki, A., Sugiyama, Y., Chosa, N. : High-cell density-induced VCAM1 expression inhibits the migratory ability of mesenchymal stem cells. Cell. Biol. Int., 35 : 475-481, 2011.
38) Petruzzelli, L., Takami, M., Humes, HD. : Structure and function of cell adhesion molecules. Am. J. Med., 106 : 467-476, 1999.
39) Kobayashi, H., Boelte, KC., Lin, PC. : Endothelial cell adhesion molecules and cancer progression. Curr. Med. Chem., 14 : 377-386, 2007.
40) Segers, VF., Van Riet, I., Andries, LJ., Lemmens, K., Demolder, MJ., De Becker, AJ., Kockx, MM., De Keulenaer, GW. : Mesenchymal stem cell adhesion to cardiac microvascular endothelium : activators and mechanisms. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 290 : H1370-1377, 2007.
41) Wang, W., Itaka, K., Ohba, S., Nishiyama, N., Chung, UI., Yamasaki, Y., Kataoka, K. : 3D spheroid culture system on micropatterned substrates for improved differentiation efficiency of multipotent mesenchymal stem cells. Biomaterials, 30 : 2705-2715, 2009.
42) Aomatsu, E., Chosa, N., Nishihira, S., Sugiyama, Y., Miura, H., Ishisaki, A. : Cell-cell adhesion through N-cadherin enhances VCAM-1 expression via PDGFR β in a ligand-independent manner in mesenchymal stem cells. Int. J. Mol. Med., 33 : 565-572, 2014.
43) Matsuyoshi, N., Imamura, S. : Multiple cadherins are expressed in human fibroblasts. Biochem Biophys Res Commun, 235 : 355-358, 1997.
44) Simonneau, L., Kitagawa, M., Suzuki, S., Thiery, JP. : Cadherin 11 expression marks the mesenchymal phenotype : towards new functions for cadherins? Cell Adhes. Commun., 3 : 115-130, 1995.
45) Hatta, K., Takeichi, M. : Expression of N-cadherin adhesion molecules associated with early morphogenetic events in chick development. Nature, 320 : 447-449, 1986.
46) Wuchter, P., Boda-Heggemann, J., Straub, BK., Grund, C., Kuhn, C., Krause, U., Seckinger, A., Peitsch, WK., Spring, H., Ho, AD., Franke, WW. : Processus and recessus adhaerentes: giant adherens cell junction systems connect and attract human mesenchymal stem cells. Cell Tissue Res., 328 : 499-514, 2007.
47) Akitaya, T., Bronner-Fraser, M. : Expression of cell adhesion molecules during initiation and cessation of neural crest cell migration. Dev. Dyn., 194 : 12-20, 1992.
48) De Wever, O., Westbroek, W., Verloes, A., Bloemen, N., Bracke, M., Gespach, C., Bruyneel, E., Mareel, M. : Critical role of N-cadherin in myofibroblast invasion and migration in vitro stimulated by colon-cancer-cell-derived TGF- β or wounding. J. Cell. Sci., 117 : 4691-4703, 2004.
49) Kashima, T., Nakamura, K., Kawaguchi, J., Takanashi, M., Ishida, T., Aburatani, H., Kudo, A., Fukayama, M., Grigoriadis, AE. : Overexpression of cadherins suppresses pulmonary metastasis of osteosarcoma in vivo. Int. J. Cancer, 104 : 147-154, 2003.
50) Radice, GL., Rayburn, H., Matsunami, H., Knudsen, KA., Takeichi, M., Hynes, RO. : Developmental defects in mouse embryos lacking N-cadherin. Dev. Biol., 181 : 64-78, 1997.
51) García-Castro, MI., Vielmetter, E., Bronner-Fraser, M. : N-Cadherin, a cell adhesion molecule involved in establishment of embryonic left-right asymmetry. Science, 288 : 1047-1051, 2000.
52) Tomasek, JJ., Gabbiani, G., Hinz, B., Chaponnie, C., Brown, RA. : Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. Nat. Rev.

Mol. Cell Biol., 3 : 349-363, 2002.
53) Krauss, RS., Cole, F., Gaio, U., Takaesu, G., Zhang, W., Kang, JS. : Close encounters : regulation of vertebrate skeletal myogenesis by cell-cell contact. J. Cell. Sci., 118 : 2355-2362, 2005.
54) Hollinger, JO., Hart, CE., Hirsch, SN., Lynch, S., Friedlaender, GE. : Recombinant human platelet-derived growth factor : biology and clinical applications. J. Bone Joint Surg. Am., 90 Suppl. 1 : 48-54, 2008.
55) Jayakumar, A., Rajababu, P., Rohini, S., Butchibabu, K., Naveen, A., Reddy, PK., Vidyasagar, S., Satyanarayana, D., Pavan Kumar, S. : Multi-centre, randomized clinical trial on the efficacy and safety of recombinant human platelet-derived growth factor with β-tricalcium phosphate in human intra-osseous periodontal defects. J. Clin. Periodontol., 38 : 163-172, 2011.
56) Ridgway, HK., Mellonig, JT., Cochran, DL. : Human histologic and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate for the treatment of periodontal intraosseous defects. Int. J. Periodontics Restorative Dent., 28 : 171-179, 2008.
57) Nevins, M., Giannobile, WV., McGuire, MK., Kao, RT., Mellonig, JT., Hinrichs, JE., McAllister, BS., Murphy, KS., McClain, PK., Nevins, ML., Paquette, DW., Han, TJ., Reddy, MS., Lavin, PT., Genco, RJ., Lynch, SE. : Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain : results of a large multicenter randomized controlled trial. J. Periodontol., 76 : 2205-2215, 2005.
58) McGuire, MK., Kao, RT., Nevins, M., Lynch, SE. : rhPDGF-BB promotes healing of periodontal defects : 24-month clinical and radiographic observations. Int. J. Periodontics Restorative Dent., 26 : 223-331, 2006.
59) Morikawa, S., Mabuchi, Y., Kubota, Y., Nagai, Y., Niibe, K., Hiratsu, E., Suzuki, S., Miyauchi-Hara, C., Nagoshi, N., Sunabori, T., Shimmura, S., Miyawaki, A., Nakagawa, T., Suda, T., Okano, H., Matsuzaki, Y. : Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow. J. Exp. Med., 206 : 2483-2496, 2009.
60) Yoshida, S., Iwasaki, R., Kawana, H., Miyauchi, Y., Hoshi, H., Miyamoto, H., Mori, T., Kanagawa, H., Katsuyama, E., Fujie, A., Hao, W., Kobayashi, T., Sato, Y., Miyamoto, K., Morioka, H., Matsumoto, M., Chiba, K., Toyama, Y., Nakagawa, T., Miyamoto, T. : PDGF-BB promotes PDGFR α-positive cell migration into artificial bone in vivo. Biochem. Biophys. Res. Commun., 421 : 785-789, 2012.
61) Yokota, J., Chosa, N., Sawada, S., Okubo, N., Takahashi, N., Hasegawa, T., Kondo, H., Ishisaki, A. : PDGF-induced PI3K-mediated signal enhances TGF-β-induced osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in the TGF-β-activated MEK-dependent manner. Int. J. Mol. Med., 33 : 534-542, 2014.
62) Seo, BM., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, PM., Batouli, S., Brahim, J., Young, M., Robey, PG., Wang, CY., Shi, S. : Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. Lancet, 364 : 149-155, 2004.
63) Takahashi, N., Chosa, N., Hasegawa, T., Nishihira, S., Okubo, N., Takahashi, M., Sugiyama, Y., Tanaka, M., Ishisaki, A. : Dental pulp cells derived from permanent teeth express higher levels of R-cadherin than do deciduous teeth : Implications of the correlation between R-cadherin expression and restriction of multipotency in mesenchymal stem cells. Arch. Oral Biol., 57 : 44-51, 2012.
64) Nollet, F., Kools, P., van Roy, F. : Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members. J. Mol. Biol., 299 : 551-572, 2000.
65) Dorrell, MI., Aguilar, E., Friedlander, M. : Retinal vascular development is mediated by endothelial filopodia, a preexisting astrocytic template and specific R-cadherin adhesion. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 43 : 3500-3510, 2002.
66) Kucharczak, J., Charrasse, S., Comunale, F., Zappulla, J., Robert, B., Teulon-Navarro, I., Pèlegrin, A., Gauthier-Rouvière, C. : R-Cadherin expression inhibits myogenesis and induces myoblast transformation via Rac1 GTPase. Cancer Res., 68 : 6559-6668, 2008.
67) Shin, CS., Lecanda, F., Sheikh, S., Weitzmann, L., Cheng, SL., Civitelli, R. : Relative abundance of different cadherins defines differentiation of mesenchymal precursors into osteogenic, myogenic, or adipogenic pathways. J. Cell. Biochem., 78 : 566-577, 2000.
68) Shan, WS., Tanaka, H., Phillips, GR., Arndt, K., Yoshida, M., Colman, DR., Shapiro, L. : Functional cis-heterodimers of N- and R-cadherins. J. Cell. Biol., 148 : 579-590, 2000.
69) Langer, R., Vacanti, JP. : Tissue engineering. Science, 260 : 920-926, 1993.
70) Gronthos, S., Mankani, M., Brahim, J., Robey, PG., Shi, S. : Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 97 : 13625-13630, 2000.
71) Aggarwal, S., Pittenger, MF. : Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood, 105 : 1815-1822, 2005.
72) Spaggiari, GM., Capobianco, A., Abdelrazik, H., Becchetti, F., Mingari, MC., Moretta, L. : Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production :

role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. Blood, 111 : 1327-1333, 2008.
73) Sato, K., Ozaki, K., Oh, I., Meguro, A., Hatanaka, K., Nagai, T., Muroi, K., Ozawa, K. : Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. Blood, 109 : 228-234, 2007.
74) Lee, RH., Oh, JY., Choi, H., Bazhanov, N. : Therapeutic factors secreted by mesenchymal stromal cells and tissue repair. J. Cell. Biochem., 112 : 3073-3078, 2011.