

## 共同研究報告書

○研究課題：腱、軟骨の再生を促す分子ネットワークの解明と応用

○研究代表者：国立成育医療研究センター研究所部長 浅原 弘嗣  
再生医科学研究所共同研究者：戸口田 淳也

○研究期間：長期研究課題

○研究経過及び研究成果：

腱および軟骨の発生・分化に関与する遺伝子を同定するために、約 1,600 の転写制御因子の Whole mount *in situ* hybridization (WISH) データベース“EMBRYOS”を構築した (Yokoyama et al., 2009)。その結果、四肢で特徴的な発現をしている複数の因子を同定した。また、ヒト軟骨細胞の網羅的な遺伝子プロファイリングを行い、軟骨細胞で発現の高い遺伝子を同定した。これらの機能解析や、因子間のネットワークを解析し、腱や軟骨などの発生メカニズムの解明を目指した。

ヒト軟骨細胞の網羅的な遺伝子プロファイルにて得られた遺伝子の中で、ヒト間葉系幹細胞に比べ発現が高い miRNA を同定し、Real Time PCR にて同様にヒト軟骨細胞で発現が高いことを観察した。この miRNA は霊長類でのみ同定されており、戸口田研究室との共同研究にて、ヒト間葉系幹細胞を用いた軟骨分化モデルで発現の増減を解析し、強制発現、発現抑制の実験にてこの miRNA の軟骨分化への影響を調べることを計画し、現在検討中である。

WISH データベースより腱に発現する転写因子としてホメオボックス遺伝子である Mohawk (Mkx) が同定された。この遺伝子のノックアウトマウスを作製・解析した結果、腱の低形成が観察され、Mkx が腱分化に重要な転写因子であることを示した (Ito et al., in revision)。さらにこの転写因子の腱発生・再生における機能について解析するために、開研究室と共同研究にて腱組織で過剰発現するように遺伝子を改変したマウスを作製する計画をたて、現在作製中である。

○研究成果の公表

- 1 Ito Y, Toriuchi N, Yoshitaka T, Ueno-Kudoh H, Sato T, Yokoyama S, Nishida K, Akimoto T, Takahashi M, Miyaki S, Asahara H. The Mohawk homeobox gene is a critical regulator of tendon differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (in revision).
- 2 Yokoyama S, Ito Y, Ueno-Kudoh H, Shimizu H, Uchibe K, Albin S, Mitsuoka K, Miyaki S, Kiso M, Nagai A, Hikata T, Osada T, Fukuda N, Yamashita S, Harada

D, Mezzano V, Kasai M, Puri PL, Hayashizaki Y, Okado H, Hashimoto M, Asahara H. A systems approach reveals that the myogenesis genome network is regulated by the transcriptional repressor RP58. *Dev Cell*. 2009; 17(6): 836-848.