

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名：(日本語) 腱・靭帯をモデルとした細胞内・外メカノ・シグナルの解明とその応用によるバイオ靭帯の創出  
(英語) Analysis of mechano signal cascade regulating tendon/ligament homeostasis and regeneration

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生・再生医学分野  
教授 浅原 弘嗣

所属 役職 氏名：(英語) Department of Systems Bio Medicine, Graduate School and Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Professor, Hiroshi ASAHARA

実施期間：平成28年 10 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語)  
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)  
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

**(Aim1) 細胞メカノ・シグナルの伝達機構の解明**

遺伝子ライブラリーのスクリーニングにより同定したメカノストレス依存的に細胞内の局在を変える候補因子について、細胞種の特異性や伸展強度依存性などについて細胞伸展装置を用いて解析を行い、いくつかの細胞種で伸展強度に応じた変化の解析を行った。また生体内でのこれら候補因子の機能について解析を進めた。

**(Aim2) 細胞がメカノ・アクションを介して、メカノ組織を構築するメカニズム解明**

Mkx 遺伝子の発現を促進する化合物の探索を行なうための細胞株を樹立した。この細胞を用いて、機能既知化合物ライブラリーから、Mkx の遺伝子発現を亢進する可能性のある化合物候補を得た。

**(Aim3) 細胞メカノ・システムを応用したバイオリガメントの創出と医療応用**

Mkx を用いたバイオリガメント作製のため、ヒトおよびマウスの間葉系細胞を用い、そこに Mkx を誘導することで、腱・靭帯の遺伝子発現上昇と腱・靭帯組織用の分化がおこることを見出し、そのメカニズムを詳細に解析した。

**英文**

**(Aim1) The analysis of novel extracellular factor “mechano-alarm factors”**

We have conducted a screening for molecules whose cell localization would be changed under mechanical stress. As a result, we identified several candidate molecules. The function of these candidates have been analyzed in details.

**(Aim 2 ) Identification of small molecules that regulate Mkx expression**

We successfully established the system to screen compounds which may enhance Mkx gene expressions. Using this system, we performed pilot screening.

**(Aim3) Production and application of bio-ligament based on cell-mechano-system**

We have found that mesenchymal stem cells could be induced to tendon like cells by Mkx overexpression. The precise mechanism of Mkx to promote tendon specific gene expressions have been examined.

**III. 成果の外部への発表**

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 5 件)

1. Yokoyama S, Furukawa S, Kitada S, Mori M, Saito T, Kawakami K, Izpisua Belmonte JC, Kawakami Y, Ito Y, Sato T, Asahara H\*. Analysis of transcription factors expressed at the anterior mouse limb bud. PLoS One. 2017 May 3;12(5):e0175673.
2. Ito Y, Inoue A, Seers T, Hato Y, Igarashi A, Toyama T, Taganov K, Boldin M, Asahara H\*. Identification of targets of tumor suppressor microRNA-34a using a reporter library system. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Apr 11;114(15):3927-3932.
3. Kataoka K, Matsushima T, Ito Y, Sato T, Yokoyama S, Asahara H\*. Bhlha9 regulates apical ectodermal ridge formation during limb development. JBMM. in press
4. Nakasuji T, Ogonuki N, Chiba T, Kato T, Shiozawa K, Yamatoya K, Tanaka H, Kondo T, Miyado K, Miyasaka N, Kubota T, Ogura A, Asahara H\*. Complementary critical functions of Zfy1 and Zfy2 in mouse spermatogenesis and reproductiontran .PLoS Genetics. 2017 Jan 23;13(1):e1006578.

5. Koda N, Sato T, Shinohara M, Ichinose S, Ito Y, Nakamichi R, Kayama T, Kataoka K, Suzuki H, Moriyama K, Asahara H\*. Mohawk transcription factor regulates homeostasis of the periodontal ligament. *Development*. 2017 Jan 15;144(2):313-320.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 浅原弘嗣 [招待講演]、Sox9 の発現制御機構、第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、福岡市、福岡国際会議場、2016 年 10 月 13 日
2. 浅原弘嗣 [招待講演]、DNA methylation と筋分化、第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、福岡市、福岡国際会議場、2016 年 10 月 14 日
3. 片岡健輔 [ポスター発表]、伊藤義晃、千葉朋希、中道亮、鈴木英嗣、嘉山智大、浅原弘嗣、腱マスター転写因子 Mxk はメカノストレスに応答し腱組織の恒常性を維持する、第 3 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス、千代田区、アキバプラザ内「アキバホール」、2016 年 10 月 14 日
4. Kensuke Kataoka [ポスター発表]、Yoshiaki ITO、Tomoki CHIBA、Ryo NAKAMICHI、Hiroshi ASAHARA、Tendon Regeneration and Development by Transcription Factor Mxk、Visual-JW 2016、Osaka University、17 October
5. 片岡健輔 [招待講演]、伊藤義晃、千葉朋希、中道亮、浅原弘嗣、転写因子 Mxk を基幹とした腱の発生・分化メカニズムの探索、第 7 回 Orthopedic Research Club、かずさアカデミアパーク、木更津市、2016 年 11 月 19 日
6. 片岡健輔 [ポスター発表]、伊藤義晃、千葉朋希、中道亮、加藤真理子、星菜々恵、浅原弘嗣、転写因子 Mxk を基幹とした腱の発生・再生メカニズムの解明、第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜市 2016 年 12 月 1 日→優秀ポスター賞受賞
7. 松島隆英 [ポスター発表]、LabDroid 6-site Project Group LabDroid 6-site Project Group、ラボドロイド実証実験 | ヒト型双腕ロボットを用いたクロマチン免疫沈降解析、第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜市 2016 年 12 月 1 日
8. 浅原弘嗣 [招待発表] 転写因子 Mxk による腱・靭帯の恒常性の制御と再生医学への応用、「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法の開発」武田班 班会議、国立精神・神経医療研究センター、東京小平市、2016 年 12 月 8 日
9. 浅原弘嗣 [講演]、Tendon development and regeneration analyzed by Mxk KO Rat、The 291st IMEG Seminar Tokyo Medical and Dental University- IMEG Joint Seminar、熊本大学、2017 年 2 月 24 日

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし

(4) 特許出願  
該当なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名：(日本語) 腱・靭帯をモデルとした細胞内・外メカノ・シグナルの解明とその応用によるバイオ靭帯の創出  
(英語) Analysis of mechano signal cascade regulating tendon/ligament homeostasis and regeneration

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生・再生医学分野  
教授 浅原 弘嗣

所属 役職 氏名：(英語) Department of Systems Bio Medicine, Graduate School and Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Professor, Hiroshi ASAHARA

実施期間：平成28年 10 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 腱細胞メカノ・シグナル・トランスダクションの解明  
開発課題名：(英語) Molecular analysis of Mechanotransduction in tendon cells.

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立成育医療研究センター研究所システム発生・再生医学研究部 室長 乾雅史  
所属 役職 氏名：(英語) Department of Systems BioMedicine, National Research Institute for Child Health and Development, Senior Assistant Professor, Masafumi Inui

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生・再生医学分野  
教授 浅原 弘嗣 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 2 件）

1. Miyado M, Inui M, Igarashi M, Katoh-Fukui Y, Takasawa K, Hakoda A, Kanno J, Kashimada K, Miyado K, Tamano M, Ogata T, Takada S, Fukami M. The p. R92W variant of NR5A1/Nr5a1 induces testicular development of 46, XX gonads in humans, but not in mice: phenotypic comparison of human patients and mutation-induced mice. *Biology of Sex Differences*. 2016; 7(1):56
2. Inui M\*, Tamano M, Kato T, Takada S. CRISPR/Cas9-mediated simultaneous knockout of Dmrt1 and Dmrt3 does not recapitulate the 46, XY gonadal dysgenesis observed in 9p24.3 deletion patients. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2017;9(C):238-244

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Inui M. [ポスター発表] Scleraxis positive tendon cells regulate muscle attachment. JSDB Special Symposium: Frontier of Developmental Biology; Poster, Tokyo, Japan. 2016年6月2日
2. 乾雅史 [招待講演]. Scx+腱細胞による筋配向の制御. 第34回日本骨代謝学会学術集会/第3回アジア太平洋骨代謝学会議; あり方委員会企画シンポジウム5 筋・腱・靭帯シンポジウム - 筋骨格系における異なる組織間のフィジカルなコンタクト3; IP5-3, 大阪. 2016年7月20-23日(23日)
3. 乾雅史 [口演], Scleraxis 陽性腱細胞による筋配向制御の解析、第17回運動器科学研究会、大阪市、リーガロイヤルホテル、2016年9月2日

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし

(4) 特許出願  
該当なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation
- 研究開発課題名：(日本語) 腱・靭帯をモデルとした細胞内・外メカノ・シグナルの解明とその応用によるバイオ靭帯の創出  
(英語) Analysis of mechano signal cascade regulating tendon/ligament homeostasis and regeneration
- 研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生・再生医学分野  
教授 浅原 弘嗣
- 所属 役職 氏名：(英語) Department of Systems Bio Medicine, Graduate School and Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Professor, Hiroshi ASAHARA
- 実施期間：平成28年 10月 1日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) コラーゲン翻訳後修飾の分析法の確立  
開発課題名：(英語) Establishment of analysis of collagen post-translational modification
- 研究開発分担者 (日本語) 東京慈恵会医科大学 整形外科学講座 准教授 斎藤充
- 所属 役職 氏名：(英語) Department of Orthopedic Surgery, the Jikei University School of Medicine, Associate Professor, Mitsuru Saito

## II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生・再生医学分野  
教授 浅原 弘嗣 総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

### （1）学会誌・雑誌等における論文一覧（国際誌 3件）

1. Kondoh H, Saito M, Nishiyama T, et al., Periostin Deficiency Causes Severe and Lethal Lung Injury in Mice With Bleomycin Administration. *J Histochem Cytochem.* 2016;64:441-53
2. Kimura S, Saito M, Kida Y et al., Effects of raloxifene and alendronate on non-enzymatic collagen cross-links and bone strength in ovariectomized rabbits in sequential treatments after daily human parathyroid hormone (1-34) administration. *Osteoporosis International.* 2017;28:1109-1119
3. Mashiba T, Saito M, Yamagami Y, et al., Effects of suppressed bone remodeling by minodronic acid and alendronate on bone mass, microdamage accumulation, collagen crosslinks and bone mechanical properties in the lumbar vertebra of ovariectomized cynomolgus monkeys. *Bone.* 2017;97:184-191

### （2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

該当なし

### （3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

### （4）特許出願

該当なし