

令和元年6月5日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2014～2018

課題番号：26221310

研究課題名(和文) Runx2遺伝子の転写制御機構の解明と、骨粗鬆症・変形性関節症治療薬の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the transcriptional regulation of Runx2 and development of the drugs for osteoporosis and osteoarthritis

研究代表者

小守 壽文 (KOMORI, Toshihisa)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授

研究者番号：00252677

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 153,000,000円

研究成果の概要(和文)：Runx2の軟骨細胞特異的エンハンサーを3領域を特定した。この3領域と骨芽細胞特異的エンハンサーを組み合わせると、Runx2の発現パターンを再現できた。しかし、この4領域あるいは新たな19領域のエンハンサー候補の欠失マウスでも、現時点では明確な表現型を認めていない。したがって、骨芽細胞特異的・軟骨細胞特異的エンハンサーともに多数存在し、機能重複したエンハンサー群によってRunx2遺伝子は転写調節されていると考えられた。骨芽細胞特異的エンハンサーを用いて、Runx2 mRNA発現、骨芽細胞分化を促進させる化合物を同定した。この化合物をマウスに投与すると、骨量および骨密度の増加をきたした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞系特異的発現が機能重複した多数のエンハンサー群によって制御されていることを示した。これは、転写制御研究に大きな意義を持つ。さらに骨芽細胞特異的エンハンサーを用いてマウスで骨量を増加させる化合物を同定出来た。これは、骨形成を促進させる骨粗鬆症治療薬の開発に繋がる成果である。また、軟骨細胞特異的エンハンサーの同定により、変形性関節症の治療薬の開発が可能になった。

研究成果の概要(英文)：The transcription of Runx2 is regulated by enhancers. We identified three chondrocyte-specific enhancers of Runx2. We recapitulated the physiological Runx2 expression in osteoblasts and chondrocytes using the three enhancers and 343 bp osteoblast-specific enhancer. However, the deletion of each of the four regions showed no phenotype in mice. Therefore, we selected other 19 candidate regions for enhancers, and generated their deleted mice. So far, we could not find prominent phenotypes in these mice. Thus, it is considered that the transcription of Runx2 is regulated by multiple enhancers, which have redundant functions. We identified a chemical compound by high throughput screening using 343 bp osteoblast-specific enhancer. The chemical compound enhanced the enhancer activity, Runx2 mRNA, and osteoblast differentiation in vitro, and increased bone volume and bone density in mice.

研究分野：生物系、医歯薬学、歯学

キーワード：骨芽細胞 軟骨細胞 エンハンサー Runx2

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々は **Runx2** を中心とした骨と軟骨の形成・維持の分子機構の全容解明を進めている。これまでに、**Runx2** が間葉系幹細胞より骨芽細胞分化に必須であること<sup>1</sup>、**Runx2** が軟骨細胞の後期分化に必須であること<sup>2,4</sup>、**Runx2** は、関節軟骨等の永久軟骨の性格を失わせ、永久軟骨細胞を成熟させ、軟骨基質を破壊する **matrix metalloproteinase 13 (MMP13)**等を誘導する働きがあり、関節軟骨細胞の破壊によって発症する変形性関節症の原因遺伝子の一つであることを明らかにした<sup>3,5,6</sup>。したがって、**Runx2** は骨に対しては正の作用、関節軟骨に対しては負の作用を持つ。**Runx2** の骨芽細胞、軟骨細胞における発現調節機構の解明は、骨格形成・維持の分子機構の解明に画期的な進歩をもたらすと同時に、**Runx2** 発現を骨芽細胞・軟骨細胞で別個に調節できれば、骨粗鬆症や変形性関節症の治療薬の開発が可能になる。

**Runx2** は、2つのプロモーター {遠位(P1)および近位(P2)} によって転写調節されている。しかし、P1、P2 領域を用いたレポーターマウスでは、骨芽細胞・軟骨細胞での発現を得ることはできなかった。これまで、国内外においても、**Runx2** 遺伝子の発現制御領域は特定されていない。これは、**Runx2** 遺伝子の発現制御領域が、イントロンを含む広い範囲に存在していることを示唆している。そこで **bacterial artificial chromosome (BAC)** クローンを用いて、**green fluorescence protein (GFP)** トランスジェニック (tg) マウスを作製、生理的な発現パターンの再現に成功した。**BAC** クローンを順次欠失させた **GFP tg** マウスを作製することにより、**343 bp** の骨芽細胞特異的エンハンサーを特定した (特許 2009-183366)。**343 bp** エンハンサーを用いた **GFP tg** マウスでは、骨芽細胞にのみ発現が検出された。このエンハンサーに結合する 7 因子を特定、その活性化機構を明らかにした<sup>7</sup>。また、別の領域から軟骨細胞特異的エンハンサーを含む **7.2 kb** を同定した。

(引用文献)

1) Cell 89:755-764, 1997. 2) J Biol. Chem. 275:8695-8702, 2000. 3) J. Cell Biol. 153:87-100, 2001. 4) Genes Dev. 18:952-963, 2004. 5) Mol. Cell. Biol. 19:4431-4442, 1999. 6) Arthritis Rheum. 54:2462-2470, 2006. 7) J Bone Miner Res 29: 1960-1969, 2014.

### 2. 研究の目的

(1)軟骨細胞特異的エンハンサーを含む **7.2 kb** から軟骨細胞発現に必要な最小領域を同定する。さらに、エンハンサーを活性化する転写因子群を同定、それらの相互作用を明らかにし、エンハンサーの活性化機構を解明する。

(2)骨芽細胞あるいは軟骨細胞特異的エンハンサーと2つのプロモーター(P1, P2)の相互作用を明らかにし、転写制御機構の全容を解明する。

(3)エンハンサー領域を欠失させたマウスを作製し、エンハンサーの生理的役割を明らかにする。

(4)エンハンサーを用いて化合物スクリーニングを行い、骨芽細胞特異的エンハンサーを活性化、**Runx2 mRNA** を誘導する化合物あるいは軟骨細胞特異的エンハンサーおよび **Runx2 mRNA** 発現を抑制する化合物を選択、動物実験で骨量が増加するあるいは変形性関節症の進行を抑える化合物を同定する。さらに、その作用機序を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1)軟骨細胞特異的エンハンサー領域の特定及び活性化機序の解明

**7.2 kb** 内の保存領域を種々に組み合わせた **Hsp68 minimal promoter GFP tg** マウスを作製、**GFP** の発現パターンを胎生 **16.5** 日の胎児凍結切片で調べた。保存領域を種々に組み合わせた **minimal promoter** に結合させた **ルシフェラーゼベクター** を作製、軟骨細胞株 **ATDC5**, **SW1353**, **HCS-TG** を用い、レポーターアッセイを行った。新たなエンハンサー領域を同定するため、**H3K4m1**, **H3K4m2**, **H3K27ac**, **H2A.Z** 抗体を用いた **ChIP シークエンス** および **エンハンサーRNA シークエンス** を行った。同定したエンハンサー候補 DNA あるいはそれらを組み合わせた DNA を **minimal promoter** を含む **ルシフェラーゼベクター** に挿入、軟骨細胞株で活性を比較した。

(2)骨芽細胞あるいは軟骨細胞特異的エンハンサーと2つのプロモーター(P1, P2)の相互作用の解明

**343 bp** 骨芽細胞特異的エンハンサーを含む **1.3 kb DNA** (**1.3 kb** 骨芽細胞特異的エンハンサー) を様々な長さの **P1** プロモーターあるいは **P2** プロモーターに結合した **GFP** レポーターマウスを作製、凍結切片で **GFP** 発現を解析した。軟骨細胞特異的エンハンサー (**7.2 kb** あるいはそのエンハンサーエレメントを種々に組み合わせた DNA および新たに同定した **0.8 kb**) を **Hsp68 minimal promoter**、**P1** プロモーターあるいは **P2** プロモーターに結合した **GFP** レポーターマウスを作製・解析した。また、**1.3 kb** 骨芽細胞特異的エンハンサーとこれらを種々に組み合わせた **GFP** レポーターマウスを作製・解析した。また、**P2** プロモーター領域を含む **BAC** クローンを用いて、**P2** プロモーター下流の翻訳開始点に **tomato** を挿入したレポーターマウスを作製、凍結切片で **tomato** 発現を解析した。**chromatin conformation capture assay (3C-qPCR)** 法で、**P1**, **P2**, エンハンサー間の相互作用を解析した。

### (3) エンハンサー領域を欠失させたマウスおよび GFP レポーターマウスの作製・解析

1.3 kb 骨芽細胞特異的エンハンサー-flox マウスを作製、germline Cre (CAG-Cre) マウスと交配後、ホモ変異マウスを作製した。さらに 7.2 kb 内の 2 領域 (0.9kb と 0.6kb) 及び新たに選定したエンハンサー候補 19 領域に関し、CRISPR/Cas9 システムを用いて、それぞれを欠失するマウスを作製、軟骨及び頭蓋冠組織での Runx2 mRNA 発現解析、10 週齢でのマイクロ CT 解析を行った。また、1.3 kb ko マウスの受精卵に、新たに同定した 0.8 kb エンハンサーを認識するガイド RNA および Cas9 RNA を注入、両者を欠失するマウスを作製した。新たに選定したエンハンサー候補 2 領域に関して、Hsp68 minimal promoter につないだ GFP レポーターマウスを作製、凍結切片で GFP 発現を解析した。

### (4) 骨芽細胞特異的エンハンサーを用いた化合物のスクリーニング、活性検証、作用機序の解明

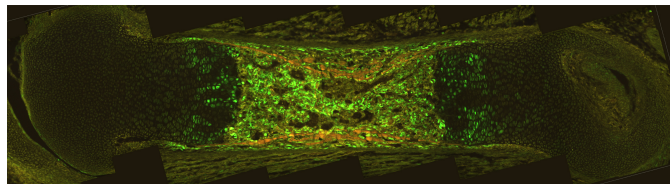
骨芽細胞特異的エンハンサーを 4 つタンデムに並べたルシフェラーゼベクター (pGL4.23-4x343) を用い、東京大学、京都大学及び長崎大学の化合物ライブラリー約 6 万化合物のハイスループットスクリーニングを行った。3SD 以上の活性を示した化合物を促進化合物とし、コントロール (溶媒 DMSO) の 0.3 以下の活性を示したものを抑制化合物とした。活性を促進 (抑制) した化合物に対しては、Runx2 mRNA 発現を調べた。Runx2 mRNA の発現を増加 (低下) させた化合物を用い、細胞分化実験で、分化誘導 (抑制) 効果を検討した。さらに、分化誘導した化合物に関しては、周辺化合物を購入あるいは合成し、活性を検討した。溶媒の検討を行い、卵巣摘出術 (OVX)、もしくは偽手術 (sham) を施した C57BL/6、C3H/HeN マウスに、週 5 日間、6 週間の皮下注射を行い、19 週齢でサンプルを採取、マイクロ CT 解析を行った。また、可溶性を向上させるための化合物合成を行なった。化合物の作用機序を明らかにするため、活性を維持し磁気ビーズに結合できるように化合物を改変した。磁気ビーズに結合させた化合物を細胞抽出液と反応させた後、化合物に結合した蛋白質を溶出、電気泳動で分離し、銀染色で検出した。

## 4. 研究成果

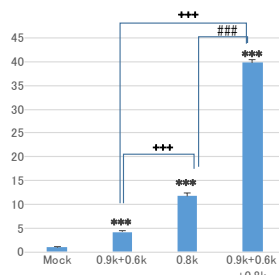
(1) 軟骨細胞特異的エンハンサーを含む 7.2 kb から軟骨細胞発現に必要な最小領域を同定する。さらに、エンハンサーを活性化する転写因子群を同定、それらの相互作用を明らかにし、エンハンサーの活性化機構を解明する。

GFP レポーターマウスで軟骨細胞に発現を認めた 7.2 kb には種間で保存された 3 つの領域が存在した。それぞれ単独あるいは 2 ないし 3 領域を組み合わせて Hsp68 minimal プロモーターに組み込んだ GFP レポーターマウスを作製した。同時に、軟骨細胞株を用いたレポーターアッセイで転写活性化能を検討した。これらの実験により 2 領域 (0.9 kb と 0.6 kb) が軟骨細胞の発現に関与していることを明らかにした。しかし、2 領域 (0.9 kb と 0.6 kb) で作製した GFP tg マウスでは、軟骨に発現する tg マウスの出現頻度が低く、一部の軟骨では発現を検出できなかった。これは、Hsp68 minimal promoter の代わりに P1 プロモーター領域を用いた時も同様であり、全長の 7.2 kb を用いても同じ結果であった。したがって、他にも軟骨での発現を制御しているエンハンサーが存在する、すなわちエンハンサーの重複があると考えられた。

Runx2 遺伝子領域の BAC クロンを順次欠失させた GFP レポーターマウスの解析から、さらに軟骨細胞特異的発現に関与している 1 領域 (0.8 kb) を同定した。0.8 kb 単独の GFP レポーターマウスでは、一部発現しない軟骨細胞も存在したが、骨芽細胞特異的 343 bp エンハンサーと組み合わせると、全身の軟骨の前肥大軟骨細胞～肥大軟骨細胞に GFP 発現を検出できた。さらに軟骨細胞発現に関わる 2 領域を加えると、その発現強度が増加した (図 1)。もちろん、343 bp 骨芽細胞特異的エンハンサーによる骨芽細胞での GFP 発現も認められた (図 1)。



〈図 1〉軟骨細胞発現に関わる 3 領域-343bp エンハンサー-Hsp68 minimal promoter tg マウス



〈図 2〉軟骨細胞発現に関わる 3 領域 (0.9k, 0.6k, 0.8k) を用いたレポーターアッセイ (SW1353 細胞株)

さらに軟骨細胞株を用いたレポーターアッセイでは、これら軟骨細胞特異的発現に関与していた 3 領域は、軟骨細胞株で相乗的に転写を活性化した (図 2)。一方骨芽細胞株及び初期培養骨芽細胞での転写の活性化は認められなかった。最も正常の軟骨細胞に近い表現型を示した軟骨肉腫細胞株 OUMS を用いて発現 cDNA ライブラリーを作製した。さらに、3 領域のうち、0.8 kb が最も重要と考えられたため、0.8 kb を 4 つタンデムに並べたルシフェラーゼベクター (pGL4.23-4x0.8) を作製、cDNA ライブラリーのスクリーニングを行なっている。

(2) 骨芽細胞あるいは軟骨細胞特異的エンハンサーと 2 つのプロモーター (P1, P2) の相互作用を明らかにし、転写制御機

構の全容を解明する。

Chromatin conformation capture assay (3C-qPCR)では、P1, P2 プロモーターともに骨芽細胞特異的エンハンサー及び軟骨細胞特異的エンハンサーとの結合が見られた。骨芽細胞特異的エンハンサー、軟骨細胞特異的エンハンサー、P1, P2 プロモーターを種々に組み合わせさせた GFP tg マウスでは、P1 は、Hsp68 minimal promoter と同様の活性を示したが、P2 の活性はほとんど認めなかった。in vitro のレポーターアッセイでも P2 の活性はほとんど検出できなかった。また、P1, P2 プロモーターの 6 kb までの様々なサイズ DNA を用いた GFP レポーターマウスを作製したが、この領域では、骨芽細胞・軟骨細胞での発現を誘導することはできなかった。一方、BAC クローンを用い P2 プロモーター下流の翻訳開始点に tomato を組み込んだレポーターマウスでは、骨芽細胞・軟骨細胞に tomato の赤色蛍光を検出できた。

(3) エンハンサー領域を欠失させたマウスを作製し、エンハンサーの生理的役割を明らかにする。

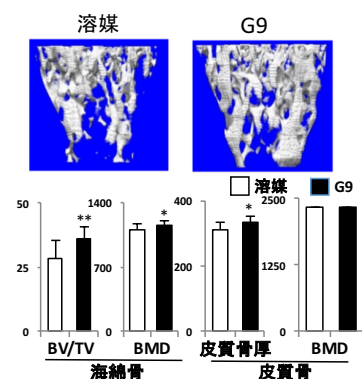
骨芽細胞特異的 343 bp エンハンサーの欠失マウスあるいは 343 bp エンハンサーを含む 1.3 kb の欠失マウスでは、明確な表現型を認めなかった。したがって、骨芽細胞特異的エンハンサーも複数存在し、重複があると考えられた。軟骨細胞特異的エンハンサー 2 領域 (0.9 kb と 0.6 kb) の欠失マウス、1 領域 (0.8 kb) の欠失マウスともに明確な表現型を示さなかった。そこで、マイクロマス培養した初期培養軟骨細胞、ATDC 細胞、初期培養骨芽細胞を用いた ChIP シークエンスの結果及びエンハンサーRNA のシークエンス結果、そして既存のデータベースも参考にし、Runx2 遺伝子の 1000 kb の領域で、新たに 19 のエンハンサー候補を選定し、CRISPR/Cas9 システムを用いて欠失マウスを作製、あるいは作製中である。さらに一部のエンハンサー候補は GFP tg マウスも作製した。現在までに 11 エンハンサー候補の ko マウスの解析が終了したが、Runx2 mRNA が 3 エンハンサーで軽度低下していたのみで、骨量は野生型マウスと差を認めなかった。一方、343 bp 骨芽細胞特異的エンハンサーと 1 領域 (0.8 kb) の両者を欠失するマウスを作製したが、Runx2 mRNA は約半分に低下していた。したがって、骨芽細胞特異的・軟骨細胞特異的エンハンサーともに多数存在し、機能重複したエンハンサー群によって転写調節されていると考えられた。今後は、さらにエンハンサー候補の GFP tg マウスの作製を進め、骨芽細胞・軟骨細胞に発現誘導できるエンハンサーを決定する。また、現在行っている capture Hi-C、enChIP の結果から、P1, P2 プロモーターと相互作用するエンハンサーを決定する。これらの結果をもとに、同時に欠失させるエンハンサー領域を決めていく。

(4) エンハンサーを用いて化合物スクリーニングを行い、骨芽細胞特異的エンハンサーを活性化、Runx2 mRNA を誘導する化合物あるいは軟骨細胞特異的エンハンサーおよび Runx2 mRNA 発現を抑制する化合物を選択、動物実験で骨量が増加するあるいは変形性関節症の進行を抑える化合物を同定する。さらに、その作用機序を明らかにする。

骨芽細胞特異的エンハンサーを用いた一次スクリーニングで 1081 化合物が促進、830 化合物が抑制した。2 次スクリーニングでは、濃度依存性及び細胞毒性を、3 次スクリーニングでは、デュアルルシフェラーゼアッセイを行い、ベクターのバックボーンへの化合物の影響を排除した。これにより促進 18 化合物、抑制 20 化合物に絞り込んだ。4 次スクリーニングとして、Runx2 mRNA の誘導 (抑制) 活性を調べ、促進 2 化合物、抑制 2 化合物を得た。初期培養骨芽細胞分化を 1 化合物 (G9) が BMP2 と同レベルに促進、1 化合物 (D1) が抑制した。促進した G9 の周辺 45 化合物を購入あるいは合成し、7 化合物が G9 と同等の活性を示した。

G9 の溶解度および溶媒の検討を行った後、卵巣摘出術 (OVX)、もしくは偽手術 (sham) を施した C57BL/6 および C3H/HeN マウスに G9 を投与し、大腿骨マイクロ CT 解析で薬効を評価した。OVX 群で海綿骨骨量、骨梁幅、骨塩量、および骨幹部皮質骨厚が有意に増加した (図 3)。2 度の再現実験でも薬効は確認できた。さらに作用機序を解明するために、G9 と同等の活性を維持し磁気ビーズ (FG ビーズ) に結合できる化合物を合成した。FG ビーズに結合させた化合物と骨芽細胞株 (SaOS2) 抽出液を反応させ、化合物に結合する 5 蛋白質を検出し、G9 の標的分子の検討を行っている。

0.8 kb と 343 bp の組み合わせで、全軟骨に発現を誘導でき、他の 2 つのエンハンサー (0.9 kb と 0.6 kb) をさらに組み合わせると、その発現強度が増加した。しかし、他の 2 つのエンハンサーでは、343 bp と組み合わせても一部の軟骨に発現を誘導できず、0.8 kb がスクリーニングに最適と考えられた。0.8 kb を 4 つタンデムに並べたルシフェラーゼベクター (pGL4.23-4x0.8) およびレニラルシフェラーゼベクターの両者を安定発現する OUMS 細胞株を樹立、ハイスループットスクリーニングを開始した。



〈図 3〉 G9 のマウスへの投与実験

(5) Runx2 の機能解析

① Runx2 がヘッジホグ、Fgf、Wnt、Pth1h シグナル分子を誘導し、未分化間葉系細胞の増殖およ

び骨芽細胞系列へのコミットメントを誘導することを明らかにした。骨芽細胞への分化機序を明らかにするとともに、Runx2 ヘテロ変異で発症する鎖骨頭蓋異形成症の発症メカニズムを解明した論文である (Hum Mol Genet, 2019)。

②Runx2 は骨芽細胞前駆細胞の増殖に必要であり、Fgfr2, Fgfr3 の発現を誘導し骨芽細胞前駆細胞の増殖を制御することを明らかにした。初めて骨芽細胞前駆細胞の増殖の分子メカニズムを明らかにした論文である (Sci Rep 2018)。

③Cbfb は、軟骨細胞の増殖と後期分化、そして骨芽細胞分化に必要であること、Runx ファミリー (Runx1, Runx2, Runx3) の蛋白の安定化に必要であること、膜性骨より軟骨内骨化部位でより Runx2 の蛋白安定化に寄与することを、Cbfb コンディショナル ko マウスの解析により明らかにした (J Bone Miner Res 2015)。

④Cbfb には alternative splicing によって形成される2つのアイソフォーム (Cbfb1, Cbfb2) が存在する。Splice signal sequence への変異導入により形成された Cbfb1 ko マウスと Cbfb2 ko マウスを解析した。骨形成、軟骨細胞・骨芽細胞分化は、Cbfb2 ko マウスでのみ阻害されていた。野生型マウスでは、Cbfb1 の splicing は厳密な調節により量的に制限されており、Cbfb2 は各種臓器において Cbfb1 の3倍の発現が認められた。しかし、Runx2 の DNA 結合能を増強する能力は Cbfb1 の方が高く、2つのアイソフォームの量的・質的違いが、Runx2 の生理活性を制御していた (J Bone Miner Res 2016)。3, 4 は、Runx2 の活性制御の機構を明らかにしたものであり、大きな学術的インパクトがある。

⑤Runx2 は、Bcl2 の発現を誘導しアポトーシスにも関与するが、BclXL を骨芽細胞に過剰発現させアポトーシスを抑制することにより、正常構造の骨を増加、強度も増強させ、加齢による骨量減少を防止できることを明らかにした (J Bone Miner Res 2016)。

⑥microtubule 関連蛋白 Mapt は最終分化した象牙芽細胞に特異的に発現、その特徴的な形態の形成に関与する可能性を示唆するとともに、Runx2 は Mapt を負に制御し、象牙芽細胞の成熟を抑制することを示唆した (Cell Tissue Res 2015)。

⑦Runx2 は、ムチン型糖鎖付加酵素である Galnt3 を発現誘導すること、Galnt3 は軟骨細胞の成熟に関与しムチン型糖鎖とグリコサミノグリカンの量的な調節に関わっていることを明らかにした (J Biol Chem 2014)。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 40 件)

①Qin X, Jiang Q, Miyazaki T, Komori T: Runx2 regulates cranial suture closure by inducing hedgehog, Fgf, Wnt, and Pthlh signaling pathway gene expression in suture mesenchymal cells. Hum Mol Genet. 28(6):896-911, 2019. DOI: 10.1093/hmg/ddy386

②Kawane T, Qin X, Jiang Q, Miyazaki T, Komori H, Yoshida CA, Matsuura-Kawata VKDS, Sakane C, Matsuo Y, Nagai K, Maeno T, Date Y, Nishimura R, Komori T: Runx2 is required for the proliferation of osteoblast progenitors and induces proliferation by regulating Fgfr2 and Fgfr3. Sci Rep. 10;8(1):13551, 2018 Sep. DOI: 10.1038/s41598-018-31853-0

③Komori T: Runx2, an inducer of osteoblast and chondrocyte differentiation. Histochem Cell Biol. 149(4):313-323, 2018 Apr. DOI: 10.1007/s00418-018-1640-6.

④Yang M, Arai A, Udagawa N, Hiraga T, Lijuan Z, Ito S, Komori T, Moriishi T, Matsuo K, Shimoda K, Zahalka AH, Kobayashi Y, Takahashi N, Mizoguchi T: Osteogenic Factor Runx2 Marks a Subset of Leptin Receptor-Positive Cells that Sit Atop the Bone Marrow Stromal Cell Hierarchy. Sci Rep. 2017 Jul 10;7(1):4928. DOI: 10.1038/s41598-017-05401-1.

⑤Komori T: Roles of Runx2 in skeletal development. Adv Exp Med Biol. 962:83-93, 2017 Mar. DOI: 10.1007/978-981-10-3233-2\_6

⑥Moriishi T, Fukuyama R, Miyazaki T, Furuichi T, Ito M, Komori T: Overexpression of BCLXL in osteoblasts inhibits osteoblast apoptosis and increases bone volume and strength. J Bone Miner Res. 31(7):1366-80, 2016 Jul. DOI: 10.1002/jbmr.2808

⑦Jiang Q, Qin X, Kawane T, Matsuo Y, Taniuchi I, Komori H, Ito K, Izumi S, Komori T: Cbfb2 isoform dominates more potent Cbfb1 and is required for skeletal development. J Bone Miner Res. 31(7):1391-404, 2016 Jul. DOI: 10.1002/jbmr.2814

⑧Qin X, Jiang Q, Matsuo Y, Kawane T, Komori H, Moriishi T, Taniuchi I, Ito K, Kawai Y, Rokutanda S, Izumi S, Komori T: Cbfb regulates bone development by stabilizing Runx family proteins. J Bone Miner Res. 30(4):706-14, 2015 Apr. DOI: 10.1002/jbmr.2379

⑨Yoshida CA, Kawane T, Moriishi T, Purushothaman A, Miyazaki T, Komori H, Mori M, Qin X, Hashimoto A, Sugahara K, Yamana K, Takada K, Komori T: Overexpression of Galnt3 in chondrocytes resulted in dwarfism due to the increase of mucin type O-glycans and reduction of glycosaminoglycans. J Biol Chem. 289(38):26584-96, 2014. DOI: 10.1074/jbc.M114.555987

⑩Kawane T, Komori H, Liu W, Moriishi T, Miyazaki T, Mori M, Matsuo Y, Takada Y, Izumi S, Jiang Q, Nishimura R, Kawai Y, Komori T: Dlx5 and Mef2 Regulate a novel Runx2 enhancer for osteoblast-specific expression. J Bone Miner Res. 29(9):1960-1969, 2014. DOI: 10.1002/jbmr.2240

他 30 件  
以上全て査読有り。

〔学会発表〕（計 31 件）

①小守壽文：特別講演「Runx2 による骨格形成制御機構」，第 124 回日本日本解剖学会全国学術集会，新潟，3 月，2019.

②小守壽文：Runx2 による骨芽細胞分化・増殖の制御機構，第 36 回日本骨代謝学会学術集会，長崎，7 月，2018.

③姜晴，秦昕，宮崎敏博，福山亮，小守寿人，森石武史，伊藤公成，小守壽文：Runx2 は骨芽細胞分化後の骨基質蛋白質遺伝子発現に必要である，第 36 回日本骨代謝学会学術集会，長崎，7 月，2018.

④秦昕，姜晴，宮崎敏博，森石武史，小守寿人，小守壽文：Runx2 による頭蓋冠形成制御機構，第 36 回日本骨代謝学会学術集会，長崎，7 月，2018.

⑤Komori T: A role of Runx2 in the proliferation of osteoblast precursors, RUNX PHILADELPHIA 2017, USA, Nov.

⑥Qin X, Komori T: Elucidation of the functions of Runx2 in differentiated osteoblasts, RUNX PHILADELPHIA 2017, USA, Nov.

⑦姜晴，小守壽文：Functions of Runx family transcription factors and Cbfb in skeletal development，第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会，長崎，3 月，2017.

他 24 件

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.de.nagasaki-u.ac.jp/dokuji/kaibou-2/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：川根 徹也

ローマ字氏名：(KAWANE, Tetsuya)

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科（歯学系）

職名：技術職員

研究者番号（8 桁）： 00265208

研究分担者氏名：宮崎 敏博

ローマ字氏名：(MIYAZAKI, Toshihiro)

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科（歯学系）

職名：准教授

研究者番号（8 桁）： 10174161

研究分担者氏名：森石 武史

ローマ字氏名：(MORIISHI, Takeshi)

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科（歯学系）

職名：助教

研究者番号（8 桁）： 20380983

研究分担者氏名：増山 律子

ローマ字氏名：(MASUYAMA, Ritsuko)

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科（歯学系）

職名：准教授

研究者番号（8 桁）： 60297596

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。