

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18591656
 研究課題名（和文） RNA 干渉を用いた骨芽細胞、脂肪細胞分化調節因子の新規同定とその機能解析
 研究課題名（英文） Identification and characterization of a novel regulatory factor for the determination of osteoblast-adipocyte differentiation using RNA interference
 研究代表者
 新井 嘉容（ARAI YOSHIYASU）
 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師
 研究者番号：10401390

研究成果の概要：

我々はタンパク質をコードしない小分子 RNA に着目し、骨芽細胞分化における機能を検討した。その結果、mir-206 が骨芽細胞分化を抑制すること、mir-206 を過剰に発現するトランスジェニックマウスの骨量が低下することを明らかにし、マイクロ RNA が骨芽細胞分化の生理的調節因子であることを世界で初めて報告した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：RNA 干渉・骨芽細胞

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は骨芽細胞と破骨細胞のバランスが破綻することで発症する。近年の分子生物学の発展により RANK, RANKL, NFAT, NFκB といった破骨細胞の分化、調節にかかわる因子が次々と同定され破骨細胞の生物学は飛躍的な進展を遂げた。一方、骨芽細胞に関しては未だに不明な点が多い。ところで、加齢に伴って骨髄では脂肪細胞の増加と骨芽細胞の減少が認められる。骨芽細胞、脂肪細胞はともに骨髄間葉系幹細胞を起源とすることから、加齢に伴う骨粗鬆症では骨髄間葉系幹細胞から両者への振り分けに障害があるものと思われるが、その詳細は不明である。これまで、我々は幹

細胞から骨軟骨細胞への分化調節機構について検討を進めてきた。（Takeda et. al. *Genes & Dev* 2000, Asou et.al. *J Ortho Res* 2002 など）。間葉系幹細胞から骨芽細胞あるいは脂肪細胞への分化の分子機構を明らかにすることは、高齢化社会における大きな社会問題である骨粗鬆症の研究においてきわめて重要と考えられる。

2. 研究の目的

そこで、本研究では骨芽細胞分化にかかわる因子を単離、同定し、さらに in vivo における機能解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

siRNA と同様に低分子 RNA であるマイク

口 RNA を対象として、骨芽細胞分化の新規調節因子の同定を試みた。さらにその発現を個体レベルで検討した。また、その骨芽細胞分化における機能を解明すべく過剰発現、ノックダウンの細胞分化に与える影響を検討した。さらに、個体レベルでの機能を解析するため、同定したマイクロ RNA を骨芽細胞で発現するトランスジェニックマウスを作成し、その骨の表現系を解析した。

4. 研究成果

C2C12細胞において BMP により発現が減少するマイクロ RNA206 に注目した。初代培養骨芽細胞においてマイクロ RNA206 の発現は分化の進行に伴って次第に減少した。また、マイクロ RNA206 の過剰発現により骨芽細胞分化が抑制された。さらに、データベースを用いた検索により in silico でのマイクロ RNA206 の標的遺伝子候補としてコネキシン 43 を見出し、実際に骨芽細胞を用いて in vitro でもマイクロ RNA206 の過剰発現により標的遺伝子の発現が減少することを確認した。さらにマイクロ RNA206 を発現するトランスジェニックマウスでは骨量が減少することを見出した(下図)。



野生型マウス



miR-206tg マウス

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Inose H, Ochi H, Kimura A, Fujita K, Xu R, Sato S, Iwasaki M, Sunamura S, Takeuchi Y, Fukumoto S, Saito K, Nakamura T, Siomi H, Ito H, Arai Y, Shinomiya K-i, Takeda S: A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 106(49): 20794-20799, 2009.

〔学会発表〕(計 2 件)

Regulation of osteoblast differentiation by microRNA H. Inose, S. Takeda, S. Sato, M. Iwasaki, A. Kimura and K. Shinomiya ASBMR annual meeting 2007 Honolulu, Hawaii, USA

H. Inose, A. Kimura, M. Iwasaki, Y. Arai, K. Shinomiya, S. Takeda Regulation of osteoblast differentiation by microRNA ASBMR 30th Annual Meeting 2008 年 9 月 15 日 Montreal, Quebec, Canada

〔図書〕(計 0 件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

なし

取得状況(計 件)

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新井 嘉容 (ARAI YOSHIYASU)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号: 10401390

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

竹田秀 (TAKEDA SHU)

慶應義塾大学・医学部。准教授

研究者番号: 30376727

麻生義則 (ASOU YOSHINORI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号: 50345279

若林良明 (WAKABAYASHI YOSHIAKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号: 00431916