

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591931

研究課題名（和文） 新規関節形成マスター遺伝子 SOX11 を軸とした関節形成分子ネットワークの解明

研究課題名（英文） Molecular mechanisms of joint formation by transcription factor SOX11

研究代表者

松原 全宏（MATSUBARA TAKEHIRO）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40361498

研究成果の概要（和文）：SOX11の発現パターンについてマウス発生過程において経時的に解析した。まず胎生11.5-12.5日のマウス胚においてwhole mount in situ hybridizationを行ったところ、未分化間葉系細胞の凝集部位もしくは未分化軟骨細胞の部位に局所的な強い発現がみられた。続けて組織切片においてin situ hybridizationを行ったところ、成長とともにSOX11は関節形成部分に限局して発現するが、関節が形成された後は成熟するにかけて発現は漸減していくことが分かった。

次に SOX11 の転写標的として関節マーカー遺伝子、軟骨基質遺伝子、軟骨内骨化関連遺伝子、軟骨変性関連遺伝子などを広く検討した。SOX11 は GDF5、WNT9A などの関節マーカー遺伝子だけでなく、2 型コラーゲンやアグリカンなどの軟骨全般に発現する基質タンパクを広く誘導することが分かり、それぞれの遺伝子について転写解析を行って応答領域を同定することができた。反対に軟骨内骨化関連遺伝子や軟骨変性関連遺伝子については発現を抑制する傾向があることが分かったが、その詳細なメカニズムについては解明できなかった。軟骨基質誘導について SOX9 など既知の分子との協調性があるかどうか検証したが、相加的な効果にとどまり直接の関連はないことが分かった。またルブリシンなど関節軟骨の成熟とともに発現が増す遺伝子についても検証したが、SOX11 はこれらの誘導には深い関係はなく、関節軟骨の発生過程については関与していても、その維持については関与していないと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the expression pattern of SOX11 in development of mouse embryo. Whole mount in situ hybridization revealed that Sox11 was expressed in the mesenchymal condensation and pre-mature chondrocytes in E11.5-12.5 embryo. Sox11 expression was maintained in the joint locus, and decreased as the joint matured. Next, we searched the transcriptional target genes of Sox11. Several screening revealed that Sox11 widely induced the cartilage matrix genes like Col2a1 and Acan, as well as the joint formation marker genes like GDF5 and Wnt9a. We further identified the responsive elements of Sox11 on these target genes. Meanwhile, Sox11 inhibited the expression of genes which were related with the endochondral ossification and the cartilage degradation. The molecular mechanisms underlying the inhibition were not elucidated yet.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			

年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科学臨床医学・整形外科学

キーワード：関節病学

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症など軟骨変性に基づく疾患の分子メカニズムの解明や、新規治療法の解明のためにも、関節形成の分化制御機構の解明は必須である。我々は preliminary なスクリーニングによって転写因子 SOX11 が関節形成マーカー GDF5 などの転写活性を上げることを突き止めた。

2. 研究の目的

関節形成における SOX11 の機能解析を中心に、関節形成の分子制御機構の解明を目指した。

3. 研究の方法

マウス胚をベースに関節形成に伴う遺伝子発現様式を Sox11 を中心に解析した。機能解析については、未分化間葉系細胞株 C3H10T1/2 を用いて検討した。転写解析にはルシフェラーゼアッセイ、EMSA、クロマチン IP アッセイなどを行った。

4. 研究成果

SOX11 の発現パターンについてマウス発生過程において経時的に解析した。まず胎生 11.5-12.5 日のマウス胚において whole mount in situ hybridization を行ったところ、未分化間葉系細胞の凝集部位もしくは未分化軟骨細胞の部位に局所的な強い発現がみられた。続けて組織切片において in situ hybridization を行ったところ、成長とともに SOX11 は関節形成部分に限局して発現するが、関節が形成された後は成熟するにかけて発現は漸減していくことが分かった。次に SOX11 の転写標的として関節マーカー遺伝子、軟骨基質遺伝子、軟骨内骨化関連遺伝子、軟骨変性関連遺伝子などを広く検討した。SOX11 は GDF5、WNT9A などの関節マーカー遺伝子だけでなく、2 型コラーゲンやアグリカンなどの軟骨全般に発現する基質タンパクを広く誘導することが分かり、それぞれの遺伝子について転写解析を行って応答領域を同定することができた。反対に軟骨内骨化関連遺伝子や軟骨変性関連遺伝子については発現を抑制する傾向があることが分かったが、その詳細なメカニズムについては解明できなかった。軟骨基質誘導について SOX9 など既知の分子との協調性があるかどうか検証したが、相加的な効果にとどまり直接の関連はないことが分かった。またルブリシンの

ど関節軟骨の成熟とともに発現が増す遺伝子についても検証したが、SOX11 はこれらの誘導には深い関係はなく、関節軟骨の発生過程については関与していても、その維持については関与していないと考えられる。

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 7 件) 全て査読あり

1. Muraki S, Kawaguchi H, et al. Incidence and risk factors for radiographic knee osteoarthritis and knee pain in Japanese men and women: A longitudinal population-based cohort study. *Arthritis Rheum* E-pub 2012.
2. Hirata M, Kawaguchi H, et al. C/EBP β and RUNX2 cooperate to degrade cartilage with MMP-13 as the target and HIF-2 α as the inducer in chondrocytes. *Hum Mol Genet* 21:1111,2012.
3. Fukai A, Kawaguchi H, et al. Lack of a chondroprotective effect of cyclooxygenase 2 inhibition in a surgically induced model of osteoarthritis in mice. *Arthritis Rheum* 64:198,2012.
4. Katagiri D, Matsubara T, et al. Combination of two urinary biomarkers predicts acute kidney injury after adult cardiac surgery. *Ann Thorac Surg.* 93:577,2012.
5. Ogata N, Kawaguchi H, et al. G alpha(q) signal in osteoblasts is inhibitory to the osteoanabolic action of parathyroid hormone. *J Biol Chem* 286:13733,2011.
6. Ogura K, Kawano H, et al. Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy with modified mesna, adriamycin, ifosfamide, and decarbazine (MAID) regimen for adult high-grade non-small round cell soft tissue sarcomas. *Int J Clin Oncol.* E-pub 2011.
7. Saito T, Kawaguchi H, et al. Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF-2 α during skeletal growth and osteoarthritis development. *Nat Med.* 16:678,2010.

[学会発表] (計 3 件)

1. Hirata M, Kawaguchi H, et al. C/EBP β and RUNX2 Cooperatively Control Cartilage Degradation with MMP-13 as the Target and HIF-2 α as the Inducer in Chondrocytes The American Society for Bone and Mineral Research(ASBMR) 2011.9.17 San Diego, USA
2. Itoh S, Kawaguchi H, et al. Functional Redundancy of GSK-3 α and GSK-3 β to Control Chondrocyte Differentiation through Phosphorylation of RelA/NF- κ B p65 Osteoarthritis Research Society International(OARSI) 2011.9.16 San Diego, USA
3. Kobayashi H, Kawaguchi H, et al. Transcriptional induction of ADAMTS5 by NF- κ B family member RelA/p65 in chondrocytes during osteoarthritis development International Osteoporosis Federation / Australian and New Zealand Bone & Mineral Society(IOF/ANZBMS) 2011.9.7 Gold coast (AUS)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.u-tokyo-ortho.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原 全宏 (MATSUBARA TAKEHIRO)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：40361498

(2) 研究分担者

河野 博隆 (KAWANO HIROTAKA)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20345218

川口 浩 (KAWAGUCHI HIROSHI)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：40282660

池田 敏之 (IKEDA TOSHIYUKI)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号：80322759
(H21)

大隈 知威 (OOKUMA TOMOTAKE)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90534909

(H21-22)

(3) 連携研究者

特になし