

解禁日時:平成 28 年 8 月 16 日(火)午後 6 時(日本時間)

プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人
東京医科歯科大学

報道関係各位

平成 28 年 8 月 15 日
国立大学法人 東京医科歯科大学

「椎間板線維輪の恒常性を維持する遺伝子とその分子メカニズムの解明」 — 椎間板の再生医療への応用が期待 —

【ポイント】

- 椎間板の構造と機能に重要な椎間板線維輪の形成に必要な遺伝子とその分子メカニズムを、遺伝子改変マウスを用いて解明しました。
- 椎間板線維輪形成に必要な遺伝子を間葉系幹細胞に導入して椎間板線維輪形成細胞を誘導し、損傷されたマウスの椎間板線維輪組織の修復を行うことができました。
- 椎間板の再生医療への応用が期待されます。

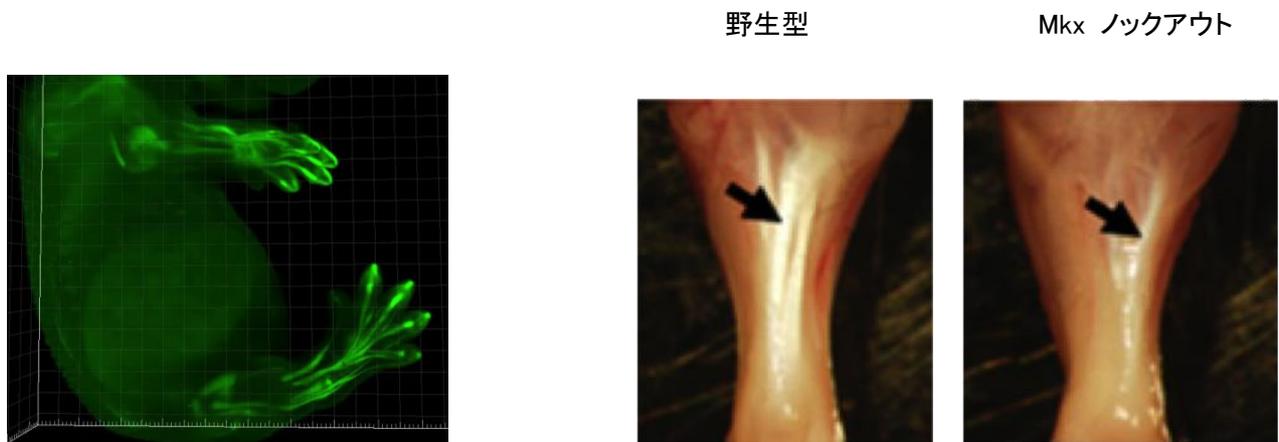
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム発生・再生医学分野の浅原弘嗣教授、中道亮特別研究生、伊藤義晃助教らの研究グループは、岡山大学整形外科学講座、国立成育医療研究センター研究所、東海大学医学部、米国スクリプス研究所、米国カリフォルニア大学サンディエゴ校、との共同研究で、椎間板線維輪を構成するコラーゲン組織の形成に必須な遺伝子を発見しました。この研究は国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) の戦略的創造研究推進事業 (CREST) ならびに米国国立衛生研究所 (NIH, NIAMS) の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 Nature communications に、2016 年 8 月 16 日午前 10 時 (英国時間) にオンライン版が発表されます。

【研究の背景】

脊椎椎間板ヘルニアを始めとした椎間板の病気が引き起こす腰痛、下肢痛は日常生活の質を大きく低下させます。消炎鎮痛剤の内服やブロック注射などの治療は長期の通院が必要になります。また手術では脊髄神経を圧迫している椎間板を除去することが一般的ですが、この治療法では椎間板変性、もしくは変形性脊椎症への進行を予防することはできません。そこで壊れた椎間板を修復する治療法が望まれますが、これは現時点において、まだ実現していません。特に椎間板の外壁をなす線維輪は、その発生や再生メカニズムは不明な点が多く、基礎研究レベルの発展が必要です。

以前、当研究室では腱・靭帯特異的遺伝子 Mohawk (*Mkx*) を発見し、報告しています (図1)。この *Mkx* 遺伝

子は腱を構成するI型コラーゲンや腱線維を繋ぐプロテオグリカンの産生に必須な遺伝子です。そして *Mkx* ノックアウトマウスを作成した結果、腱・靭帯の菲薄化が確認されています(図2)。

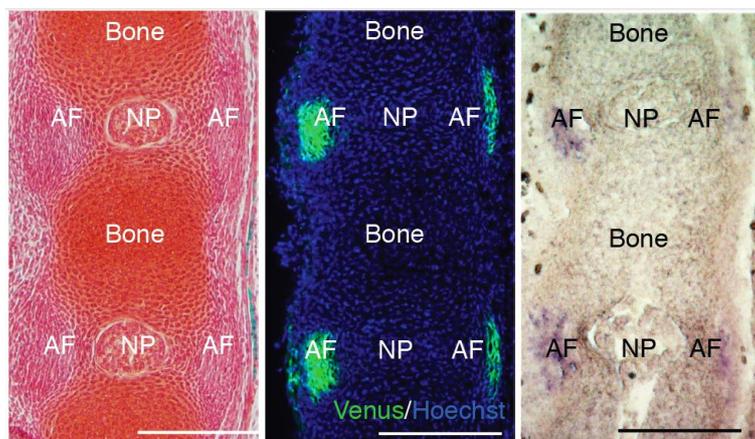


【図1】左図: *Mkx*-GFPの発現がマウス胚の腱で確認され、右図: *Mkx* ノックアウトマウスでアキレス腱の低形成が認められました (Ito et al., 2010)

椎間板線維輪もまた、椎骨と椎骨をつなぎ互いの安定性に寄与する靭帯に似た働きをしています。また主要な構成要素も靭帯と同様に I 型コラーゲンであることから、私達は *Mkx* が椎間板に与える影響についてこれまで研究を行ってきました。

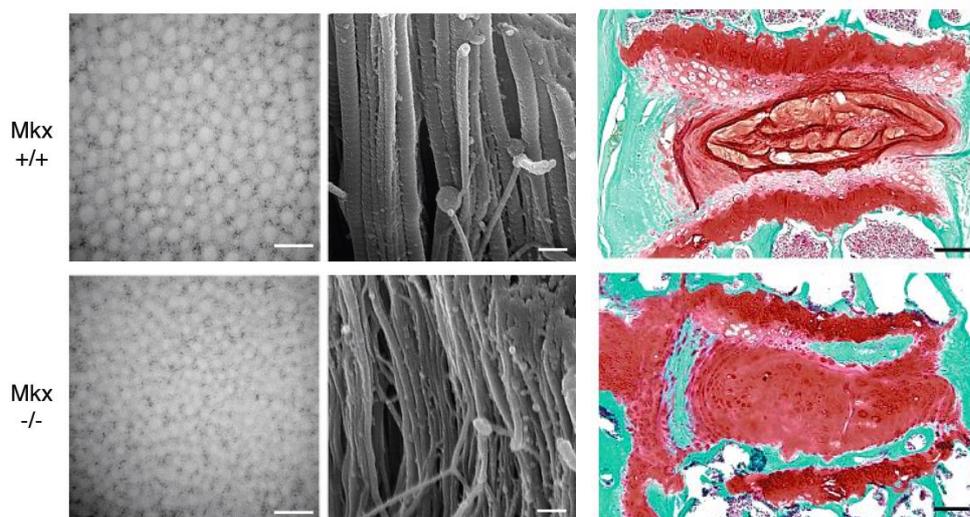
【研究成果の概要】

本研究では、転写因子*Mkx*がマウスの椎間板の繊維輪外輪やヒトの椎間板においても線維輪外輪に強く発現することを見出しました(図2)。



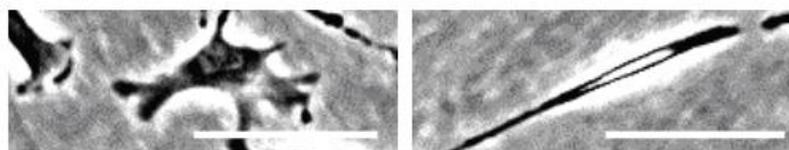
【図2】*Mkx*の発現部位(中央図の緑と右図の紫が*Mkx*の発現箇所)。線維輪外輪で発現しています。

Mkxノックアウトマウスを用いた解析では、ノックアウトマウスの椎間板線維輪外輪のコラーゲン細線維径が小さいことが確認されました。また、野生型と比べてノックアウトマウスは加齢に伴い徐々に椎間板変性が進行することも分かり、力学的に脆弱な線維輪組織が形成されていることが確認されました(図4)。

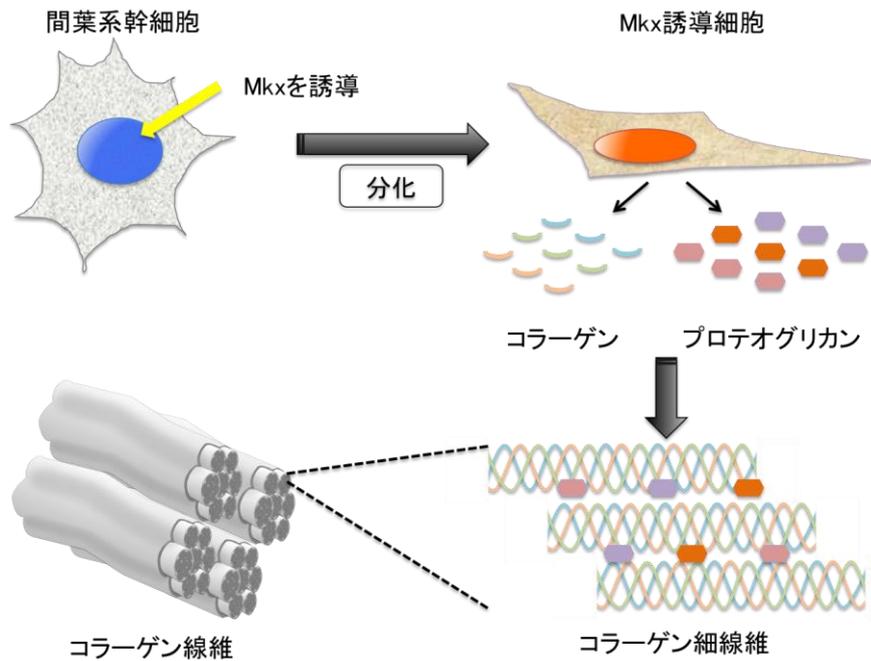


【図3】左図がコラーゲン細線維の電子顕微鏡像、右図が腰椎椎間板の組織染色像。Mkxノックアウトマウスでは線維輪のコラーゲン細線維の径が小さく、また加齢に伴い椎間板の変性が生じます。

上記までの結果から、Mkxは椎間板線維輪の組織形成に重要な役割を持つことが分かりました。そこでMkxの細胞分化における役割を調査したところ、マウス胚由来の間葉系幹細胞であるC3H10T1/2にMkxを導入した細胞は形態が紡錘形に変化し、種々の腱・靭帯関連遺伝子の発現の上昇が認められ、I型コラーゲンを生成するようになりました(図4)。このことから、Mkxは間葉系幹細胞を、線維輪外輪組織を形成する能力をもった細胞へと誘導する力があることが分かりました(図5)。

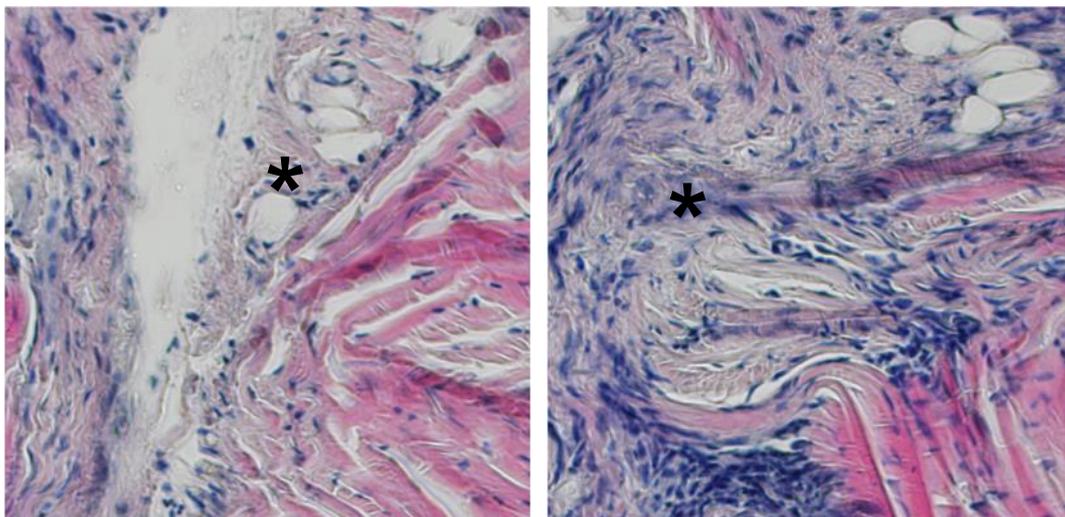


【図4】 右がMkxを導入したC3H10T1/2。左が対照群。Mkxを導入することで細胞形態が紡錘形に変化します。

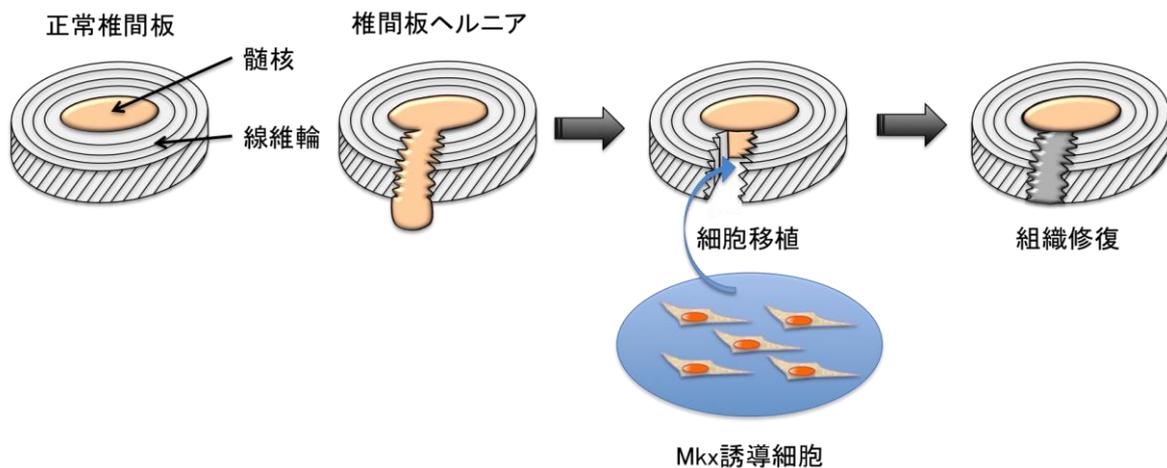


【図5】 Mxkは間葉系幹細胞を、I型コラーゲン線維を生成する細胞へと変化させます。

またこの細胞はマウス椎間板変性モデルの椎間板線維輪内に移植すると、そこに豊富なI型コラーゲン線維を形成し、健全組織に近い物性をもつことも確認されました(図6)。以上の結果から、Mxkで誘導された細胞を用いることで、傷んだ線維輪組織を修復できる可能性を示唆することができました(図7)。



【図6】 右がMxkを導入したC3H10T1/2を椎間板に移植してできた組織。左が対照群。*が新生組織を示しています。Mxkを導入することで、豊富な組織を生成するようになることが分かります。



【図7】例えば椎間板ヘルニアにおいて損傷した線維輪組織内に細胞移植を行い、組織修復を促すことができる可能性が考えられます。

【研究成果の意義】

本研究において、Mkx は椎間板線維輪外輪の形成に重要な因子であることが明らかになりました。またこれまで困難とされてきた椎間板線維輪の再生の可能性を、転写因子と間葉系幹細胞を組み合わせることで示すことができた研究は世界で初めてです。多くの患者が存在する椎間板ヘルニアや椎間板変性症、さらに進行した変形性脊椎症に対し、この結果を応用することで椎間板再生という新しい治療が開発されることが期待されます。

1. Nakamichi R, *et al.* (2016) Mohawk promotes the maintenance and regeneration of the outer annulus fibrosus of intervertebral discs. *Nat Commun.*
2. Ito Y, *et al.* (2010) The Mohawk homeobox gene is a critical regulator of tendon differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(23):10538-10542.

【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

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 浅原弘嗣(アサハラ ヒロシ)
TEL:03-5803- 5015 FAX:03-5803- 5810
E-mail: asahara.syst@tmd.ac.jp

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 広報部広報課
〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45
TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272
E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp