

---

第 278 回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2013 年 7 月 19 日(金) 18 時 00 分~19 時 00 分

場 所: 実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者: 中村 幸雄 氏 (信州大学医学部整形外科・助教)

タイトル: [microRNA140 とそのホスト遺伝子 Wwp2 の機能解析](#)

microRNAs は長さ 21-23 塩基程度のノンコーディング RNA 分子群であり、Dicer と Drosha という 2 つの主要酵素によって処理され、RNA-Induced Silencing Complex (RISC) 複合体を形成しその機能を発揮する。過去に Dicer が骨格発生・形成に大変重要であるという報告があり、Dicer により処理される microRNAs も骨格発生・形成に重要であるといえる。今回、マウス肋軟骨を用いたマイクロアレイにより、軟骨特異的に発現する microRNA140 (miR-140) を同定した。miR-140 は、ゼブラフィッシュおよびマウスにおける *in situ hybridization* 法により軟骨特異的な発現を示したため、軟骨の発生・形成に重要な役割を果たすと仮定し、ノックアウトマウス (KO) を作成した。結果、miR-140 KO は四肢の骨格形成不全を示した。その組織学的メカニズムとして、肥大軟骨細胞の分化を制御することにより骨格発生・形成を制御することを見出した。次に RISC の主要コンポーネントである Argonaute2 を用いた免疫沈降法により、miR-140 の下流因子として Dnpep 酵素を同定し、ゼブラフィッシュを用いて Dnpep が骨格の発生・形成に必須な骨形成蛋白質 (BMP) シグナルを制御することを明らかにした。さらに miR-140 の軟骨における直接的な上流因子として Sox9 を同定した。以上より、miR-140 は四肢の骨格形成に必須であり、下流因子 Dnpep と BMP シグナルの制御、肥大軟骨細胞の分化制御、により軟骨発生・形成に重要な役割を果たすことが示された。

miR-140 は E3 ユビキチンリガーゼである Wwp2 遺伝子のイントロン上に存在する。*in situ hybridization* 法を行うと、miR-140 同様に、Wwp2 はマウスおよびゼブラフィッシュにおいて軟骨特異的な発現を示した。また、Wwp2 は Sox9 の直接的ターゲットであること、Mediator 複合体の構成成分である Mediator25 と相互作用すること、Wwp2、Mediator25、Sox9 は複合体を形成しながら Sox9 の転写活性を亢進すること、を明らかにした。ゼブラフィッシュにおいて Wwp2 あるいは Mediator25 の遺伝子ノックダウンを行うと口蓋奇形を引き起こした。この現象は Sox9 変異体と類似する。以上より、軟骨において Wwp2 は Sox9 の直接的な下流因子であり Mediator25 と複合体を形成しながら Sox9 を核内移行することによりその転写活性をあげることを示し、さらに miR-140 および Wwp2 は Sox9 の下流因子として口蓋発生・形成に重要な役割を果たしている事実を明らかにした。