

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成 22 年度採択研究代表者

H25年度
実績報告

浅原 弘嗣

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
教授

RNA 階層における炎症の時間軸制御機構の解明

§1. 研究実施体制

(1)「浅原」グループ(研究機関別)

- ① 研究代表者:浅原 弘嗣(東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・炎症の時間軸及び疾患特異的な miRNA の網羅的な同定
 - ・miRNA のターゲットの同定
 - ・miRNA の発現制御機構の解明
 - ・miRNA 非依存的な転写後調節機構

(2)「高田」グループ(研究機関別)

- ① 主たる共同研究者:高田 修治
(独立行政法人国立成育医療センター研究所 システム発生・再生医学研究部、部長)
- ② 研究項目
 - ・炎症の時間軸及び疾患特異的な miRNA の網羅的な同定

§2. 研究実施の概要

慢性炎症の分子メカニズムを解明する新たな切り口として、本研究では、miRNA および RNA 結合タンパク質による RNA レベルでの炎症制御機構に注目し、複数の研究手法を導入あるいは新たに構築し、それらを組み合わせることで、今まで解析が困難であった炎症性 RNA の機能をゲノムワイドに解析し、個体レベルでの検証、ヒト検体を用いた解析により関節リウマチを中心とした慢性炎症疾患の新たな診断および治療標的を明らかにすることを目標としている。

今年度は、関節リウマチ (RA) および変形性関節症 (OA) 滑膜組織由来 RNA を使用した次世代シーケンシングの結果から、これまでに報告のない複数の新規 miRNA を同定した。このうち 1 種類では RA 滑膜において発現が有意に高いことが示された。また、miRNA における RNA 編集 (A to I エディティング) に関する解析を行った結果、過去に報告のあるエディティングと、これまでに報告のない新規エディティング候補が検出された。また、ルシフェラーゼ遺伝子の 3'UTR 内に遺伝子ライブラリーから cDNA 配列を組み込んだレポーターライブラリーを用いた、miRNA および RNA 結合タンパク質の標的遺伝子をスクリーニングするシステムを構築し、miRNA および RNA 結合タンパク質の標的スクリーニングを行った結果、それぞれ既知の標的遺伝子と新規の標的遺伝子を同定できた。また、慢性炎症において重要な炎症性サイトカインの発現を mRNA レベルで制御する新たな遺伝子候補を同定した。この遺伝子のトラスジェニックマウスを用い、多発性硬化症 (MS) のマウスモデル experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) を誘導した場合、炎症が遷延化される可能性が示され、慢性炎症との関係が示唆された。また、ゲノム編集技術を利用したノックアウトマウス作製技術の開発を行い⁽¹⁾、ノックアウトマウス作製効率を向上させることに成功した。この技術を用いて、上述の炎症性サイトカインを制御する RNA 結合タンパク質のノックアウトマウスを作製することに成功し、現在本ノックアウトマウスの解析を行っている。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

* 1. Takada S, Sato T, Ito Y, Yamashita S, Kato T, Kawasumi M, Kanai-Azuma M, Igarashi A, Kato T, Tamano M, * Asahara H. Targeted gene deletion of miRNAs in mice by TALEN system, PLOS One, 8(10):e76004, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0076004)

2. Takasawa K, Kashimada K, Pelosi E, Takagi M, Morio T, Asahara H, Schlessinger D, Mizutani S, Koopman P. FOXL2 transcriptionally represses Sf1 expression by antagonizing WT1 during ovarian development in mice. FASEB J, 2014 (DOI:10.1096/fj.13-246108)

3. Onizuka N, Ito Y, Inagawa M, Nakahara H, Takada S, Lotz MK, Toyama Y, *Asahara H. The Mohawk homeobox transcription factor regulates the differentiation of tendons and volar plates. J Orthop Science, 19(1):172-80, 2014 (DOI: 10.1007/s00776-013-0485-z)

4. Kato T, Miyata K, Sonobe M, Yamashita S, Tamano M, Miura K, Kanai Y, Miyamoto S, Sakuma T, Yamamoto T, Inui M, Kikusui T, *Asahara H, and *Takada S. Production of Sry knockout mouse using TALEN via oocyte injection. Scientific Rep. 5(3)3136, 2013 (DOI: 10.1038/srep03136)

5. Yoshitaka T, Kawai A, Miyaki S, Numoto K, Kikuta K, Ozaki T, Lotz M, *Asahara H. Analysis of microRNAs expressions in chondrosarcoma. J Orthop Res. 31(12):1992-8, 2013 (DOI : 10.1002/jor.22457)

6. Nakahara H, Hasegawa A, Otabe K, Ayabe F, Matsukawa T, Onizuka N, Ito Y, Ozaki T, Lotz MK, *Asahara H. Transcription factor mohawk and the pathogenesis of human anterior cruciate ligament degradation. Arthritis Rheum. 65(8):2081-9, 2013 (DOI: 10.1002/art.38020)