

转录因子SCX和MKX在肌腱发育和分化中的研究进展

吴震¹ 张子旺² 王晓艾³ 郑莉灵² 吴芳^{3*}

(¹浙江省立同德医院, 杭州 310012; ²浙江大学医学院, 杭州 310058; ³浙江大学医学院附属儿童医院, 杭州 310003)

摘要 肌腱损伤是临床的常见病之一, 其愈合后易发生黏连而影响肌腱功能, 因此, 有效地改善和促进愈合、恢复肌腱功能成为亟待解决的主要问题。为求在根源上找到解决问题的方法, 众多学者对肌腱发育的机制进行了大量的研究, 发现了肌腱发育和分化的关键转录因子Scleraxis(SCX)和Mohawk(MKX)。为了更好地了解肌腱发育机制, 该文主要对转录因子SCX和MKX的发现、在肌腱中的分布和功能以及参与的信号通路等方面进行了阐述。

关键词 转录因子; SCX; MKX; FGFs信号通路; TGF β 信号通路

Transcription Factors SCX and MKX Research Progress in Tendon Development and Differentiation

Wu Zhen¹, Zhang Ziwan², Wang Xiaoi³, Zheng Liling², Wu Fang^{3*}

(¹Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China; ²Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China; ³The Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China)

Abstract Tendon injury is one of common clinical diseases. It is very easily to do harm to tendon function due to the adhesion. Thus, the effective improvement and promotion of healing and recovering of tendon function become main problems to be solved. In order to find the methods to solve the problem at the source, many scholars on tendon development mechanism carried out a large amount of research, finding that the key transcription factors of tendon development and differentiation are SCX (Scleraxis) and MKX (Mohawk). In order to have a better understanding about the tendon development mechanism, this paper mainly introduce the discovery of transcription factor SCX and MKX along with their function, signaling pathways and some other aspects involved in the tendon.

Keywords transcription factor; SCX; MKX; FGFs signaling pathway; TGF β signaling pathway

1 转录因子SCX和MKX的发现

肌腱是由平行排列的致密胶原蛋白纤维束构成的柔软的连接组织, 在骨骼肌系统中起着重要的作用, 通过传导骨与肌肉之间的应力促使关节活动或维持其稳定性。由于肌腱在人体内持续并反复承

受机械负荷, 因此极易受损。肌腱损伤分急性损伤和慢性损伤。撕裂伤和离断伤是两种常见的急性肌腱损伤, 多发生在运动中。慢性损伤则被称作肌腱病。然而, 大多数肌腱损伤治疗效果不佳, 已成为目前骨科和运动医学领域最具挑战性的疾病之一。究

收稿日期: 2016-03-20 接受日期: 2016-10-10

国家自然科学基金(批准号: 31201017)和浙江省科技创新团队(批准号: 2013TD11)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13819104508, E-mail: Tracy7405@hotmail.com

Received: March 20, 2016 Accepted: October 10, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31201017) and the Key Scientific and Technological Innovation Team of Zhejiang Province (Grant No.2013TD11)

*Corresponding author. Tel: +86-13819104508, E-mail: Tracy7405@hotmail.com

网络出版时间: 2016-12-26 15:42:49

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161226.1542.004.html>

其原因主要在于临床医师对肌腱发育及分化的机制了解不够深入。因此,众多学者对肌腱发育的机制进行了大量研究,从而发现了肌腱发育和分化中的关键转录因子Scleraxis(SCX)和Mohawk(MKX)。

1.1 转录因子SCX的发现

Hu等^[1]报道, bHLH(basic Helix-Loop-Helix)家族中转录因子对细胞分化、细胞增殖以及肿瘤的生成非常重要。bHLH结构域由两个螺旋构成环状结构。bHLH蛋白能与保守序列E-box结合形成异型二聚体,从而促进基因的转录。根据异二聚体的特异性、优先结合DNA以及表达方式等, Burgess等^[2]将bHLH蛋白分为2大类。其中,一类bHLH蛋白包括E12、E47、HEB等;另一类bHLH蛋白主要是肌生成调控因子如MyoD1(myogenic differentiation 1)、myogenin、Myf5(myogenic factor 5)、MRF4(myogenic regulatory factor 4)等^[3]。1995年, Cserjesi等^[4]应用酵母杂交实验筛选出一个新型的bHLH蛋白。这个新型的bHLH蛋白能够和E12形成异二聚体,该蛋白被称为Scleraxis(SCX)。SCX是I型bHLH家族中的成员^[5],与E12、E47蛋白的保守序列E-box结合形成异型二聚体^[6],激活与它结合的DNA的转录^[7-8]。

1.2 转录因子MKX的发现

Carroll等^[9]报道,具有同源异型框的基因组成的转录因子超家族,调控着胚胎组织的空间构成、细胞特性以及组织发育的细胞增殖和分化。典型的同源异型结构域基因大小为180 bp的核苷酸序列,可编码60个氨基酸,由3个螺旋构成,其中前2个 α 螺旋位于同一条直线上,另外1个 α 螺旋与前2个 α 螺旋形成一定的角度,从而使DNA结合上去^[10-13]。2006年, Douglas等^[10]在小鼠胚胎中发现了一种353个氨基酸组成的新蛋白Mohawk(MKX)。这个蛋白属于TALE(transcription activator-like effectors)超家族中非典型同源异型框的成员^[11-14]。van Tuyl等^[15]在同一年报道另一种非典型的Irx(Iroquois homeobox)同源异型结构域的蛋白Irx11(Iroquois homeobox-like 1),它是脊椎动物Irx亚族的成员,高度保守,不具备Irx家族典型的IRO盒(C-端区域高保守的acidic motif)^[16]。后续研究证实, MKX与Irx11为同一种蛋白^[17]。

2 SCX和MKX在肌腱中的分布和功能

2.1 SCX在肌腱中的分布和功能

Schweitzer等^[6]发现,在胚胎发育到E9.5~E10.5

天时, SCX阳性的肌腱祖细胞出现在体节的生骨节和早期肢体胚芽proximo-medial的间充质干细胞。Cserjesi等^[4]发现,在体轴间充质干细胞的前体细胞以及四肢、颅骨中形成肌腱、韧带、支气管的软骨中SCX表达上调。但是,在间充质干细胞向软骨组织发育时, SCX的表达量明显降低^[4]。肢体肌腱发育过程中,肢体中外胚层分泌FGF(fibroblast growth factor)等生长因子诱导SCX阳性的肌腱祖细胞产生,但是肢芽周围区域BMP信号途径抑制这一过程。在肢芽周围区域加入抑制剂Noggin可抑制BMP信号,从而诱导细胞中SCX的表达,但是肌腱没有增加^[18]。这表明, SCX不是唯一的调控肌腱生成的转录因子,应该还有其他因子的参与。

一直以来, SCX的功能一直无法弄清楚,主要是因为纯合子的基因敲除小鼠在胚胎早期死亡,原肠胚停滞生长,中胚层无法形成或者中胚层的标记蛋白表达缺陷^[6]。近年来, Nicholas等^[19]发现,等位基因SCX缺失的小鼠可存活,肌腱严重受损,体现在四肢运动迟缓,尾部无法摆动。这说明,肌腱分化和形成受到抑制。但是, SCX并不是对所有的肌腱具有相同的影响。起传递力学的肌腱以及肌肉间的肌腱受到了不同程度的影响,但是起锚定作用的肌腱不受影响,并保持功能^[19]。这表明, SCX参与肌腱祖细胞聚集以及肌腱分化。此外,在SCX缺失的突变体中,肌腱的基质减少,并且发生紊乱,严重时肌腱细胞或者腱内膜细胞解体。这说明, SCX不仅影响着肌腱祖细胞的发育,还影响着肌腱细胞外的基质。

2.2 MKX在肌腱中的分布以及功能

Douglas等^[10]发现,在老鼠的发育中, MKX基因在体节的祖细胞系中转录。在E9.0天, MKX在体节的背中线前部分和末梢部分以及腹外侧的生皮肌节中开始表达。位于背中线区域的MKX转录需要转录因子paraxis的参与。随着体节的成熟, MKX的转录主要在特定的肌腱连接区域以及生骨节中聚集的间充质干细胞。譬如,在指骨的背部和腹部中, MKX的表达与肌腱发育相一致。肾脏后方的输尿管顶芽以及睾丸性腺中存在MKX,表明MKX调控脊椎动物的发育。

E12.5天,体节生骨节中出现SCX阳性肌腱祖细胞,有少量的MKX表达。在E13.4~E14.5天,肌腱细胞聚集以及开始分化阶段,肌腱中MKX大量表达。小鼠出生后, MKX的表达量明显下降,但是在四肢

和尾部的肌腱鞘细胞中表达量较高^[17,20]。

为研究MKX的功能,研究者构建了MKX缺失小鼠。Liu等^[17]发现, MKX缺失小鼠可存活, 并且有生育能力, 小鼠尾部呈波浪形。与野生型相比, 突变小鼠的肌腱有发育不良、灵活度下降等改变。在胚胎期, 胶原纤维生长正常, 但是出生后变小。E16.5天时, 肌腱开始发育不全, 肌肉和骨骼体积和重量正常并且软骨、肌腱和肌肉在胚胎早期中的标记蛋白没有发生变化。此外, 肌腱总胶原含量和力学性能下降^[17,20]。这表明, MKX参与肌腱的成熟, 从而对肌腱分化非常重要。

3 SCX和MKX在肌腱发育中的信号通路

3.1 SCX在肌腱发育中的信号通路

研究表明, FGFS家族和TGFβ家族对中胚层的形成非常重要。这两个家族包括BMPS、nodal和activin等成员^[21-22]。Nishimura等^[22]报道, FGFS和TGFβ协同作用能促使中胚层的形成以及在中胚层形成的区域表达。其中, BMP对外胚层细胞的增殖和中胚层的分化很重要。Kawa-uchi等^[23]发现, 在软骨细胞TC6中, BMP和TGFβ能够上调SCX, 这一结果和体内研究有所不同。

3.1.1 FGF信号通路与SCX调控机制 研究表明, 在E6.5天(即原肠胚形成期), FGFS和TGFβ或者相关分子BMP激活中胚层细胞分化。在原肠胚形成期, SCX在内胚层和外胚层中表达, 生骨节诱导产生肌腱祖细胞, Pax1阳性的细胞减少, 激活了FGF信号通路^[24]。FGF信号通路诱导体节中SCX的表达, Pax1在体节中持续表达, 但是在腹外侧和背中线的体节中下调。在老鼠和小鸡的生骨节中, SHH诱导Pax1的表达。过表达Pax1能够抑制SCX的表达, 同样, 持续表达SHH也抑制SCX的表达。但是, 在SCX阳性的生骨节细胞中, FGF下调Pax1的表达^[25]。因此, 生骨节中, SHH可能通过Pax1抑制了SCX的表达。

肌节中心细胞发出FGF信号被含有FREK蛋白的细胞接受, 然后依次激活毗邻含有FREK肌节的生骨节细胞中的SCX的表达。SCX表达的部位主要是前部和后部的背部生骨节。研究进一步表明, FGF8与SCX同时表达在背部的生骨节。Ets转录因子有Pea3和Erm, 是FGF的效应蛋白。它们对FGF信号作出应答, 促使SCX在体节中表达^[25-26], 说明Pea3和Erm蛋白的表达调控SCX阳性肌腱祖细胞的生成。

致使产生SCX的FGF受体有两类: 一类是Fgfr1蛋白, 在体节中持续表达, 它的功能是使SCX蛋白在肌节中减少, 在体节中上升; 另一类受体是Frek/Fgfr4蛋白, 调控肌节前部和后部SCX的表达^[25-26]。

FGFs通过作用于MAPK信号通路, 转运cascade和ERK1/2, 从而激活背部生骨节中的间充质干细胞的表达。同时, 在体节发育中, 磷酸化的ERK对SCX和MKP3的表达是必需的。MKP3是ERK的拮抗剂并且MKP3的转录依赖于ERK的激活。因此, 在背部生骨节的FGF信号通路被MKP3、ERK MAP激酶负反馈调控^[27]。通过控制ERK信号, 增强MKP3的表达, 调控下游SCX的活性。该研究进一步表明, 增强或者减弱磷酸化ERK的水平都能够降低SCX的转录^[27]。

体节形成后不久, 在肌节的肌肉祖细胞中表达myf5和Myod, 从而激活肌节中心的FGFs(包括FGF4、FGF6等)^[28]。FGF进一步传递信号给生骨节的间充质干细胞, 促使背外侧以及后部生骨节出现SCX阳性肌腱祖细胞^[28]。同时, 背外侧生骨节也存在SOX阳性软骨祖细胞的出现。SOX9阳性的软骨祖细胞激活SOX5、SOX6表达, 这些是软骨形成所必需的。SOX5/SOX6的突变体中, 软骨发育缺陷, 导致体节肌腱祖细胞数目增加。在SOX9阳性的间充质干细胞表达肌腱标记蛋白, 但是SOX9的表达正常^[29-30]。因此, 背外侧的间充质干细胞通过体轴肌腱或者软骨途径分化。SOX5、SOX6抑制SCX的表达, 从而促使软骨生成。

3.1.2 TGFβ信号通路与SCX调控机制 TGFβ信号通路对肌腱和韧带的形成很重要。TGFβ信号诱导肌腱早期标记SCX表达。在Tgfb2^{-/-}和Tgfb3^{-/-}双重突变的小鼠胚胎或者失活II型TGFβ的受体TGFBR2小鼠中, TGFβ信号受到破坏, 使得小鼠四肢、躯干、尾部以及头部肌腱和韧带严重受损^[31-32]。由此可见, TGFβ对于肌腱细胞的维持非常重要。TGFβ2和TGFβ3由肌腱、肌肉、软骨的祖细胞分泌。TGFβ刺激中胚层细胞从而促进了肌腱的分化, 抑制了软骨的发育。TGFβ通过激活Smad信号通路下调SOX9和Aggrecan, SCX和TNMD的表达量上升。具体来说, 就是TGFβ与I型或II型受体结合形成杂聚肽复合物, 从而磷酸化Smad2和Samd3, 激活的pSamd与Samd4结合转运到细胞核内, 从而调控基因表达^[30]。因此, TGFβ-SCX调控着早期肌腱发育。

3.1.3 SCX的下游分子 成熟的肌腱由大量的胞

外基质组成,胞外基质由胶原纤维和蛋白聚糖构成。Léjard等^[33]发现,SCX等位基因缺失的小鼠,I型胶原表达量显著下降,但没有消失。在肌腱细胞中SCX和NFATc调控着I型胶原的表达。COL1a1基因的启动子上有TSE1和TSE2这2个元件。反式作用因子可以和TSE1和TSE2结合。Léjard等还发现,SCX能够结合TSE2元件,从而与SCX和E47形成异型二聚体。过表达SCX和E47时,增强报告子的活性,从而使报告子克隆复制4个TSE2元件。NFATc转录因子能够结合TSE1元件。NFATc基因主要在发育的四肢肌腱中表达。在TT-D6细胞中抑制NFATc入核,COL1a1表达减少^[33]。此外,Shukunami等^[34]的研究表明,SCX可以正向调控腱调蛋白TNMD的表达。腱调蛋白是II型跨膜糖蛋白,主要在肌腱和韧带以及骨骼肌的肌外膜中表达,是肌腱分化的特异性标记。在鸡骨骼肌肉体系发育的早期,SCX比腱调蛋白TNMD先表达,并且SCX促进TNMD的表达。这说明,多种胞外基质受SCX调控。

3.2 MKX在肌腱发育中的信号通路

由于MKX的发现较SCX晚,相比之下,调控MKX的上游信号通路并不是很清楚。但有研究发现,MKX能够调控肌腱胞外基质分子^[17-18]。MKX敲除的小鼠中,I型胶原蛋白表达明显下降。同时,调控胶原纤维生长的腱系分子decorin、fibriomodulin等显著降低。近期,欧阳宏伟研究组^[35]发现,在间充质干细胞中过表达MKX,促进转录因子SCX和细胞外基质分子的表达。进一步的研究发现,MKX可调控SCX的表达,即MKX可以与TGFβ2的启动子结合,促进其转录翻译。随之,TGFβ信号通路激活,SCX的表达升高,肌腱相关标记蛋白I型胶原蛋白,TNMD等表达上调,促进肌腱分化^[35]。这一发现大大推进了对MKX相关调控机制的理解。

4 SCX和MKX相互之间的关系

首先,SCX和MKX在敲除小鼠胚胎的蛋白表达情况。Liu等^[17]报道,MKX缺失小鼠E13.5~14.5天,即肌腱祖细胞聚集以及分化的阶段,SCX的mRNA水平以及SCX表达空间位置没有发生任何变化。肌腱祖细胞分化正常。这表明,在胚胎发育时期,MKX不能调控SCX的基因表达。同样,在SCX缺失小鼠中,MKX持续表达。这提示,这2个转录因子的表达可能不是相互依赖的。

其次,SCX和MKX在胚胎发育时的表达时期不同。在肌腱祖细胞中,SCX阳性细胞首先在E9.5天出现,紧接着在E12.5天的肌肉和骨骼系细胞中大量产生。在E12.5天,MKX在肌腱发育中才开始表达。在分化成熟的肌腱细胞中,SCX持续表达,但是MKX表达下调,因此,MKX调控早期肌腱分化。

再者,SCX和MKX敲除小鼠的表型不同。SCX缺失的小鼠部分或者全部肌腱减少,但是MKX缺失的小鼠肌腱总数下降,但是肌腱细胞数目没有变化。这表明,SCX对肌腱发育的起始阶段很重要,MKX对肌腱的成熟更重要。在MKX缺失小鼠中过表达SCX,I型胶原表达减少。这表明,除了SCX还存在其他的因子调控I型胶原的表达。SCX和MKX对肌腱的发育和分化非常重要。

最后,欧阳宏伟研究组^[35]发现,在体外小鼠间充质干细胞中过表达MKX促进转录因子SCX表达。进一步研究发现,MKX可调控SCX的表达,即MKX可与TGFβ2的启动子结合,促进其转录翻译。随之,TGFβ信号通路激活,SCX的表达升高。

5 展望

肌腱损伤是创伤外科常见的损伤之一,由于修复或移植术后几乎总是发生黏连,严重影响肌腱功能的恢复。如何有效地改善和促进愈合、恢复肌腱功能已成为临床医生急需解决的问题。因此,研究肌腱发育的机制,从根源上找到解决问题的方法就显得尤为重要。近几年的研究表明,转录因子SCX和MKX为参与肌腱发育和分化的关键转录因子。相关研究表明,在人类肌腱炎和跟腱损伤的组织样品中,MKX的蛋白表达量明显减少。同时,有学者发现,在损伤的前交叉韧带组织中,MKX阳性细胞明显下降,细胞外基质I型胶原也下调^[36-37],均提示MKX在维持正常肌腱生理功能以及再生中起重要作用。目前,针对2个转录因子还没有开展临床上的运用或是药物治疗。因此,对SCX和MKX相关调控机制的进一步理解才能够研发相关的靶向药物,为开发新的临床治疗手段提供理论基础。此外,目前人们利用小鼠敲降等技术手段已经明确了MKX和SCX如何在肌腱发育中的作用。以上提示我们,可以进一步尝试过表达等技术手段来人为干预受伤组织的SCX和MKX表达,为肌腱修复探索有效的方法。

参考文献 (References)

- 1 Hu JS, Olson EN, Kingston RE. HEB, a helix-loop-helix protein related to E2A and ITF2 that can modulate the DNA-binding ability of myogenic regulatory factors. *Mol Cell Biol* 1992; 12(3): 1031-42.
- 2 Burgess R, Cserjesi P, Ligon KL, Olson EN. Paraxis: A basic-helix-loop-helix protein expressed in paraxial mesoderm and developing somites. *Dev Biol* 1995; 168(2): 296-306.
- 3 King JA, Marker PC, Seung KJ, Kingsley DM. BMP5 and the molecular, skeletal, and soft-tissue alterations in short ear mice. *Dev Biol* 1994; 166(1): 112-22.
- 4 Cserjesi P, Brown D, Ligon KL, Lyons GE, Copeland NG, Gilbert DJ, *et al.* Scleraxis: A basic helix-loop-helix protein that prefigures skeletal formation during mouse embryogenesis. *Development* 1995; 121(4): 1099-110.
- 5 Carlberg AL, Tuan RS, Hall DJ. Regulation of scleraxis function by interaction with the bHLH protein E47. *Mol Cell Biol Res Commun* 2000; 3(2): 82-6.
- 6 Schweitzer R, Chyung JH, Murtaugh LC, Brent AE, Rosen V, Olson EN, *et al.* Analysis of the tendon cell fate using Scleraxis, a specific marker for tendons and ligaments. *Development* 2001; 128(19): 3855-66.
- 7 Furumatsu T, Shukunami C, Amemiya-Kudo M, Shimano H, Ozaki T. Scleraxis and E47 cooperatively regulate the Sox9-dependent transcription. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42(1): 148-56.
- 8 Olson EN, Brown D, Burgess R, Cserjesi P. A new subclass of helix-loop-helix transcription factors expressed in paraxial mesoderm and chondrogenic cell lineages. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 785: 108-18.
- 9 Carroll S, Grenier JK, Weatherbee SD. From DNA to diversity. London, UK: Blackwell Science, 2001.
- 10 Douglas MA, Arredondo J, Hahn K, Valente G, Martin JF, Wilson-Rawls J, *et al.* Mohawk is a novel homeobox gene expressed in the developing mouse embryo. *Dev Dyn* 2006; 235(3): 792-801.
- 11 Selleri L, Depew MJ, Jacobs Y, Chanda SK, Tsang KY, Cheah KS, *et al.* Requirement for Pbx1 in skeletal patterning and programming chondrocyte proliferation and differentiation. *Development* 2001; 128(18): 3543-57.
- 12 Brendolan A, Ferretti E, Salsi V, Moses K, Quaggin S, Blasi F, *et al.* A Pbx1-dependent genetic and transcriptional network regulates spleen ontogeny. *Development* 2005; 132(13): 3113-26.
- 13 Moens CB, Selleri L. Hox cofactors in vertebrate development. *Dev Biol* 2006; 291(2): 193-206.
- 14 DiIorio P, Alexa K, Choe SK, Etheridge L, Sagerström CG. TALE-family homeodomain proteins regulate endodermal sonic hedgehog expression and pattern the anterior endoderm. *Dev Biol* 2007; 304(1): 221-31.
- 15 van Tuyl M, Liu J, Groenman F, Ridsdale R, Han RN, Venkatesh V, *et al.* Iroquois genes in fluence proximo-distal morphogenesis during rat lung development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290(4): L777-89.
- 16 Takeuchi JK, Bruneau BG. Irx11, a divergent Iroquois homeobox family transcription factor gene. *Gene Expr Patterns* 2007; 7(1/2): 51-6.
- 17 Liu W, Watson SS, Lan Y, Keene DR, Ovitt CE, Liu H, *et al.* The atypical homeodomain transcription factor Mohawk controls tendon morphogenesis. *Mol Cell Biol* 2010; 30(20): 4797-807.
- 18 Ito Y, Toriuchi N, Yoshitaka T, Ueno-Kudoh H, Sato T, Yokoyama S, *et al.* The Mohawk homeobox gene is a critical regulator of tendon differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(23): 10538-42.
- 19 Murchison ND, Price BA, Conner DA, Keene DR, Olson EN, Tabin CJ, *et al.* Regulation of tendon differentiation by scleraxis distinguishes force-transmitting tendons from muscle-anchoring tendons. *Development* 2007; 134(14): 2697-708.
- 20 Kimura W, Machii M, Xue X, Sultana N, Hikosaka K, Sharkar MT, *et al.* Irx11 mutant mice show reduced tendon differentiation and no patterning defects in musculoskeletal system development. *Genesis* 2011; 49(1): 2-9.
- 21 Edom-Vovard F, Schuler B, Bonnin MA, Teillet MA, Duprez D. Fgf4 positively regulates scleraxis and tenascin in chick limb tendons. *Dev Biol* 2002; 247(2): 351-66.
- 22 Nishimura R, Hata K, Matsubara T, Wakabayashi M, Yoneda T. Regulation of bone and cartilage development by network between BMP signalling and transcription factors. *J Biochem* 2012; 151(3): 247-54.
- 23 Kawa-uchi T, Nifuji A, Mataga N, Olson EN, Bonaventure J, Liu Y, *et al.* Fibroblast growth factor downregulates expression of a basic helix-loop-helix-type transcription factor, scleraxis, in a chondrocyte-like cell line, TC6. *J Cell Biochem* 1998; 70(4): 468-77.
- 24 Liu Y, Cserjesi P, Nifuji A, Olson EN, Noda M. Sclerotome-related helix-loop-helix type transcription factor (scleraxis) mRNA is expressed in osteoblasts and its level is enhanced by type-beta transforming growth factor. *J Endocrinol* 1996; 151(3): 491-9.
- 25 Edom-Vovard F, Schuler B, Bonnin MA, Teillet MA, Duprez D. Fgf4 positively regulates scleraxis and tenascin in chick limb tendons. *Dev Biol* 2002; 247(2): 351-66.
- 26 Brent AE, Tabin CJ. FGF acts directly on the somitic tendon progenitors through the Ets transcription factors Pea3 and Erm to regulate scleraxis expression. *Development* 2004; 131(16): 3885-96.
- 27 Smith TG, Sweetman D, Patterson M, Keyse SM, Münsterberg A. Feedback interactions between MKP3 and ERK MAP kinase control scleraxis expression and the specification of rib progenitors in the developing chick somite. *Development* 2005; 132(6): 1305-14.
- 28 Giordani J, Bajard L, Demignon J, Daubas P, Buckingham M, Maire P. Six proteins regulate the activation of Myf5 expression in embryonic mouse limbs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(27): 11310-5.
- 29 Takigawa Y, Hata K, Muramatsu S, Amano K, Ono K, Wakabayashi M, *et al.* The transcription factor Znf219 regulates chondrocyte differentiation by assembling a transcription factory with Sox9. *J Cell Sci* 2010; 123(21): 3780-8.
- 30 Sugimoto Y, Takimoto A, Akiyama H, Kist R, Scherer G, Nakamura T, *et al.* Scx^{-/-}/Sox9⁺ progenitors contribute to the establishment of the junction between cartilage and tendon/ligament. *Development* 2013; 140(11): 2280-8.
- 31 Maeda T, Sakabe T, Sunaga A, Sakai K, Rivera AL, Keene DR, *et al.* Conversion of mechanical force into TGF-beta-mediated biochemical signals. *Curr Biol* 2011; 21(11): 933-41.
- 32 Pryce BA, Watson SS, Murchison ND, Staverosky JA, Dünker

- N, Schweitzer R. Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGFbeta signaling are essential for tendon formation. *Development* 2009; 136(8): 1351-61.
- 33 Léjard V, Brideau G, Blais F, Salingearboriboon R, Wagner G, Roehrl MH, *et al.* Scleraxis and NFATc regulate the expression of the Pro-1(I) collagen gene in tendon fibroblasts. *J Biol Chem* 2007; 282(24): 17665-75.
- 34 Shukunami C, Takimoto A, Oro M, Hiraki Y. Scleraxis positively regulates the expression of tenomodulin, a differentiation marker of tenocytes. *Dev Biol* 2006; 298(1): 234-47.
- 35 Liu H, Zhang C, Zhu S, Lu P, Zhu T, Gong X, *et al.* Mohawk promotes the tenogenesis of mesenchymal stem cells through activation of the TGFβ signaling pathway. *Stem Cells* 2015; 33(2): 443-55.
- 36 Murray MM. Current status and potential of primary ACL repair. *Clin Sports Med* 2009; 28(1): 51-61.
- 37 Brent AE, Braun T, Tabin CJ. Genetic analysis of interactions between the somitic muscle, cartilage and tendon cell lineages during mouse development. *Development* 2005; 132(3): 515-28.