

共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：大阪大学先端科学イノベーションセンター

職名：特任准教授

氏名：國府 力

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：骨格組織構築に關与する幹細胞群の移動と局在
2. 再生医科学研究所共同研究者：宿南 知佐
3. 研究期間： 短期研究課題 ・ ~~長期研究課題~~
(平成22年4月1日～平成23年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果：

平成22年度の短期共同研究課題では、まず、骨格系細胞（軟骨細胞と骨芽細胞）の前駆細胞が存在する硬節のマスター遺伝子 *pax1* のゼブラフィッシュ胚での発現局在を解析した。ゼブラフィッシュではゲノム重複によって *pax1a* と *pax1b* の2つの *pax1* 遺伝子が存在する。ゼブラフィッシュ胚での whole mount in situ hybridization の結果、硬節、咽頭嚢、脊索等において、それぞれ特徴的な発現パターンを示すことが明らかになった。特に、これまでゼブラフィッシュの硬節マーカーは *pax1* ではなく *twist1b* と考えられてきたが、今回の研究で *pax1a* も、膜性骨化する魚類特有の硬節で発現していることが初めて示された。また、*pax1b* はマウス *Pax1* と異なり脊索でも一過性に発現していた。脊索の機能のある部分は進化の過程で脊椎によって代替されてきたと考えられるが、骨髄のない脊椎骨を有する魚類においては、陸棲脊椎動物で脊椎が担う役割の一部を今なお脊索が担っている可能性が示唆された。

次に、独自のトランスポゾン技術（=Local Hopping Enhancer Detector (LHED)法）によって同定したマウス *Pax1* ゲノム領域の複数のエンハンサーエレメントを、To12 トランスポゾン・システムに基づくトランスジェニック・ゼブラフィッシュ胚を用いて機能解析した。その結果、興味深いことに、マウスの硬節エンハンサーのうち陸棲動物のみが保有するゲノム断片をゼブラフ

イッシュ胚に導入すると、ゼブラフィッシュ硬節でも高いエンハンサー活性を示すことが観察された。この結果は、新たな硬節エンハンサーの獲得が脊椎動物の水棲から陸棲への進化プロセスに関与し、陸棲動物の中軸骨格形成に重要な役割を果たした可能性を示唆するものである。

以上の結果から、*Pax1* ゲノム領域の異種間にまたがる包括的な機能解析が、骨髄を含む幹細胞ニッチとしての中軸骨格の形成過程を理解する上で有力な切り口となり得ることが示された。今後も引き続き、異種間のゲノム構造と機能を比較するユニークな実験アプローチにより、骨髄・骨格組織構築の成り立ちと分子機構を明らかにして行く。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等

1. Horie K, **Kokubu C.** and Takeda J. (2010) Functional genomics in the mouse using the Sleeping Beauty transposon system. *Methods Enzymol*; 477:71-89.

ゼブラフィッシュ胚での *pax1a* 及び *pax1b* の発現局在は遺伝子の機能解析を行った後に、論文発表を計画している。また、硬節エンハンサーに関する解析も論文発表に向けて準備を進めている。