

平成 26 年 5 月 7 日

平成 25 年度共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：大分大学医学部

職名：助教

氏名：佐々木 隆子

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：腱・靭帯組織構築ならびにその機能維持における細胞外基質分子 fibulin-4 の役割解明
2. 再生医科学研究所共同研究者：開 祐司 教授
3. 研究期間： 短期研究課題 ・ 長期研究課題
(平成 25 年 4 月 1 日～平成 26 年 3 月 31 日)

4. 研究経過及び研究成果：

細胞外マトリックスタンパク質である fibulin-4 は、その欠失マウスの解析から弾性線維形成に必須であることが報告されている。この欠失マウスは生後 1 日目に大動脈または横隔膜破裂により死亡するが、その他にすべての欠失マウスで前肢拘縮（図 1）が観察される。本研究では、この点に着目し、fibulin-4 の腱・靭帯における役割の解明を目的とした。



図 1. 矢印で示すように欠失マウスでは拘縮が認められる

まず、*Fbln4* null マウスと腱・靭帯で GFP を発現するトランスジェニックマウス (*ScxGFP-Tg*) を交配し、腱・靭帯の異常を容易に可視化できるようにした。前肢を dorsal 側を蛍光顕微鏡下で観察すると、新生マウスでは、前肢の伸筋腱の切断が観察され (図 2)、この異常は胎生期 17.5 日に始まり (図 3)、18.5 日ではすでに新生マウスと同様に伸筋腱の切断が認められた。この結果から、fibulin-4 は腱・靭帯の形成過程でなく、それらの機能保持に重要であることが示唆された。

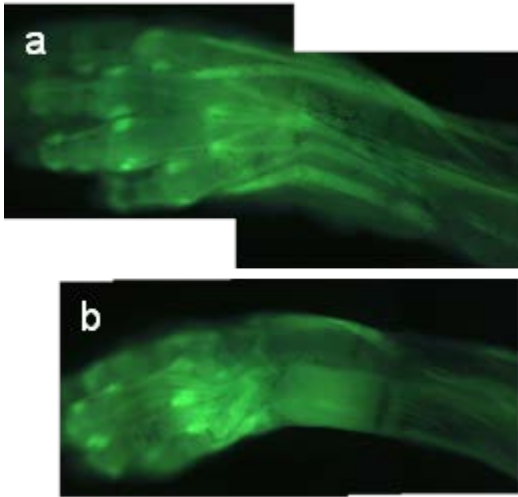


図 2 新生マウスの前肢の腱
a. *Fbln4* +/-
b. *Fbln4* -/-

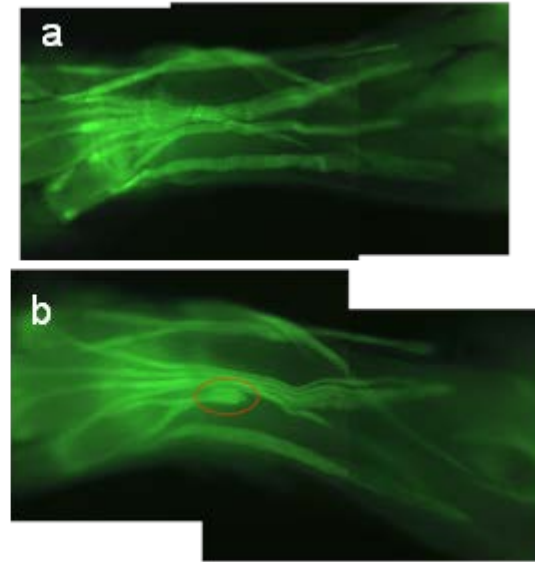


図 3 胎生期 17.5 日の前肢の腱
a. *Fbln4* +/+、 b. *Fbln4* -/-
赤○のところで切断が観察される

さらに、新生マウスの前肢関節横断切片を作製し GFP を観察すると、図 4 に示すように、比較的細い腱が確認不能であった。

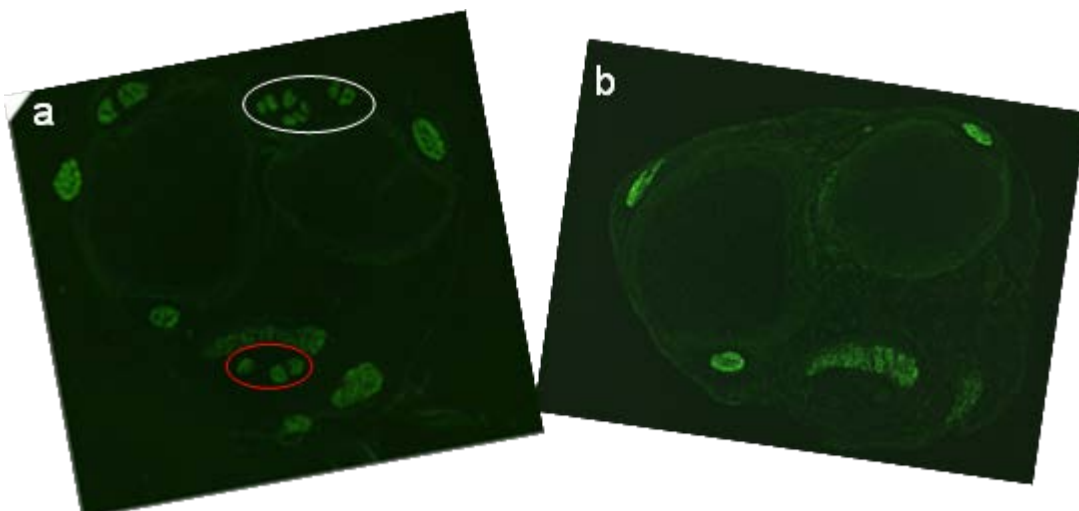


図 4 新生マウスの前肢横断切片での GFP の発現
a. *Fbln4* +/+、 b. *Fbln4* -/-、 図上が dorsal、図左が anterior.
白丸内は、Extensor Digitorum, Extensor Digiti, 赤丸内は、Flexor Digitorum

また、前肢腱を電子顕微鏡で観察すると図5に見られるように、Fbln4 +/-マウスの腱と比較すると異常が観察された。さらに、GFPが検出できない伸筋腱についても電顕で解析したが、図5と同じような不規則なコラーゲン線維が観察された(data not shown)。

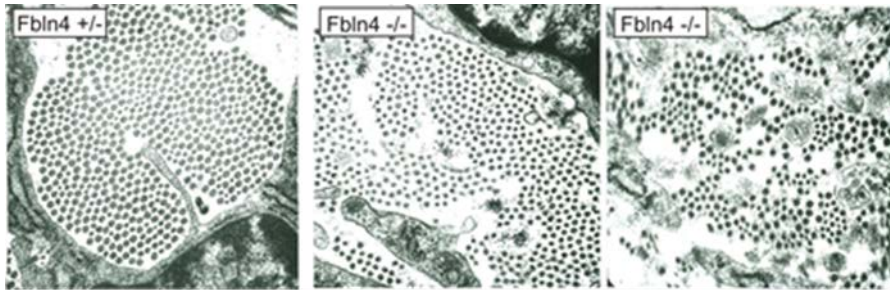


図5 前肢腱の電子顕微鏡写真

今後、腱・靭帯特異的に fibulin-4 欠失マウスを用い、さらに解析を進めていく。

5. 研究成果の公表

現時点で発表するには、まだデータが十分でないので、さらに解析を進めてから、発表する予定である。