



本件の報道解禁につきましては、平成31年3月14日(木)午後7時(日本時間)以降にお願いいたします。

平成31年3月14日

【本件リリース先】

文部科学記者会、科学記者会、広島大学関係報道機関、京都大学記者クラブ

国立大学法人広島大学
国立大学法人京都大学

椎間板の成熟を制御する PAX1/9 と SOX9 による
アグリカン遺伝子の発現制御の仕組みを解明
～修復困難とされる椎間板の再生医療の実現に期待～

【本研究成果のポイント】

- 椎間板の成熟には、転写因子(※1) PAX1/9(※2) と SOX9(※3) によるアグリカン(※4) 遺伝子の発現制御が重要であることを明らかにしました。
- 今回の結果は、一旦損傷すると修復が困難な椎間板の再生医療につながる事が期待されます。

【概要】

広島大学大学院医歯薬保健学研究科の宿南 知佐教授、同理学研究科の山本 卓教授、京都大学ウイルス・再生医科学研究所の近藤 玄教授らの研究グループは、椎間板の成熟に、PAX1/9 と SOX9 によるアグリカン遺伝子の発現制御が重要であることを解明しました。

ヒトの脊椎は、7個の頸椎、12個の胸椎、5個の腰椎、及び仙骨と尾骨からなり、椎間板により隣接する椎骨が互いに連結されています(図1)。ゲル状の髄核(※5)とそれを取り囲む線維輪(※6)及び終板軟骨から構成されている椎間板(図2)は、外力を吸収するショックアブソーバーとしての役割を果たしています。無血管であるため、加齢や過剰な力学的ストレスによって損傷すると、機能的な回復が難しく、再生医療の重要な標的の一つとなっています。

本研究では、椎間板の弾力性を維持するために欠かせないアグリカンの遺伝子発現を制御する主要なエンハンサー(※7)において、転写因子 PAX1/9 と SOX9 が近接する結合部位を競合することによって、転写を調節していることが明らかになりました。

今回の結果から、PAX1/9 の発現を調節することによって、椎間板の成熟を制御することが出来る可能性が示唆されました。

本研究成果は、ロンドン時間の2019年3月14日午前10時(日本時間:2019年3月14日午後7時)「Scientific Reports」オンライン版に掲載される予定です。

<発表論文>

論文タイトル

Differential transactivation of the upstream aggrecan enhancer regulated by PAX1/9 depends on SOX9-driven transactivation

著者

滝本 晶¹、國府 力²、渡邊 仁美³、佐久間 哲史⁴、山本 卓⁴、近藤 玄³、開祐司¹、宿南 知佐⁵

1. 京都大学ウイルス・再生医科学研究所 生体分子設計学
2. 大阪大学・大学院医学研究科・ゲノム生物学
3. 京都大学ウイルス・再生医科学研究所附属再生実験動物施設
4. 広島大学・大学院理学研究科・分子遺伝学
5. 広島大学・大学院医歯薬保健学研究科・生体分子機能学

掲載雑誌

Scientific Reports

DOI 番号

10.1038/s41598-019-40810-4

【背景】

椎間板は、ゲル状の髄核とそれを取り囲む線維輪及び終板軟骨から構成される体内では最大の無血管組織で（図 2）、脊椎への過重負荷を吸収するショックアブソーバーとしての役割を果たしています。無血管であるために、加齢や外傷などによって損傷すると、本来の構造への修復と機能回復が非常に困難で、治療の発展につながる分子的なメカニズムの解明が望まれています。

転写因子である PAX1/9 は、発生の過程では、将来の脊椎骨を形成する硬節で発現していますが、軟骨形成に伴って椎体での発現は消失し、椎間板の線維輪に限局して発現するようになります（図 3）。Pax1/9 のダブルノックアウトマウス（※8）では、椎体と椎間板が欠失してしまうので、椎間板が形成されてから Pax1/9 がどのような役割を果たしているのかは、これまでほとんど明らかにされていませんでした。

【研究成果の内容】

今回、研究グループは、軟骨形成領域で Pax1 を過剰発現するトランスジェニックマウス（※9）と軟骨や椎間板で発現するプロテオグリカンであるアグリカンの組織特異的転写を制御するエンハンサーを欠失するマウスを作成しました。

Pax1 を過剰発現するトランスジェニックマウスでは、アグリカンの発現が著しく低下し、背骨にみられる前後軸に沿った脊椎骨と椎間板の繰り返し構造が失われ、脊索が残存するとともに、軟骨成熟も抑制されました（図 4）。ゲノム編集技術を用いて作成されたアグリカン遺伝子の上流で組織特異的転写を制御するエンハンサーを欠失するマウスの椎間板では、アグリカンの遺伝子発現は、約 40%低下しました。このアグリカン遺伝子の組織特異的エンハンサー領域の転写は、SOX9 と SOX5/6 によって強く活性化されますが、PAX1/9 が共発現すると、SOX9 あるいは SOX5/SOX9、SOX6/SOX9 による転写活性化が抑制されることがわかりました。

一方、SOX9 が存在しない場合には、PAX1/9 は弱い転写活性化因子として作用します。PAX1/9 と SOX9 の結合部位は、部分的に重複しているので、これらの転写因子が共存する場合には、競合がおこると考えられます（図 5）。

このように、今回の研究によって、ショックアブソーバーとして機能する椎間板の成熟に PAX1/9 が関与し、SOX9 や SOX5/6 とともにアグリカンの転写を調節するメカニズムが明らかになりました。

【今後の展開】

PAX1/9 や SOX9、SOX5/6 のような転写因子を用いて、領域特異的にアグリカンの発現を制御することによって、脊椎の恒常性を保つために不可欠な椎間板の複雑な構造を再生することが出来るようになるかもしれないと期待されます。

【参考資料】
 図1. 脊椎の断面図

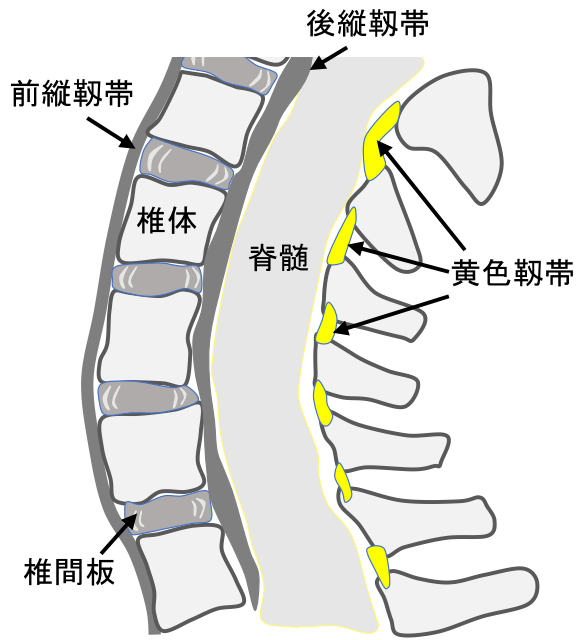


図2. 脊椎骨と椎間板

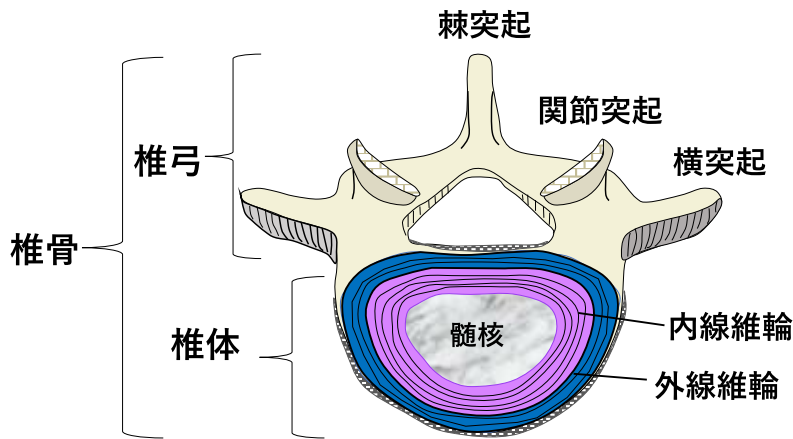
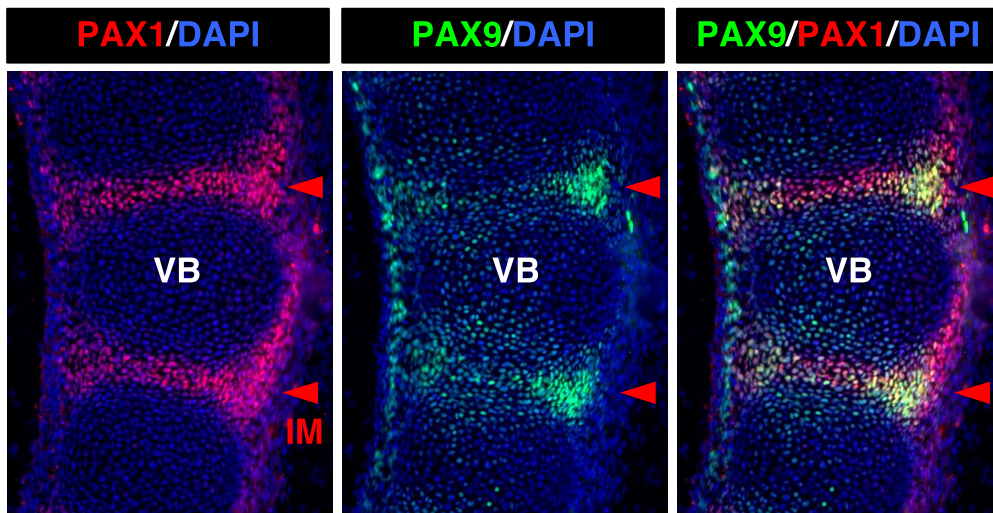
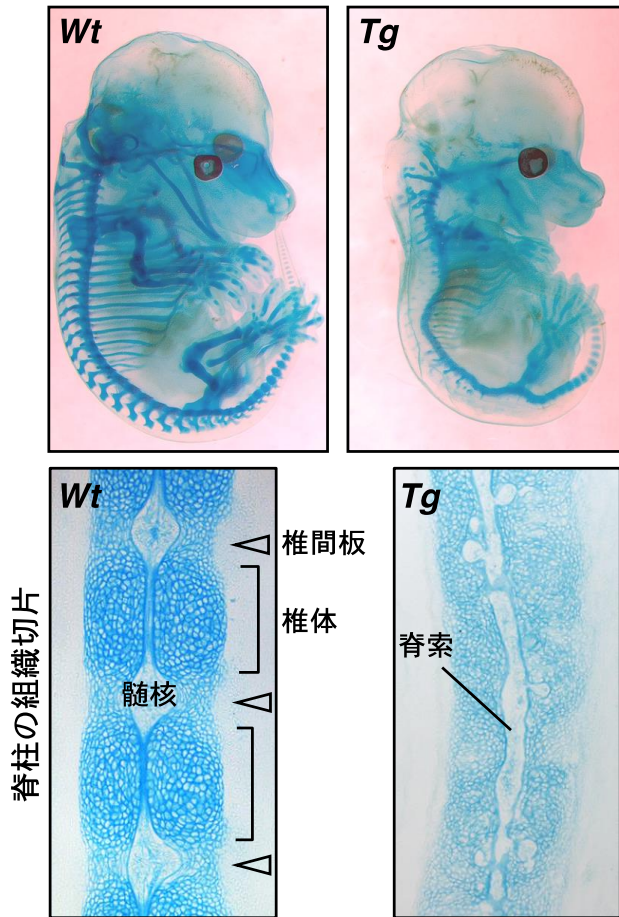


図3. 椎間板における Pax1/9 の発現



13.5日目マウス胚の脊柱. IM, 椎間板原基; VB, 椎体の軟骨性骨原基

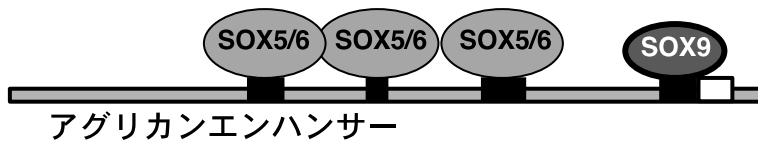
図 4. *Pax1* を過剰発現するトランスジェニックマウス



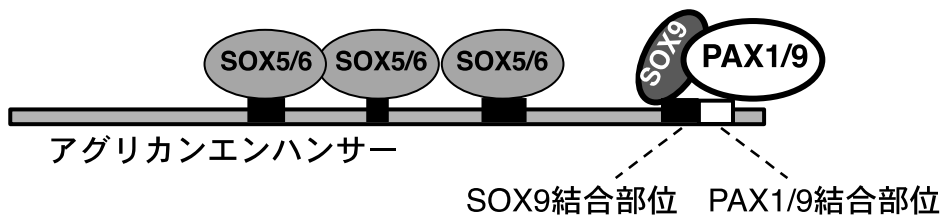
14.5日目マウス胚のアルシアンブルー染色.
Wt, 野生型; Tg, トランスジェニックマウス

図 5. アグリカンエンハンサーにおける転写制御

SOX9⁺/5⁺/6⁺ 細胞 (軟骨, 脊索/髄核) : アグリカンの高い発現



PAX1⁺/9⁺;SOX9⁺/5⁺/6⁺ 細胞 (椎間板線維輪) : アグリカンの低い発現



<用語説明>

(※1) 転写因子

DNA の転写を制御する領域に塩基配列特異的に結合するタンパク質。細胞の核内で DNA から RNA への転写を促進または抑制することで、他の遺伝子の発現を制御するという重要な働きを持つ。

(※2) PAX1/9

ペアードメインと呼ばれる DNA 結合ドメインを持つ転写因子で、哺乳動物には 9 種類存在する。PAX1 と PAX9 は同じサブファミリーに属する転写因子で、脊椎の形成に関与している。

(※3) SOX9

軟骨分化や性分化を制御する転写因子で、HMG ボックスを有する。

(※4) アグリカン

分子量約 2,500kDa の巨大なケラタン/コンドロイチン硫酸プロテオグリカンで、軟骨や椎間板などに存在する。コア蛋白質に負に帯電したグリコサミノグリカン鎖を多数結合させることで、組織内に高い浸透圧を生じさせ、軟骨などで圧負荷に対する抵抗性を与えている。

(※5) 髄核

椎間板の中心部にある水分の豊富なゲル状の組織で、発生過程に脊髄の下に見られる棒状の支持組織である脊索の遺残である。

(※6) 線維輪

髄核を包み込んで、脊椎骨を強固に連結するコラーゲン線維を含む線維軟骨が主成分の弾性に富む組織。

(※7) エンハンサー

遺伝子の転写量を増加させる作用を持つ DNA 領域。

(※8) ダブルノックアウトマウス

2 つの遺伝子が同時に無効化された二重欠損マウス。

(※9) トランスジェニックマウス

受精卵に外部から特定の遺伝子を導入したマウス。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

広島大学大学院医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻 生体分子機能学

教授 宿南 知佐

TEL : 082-257-5628 FAX : 082-257-5629

E-mail : shukunam@hiroshima-u.ac.jp

URL : http://home.hiroshima-u.ac.jp/tnmd/j_html/j_index.html

<報道（広報）に関すること>

広島大学財務・総務室広報部 広報グループ

TEL : 082-424-3749 Fax : 082-424-6040

E-mail : koho@office.hiroshima-u.ac.jp

京都大学企画・情報部広報課国際広報室

TEL : 075-753-5729 Fax : 075-753-2094

E-mail : comms@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp