

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	敗血症における性差決定因子の同定と発現調節機構の解明				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	黒川 洵子
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	清水 聡史
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂

講演題目	敗血症における性差決定因子の同定と発現調節機構の解明
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>【目的】敗血症は人類最大の死因であり、高齢化により先進国での罹患率が増加している。さらに敗血症の罹患率・生存率には性差があり、男性よりも女性で生存率が高いが、性差形成機構の分子メカニズムは不明である。我々は敗血症時における骨格筋線維の自然免疫応答と筋力低下機構を解析してきた (Sakamoto et al, Sci Rep 2020 ほか)。骨格筋特異的 MyD88 欠損マウスで敗血症性差が消失することから (Laitano et al, Sci Rep 2021)、骨格筋自然免疫応答が敗血症生存率の性差形成に関与する可能性がある。本研究では、我々が以前見出した敗血症性差関連遺伝子の発現調節機構の解明を目的とした。</p> <p>【方法】性差解析を行うために 4 種類の性遺伝子型 (XX 雌雄、XY 雌雄) をもつマウス (Four Core Genotypes; FCGs) を用いた。敗血症は盲腸結紮穿孔法 (CLP) で発症させた。症状の指標として Shrum のマウス敗血症スコア、前肢筋力変化を用いた。性差因子決定のために敗血症発症 FCGs に対し RNA-seq を用いた網羅的骨格筋遺伝子発現解析を行った。候補遺伝子の制御経路探索のために IPA を使用しアップストリーム解析を行った。マウス C2C12 骨格筋芽細胞由来筋管細胞 (MT) を細胞モデルとして用い、RT-qPCR による遺伝子発現解析を行った。</p> <p>【成果】以前の我々の研究により、RNA-seq から XX 雌群にて特異的に高発現する 4 遺伝子 (<i>Mmp3</i>, <i>Saa3</i>, <i>Prg4</i>, <i>Ifi205</i>) が見出された。そこで骨格筋細胞における性差特異的遺伝子の性ホルモンと内毒素による協奏的発現変動について検討するため、MT に 17β-エストラジオール (E2) (100 pM)、テストステロン (100 nM)、内毒素 (LPS) (0.1 μg/mL) を投与し、発現解析を行った。<i>Saa3</i> 及び <i>Prg4</i> は E2 と LPS 共投与下で発現が増加したが、<i>Mmp3</i> は検出されず、<i>Ifi205</i> は発現変動が見られなかった。また <i>Prg4</i> は LPS 投与により時間依存的な発現増加が示された。E2-LPS 共投与誘発性 <i>Prg4</i> 発現誘導の上流因子を調べるため、IPA を用いて敗血症 FCG マウス骨格筋サンプル RNA-seq によるアップストリーム解析を行ったところ、転写因子 FOXO1 が同定された。E2-LPS 共投与誘発性 <i>Prg4</i> 発現誘導の制御経路を薬理的に同定するため、MT に G タンパク質共役エストロゲン受容体阻害薬 G-36、エストロゲン受容体 (ER)α 阻害薬 MPP、ERβ 阻害薬 PHTPP、FOXO1 阻害薬 AS1842856、CREB 阻害薬 666-15 を投与し、<i>Prg4</i> の発現変動への効果を検討した。<i>Prg4</i> 発現量が G-36 では変動は見られなかったが、MPP、AS1842856 により有意に低下し、PHTPP により有意に増加した。</p> <p>【考察】MPP、PHTPP、AS1842856 投与時に <i>Prg4</i> 発現が有意に変化したことから、<i>Prg4</i> 発現には ERα および β と FOXO1 の相互作用が関与すると示唆された。本研究は、敗血症性差形成機構の解明に有意な知見である。</p>