

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

研究テーマ	ルブリシンの機能解析と敗血症病態における役割の解明				
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	薬学部・助教	氏名	児玉 昌美
	発 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	坂本 多穂

講演題目
ルブリシンの機能解析と敗血症病態における役割の解明
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】感染症を引き金とする制御困難な宿主反応による多臓器不全である敗血症は、罹患率・生存率が女性において低い。我々はこの性差に着目し、敗血症性差分子機構の解明による治療標的の探索を目指している。骨格筋は、敗血症病態時に液性因子分泌を介して全身におけるサイトカイン動態と免疫細胞動員に関与し、既報にて骨格筋特異的 <i>MyD88</i> 欠損マウスで敗血症性差が消失することから、骨格筋自然免疫応答が敗血症生存率の性差形成への関与が示唆されている。本研究では、敗血症を発症させた性転換マウスの骨格筋を用い、敗血症性差の探索と実証を行った。 【方法】性差因子の起源を明らかにするため、性決定因子 <i>Sry</i> 常染色体転座マウスと野生型メスマウスの交配で誕生する XX-雌、XX-雄、XY-雌、XY-雄の 4 種類の遺伝子型をもつマウス (Four Core Genotypes; FCGs) を用いた。敗血症モデルとして盲腸結紮穿孔法 (CLP) を採用した。症状の指標として Shrum のマウス敗血症スコアを用いた。網羅的遺伝子発現解析には RNA-seq を、定量解析には qPCR 法を用いた。培養骨格筋細胞としてマウス C2C12 骨格筋芽細胞由来筋管細胞を用いた。<i>Prg4</i> の欠損マウスは経卵管遺伝子編集法 (iGONAD) で作出した。 【成果及び今後の展望】FCGs の敗血症生存率は XX-雌群が他群より高く、性ホルモン因子と性染色体因子の両者の交絡が示唆された。敗血症を発症させた FCGs の骨格筋遺伝子発現解析の結果、XX-雌群にて特異的高発現する遺伝子が敗血症性差遺伝子候補として見出された。我々は候補遺伝子 <i>Prg4</i> に着目し、機能解析のため、<i>Prg4</i> 欠損マウスに敗血症を発症させたところ、WT マウスに比べ生存率が低い傾向がみられた。特に、敗血症生存率が高い WT 雌マウスと比較し、<i>Prg4</i> 欠損雌マウスは生存率が低い傾向が見られたが、WT 雄、<i>Prg4</i> 欠損雄マウスと比べると生存率は高い傾向があったことから、<i>Prg4</i> が敗血症生存率性差形成の一因を担う可能性が示唆された。次に <i>Prg4</i> 発現制御機構を解析するためアップストリーム解析を行ったところ、上流因子として、転写因子 FOXO1 が同定された。また、培養骨格筋細胞において <i>Prg4</i> の発現量は 17β-estradiol (E2) と内毒素 (LPS) の共投与により増加した。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、骨格筋培養細胞に 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、ER β 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> 発現量は G-36、666-15 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。これらの結果より、ER α /FOXO1/<i>Prg4</i> 経路の敗血症性差への関与が示された。<i>Prg4</i> 発現量の増加機構をさらに解析し敗血症治療・予防法への道筋を見つきたい。