

【結果】 RNA-seqによる遺伝子発現解析の結果、出生前と比べて出生後で2倍以上、出生後の動脈管で大動脈や肺動脈よりも2倍以上に発現が増加した遺伝子の中から、*Etv5*、*Ptgs2*、*Fos*、*JunB*、*Egr1*、*Sesn3*、*Rasa3*、*Icam1*、*Sele*、*Cxcl1*、*Arc*、*Pak7*、*B3gnt2*、*Bmp2*を動脈管の解剖学的閉鎖に関わる候補遺伝子とした。qPCRの結果、*JunB*は出生3時間後で胎生18日と比較して 2.3 ± 0.2 倍に発現が増加していた ($p < 0.05$)。血管平滑筋細胞の遊走にも関わる転写因子である*JunB*に着目した。マウス動脈管で免疫蛍光染色を行ったところ、胎生18日では、*JunB*タンパク質の発現がみられなかったが、出生3時間後では発現がみられた。

【結論】 *JunB*が動脈管の解剖学的閉鎖に関与している可能性が示唆された。今後、siRNAを用いて動脈管平滑筋細胞の*JunB*をノックダウンし、他の遺伝子との関連を検討して*JunB*の動脈管での働きを解明し、動脈管閉塞症の治療薬を探索する。

8-2.

血管平滑筋細胞におけるプロスタグランジン E₂ 受容体 EP4 シグナルと Toll-like receptor 2 シグナルによる炎症増幅機構

(医学部医学科4年)

○三橋 龍

(大学：細胞生理学分野)

中村 隆、横山 詩子

【背景】 腹部大動脈瘤 (AAA) やアテローム性動脈硬化症などの大動脈疾患の増悪にプロスタグランジン E₂ (PGE₂) を介した慢性炎症が関与している。特に、AAAにおける血管平滑筋細胞において、PGE₂ 受容体の1つであるEP4シグナルが interleukin 6 (IL-6) の過剰分泌による慢性炎症を誘引し、AAAを増悪させる。また、病原体の認識に関与する Toll-like receptor 2 (TLR2) シグナルが大動脈疾患の病因に寄与すると報告されている。本研究は、EP4シグナルとTLR2シグナルにおける相互作用の存在を明らかにすることで、感染症が大動脈疾患を悪化させる機序の一端を明らかにすることを目的とした。

【方法】 マウス血管平滑筋細胞株 (MOVAS) に対して、EP4 agonist (AE1-329)、TLR2 agonist (Pam3C-

SK4) を用いて、各薬剤の単剤刺激と二剤同時刺激を行い、刺激後8時間にてIL-6、EP4、TLR2 mRNA発現量を定量的PCRで評価した。

【結果】 IL-6 mRNA発現量は無刺激に比較して、EP4 agonistにて有意な増加を認めなかったが、TLR2 agonist投与で 9.6 ± 1.7 倍 ($n=6$, $p < 0.05$) に増加した。さらに、同時刺激により 54.9 ± 9.9 倍 ($n=6$, $p < 0.05$) と相乗的な増加を示した。EP4 mRNA発現量は無刺激に比較して、EP4 agonistにて有意に増加せず、TLR2 agonist投与で 2.2 ± 0.2 倍 ($n=6$, $p < 0.05$) 増加し、同時刺激により有意に増加しなかった。TLR2 mRNA発現量は無刺激に比較して、EP4 agonistにて有意に増加せず、TLR2 agonist投与で 3.1 ± 0.1 倍 ($n=6$, $p < 0.05$) 増加し、同時刺激により 2.1 ± 0.2 倍 ($n=6$, $p < 0.05$) 増加した。

【考察】 血管平滑筋細胞において、EP4とTLR2の同時刺激でIL-6 mRNA発現量が相乗的に増加したことから、EP4シグナルとTLR2シグナルの相互作用によるIL-6産生増幅機構の存在が示唆された。今後は各種阻害剤等を用いてEP4およびTLRシグナルによるIL-6産生の相乗的増幅経路を探索する。

8-3.

植物由来エクソソーム様小胞を担体とした脳内ドラッグデリバリーシステムの開発

(大学院修士課程2年分子病理学分野)

○樋口 皓星

(大学：分子病理学分野)

梅津 知宏、黒田 雅彦

【背景・目的】 当研究室では、アセロラ果汁から抽出されるエクソソーム様小胞をドラッグデリバリーシステム (DDS) の担体とすることで、siRNAなどの核酸医薬の経口投与を可能とする技術を開発してきた。本研究では、アセロラ由来小胞を担体とした脳内への薬物送達を目的とする。

【方法】 4.0×10^6 particles/mlのアセロラ由来小胞とチロシンキナーゼ阻害薬 (Masitinib)、または合成mRNA (IDUA 遺伝子、GLA 遺伝子) をそれぞれ混合後、氷上で30分反応させ複合体を形成させた。SiHa細胞を6wellプレートに播種し、Masitinib単体またはアセロラ由来小胞—masitinib複合体を添加して18時間後、細胞からタンパク抽出を行った。

また、マウスにアセロラ由来小胞 — masitinib 複合体を経口投与して6時間後に脳組織を採取し、Western blotによりp-cKitの発現を解析した。アセロラ由来小胞 — mRNA 複合体は 2.0×10^4 個/wellのHEK293細胞に添加後18時間でRNAを抽出し、Real Time PCRでIDUAまたはGLA遺伝子の発現を解析した。

【結果】 SiHa細胞を用いた解析では、アセロラ由来小胞 — Masitinib複合体は、Masitinib単体と比較してp-cKitの発現をMasitinibの濃度依存的に減少させた。また、Masitinib単体で経口投与したマウスと比較して、アセロラ由来小胞 — Masitinib複合体を投与したマウスの脳組織でもp-cKitが著減していた。次に、HEK293細胞にアセロラ由来小胞を担体として合成mRNAの導入を試みたところ、細胞内でのIDUAまたはGLAの発現が顕著に上昇していた。

【考察】 本研究では、アセロラ由来小胞を担体として培養細胞へ各種薬剤（低分子化合物およびmRNAを含む核酸医薬）を安定して導入可能であることが示された。さらに、アセロラ由来小胞を用いたDDSでは経口投与による脳内への薬物送達の可能性も示唆された。現在、アセロラ由来小胞が脳血液関門を通過するメカニズムの解明や薬剤とアセロラ由来小胞の複合体形成メカニズムの解析を行っている。

8-4.

Elucidation of the pathogenesis of propofol-induced skeletal muscle degeneration

(社会人大学院博士課程4年麻酔科学分野)

○松本 りか、鈴木 直樹

(大学：病態生理学分野)

川原 玄理、中屋敷真未、林 由起子

(大学病院：麻酔科分野)

内野 博之

【Background and Purpose】 Propofol is a commonly used sedative drug. Propofol infusion syndrome (PRIS), a rare but fatal complication, occurs with long-term high-dose administration of propofol. Rhabdomyolysis is a major symptom of PRIS.

Although propofol can induce mitochondrial dysfunc-

tion in cultured cells, detailed mechanism of PRIS has not been elucidated. The purpose of this study is to elucidate the pathomechanism of propofol-induced skeletal muscle degeneration by using zebrafish larvae as an animal model of PRIS.

【Methods】 After culturing wild-type zebrafish on the fourth day post fertilization (dpf) in a propofol solution, we checked heart rate and whether skeletal muscle damage under a microscope using polarized lens. After determination of the suitable cultured condition, we analyzed gene expression changes by quantitative RT-PCR (qPCR).

【Results】 4 dpf wild-type zebrafish were bred in 125 μ M propofol solution for 3 hours.

A significant decrease in heart rate was observed in the propofol-treated larvae. In addition, microscopic observation using a polarized lens and immunostaining confirmed propofol-induced skeletal muscle structural abnormalities.

By qPCR we found expression changes of the genes related endoplasmic reticulum stress together with a reduced expression of PGC1 α , a maker of mitochondrial biogenesis, from 3 hours after propofol administration.

【Conclusion】 Endoplasmic reticulum stress may involve in the pathogenesis of skeletal muscle degeneration in PRIS.

8-5.

Investigation of the pathogenic gene variants of von Willebrand disease (VWD) using the Japanese Multi-Omics Reference Panel (jMorp) in the Tohoku Medical Megabank Organization (ToMMo)

(社会人大学院博士課程4年臨床検査医学分野)

○秋元 孝文

(大学病院：臨床検査医学分野)

稲葉 浩、篠澤 圭子、三橋 彩乃
天野 景裕、木内 英

【Background】 VWD is one of the most common inherited bleeding disorders. This is caused by quantitative or qualitative abnormalities of von Willebrand factor (VWF). As of 2021, there were approximately 1,500