

研究テーマ

エピゲノミクスによる重症外傷患者の新規分子病態型と中心的分子の解明

研究代表者

施設名 : 大阪大学医学部附属病院
高度救命センター

氏 名 : 松本 寿健

研究テーマ：エピゲノミクスによる重症外傷患者の新規分子病態型と中心的分子の解明

所属先：大阪大学医学部附属病院高度救命センター

氏名：松本 寿健

背景

加齢は重症外傷患者の予後を悪化させる要因として広く認識されており、年齢増加に伴うエピジェネティックな変化が注目されている。特に DNA メチル化パターンの変動は、免疫機能低下や細胞老化と密接に関与し、予後不良を招くとされている【1】【2】。これらの加齢性エピジェネティック変化が高齢外傷患者の回復にどのような影響を及ぼすかは、未解明の課題であり、解明が急務である。本研究ではエピゲノミクス解析を通じ、高齢外傷患者の新規分子病態を明らかにし、予後改善に向けた中心的分子の特定を目指す。将来的な治療法および創薬の基盤に繋がることを目指す。

目的

本研究の目的は、加齢に伴うエピジェネティックな変化が重症外傷患者の予後にどのような影響を及ぼすかを解明し、新たな分子病態型と中心的な分子を特定することである。特に、エピジェネティクス制御を受ける遺伝子と転写因子の発現変動を解析し、予後不良にどう関与するかを明らかにする。本研究を通じて、重症外傷患者のエピジェネティック変化の役割を解明し、新たな治療基盤の開発に繋げる。

方法

本研究は、研究 1 の臨床研究と、研究 2 の基礎研究の 2 つのアプローチで行った。

研究 1： 大阪大学附属病院の高度救命救急センターに搬送された重症外傷患者 82 人を、年齢層ごとに 3 群（O 群、M 群、Y 群）に分け、各群で加齢と外傷死亡率の関係を調査した。O 群と Y 群の全血球 RNA-seq 解析を行い、発現変動遺伝子を特定後に Volcano plot で可視化し、さらに上流因子解析を行った。

研究 2： 研究 1 で特定された上流制御因子のエピジェネティック調節メカニズムをさらに理解するため、マウスマクロファージ細胞を用いてクロマチン免疫沈降シーケンス（ChIP-seq）を実施した。この解析により、特定の転写因子がエピジェネティックな部位にどう結合し、遺伝子発現にどのような制御を加えるかを明らかにする。

結果

研究1: 0 群の死亡率が最も高く、加齢が死亡率に与える影響の大きさが示された

(Table1、Figure1)。Volcano plot 解析において、0 群で 310 個の遺伝子が発現上昇し、88 個が発現低下していることが確認された (FDR=0.1, Log2 Fold change=0.4)、(Figure2)。これから加齢と共に遺伝子発現パターンが変動することが分かった。また、Gene Ontology 解析により、これらの遺伝子が免疫応答や炎症反応に関連するプロセスに関与していることが示され (Figure3、Figure4)、高齢外傷患者における上流制御因子が特定された (Table2、Table3)。この結果は、加齢に伴うエピジェネティックな変化が外傷患者の予後に大きく影響することを示唆する。

研究2: 現在クロマチン免疫沈降シーケンス解析が進行中であり、転写因子がどのエピジェネティックな部位に結合しているかが解析されている段階である。今後の解析結果から、さらなるターゲット遺伝子の特定が進展すると期待される。これにより、エピジェネティックなメカニズムが遺伝子発現制御に果たす役割が明らかになり、予後に関連するエピジェネティック因子が同定されと考えられる。

Table 1

	Y群	M群	O群
n	27	28	27
年齢, 中央値	36	57	79
ICU滞在日数	7	5	8
病院滞在日数	12	7	10
SOFAスコア	3	3	5
APACHEIIスコア	6	8	17
院内死亡	5.3%	5.3%	18.0%

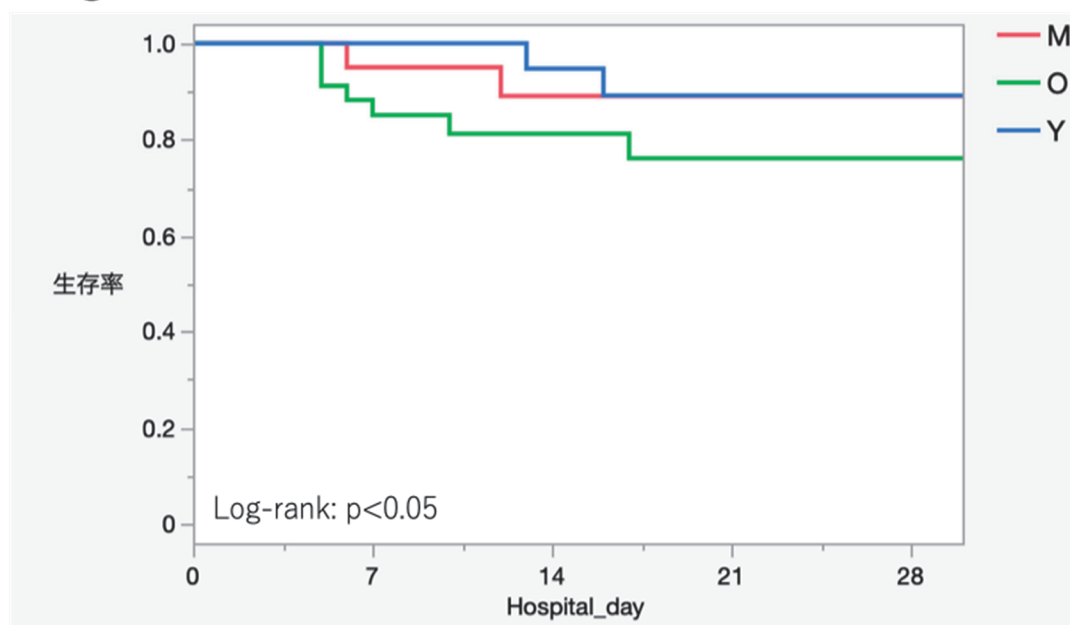
Figure1

Table 1

Figure 1: 大阪大学附属病院の高度救命救急センターに搬送された重症外傷患者82人を、年齢層ごとに3群（O群、M群、Y群）に分け、各群で加齢と外傷死亡率の関係を調査した。O群の死亡率が最も高く、加齢が死亡率に与える影響の大きさが示された。

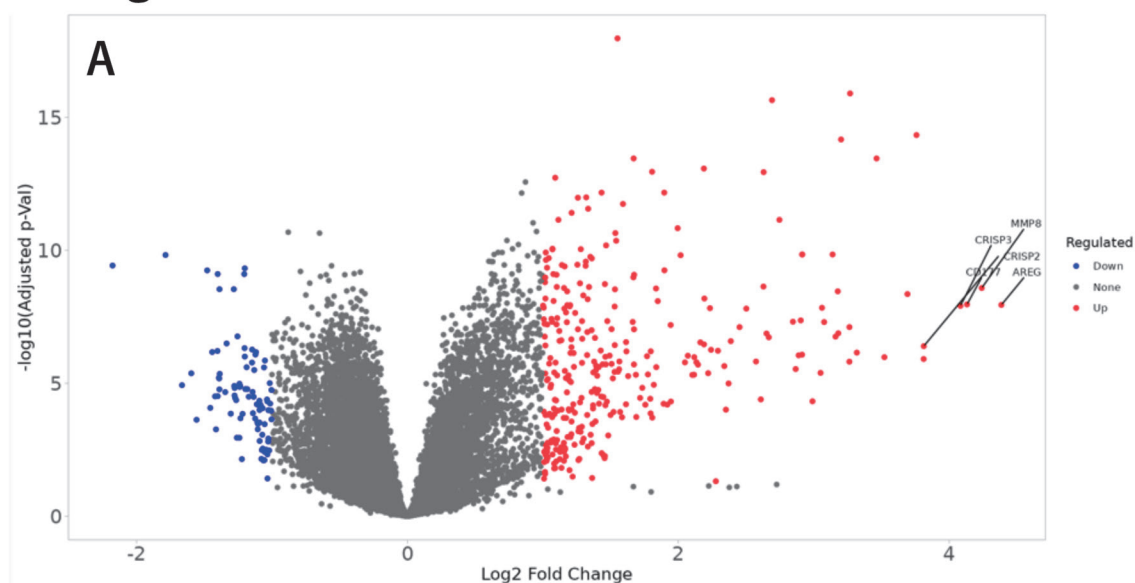
Figure 2

Figure2:Volcano plot解析において、Y群と比較してO群で310個の遺伝子が発現上昇し、88個が発現低下していることが確認された（FDR=0.1, Log2 Fold change=0.4）。

Figure3

Pathways	Tree	Network	Plot	Genes	Details
Grp.	Adj.Pval	Fold	Pathway (Click for more info)		
Upregulated	1.06E-20	2.6	Response to external stimulus		
	1.02E-19	3.1	Defense response		
	3.08E-15	7.6	Defense response to bacterium		
	2.53E-13	4.3	Response to bacterium		
	1.57E-11	2.7	Response to external biotic stimulus		
	4.09E-11	2.7	Response to other organism		
	4.16E-11	2.7	Response to biotic stimulus		
	5.52E-11	3.3	Inflammatory response		
	2.49E-10	2	Immune system process		
	2.57E-10	12.3	Antimicrobial humoral response		
Downregulated	1.48E-2	18.4	Diencephalon development		
	2.90E-2	5	Cell junction assembly		
	3.68E-2	12.2	Spinal cord development		
	5.03E-2	8.1	Synapse assembly		
	7.17E-2	5.1	Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration		
	7.21E-2	58.8	Membranous septum morphogenesis		
	7.21E-2	2.8	Central nervous system development		
	7.21E-2	3.3	Brain development		
	7.21E-2	3.3	Cell junction organization		
	7.21E-2	58.8	Antigen processing and presentation endogenous lipid antigen via MHC class Ib		

Figure4

Downregulated	1.48E-2	18.4	Diencephalon development
	2.90E-2	5	Cell junction assembly
	3.68E-2	12.2	Spinal cord development
	5.03E-2	8.1	Synapse assembly
	7.17E-2	5.1	Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration
	7.21E-2	58.8	Membranous septum morphogenesis
	7.21E-2	2.8	Central nervous system development
	7.21E-2	3.3	Brain development
	7.21E-2	3.3	Cell junction organization
	7.21E-2	58.8	Antigen processing and presentation endogenous lipid antigen via MHC class Ib

Gene Ontology解析により、変動した遺伝子が免疫応答や炎症反応に関連するプロセスの活性もしくは抑制に関与していることが示された。この結果は、加齢に伴うエピジェネティックな変化が外傷患者の予後に大きく影響することを示唆する。

Table3 Upstream regulator analysis

Gene	Z-score	minus Log10 (P-value)
Activated upstream regulators		
BHLHE40	2.599	9.77
IL4	2.761	7.48
KLF6	2.263	2.78
IL15	2.408	2.52
TLR3	2.204	2.27
STAT4	2.091	2.22
STAT1	2.678	2.20
TNFSF10	2.401	2.20
SYK	2.191	1.92
SMARCB1	2.156	1.35
NR3C1	2.2	1.03
IRF3	2.2	0.97
TGM2	2.201	0.84

Y群と比較して0群で予後不良に関連していると考えられる上流因子（活性因子）を同定した。

Table4 Upstream regulator analysis

Gene	Z-score	minus Log10 (P-value)
Inhibited upstream regulators		
MYB	-2.062	7.90
CITED2	-2.466	5.50
EBF1	-2.195	3.70
CTBP1	-2.219	3.23

Y群と比較して0群で予後不良に関連していると考えられる上流因子（抑制因子）を同定した。

考察

加齢に伴うエピジェネティック変化は、免疫機能の低下や細胞老化を促進し、重症外傷患者の予後に悪影響を与える可能性があることが示唆された。本研究で得られた遺伝子発現変動データに基づくと、特定の転写因子がエピジェネティックな制御を介して重要な役割を担う可能性がある。エピジェネティックな調節機構が免疫応答や炎症反応にどう関与するかを明らかにすることが、今後の治療応用に重要となる。特に、クロマチン免疫沈降シーケンスに基づく解析結果から、特定の転写因子とその標的遺伝子群の特定が進展することで、分子レベルでの制御機構解明が可能になると想定される。

結論

エピゲノミクスを応用した本研究は、高齢外傷患者におけるエピジェネティック変化と予後不良の関連性を解明するものであり、重症外傷患者における新たな分子病態型を明らかにする上で有用な知見を提供する。本研究結果は、エピジェネティックな制御機構を標的とした新しい治療戦略の可能性を示唆しており、重症外傷患者の予後改善に向けた治療法の開発に貢献することが期待される。特定された転写因子やその関連遺伝子群を標的とすることで、新規治療法の実用化し、これらの知見をもとに臨床応用への進展が今後、期待される。

参照

1. Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. Nat Rev Genet. 2018 Jun;19(6):371-384. doi: 10.1038/s41576-018-0004-3. PMID: 29643443.
2. Lohman T, Bains G, Berk L, Lohman E. Predictors of Biological Age: The Implications for Wellness and Aging Research. Gerontol Geriatr Med. 2021 Sep 26;7:23337214211046419. doi: 10.1177/23337214211046419.