

博士論文

体組成の性差構築における骨格筋性ステロイド受容体の
意義に関する研究

小田 彩

体組成の性差構築における骨格筋性ステロイド受容体の
意義に関する研究

所属　：　東京大学大学院医学系研究科　博士課程　内科学専攻

指導教員名　：　田中　廣壽　教授

申請者名　：　小田　彩

目次

	頁
第1章 要旨.....	5
第2章 序文.....	6
第3章 方法	
(3-1) 細胞.....	13
(3-2) 抗体、試薬.....	13
(3-3) プラスミド DNA.....	14
(3-4) マウス.....	15
(3-5) 卵巣摘除モデル (OVX)	18
(3-6) 精巣摘除モデル (ORX)	19
(3-7) マウス絶食処置.....	19
(3-8) 定量的リアルタイム PCR (qRT-PCR) 解析.....	20
(3-9) 一過性遺伝子導入およびルシフェラーゼアッセイ (レポーターア ッセイ)	21
(3-10) ウェスタンブロット法.....	22
(3-11) GFP 融合タンパク質細胞内局在解析.....	23

(3-12) ゲノム PCR 解析.....	24
(3-13) 血漿コルチコステロン濃度測定.....	24
(3-14) 血糖値測定.....	24
(3-15) DNA マイクロアレイ解析.....	25
(3-16) 病理学的解析.....	26
(3-17) 統計学的解析.....	26
第4章 結果	
(4-1) 骨格筋におけるステロイドホルモン受容体の発現.....	28
(4-2) 性ステロイドホルモンが骨格筋 GR 転写活性化作用に与える影響 —培養筋芽細胞における解析.....	30
(4-3) 体組成制御作用における骨格筋 GR と性ステロイドホルモンの関 連性.....	32
(4-4) 骨格筋遺伝子発現に与える性の影響および、骨格筋 GR 標的遺伝 子発現に与える性の影響.....	38
(4-5) 体組成の変容に与える骨格筋 GR および性ステロイドホルモン受 容体の影響とその相互作用.....	42
第5章 考察.....	46

第 6 章 引用文献..... 5 2

第 7 章 謝辞..... 6 2

図表

第1章 要旨

本研究では、体組成の性差構築機構を明らかにするために、体組成変容を来す骨格筋グルココルチコイド (GC) 受容体 (GR) ノックアウト (KO) マウスの性腺を摘除し、また骨格筋における性ステロイド (SH) 受容体 (SR) と GR のダブル KO マウスを作製して、各マウスの体重、臓器重量、トランスクリプトームなどを解析した。その結果、異なる体組成制御系である GC-骨格筋 GR と SH-骨格筋 SR は多彩な様式で互いに影響し合うことが示唆された。これらの知見は体組成の性差構築機構解明の端緒となるとともに、代謝疾患の病態理解と治療法開発につながる可能性がある。

第2章 序文

発症率や症状、重症度に性差を有する疾患は少なくないにもかかわらず、これまでの医学研究は主に男性（オス）を対象として行なわれてきた[1-3]。しかし、個別化医療の開発や未知の病態生理の解明における性差に着目した医学研究の重要性から、1993年に米国の National Institute of Health は、臨床研究の被験者は半数を女性とすること、さらに2014年には、基礎研究においても両性の検討を行うこと、両性を検討しない場合はその妥当性を証明すること、を提言している[4, 5]。

近年、性差構築の仕組みは多段階的かつきわめて複雑なことが判明しつつある。すなわち、遺伝子的に決定された性に基づいて、生殖腺、性ホルモン産生細胞が分化し、それらから分泌された性ホルモンは全身に達して各器官へ生涯に渡り影響を与え、細胞、器官、個体の各レベルにおいても性差が存在する[4]。性差は、発生・成長の過程において、栄養や気温、化学物質などの環境因子によるエピジェネティックな修飾を受けることも明らかになっている[2, 6-8]。

性ホルモンはステロイドホルモンに分類され、コレステロールより合成される。代表的な女性ホルモンであるエストロゲンとプロゲステロンは、前者

が子宮内膜増殖や脂質代謝、骨作用、心血管作用など広範な生理作用を有する一方、後者は主に着床や妊娠維持にはたらく。男性ホルモンであるテストステロンは、オスでは主に精巣、閉経前のメスでは卵巣と副腎、閉経後のメスでは主に副腎でそれぞれ産生される。エストロゲンは、テストステロンからアロマターゼの作用を受けて合成される。エストロゲンとテストステロンの分泌は、視床下部下垂体系の制御を受けて厳格に調節されている。メスのエストロゲンの血中濃度は、ヒトでは約 28 日、マウスでは 4~5 日周期で約 5 倍変動し、妊娠中には非妊娠時の 5000 倍にも上昇する[9]。また、オスのテストステロン血中濃度は朝に高く夜に低い日内変動を呈し、その変動範囲は朝が夜の 2 倍程度である。エストロゲン、テストステロンとも一生涯に渡って分泌されるが、加齢によりそれらの血中濃度は減少し、特に女性のエストロゲン血中濃度は閉経を境に著減する[9, 10]。各細胞において、これらの性ステロイドホルモンは各々に特異的な核内受容体（エストロゲン受容体（ER）、アンドロゲン受容体（AR））に結合し、標的遺伝子の発現を転写レベルで制御して作用を発現する。ER、AR は発現量の違いはあるが生殖器のみならず多くの標的組織に発現し、主には細胞質に存在する。また、ER には 2 つのアイソタイプ ER α 、ER β があり、独立した遺伝子によってコードされ、組織分布や機能も異なる[9, 11]。

体組成は、脂肪、筋、骨、水分などからなり、中でも脂肪と筋は肝臓とともに糖脂質エネルギー代謝を行う主要臓器である。過度な脂肪増加（肥満）や筋量減少（サルコペニア）、骨量減少（骨粗鬆症）はいわば体組成の異常ととらえることも可能である。肥満やサルコペニアは、高血圧症、糖尿病、脂質異常症からなるメタボリックシンドロームの原因となるとともに、心筋梗塞、脳卒中の危険因子でもある。また、2型糖尿病や慢性腎臓病は骨粗鬆症の発症リスクになること、内臓脂肪型肥満は骨密度を減少させることなども知られている[12]。ここで、体組成には顕著な性差が認められ、骨格筋量や骨量は男性に多く、女性に少ない。また、脂肪は女性では皮下に多く分布し、男性では内臓周囲に多い。さらに、肥満症、糖尿病、脂質異常症などの代謝疾患は男性に多く、女性でも閉経後に増加する[13]。

骨格筋は、ヒトにおいて最大の臓器であり、エネルギーの産生、消費、貯蔵の場として重要である[14, 15]。骨格筋量と筋力は男性優位である。骨格筋の筋線維タイプにも性差が知られ、部位によって報告は多少異なるが、主にメスでは type I が多く、オスでは type II b が多いとされる。前者は遅筋（赤筋）と呼ばれ、張力は大きくないが持久力が高く、主なエネルギーの供給源はミトコンドリアの酸化的リン酸化である。一方、後者は速筋（白筋）と呼ばれ、張力は大き

いが持久力は小さく、主に解糖によってエネルギーを得る[16]。運動時のエネルギー基質として、メスでは脂質、オスでは炭水化物を多く使用することは筋線維タイプの性差とも合致する[2]。このように、骨格筋は運動器かつ代謝臓器であり、その形態や機能に明らかな性差を認めるものの、他の主要代謝臓器である肝臓、脂肪に比して、性差の詳細とその意義に関しては不明であった。しかし、近年、性ステロイドホルモン受容体の遺伝子欠失マウスの研究から進展が見られている[14]。例えば、骨格筋量に関して、閉経後女性やオス全身 ARKO マウスでは四肢筋量減少を認めることが知られているが、脂肪細胞・肝細胞・骨格筋において特異的に ER または AR を KO したマウスにおいては明らかな四肢筋量変化の報告はない[17, 18]。一方で、メス骨格筋特異的 ERKO マウスでは骨格筋細胞のミトコンドリアの形態と筋代謝の異常が報告されている[19]。脂肪量に関しては、閉経後女性や全身 ER α KO マウスでは内臓脂肪型肥満を生じるが、全身 ER β KO マウスには認めず[17]、内臓脂肪蓄積作用における ER α の ER β に対する優位性が明らかになっている（以降 ER と表記する際は ER α を表す）。さらに、視床下部室傍核や脂肪細胞の特異的 ERKO メスマウスでは肥満を認めるとの報告もあり、ER は多くの臓器に作用して脂肪代謝に関わることが示唆されるものの、骨格筋特異的 ERKO メスマウスにおける脂肪量には明らかな変化はなかつ

た[17, 20]。全身 ARKO オスマウスでは遅発性の体重増加を認めるが[18]、脂肪細胞特異的 ARKO マウス、骨格筋特異的 ARKO マウスにおける脂肪量や体重の変化は報告によって異なる[21-23]。

ここで、核内受容体スーパーファミリーにおいて、ER、AR はグルココルチコイド (GC) 受容体 (GR) と同じサブファミリーに属し、三者は DNA 結合配列、リガンド結合領域のホモロジーも高い[11]。所属研究室では、GC 誘発性筋萎縮 (ステロイドミオパチー) をモデルに、骨格筋における GR のはたらきを解析し、これまで、GR は、FoxO、KLF15 といった筋萎縮関連転写因子の遺伝子発現を誘導し、間接的にもしくは直接、ユビキチンリガーゼである ATROGIN1 や MuRF1 の遺伝子発現に加え、オートファゴソーム形成因子である LC3 や BNIP3 などの遺伝子発現を転写レベルで増加させ、骨格筋異化を進展させることを明らかにした。また、オートファジーを抑制する mTOR の活性化を GR が抑制すること、またそれにより骨格筋異化が進展することも明らかにしている[24]。さらに、骨格筋特異的 GRKO マウス (以下 GRmKO) の解析から、骨格筋 GR が、「骨格筋-肝-脂肪代謝連関」の基盤的要素として骨格筋ならびに脂肪組織量を調節することを明らかにしている (GRmKO は骨格筋肥大と脂肪量減少を呈する) [25]。私どもは、骨格筋 GR を介した体組成調節に性差が存在する可能

性を示唆する成績を得、骨格筋において、GR システムと性ステロイドシステムが互いに関連していることを想起した。ER と GR の相互作用に関しては、子宮内膜癌における GR と ER の遺伝子結合レベルでの癌細胞増殖促進的相互作用 [26]、乳癌細胞における標的遺伝子上の ER 転写複合体に対する GR の拮抗作用 [27]、ER アンタゴニスト結合時の ER による GR 依存性転写抑制作用 [28]、など多数の報告があり、組織や細胞またその細胞の状態によって相互作用が異なることも知られている。このような標的遺伝子上での転写複合体形成時の相互の拮抗作用や促進作用に加えて、GC 系とエストロゲン系間の相互作用に卵巣刺激ホルモン (FSH) の介在が報告されるなど [29]、近年も様々な機構が明らかになってきている。AR と GR の相互作用としては、化学療法抵抗性前立腺癌における選択的アンドロゲン受容体モジュレーター効果の減弱原因として、AR による GR 拮抗作用の減少、GR による AR 標的遺伝子発現誘導促進作用の存在が明らかとなっている [30]。一方で、骨格筋におけるこれらの受容体間の相互作用の報告は、わずかに留まっている [31]。

そこで本研究では、特に骨格筋における性ステロイド受容体制御系と GC-GR 制御系のはたらきに注目して、体組成の性差構築機構を明らかにし、体

組成異常を要因とした疾患発症メカニズムやその性差メカニズムを解明する基盤を構築することを目的とした。

第3章 方法

(3-1) 細胞

マウス骨格筋線維芽細胞由来の細胞株 C2C12 細胞は American Type Culture Collection より購入した (ATCC®CRL-1772™)。African green monkey 腎臓由来の細胞株 COS7 細胞は理化学研究所細胞バンク (RIKEN CELL BANK) より購入した (RCB 0539)。いずれの細胞ともに、10% fetal bovine serum (FBS) (Biowest)、1% ペニシリン-ストレプトマイシン混合溶液 (P/S) (ペニシリン 10,000 u/mL, ストレプトマイシン 10,000 µg/mL, Nacalai tesque)を添加したダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM-High glucose, Nacalai tesque)で培養し、継代は PBS (-) (Wako)で細胞を洗浄後、0.5 g/L-Trypsin/0.53 mmol/L-EDTA solution (Nacalai tesque)で細胞を剥離して行った。各種アッセイ時には、無血清培地 Opti-MEM I (Thermo Fisher Scientific) もしくは、デキストラン添加した活性炭で処理して血清中のステロイドホルモンを除去した血清 (dccFCS) を 2% 添加した DMEM 培地を用いた。細胞は全て、37°C、5% CO₂ インキュベーター内で培養した。

(3-2) 抗体、試薬

抗原特異的一次抗体は、GR (M-20, Santa Cruz)、ER α (HC-20, Santa Cruz)、AR (ab74272, abcam)、FLAG (ANTI-FLAG M2, SIGMA-ALDRICH)、HA (HA124, Nacalai tesque) を使用した。Horse Radish Peroxidase (HRP) 標識二次抗体は、ECL Rabbit IgG, HRP-linked whole Ab (NA931, GE Healthcare Life Sciences)、ECL Mouse IgG, HRP-linked whole Ab (NA934, GE Healthcare Life Sciences) を用いた。化学試薬は、エストラジオール (β -Estradiol (E2), SIGMA-ALDRICH)、デキサメタゾン (Dexamethasone (DEX), SIGMA-ALDRICH)、5 α ジヒドロテストステロン (5 α -Dihydrotestosterone (5 α DHT), SIGMA-ALDRICH)、コルチコステロン (Corticosterone (COR), SIGMA-ALDRICH)、ペントバルビタールナトリウム (Kyoritsu Seiyaku Corporation) を用いた。以降の記載で注釈がない試薬は Nacalai tesque より購入したものをを用いた。

(3-3) プラスミド DNA

FLAG 融合ヒト GR 発現プラスミド pCMX-FLAG-hGR、GFP 融合ヒト GR 発現プラスミド pGFP-hGR、GFP 融合ヒト ER 発現プラスミド pGFP-hER、GFP 融合ヒト AR 発現プラスミド pGFP-hAR、ヒト AR 発現プラスミド pCMX-hAR、GRE 応答性レポーター遺伝子 p2xGRE-Luc は、いずれも所属研究室の吉

川賢忠博士より供与された[32]。なお、p2xGRE-Luc はピッカジーンベーシック (TOYO INK) のルシフェラーゼ cDNA 配列の上流に、tyrosine aminotransferase 遺伝子プロモーターのグルココルチコイド応答性配列 (GRE) のタンデムリピート、ならびに HIV-LTR (long terminal repeat) が挿入されている。FLAG 融合マウス ER 発現プラスミド pCMX-FLAG-mER、HA 融合マウス ER 発現プラスミド pCMX-HA-mER は C2C12 細胞よりクローニングしたマウス ER α cDNA を pCMX-FLAG および pCMX-HA ベクターに挿入して作成した。全てのプラスミドはアルカリ抽出後に、塩化セシウム密度勾配超遠心法で精製した。

(3-4) マウス

本研究は、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律、東京大学研究用微生物安全管理規則、東京大学研究用微生物安全管理マニュアル、東京大学医科学研究所遺伝子組換え生物等安全委員会規定、東京大学医科学研究所遺伝子組換え生物等の使用等実施規則、東京大学動物実験実施規則、東京大学動物実験実施マニュアルを遵守して行われ、東京大学第二種使用等拡散防止措置の機関承認 (承認番号 K13-19, K18-15)、東京大学医科

学研究所動物実験センターでの実験許可（承認番号 PH14-34, PH15-16, PH15-24, PH16-11, PH16-13, PH16-26, PA18-26）を取得して行われた。

野生型マウス (C57BL/6J) は日本クレアより購入し、実験に使用した全てのマウス背景は C57BL/6J とした。1 ケージ当たりの飼育個体数は 1~3 匹とし、餌 (CA-1, CLEA Japan) と水は自由摂取とした。全てのマウスの体重を 3 週齢より 20 週齢まで週一回測定した。飼育室は 12 時間の明暗サイクルで照明し、室温は 24°C に維持した。骨格筋特異的 GR ノックアウトマウス (GRmKO) は、GR の Exon 3 の上下流に LoxP 配列が各々挿入された GR-floxed マウス (B6.129P2-Nr3c1^{tm2Gsc}/Ieg, German Cancer Research Center) [33] と ACTA1 (skeletal muscle actin) 遺伝子プロモーターの下流に Cre リコンビナーゼ遺伝子配列を配した遺伝子を導入した ACTA1-cre トランスジェニックマウス (B6.Cg-Tg(ACTA1-cre)79Jme/J, Jackson Laboratory) [34] を交配して作出した。ER α の Exon 3 の上下流に LoxP 配列が各々挿入された ER-floxed マウス (Esr1^{tm1Mma}, 今井祐記博士 (愛媛大学プロテオサイエンスセンター) より供与) [35] および AR の Exon 1 の上下流に LoxP 配列が各々挿入された AR-floxed マウス (Ar^{tm2Ska}, 今井祐記博士より供与) [36] と ACTA1-Cre トランスジェニックマウスを交配させて、骨格筋特異的 ERKO マウス (ERmKO)、骨格筋特異的 ARKO マウス (ARmKO) を作出し、さらにこ

これらのマウスを交配させることにより、骨格筋 ERGR ダブル KO マウス (ERGRmKO)、骨格筋 ARGR ダブル KO マウス (ARGRmKO) を作出した。

なお、ACTA1-Cre 遺伝子配列を有さない、ホモ GR-floxed マウス (GRf/f)、ホモ ER-floxed マウス (ERf/f)、ホモ AR-floxed マウス (ARf/f)、ホモ ERGR-floxed マウス (ERGRf/f)、ホモ ARGR-floxed マウス (ARGRf/f) も作出し、コントロールマウスとして使用した。

マウスの解剖は、体重 1 kg あたり 75 mg のペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与後に施行した。血液は開腹後に下大静脈より採取し、ヘパリン処理したサンプルチューブに回収後、遠心分離して得られた上清を血漿として液体窒素中で凍結し、 -80°C で保存した。切除した各組織は、湿重量を測定後にサンプルチューブに回収し、チューブごと液体窒素で瞬間凍結させた。凍結組織は、液体窒素で予め冷やしておいたステンレス製セルに装填しクライオプレス (Microtec Co., Ltd.) を用いて破碎し、サンプルチューブに分割再回収して -80°C で保存し、各種アッセイに使用した。筋組織標本は、コルク上に置いたトラガカントゴムに筋組織を立て、液体窒素で冷やしたイソペンタンによる急速凍結固定法により作製した。

(3-5) 卵巣摘除モデル (OVX)

9週齢メスの野生型および GRmKO マウスをペントバルビタール 50 mg/kg 皮下投与により麻酔し腹臥位とした後、背部正中皮膚を 7 mm 横切開した。皮切部分を中心に半径 2 cm 程度の範囲の皮膚を鈍的に剥離後、左側臥位で腹膜下に透見される脊椎と後腹膜脂肪の位置を指標に、腎直上と考えられる位置で腹膜を把持して 5 mm 切開し、右卵巣から子宮の先端までを体外へ露出させた。卵管と子宮の間を鑷子で 1 分間把持し十分な止血を図った上で、把持部分を切離し、卵巣と卵管とを摘出した。左側も同様に行った。腹腔内に出血のないことを確認後、腹膜を手動的に修復し、皮切部分を 1 針ないし 2 針縫合した。1 週間後に E2 の皮下投与群 (80 ng/kg•bw/day)、コントロール群 (溶媒; sesame oil) に分類し、さらに 1 週間後に絶食、非絶食下に解剖を行い、血液 (下大静脈より採取)、腓腹筋、ヒラメ筋、肝臓、後腹膜白色脂肪組織、肩甲骨間褐色脂肪組織、子宮を採取した。なお、偽手術 (sham) では卵巣、卵管の露出後、それらを元の位置に戻して皮膚を縫合した。DEX 投与は、9 週齢メスの野生型マウスを sham 群、OVX 群に分類し、手術 1 週間後より DEX (1 mg/kg•bw/day) もしくは 0.9% 生理食塩水を 7 日間腹腔内投与、もしくは、手術 2 週間後の解剖 4 時間前に DEX

(1 mg/kg•bw/day) もしくは 0.9%生理食塩水を単回腹腔内投与して、同様に解剖を行った。

(3-6) 精巣摘除モデル (ORX)

まず、9週齢オスの野生型および GRmKO マウスをペントバルビタール 50 mg/kg 皮下投与により麻酔して仰臥位とし、精巣を下腹部から下肢方向へ体表から確認可能な位置に用手的に移動させた。両精巣境界皮膚を 5 mm 縦切開し、皮膚を下方に向かって鈍的に剥離し、右精巣上体尾部を把持した。次に、把持部分を引き下ろしながら、頭側に向かって皮膚を剥離し右精巣上体頭部を露出させた。右精巣上体頭部の近位を絹糸で結紮し、同部遠位側を切断して右精巣と右精巣上体とを摘出した。左側も同様に行った。止血を確認し、皮切部分は 1 針縫合した。2 週間後に解剖し、血液 (下大静脈より採取)、腓腹筋、ヒラメ筋、肝臓、後腹膜白色脂肪組織、肩甲骨間褐色脂肪組織、精嚢を採取した。なお、sham では、露出させた精巣と精巣上体を押し戻して皮膚を縫合した。

(3-7) マウス絶食処置

解剖前日の 18 時に各個体の体重を測定し、ケージ、ケージトップ、水瓶の全てを交換した。以降は絶食群と自由摂食群とに分類して飼育し、解剖当日は 12 時より解剖を開始した。

(3-8) 定量的リアルタイム PCR (qRT-PCR) 解析

mRNA 発現量の定量的解析は、回収した細胞もしくは凍結破碎組織を Sepasol-RNA I Super G (Nacalai tesque) を用いて抽出した全 RNA を鋳型に Oligo(dT)₁₅ プライマーによる逆転写 PCR 法によって合成した、各サンプルの cDNA を用いた定量的リアルタイム PCR (qRT-PCR) によって行った。qRT-PCR 法には蛍光標識プローブ法を利用し、Thunderbird Probe qPCR Mix (TOYOBO)、Universal ProbeLibrary Sets (Roche)、遺伝子特異的プライマーセットおよび CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) を用いて、各説明書に従って行った。各遺伝子 mRNA の相対的発現レベルは、それぞれの遺伝子について個別に作製した標準曲線に基づいて計算した。このとき、36B4 あるいは beta-actin の mRNA 発現レベルを内部標準として使用した。使用した遺伝子特異的プライマーセットは Universal ProbeLibrary Sets に最適化されたオンラインソフトウェア Universal ProbeLibrary Assay Design Center (Roche) で設計し、NIHON GENE

RESEARCH LABORATORIES Inc. で合成した。各プライマー配列を補足表 1A に示す。

(3-9) 一過性遺伝子導入およびルシフェラーゼアッセイ (レポーターアッセイ)

C2C12 細胞におけるルシフェラーゼアッセイは、リポフェクション法による一過性遺伝子導入を用いて行った。レポータープラスミドおよび発現プラスミドの共遺伝子導入時における各サンプル間の総 DNA 量を一定とするためのプラスミドとして、哺乳動物用遺伝子発現プラスミドの親ベクターである pCMX (吉川賢忠博士より供与) を用いた。総 DNA 量と遺伝子導入試薬 (LipofectamineTM2000 Transfection reagent, Invitrogen) の量比は 1:2 として、説明書に従ってプラスミド/試薬混合液を調整した。40~60% の細胞密度時に細胞を PBS で 2 回洗浄後、培地を無血清培地 Opti-MEM I に変更し、培地にプラスミド/試薬混合液を加えて培養ディッシュごと穏やかに混和後、細胞培養インキュベーターで 6 時間培養した。その後、培地を新鮮な 2% dccFCS 添加 DMEM 培地に交換し、各種条件下で培養後に PBS で洗浄して細胞を回収した。回収した細胞ペレットを用い、Cell Culture Lysis Reagent (Promega) によって細胞抽出液を調

整し、ルシフェラーゼアッセイ用基質 (Promega) と反応させて各サンプルの発光度 (relative light unit (RLU)) をルミノメーター (GloMax™-Multi Detection System, Promega) で測定した。各サンプルのタンパク質濃度を BCA 法 (Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo Fisher Scientific および DS-11 Spectrophotometer, DeNovix) で定量し、各サンプルのルシフェラーゼ活性は、アッセイに用いたサンプルのタンパク質量で補正した値 (relative light unit (RLU)/ μg protein) とした。

(3-10) ウェスタンブロット法

回収した細胞もしくは凍結破碎組織を 1 mM dithiothreitol, 100 nM MG132 (Sigma-Aldrich), Protease Inhibitor Cocktail for Use with mammalian Cell and Tissue extracts, Phosphatase Inhibitor を含有した RIPA buffer (50 mM tris (hydroxymethyl)aminomethane (pH 7.6), 150 mM sodium chloride, 1% Nonidet P-40, 0.5% sodium deoxycholate (Sigma-Aldrich), 0.1% sodium dodecyl sulfate) で溶解して、全細胞抽出液を調整した。各サンプルのタンパク質濃度を BCA 法で測定し、各細胞抽出液 10 μg を 10% SDS-ポリアクリルアミドゲルで電気泳動してタンパク質を分離し、polyvinylidene difluoride membrane (PVDF 膜) (Millipore) へ転写した。Blocking One(Nacalai tesque)中で PVDF 膜を 1 時間、室温にて静置後、各特異的

一次抗体を含むシグナル増強剤 HIKARI A 液(Nacalai tesque)と 1 時間反応させた。新鮮な TBS-T (50 mM Tris-HCl, pH7.6, 200 mM NaCl, 0.1% Tween 20)で PVDF 膜を数回洗浄後に、HRP 標識二次抗体を含むシグナル増強剤 HIKARI B 液 (Nacalai tesque)と 30 分間、室温で反応させ、新鮮な TBS-T で PVDF 膜を数回洗浄後に Chemi-Lumi One Super (Nacalai tesque)を用いた ECL 法で発光させ、化学発光検出システム (ImageQuant LAS 4000mini, FUJIFILM) で解析した。

(3-1-1) GFP 融合タンパク質細胞内局在解析

細胞培養ディッシュ (60 x 15 mm, FALCON) で培養した C2C12 細胞に GFP 融合タンパク質の発現プラスミドを一過性導入し、各々の GFP 融合タンパク質を細胞内に過剰発現させた。プラスミドの一過性導入後、無血清培地で 24 時間培養し血清中のステロイドホルモンの影響を低減し、各種の処理後、倒立型蛍光位相差顕微鏡 (BZ-X710, KEYENCE) で観察、撮像した。細胞内局在は、細胞質優位に存在する場合を $C > N$ 、細胞質と核への局在がほぼ同等の場合を $C = N$ 、核優位に存在する場合を $C < N$ 、ほとんど核に存在する場合を N として分類し、各条件下で 400 細胞の局在を計測してそれらの比率を算出し解析した。

(3-12) ゲノム PCR 解析

マウスゲノム DNA は3週齢の仔マウスの尾サンプルもしくは凍結破砕サンプルを 50 mM の NaOH 溶液に融解し、95°C、10 分間熱処理して抽出した。ゲノム DNA 抽出液は、標的遺伝子配列特異的プライマーと PCR 酵素である KOD FX (TOYOBO) を反応させて、目的の遺伝子部分を PCR 法により増幅し、増幅した DNA 断片は 5 mg/l EtBr を含有した 2% アガロースゲルで電気泳動し、紫外線画像解析 FAS-IV システム (Nippon Genetics) を用いて可視化した。用いたプライマーを補足表 1B に示す。

(3-13) 血漿コルチコステロン濃度測定

コルチコステロンの血漿濃度は EIA 法によるコルチコステロン EIA キット (YK240, Yanaihar Institute) を用い、iMark Microplate Absorbance Reader (Bio-Rad) にて、各説明書に従って測定した。

(3-14) 血糖値測定

血糖値は、マウス解剖時に採取した全血を用いて Glucose Pilot Blood Glucose Monitoring System (Aventir Biotech) を用いて、説明書に従って測定した。

(3-15) DNA マイクロアレイ解析

DNA マイクロアレイ解析を目的にマウス腓腹筋より採取した各凍結破碎サンプルより全 RNA 抽出液を調整した。全 RNA 抽出液の一部を用いて各サンプルの cDNA 溶液を調整し、定量的 RT-PCR 法を用いてコントロール遺伝子 (36B4, beta-actin) mRNA 発現量のサンプル間の変動が小さいこと、GRmKO のサンプル群では GR の mRNA 発現が低下していること、絶食 18 時間刺激サンプル群では GR 標的遺伝子 (Fkbp5) の mRNA 発現が絶食 4 時間刺激サンプル群に比し増加していることを確認して、各実験群 (各々3-4 匹) の全 RNA 抽出液サンプルを混和してプールサンプルとして DNA マイクロアレイ解析を行った。DNA マイクロアレイ解析は 3D-GENE (TORAY)を利用した受託解析 (TORAY)により行った。以下に概要を示す。全 RNA 抽出液を用いて cDNA を合成後、それを鋳型にさらに aRNA を合成し蛍光色素を付加した。3D-GENE (オリゴ DNA チップ) に各 aRNA 調整液を反応させ、検出器で発光を測定、定量した。解析は 1 色法で行った。得られたシグナル値 (raw data) は、検出用 DNA をスポットしていないブランク部分の平均値をバックグラウンド (BG) 値とし、raw data が BG+2SD 未満の遺伝子は、検出が認められなかった遺伝子として除

外した。また、Gene Symbol、Entrez ID、RefSeq ID、Ensembl ID のない遺伝子（プローブ）も除外した。残りのサンプルについて、異なるサンプル群の比較解析のため、各群の raw data の中央値が 50 になるように係数を乗算して補正した。遺伝子オントロジー解析（GO 解析）は National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) によって提供されているデータベース DAVID (<https://david.ncifcrf.gov>) を利用して解析した。遺伝子発現パターンのクラスター解析およびヒートマップは R version 3.5.1 により解析、作図した。

（3-16）病理学的解析

凍結筋組織検体は東京大学医科学研究所病理組織サービス室に委託して、HE 染色標本を作製した。得られた標本は、倒立型蛍光位相差顕微鏡（BX710）で観察、撮像した。

（3-17）統計学的解析

統計学的解析には Student t 検定を用いた。P 値が 0.05 未満の場合、統計学的に有意とした。同一実験内の有意差検定が 2 回以上の場合は、Bonferroni 法（検定総数が N の場合、それぞれの検定の有意水準を α から α/N に変更する）

により補正した。棒グラフおよび折れ線グラフは、平均値±標準誤差で示した。

箱ひげ図では、ひげは最大及び最小値を示し、箱上端を第3四分位、箱下端を第

1四分位とし、箱内に第2四分位（中央値）を示した。

第4章 結果

(4-1) 骨格筋におけるステロイドホルモン受容体の発現

ヒト、マウスともに GR はほぼ全ての組織において遺伝子発現が認められる。一方、ER、AR は、ヒト、マウスともにその発現は性腺・生殖器官や一部の性ホルモン感受性組織に限定されている[37, 38]。そこで、骨格筋における GR と ER、AR の相互作用の解析にあたり、培養筋芽細胞、雌雄骨格筋組織における GR、ER、AR の発現を確認した。C2C12 全細胞抽出液およびマウス各凍結破碎組織抽出液を用いて、各ステロイド受容体タンパク質の発現をウエスタンブロット法で解析した。コントロールとして、トランスフェクション法により FLAG 融合ヒト GR、FLAG 融合マウス ER、ヒト AR、GFP 融合ヒト AR を C2C12 細胞もしくは COS7 に過剰発現させた細胞調整液を用い、各受容体の存在を示すと考えられる、~98 kDa (GR)、~66 kDa (ER)、~110 kDa (AR) のバンドを確認した(補足図 1A)。一方、抗 ER 抗体、抗 AR 抗体では上記以外にも非特異的もしくはタンパク質断片を認識していると考えられるバンドが複数認められた。なお、C2C12 細胞の性は明確ではない[39]。本条件下で、コントロールに

C2C12 細胞抽出液を用い、マウス雌雄骨格筋（腓腹筋）における GR、ER および AR の発現をウエスタンブロット法で解析したところ、ER および AR と考えられるバンドが認められ、各受容体の発現量の雌雄差は明確ではなかった（補足図 1B, C, D）。ER、AR の mRNA 発現も確認した（図 12）。次に、マウス各組織における ER、AR のタンパク質発現をウエスタンブロット法で解析した。メスマウス各組織における ER の発現は、子宮・乳腺・生殖腺周囲白色脂肪などで高く、腎・心臓では中等度で、筋・脳・肝臓では低かった。オスマウス各組織における ER の発現は、精巣上部・生殖腺周囲白色脂肪で高く、精巣・腎では中等度で、筋・肝臓では低かった。メスマウス各組織における AR の発現は、乳腺・生殖腺周囲白色脂肪で高く、脳・筋にも認めたが、肝、腎ではかなり低かった。オスマウス各組織における AR の発現は、精巣・精巣上部・生殖腺周囲白色脂肪で高く、精囊・筋にも認めたが、肝、腎では低かった（補足図 2）。しかしながら、ER、AR とともに各組織において複数のバンドが認められており、バンドパターンも組織ごとに異なることから、スプライスバリエントなどをみている可能性がある。今後、これらの核内受容体の組織特異的発現に関してより詳細な検討も必要である。

（４－２）性ステロイドホルモンが骨格筋 GR 転写活性化作用に与える影響—

培養筋芽細胞における解析

1) GC 応答性配列 (GRE) 依存性転写活性化作用に与えるエストロゲン、アンドロゲンの影響

GR による遺伝子発現調節作用に与えるエストロゲンとアンドロゲンの影響を予備的に培養筋芽細胞において検討した。まず、GC が ER や AR、エストロゲンが GR や AR、アンドロゲンが GR や ER の細胞内局在に与える影響を、これらの受容体の GFP 融合タンパク質を C2C12 細胞に発現させて解析した。培地中のステロイドホルモンを除去した状態において、GR は細胞質に多く存在し、GC 処理によって 40 分後には多くが核へ移行したが、エストロゲンやアンドロゲン処理の影響は受けなかった。ER はリガンド非存在下でも核優位に存在し、いずれのリガンド処理の影響も受けなかった。AR は細胞質優位ながら核にも存在し、アンドロゲン処理後 40 分で多くは核へ移行したが、GC やエストロゲン処理の影響は受けなかった。すなわち GR、ER、AR の細胞内局在は受容体特異的リガンド以外の影響を受けないことが明らかになった (図 1A)。

次に、C2C12 細胞に GRE 依存性レポーター遺伝子発現プラスミドを一過性導入し、GRE 依存性転写活性化作用に与えるエストロゲン、アンドロゲンの作用を解析した。ルシフェラーゼ活性は DEX の濃度依存的に誘導され、1 μ M で最大となった (図 1B)。一方、E2、5 α DHT では GRE 依存性レポーター遺伝子の発現は 10 μ M 濃度によっても誘導されなかった (図 1B)。したがって、骨格筋細胞において、エストロゲン、アンドロゲンは単独では GR を活性化させず、また ER、AR いずれの受容体も GRE 依存性転写活性には影響を与えないことが示された。

2) GC 依存性転写活性化作用に与えるエストロゲン、アンドロゲンの影響

次に、C2C12 細胞を用いたレポーターアッセイにより GC 依存性遺伝子発現誘導に与えるエストロゲン、アンドロゲンの影響を解析した (図 1C)。DEX の濃度依存的にレポーター活性は増加し、高濃度のエストロゲンおよび 5 α DHT 前処理は DEX 依存性レポーター活性をやや増加させたが、濃度依存的増強効果は認められなかった (図 1C)。内因性 GC であるコルチコステロン依存性のレポーター遺伝子発現誘導に与える 5 α DHT の影響も同様だった (図 1D)。さらに、C2C12 細胞における GR 標的遺伝子の GC 依存性発現に与えるエスト

ロゲンの影響を qRT-PCR 法で解析したところ、コルチコステロンによって誘導された GR 標的遺伝子である *Fkbp5* の mRNA 発現誘導はエストロゲンの影響を受けなかったが、*Klf15* の mRNA 発現誘導はエストロゲンで抑制される可能性が示された (図 1E)。これらの結果から、筋細胞において、エストロゲン、アンドロゲンは GC 依存性の特定の GR 標的遺伝子発現の誘導に影響を与えうる可能性が示された。

(4-3) 体組成制御作用における骨格筋 GR と性ステロイドホルモンの関連性

1) 骨格筋 GR による体組成制御に与えるエストロゲンの影響およびエストロゲンによる体組成制御に与える骨格筋 GR の影響

体組成変容を来す GRmKO (骨格筋特異的 GRKO マウス) における体組成制御に与えるエストロゲンの影響を性腺摘除モデルを用いて解析した。9 週齢メスの野生型および GRmKO マウスに sham もしくは OVX を施行し、1 週間のエストロゲン皮下連日投与・非投与下に、解剖前 24 時間絶食もしくは自由摂食を継続させた (図 2A)。sham/OVX 施術前の体重は、野生型マウスに比し、GRmKO

マウスにおいて有意に大きく、既報と一致していた[25] (図 2B)。腓腹筋およびヒラメ筋重量は、sham 群では既報のオスマウスにおける結果と同様に、野生型マウスに比し GRmKO マウスにおいて増加していた[25] (図 2B)。一方、既報ではオス GRmKO マウス後腹膜白色脂肪重量は、オス野生型マウスの後腹膜白色脂肪重量に比し有意に減少するが[25]、本研究ではメス野生型マウスとメス GRmKO マウスにおいては sham 群では有意な差は認められなかった (図 2B)。

OVX 施行後 2 週間で、野生型及び GRmKO マウスの子宮重量は著明に低下し、その変化はエストロゲンの連日投与によって回復したことから、OVX により循環エストロゲン濃度は低下し、エストロゲン連日投与により回復したと考えられた (図 2B)。OVX 後、野生型マウスの体重は既報の如く有意に増加したが[40]、それに対するエストロゲンの拮抗効果は本研究では明らかではなかった。一方、GRmKO マウスでは OVX 後の体重増加は小さい傾向にあった (図 2B)。腓腹筋およびヒラメ筋重量は、野生型では OVX により増加しエストロゲン投与によってその変化が消失したのに対し、GRmKO マウスでは OVX による筋重量増加が認められなかった (図 2B)。後腹膜白色脂肪重量は野生型マウスでは OVX によって軽度の増加傾向を認めるのみだったが、GRmKO マウスでは

OVX によって有意に増加していた (図 2B)。肩甲骨間褐色脂肪重量、肝重量には OVX は影響を与えなかった (図 2B)。

以上から、骨格筋 GR を介した脂肪量調節には雌雄差があり、メスにおける骨格筋、脂肪量調節において骨格筋 GR とエストロゲンが相互に影響している可能性が示された。

2) 骨格筋 GR 標的遺伝子発現に与えるエストロゲンの影響

(i) 絶食ストレスを用いた検討

次に、骨格筋における GR 標的遺伝子発現に与えるエストロゲンの影響を解析するため、野生型および GRmKO マウスに対し sham もしくは OVX を施行後、24 時間絶食を行って、内因性 GC 上昇による骨格筋 GR 標的遺伝子発現の誘導に与える内因性エストロゲンの影響を解析した。野生型、GRmKO マウスともに 24 時間絶食により血糖値が有意に低下した (図 3A)。自由摂食時の血糖値や絶食時の血糖値に、OVX、エストロゲン投与、骨格筋 GR 発現量低下は影響を与えなかった (図 3A)。また、24 時間絶食により、いずれのマウスにおいても血漿コルチコステロン濃度は有意に上昇し、自由摂食時および絶食時の血漿コルチコステロン濃度に、OVX、骨格筋 GR 発現量低下は影響を与えな

った (図 3B)。したがって、sham 群、OVX 群、野生型マウス、GRmKO マウスの何れにおいても、有意な絶食ストレスならびに GC 分泌が誘導されたと考えられた。実際、骨格筋 GR 標的遺伝子である *Klf15*、*Foxo1*、*Foxo3*、*Ddit4* (REDD1)、*Trim63* (MuRF1)、*Fbxo32* (Atrogin1)、*Bnip3*、*Map1lc3a* (LC3)、*Fkbp5* の mRNA 発現は絶食により有意に誘導され、GRmKO ではその変化がほぼ消失した (図 4)。
Klf15、*Foxo1*、*Foxo3* の mRNA の絶食による誘導は、OVX 群では有意に小さくなっており、一部の骨格筋 GR 標的遺伝子の発現が循環エストロゲン濃度の影響を受ける可能性が示された (図 4)。なお、エストロゲンの連日投与はこれらの変化に影響を与えなかった (図 5)。

以上から、メスマウスにおいて、絶食により誘導される骨格筋 GR 標的遺伝子の発現には、循環エストロゲン濃度の影響を受ける遺伝子が存在する可能性が示されたが、エストロゲン以外の因子の関与も考慮する必要があると考えられた。

(ii) 外因性合成 GC を用いた検討

絶食ではインスリン、レプチン、グレリンなど各種ホルモンの変動、交感・副交感神経系の変動、中枢神経応答の変動なども引き起こされることから

[41]、野生型マウスに sham もしくは OVX を施行後、代表的合成 GC である DEX を単回あるいは連日投与した際の骨格筋 GR 標的遺伝子発現の変動を qRT-PCR 法で解析した。DEX 投与 4 時間後、骨格筋 GR 標的遺伝子である *Fkbp5*、*Klf15*、*Foxo1*、*Foxo3* の遺伝子発現は有意に増加あるいは増加傾向を示したが、OVX はそれらの遺伝子発現の変動に明らかな影響を与えなかった (図 6A)。DEX 連日投与の場合も同様の結果であった (図 6B)。すなわち、骨格筋 GR 標的遺伝子発現の変動に与える OVX の効果が、絶食と外因性 GC 投与とは異なっていた。本実験に用いた外因性 GC である DEX はコルチコステロンに比し受容体親和性が高く強力なリガンドであるため GC-GR 系に与えるエストロゲン-ER 系の作用がマスクされてしまった可能性なども考えられ、本研究ではこれ以降リガンドを用いずに各受容体間の相互作用を解析することとした。

3) 骨格筋 GR による体組成制御に与えるテストステロンの影響およびテストステロンによる体組成制御に与える骨格筋 GR の影響

9 週齢オスの野生型および GRmKO マウスに sham もしくは精巣摘除術 (ORX) を施行し、自由摂食で飼育し解剖した (図 7A)。

ORX 前の体重に関して、既報では成長にしたがい GRmKO マウスの方が野生型マウスより重くなるが[25]、本解析に用いたマウス群では、野生型と GRmKO とで有意な差を認めなかった (図 7B)。

ORX 施行後 2 週間で、野生型および GRmKO マウスの精囊重量は著明に低下したため、ORX により循環テストステロン濃度は低下したものと考えられた (図 7B)。野生型、GRmKO マウスともに ORX による体重変化を認めなかった (図 7B)。

ヒラメ筋重量は、既報の如く GRmKO マウスで野生型マウスに比して増加したが[25]、ORX の影響は野生型、GRmKO マウスいずれにおいても認められなかった (図 7B)。また、後腹膜白色脂肪重量は、野生型マウスでは ORX により著明に低下し、既報の如く GRmKO マウスでは野生型マウスに比し著明に低下したものの[25]、GRmKO マウスにおける ORX の効果はわずかであった (図 7B)。肩甲骨間褐色脂肪重量、肝重量は野生型、GRmKO マウスとも ORX によって減少する傾向が認められた (図 7B)。

以上より、マウス個体レベルの検討からは骨格筋 GR ならびに性ステロイドホルモンが体組成の調節に関与し、両者には相互作用が存在する可能性

が示唆された。また、GR の標的遺伝子発現調節に性ステロイドホルモンが関与する可能性も示され、骨格筋や体組成の性差が GR、ER、AR の相互作用によって影響を受けるという仮説を支持するものといえる。しかし、一方で、性腺摘除モデルは雌雄の片方しか解析できず、骨格筋における ER、AR のはたらきの性差をより詳細に明らかにするため以下の検討を行った。

(4-4) 骨格筋遺伝子発現に与える性の影響および、骨格筋 GR 標的遺伝子発現に与える性の影響

コントロールマウスと体組成変容モデルである GRmKO マウスを用いて骨格筋 DNA マイクロアレイ解析を行い、骨格筋トランスクリプトームのみならず骨格筋 GR 標的遺伝子発現に与える性の影響を検討した。さらに、骨格筋特異的 ER、AR およびそれらと GR とのダブル KO マウスを作成して、性腺摘除や合成リガンド投与を用いずに、体組成に与える骨格筋 GR と ER および骨格筋 GR と AR との相互作用を解析することとした。

1) 骨格筋遺伝子発現に与える性の影響

20 週齢雌雄の GRf/f および GRmKO マウスを 4 時間もしくは 18 時間絶食後に解剖し、腓腹筋凍結破碎サンプルより調整した全 RNA 抽出液を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った。4 時間絶食は実験直前の摂食量の影響を低減するための処置とし、18 時間絶食は飢餓ストレスによる副腎由来内因性 GC 濃度を上昇させることを目的として既報のごとく行った[25]。解析可能であった 20193 遺伝子の発現パターンをクラスター解析し、ヒートマップを作成した。GRf/f マウスでは飢餓ストレスによって多くの遺伝子の発現が変化しそれらのほとんどが GRmKO では消失していた (図 8A)。それらの遺伝子発現変化の多くは雌雄共通で、既知の GR 標的遺伝子も多く含まれていた (図 8B、補足表 2)。また、それらの遺伝子群には、遺伝子オントロジー解析 (GO 解析) によって、恒常性維持に関わる多数の重要な遺伝子が含まれていた (補足表 2)。一方で、絶食の有無にかかわらず、一部の遺伝子の発現には明らかな雌雄差が存在した (図 8A, B)。そこで、GRf/f および GRmKO マウスのサンプルにおいて有効なシグナル値の得られた 17780 遺伝子を用いて、オスの発現量を X 軸に、メスの発現量を Y 軸に示した散布図、および、GRf/f、GRmKO においてオス優位に発現している遺伝子群、メス優位に発現している遺伝子群を抽出し、それらのベン図を作成した (図 9A, B、表 1、2)。その結果、骨格筋においては、通常飼育下

で、オス優位に発現している遺伝子群、メス優位に発現している遺伝子群が存在すること、骨格筋 GR の有無によってそれらのレパートリーが顕著に変動することが明らかとなった (図 9A, B)。

2) 骨格筋 GR 標的遺伝子発現に与える性の影響

DNA マイクロアレイで解析を行った遺伝子のうち、既知の GR 標的遺伝子である *Fkbp5*、*Klf15*、*Trim63*、*Ddit4*、*Foxo1*、*Fbxo32* の発現は 18 時間の絶食により有意に誘導され、GRmKO ではその誘導が著減していたが、それらの変化に雌雄差は認められなかった (図 10B)。そこで、骨格筋において発現に雌雄差を有する未知の GR 標的遺伝子の存在を想定し、GRf/f において 18 時間絶食後に 1.5 倍以上もしくは 2 倍以上発現が増加した遺伝子を抽出した。そのうち、GRf/f における 18 時間絶食後の遺伝子発現量が、GRmKO における 18 時間絶食の遺伝子発現量のおおの 1.5 倍以上もしくは 2 倍以上であった遺伝子を GR 標的遺伝子候補と定義した (図 11、表 3、4)。両者をベン図で示すとともに、それらの発現パターンをクラスター解析してヒートマップで図示した (図 11C)。その結果、GR 標的遺伝子候補には、雌雄共通の遺伝子も存在する一方で、オスメス各々に特異的な遺伝子も存在すること、オスに比しメスに GR 標的遺伝子

候補が多いこと、が示された (図 11、表 3、4)。オス特異的な骨格筋 GR 標的遺伝子のうち、発現誘導が大きかった遺伝子として、アンドロゲン依存的な発毛に関与する遺伝子である *Eda2r*、Na-K-Cl 共輸送に関連する *Slc12a2*、G タンパク質共役型受容体と Elmo/Dock 複合体との相互作用による筋芽細胞融合に関与する *Elmo2*、GR の既知の標的遺伝子でありオートファジー関連遺伝子である *Bnip3* などが含まれていた (表 3)。また、メス特異的な骨格筋 GR 標的遺伝子として、寒冷やメントール刺激受容体として知られている *Trpm8*、ヒトでの働きは不明ながら嗅覚と関連する *Olfir641* や *Vmn1r19*、脂肪酸やアシル CoA 代謝を調節する *Acot1*、ビタミン D 依存性 Ca 結合蛋白遺伝子である *S100g*、筋ジストロフィーの原因遺伝子であるジストロフィン遺伝子のスプライシング因子の一つ *Zranbl* などが含まれていた (表 4)。

さらに、GR 標的遺伝子候補を GO 解析に付し、有意な関連性が認められた GO アノテーションを表 5~14 にまとめた。GO 解析では Amino acid transport、autophagy、cell cycle、cellular response to dexamethasone stimulus、cellular response to starvation、negative/positive regulation of apoptotic process、protein ubiquitination、reactive oxygen species metabolic process、response to hypoxia などをはじめとした既知の GR 機能に関連する GO アノテーションは雌雄に共通していた。一方、オ

ス特異的な GO アノテーションとして、brown fat cell differentiation、cell cycle arrest、positive regulation of insulin secretion、Ras protein signal transduction、response to electrical stimulus involved in regulation of muscle adaptation が認められた。メスの GR 標的遺伝子に着目した結果、circadian rhythm、lymphocyte homeostasis、xenophagy、cellular response to glucose stimulus、response to endoplasmic reticulum stress、positive regulation of defense response to virus by host、cellular zinc ion homeostasis、skeletal muscle cell differentiation、regulation of the force of heart contraction、regulation of epidermal cell differentiation が認められた。

(4-5) 体組成の変容に与える骨格筋 GR および性ステロイドホルモン受容体の影響とその相互作用

体組成の変容に与える骨格筋 GR および性ステロイドホルモン受容体の影響を両性において明らかにすることを目的に、雌雄の骨格筋特異的 ERKO マウス (ERmKO)、骨格筋特異的 ARKO マウス (ARmKO)、ならびに骨格筋特異的 ERGR ダブル KO マウス (ERGRmKO)、骨格筋特異的 ARGR ダブル KO マウス (ARGRmKO) を作成した。

GRmKO、ERmKO、ARmKO、ERGRmKO、ARGRmKO はいずれも各々の受容体遺伝子座の一部に LoxP 配列を配したトランスジェニックマウスと、骨格筋特異的に発現する human skeletal muscle actin (Acta1) 遺伝子プロモーター依存性に Cre リコンビナーゼを発現するトランスジェニックマウスを交配させて独自に作成した。各マウス各組織における GR、ER、AR の遺伝子発現量は qRT-PCR 法で解析した。GRmKO、ERmKO、ARmKO、ERGRmKO、ARGRmKO いずれにおいても、骨格筋において KO された受容体遺伝子の発現が低下したが、肝臓では変化がなかった (図 12)。また、骨格筋における GR 遺伝子の KO は他の受容体遺伝子の発現には影響を与えなかったが、ER 遺伝子の KO は AR 遺伝子の発現を増加させ、AR 遺伝子の KO は ER 遺伝子の発現を増加させる傾向があった (図 12)。なお、肝臓では、メスで各受容体遺伝子の発現量が大きかった (図 12)。図 13 にダブル KO マウスを含めた本実験で用いた KO マウスの体重曲線を GRf/f の結果とともに示した。いずれのマウスの体重もオスがメスより大きかった。既報の如く、GRmKO オスは GRf/f に比し体重が大きかった。GRmKO メスと GRf/f の間、オスメスともに GRf/f と ERmKO の間には、差は認められなかった。ARmKO オスは GRf/f に比し体重が小さかった。GRmKO と ERGRmKO にはオスメスともに差は認められなかった。ARGRmKO オスは

GRmKO オスに比し体重が小さく、ARmKO より大きかった。ARGRmKO メスは GRmKO や ARmKO と差を認めなかった。

図 14 に 20 週齢時の各マウスの体重ならびに組織重量を解析した結果をまとめて示した。いずれのマウスにおいても、メスはオスに比し体重、臓器重量ともに小さかった。オス GRmKO では既報通り、GRf/f に比し筋重量は増加し、白色脂肪重量は減少していたが[25]、メスではそれらの変化は乏しかった。ERmKO の筋重量は、雌雄ともに、ERf/f に比し腓腹筋では変化がなかったが、ヒラメ筋は増加し、大腿四頭筋は減少し、ERGRmKO ではいずれも増加していた。ARmKO の四肢筋重量は、雌雄とも ARf/f に比し変化がなかったが、ARGRmKO では増加していた。オスの ARmKO の会陰筋重量は既報通り ARf/f に比し著減し、ARGRmKO も同様に著減していた。ERmKO の脂肪重量は雌雄とも ERf/f に比し減少し、ERGRmKO においては、オスでは減少していたが、メスは増加する可能性が示唆された。ARmKO の白色脂肪重量は、ARf/f に比しオスで増加傾向、メスで減少傾向を示したが、ARGRmKO では雌雄ともに減少傾向を示した。一方で ARmKO の褐色脂肪重量は、雌雄ともに増加傾向を示したが、オス ARGRmKO では増加は認められなくなった(図 14)。図 15 に GRmKO、ARmKO、ARGRmKO、ERmKO、ERGRmKO によるマウス体組成変化をまとめ

た。なお、骨格筋 HE 染色組織像において、骨格筋 ER、ARKO、骨格筋 ERGR、
ARGR ダブル KO による明らかな影響は雌雄ともに認められなかった（データ
示さず）。

第5章 考察

本研究では、体組成の性差構築機構を明らかにするために、体組成のうち特に骨格筋、脂肪量調節に関与する GC-GR 系と性ステロイドホルモン制御系であるエストロゲン-ER、アンドロゲン-AR 系との相互作用に着目して解析した。方法として、体組成変容を来すモデルである GRmKO マウスにおいてその性腺を摘除したモデルを用いた点、骨格筋における GR と ER もしくは GR と AR のダブル KO マウスを作製して解析した点が特徴である。

1, GC 誘導性骨格筋遺伝子発現に与える性ステロイドホルモンの影響

絶食により誘導された骨格筋 GR 標的遺伝子発現において、一部の遺伝子は OVX によりその発現誘導が抑制される可能性が示された (図 4)。本研究において解析した GR 標的遺伝子は既知の骨格筋異化関連遺伝子のみではあるが、OVX によって変化を受けた遺伝子は興味深いことに、*Foxo1*、*Foxo3*、*Klf15* などの転写因子である。しかし、GR を含めたこれらの転写因子の標的となっている *Fbxo32*、*Trim63*、*Ddit4*、*Bnip3*、*Map1lc3a* の発現は OVX の影響を受けず、OVX の影響が GR、*Foxo1*、*Foxo3*、*Klf15* によってマスクされた可能性がある。

いずれにせよ、例えば、*Klf15* のプロモーターにはエストロゲン応答性配列(ERE)の存在が示唆されていること[42]、GR と ER は互いのパイオニア転写因子となったり、転写複合体形成や逆に排他的相互作用をすることも示されていること[27, 43]、など、プロモーターレベルあるいはエピジェネティックな調節も念頭におく必要がある。GR と AR 間にも様々な相互作用機構の存在が示されており[30]、受容体間の相互作用をより詳細に解析することが今後の課題と考えられた。

2, 骨格筋遺伝子発現における性差と GR

飢餓応答を含む骨格筋遺伝子発現パターンの多くは雌雄同様であり、骨格筋が運動器およびタンパク質貯蔵、エネルギー代謝の身体最大器官として働く臓器であることを考えるときわめて合目的的な結果と考えられた(図 8)。骨格筋に比し、例えば肝は性差の顕著な臓器であることを示唆する複数の報告があるが、肝は性ホルモンを含む様々な物質の代謝臓器でもあることから、性特異的な調節システムが必要なのかもしれない[44, 45]。一方で、骨格筋にも性差を有する遺伝子群が存在した。既知の骨格筋 GR 標的遺伝子として知られている *Bnip3* がオス特異的な遺伝子である可能性も示唆されるなど、性差に着目し

た解析が骨格筋でも重要な意義を持つ証左の一つであろう。骨格筋量や筋力には明確な性差が存在し、筋線維タイプ構成やエネルギー要求性も異なる可能性が示唆されており[16, 46]、これらの遺伝子の機能的意義から骨格筋の性差が解明されるかもしれない。ここで、骨格筋 GR 標的遺伝子において、雌雄共通の遺伝子群は、オートファジー、ユビキチン化、アミノ酸輸送、活性酸素種代謝、低酸素応答、アポトーシス制御、筋細胞分化関連遺伝子群などが同定され、骨格筋 GR が筋組織の代謝調節、細胞死・分化調節に密接に働いていることが明らかになった。一方で、オス特異的な GR 標的遺伝子群として、褐色脂肪調節、インスリン分泌調節、電気刺激応答が同定され、メス特異的な GR 標的遺伝子群として、概日リズム調節、リンパ球制御、細胞食作用、ER ストレス応答、ウイルス防御などが同定された。ヒト骨格筋におけるトランスクリプトームの性差に加えて、エネルギー代謝、免疫応答、ストレス応答、筋再生分化における性差も遺伝子発現レベルで調節されている可能性が示され、その点からも骨格筋遺伝子発現調節の性差研究は重要である[46-48]。ここで、女性における閉経後の脂肪性肝疾患増加のメカニズムの一つとしてエストロゲン欠乏による FSH 上昇を介した肝 GR 過活性化が原因となる可能性が明らかにされるなど[29, 49]、GR 制御系と性ステロイド受容体制御系の相互作用が骨格筋以外の臓器においても生理的

意義を有することが示されており、今後、体組成のみならず全身の代謝制御の理解に向けてもかかる相互作用を解明する必要があるだろう。

3, 骨格筋ステロイド受容体を介した体組成調節

GRmKO は雌雄ともに筋肥大を呈するが、その傾向は、骨格筋 ERGR ダブル KO や骨格筋 ARGR ダブル KO においても維持され、骨格筋における GR と ER もしくは GR と AR の直接の相互作用は、骨格筋量に大きな影響を与えない可能性も考えられた (図 14)。例えば、アンドロゲンは骨格筋量調節作用を有することが知られているが、全身の ARKO では四肢筋量が減少するものの、骨格筋特異的 ARKO では四肢筋量に大きな変化がないため[18, 21-23]、アンドロゲンは四肢骨格筋以外の AR に作用して骨格筋量を調整している可能性が示唆されており、本研究結果と矛盾しない。しかしながら、筋萎縮あるいは筋肥大を促進させるような状況下において、骨格筋におけるこれらのステロイド受容体がどのような相互作用を示し、どのように筋量調節や筋代謝制御を行うかを解析することは重要な課題と考えられ、今後の更なる解析が必要と考えられた。

AR 感受性筋とされる会陰筋重量は、オス ARmKO では既報の如く ARf/f に比し著明な減少が認められ[21-23, 50]、ARGR ダブル KO によっても四肢筋で

みられるような骨格筋 GRKO による筋重量増加は認められず、会陰筋は GR に比し AR が優位に働く筋組織であると考えられた (図 14)。AR のタンパク質発現量は会陰筋で多いことが知られており、各ステロイド受容体発現量やその活性化状態が、筋量調節にきわめて重要であることを示す証左と考えられた。したがって、GRmKO における筋肥大効果が、オスに比してメスで小さかった結果も、ER あるいは AR の発現量や活性化状態が影響を与えている可能性があり、その詳細を解析することは今後の重要な課題といえる。

白色脂肪量調節に関し、GRmKO においては雌雄ともに脂肪量が減少するが、ERGR ダブル KO マウスのメスにおいてこの傾向が消失する可能性が示唆された (図 14)。すなわち、骨格筋 GR を起点とする筋—肝—脂肪代謝連関に骨格筋 ER が何らかの影響を与えている可能性が考えられた。メスのみにこの現象が認められたことは、例えば、この骨格筋 ER の作用には血中エストロゲン濃度が大きく影響を与えている可能性があり、オス ERGR ダブル KO マウスにエストロゲンを投与した際の脂肪量変化を解析することなどは、筋—肝—脂肪代謝連関における性ステロイドホルモン受容体システムの意義を考える上で、有用である可能性が考えられた。

その一方で、骨格筋における ER や AR はその遺伝子発現レベルにおいても様々な調節を受ける可能性が示唆されるなど、体組成変化に与える性ステロイドホルモンの影響は当初想定した以上に多段階的かつ複雑であることが示唆された。また、餌中に微量ながら含有される phytoestrogen の影響を除外する必要があるなどの課題も明らかになった。

GR、ER、AR はいずれも体組成および代謝可塑性に重要な因子であるが、性ステロイドホルモン制御系は生殖腺の分化や生殖機能の獲得、繁殖行動、妊娠、出産、生殖機能の喪失などのタイミングでダイナミックに変動する特徴を有する。GC-GR 制御系は生命維持に必須の役割を有し、一生涯に渡り厳格に調整されている。したがって、様々なライフステージにおいて変動する性ステロイドホルモン制御系によるダイナミックな生体制御を GC-GR 系が精緻に制御しつつ、一方で、生態系として必要な性差を維持している可能性が考えられた。これらの制御系のバランスの異常は、疾患の発症あるいは疾患の性差に関係すると考えられ、本研究により得られた成果は、体組成の性差構築機構解明の端緒となるとともに、代謝疾患の病態理解と治療法開発に寄与する可能性が示された。

第6章 引用文献

1. Regitz-Zagrosek V: Sex and gender differences in health. Science & Society Series on Sex and Science. *EMBO Rep* 2012, 13(7):596-603.
2. Danska JS: Sex matters for mechanism. *Sci Transl Med* 2014, 6(258):258fs240.
3. Franconi F, Brunelleschi S, Steardo L, Cuomo V: Gender differences in drug responses. *Pharmacol Res* 2007, 55(2):81-95.
4. Mauvais-Jarvis F, Arnold AP, Reue K: A Guide for the Design of Pre-clinical Studies on Sex Differences in Metabolism. *Cell Metab* 2017, 25(6):1216-1230.
5. Clayton JA, Collins FS: Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. *Nature* 2014, 509(7500):282-283.
6. Regitz-Zagrosek V, Kararigas G: Mechanistic Pathways of Sex Differences in Cardiovascular Disease. *Physiol Rev* 2017, 97(1):1-37.
7. Kim Y, Yang GR, Pradhan K, Venkataraju KU, Bota M, García Del Molino LC, Fitzgerald G, Ram K, He M, Levine JM *et al*: Brain-wide Maps Reveal Stereotyped Cell-Type-Based Cortical Architecture and Subcortical Sexual Dimorphism. *Cell* 2017, 171(2):456-469.e422.

8. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A *et al*: Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med* 2009, 360(15):1509-1517.
9. Mauvais-Jarvis F: Estrogen and androgen receptors: regulators of fuel homeostasis and emerging targets for diabetes and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 2011, 22(1):24-33.
10. Khosla S, Melton LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Klee GG, Riggs BL: Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab* 1998, 83(7):2266-2274.
11. Arnal JF, Lenfant F, Metivier R, Flouriot G, Henrion D, Adlanmerini M, Fontaine C, Gourdy P, Chambon P, Katzenellenbogen B *et al*: Membrane and Nuclear Estrogen Receptor Alpha Actions: From Tissue Specificity to Medical Implications. *Physiol Rev* 2017, 97(3):1045-1087.
12. Cohen S, Nathan JA, Goldberg AL: Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. *Nat Rev Drug Discov* 2015, 14(1):58-74.

13. Palmer BF, Clegg DJ: The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol* 2015, 402:113-119.
14. Lundsgaard AM, Kiens B: Gender differences in skeletal muscle substrate metabolism - molecular mechanisms and insulin sensitivity. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014, 5:195.
15. Gabriel BM, Zierath JR: The Limits of Exercise Physiology: From Performance to Health. *Cell Metab* 2017, 25(5):1000-1011.
16. Haizlip KM, Harrison BC, Leinwand LA: Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition. *Physiology (Bethesda)* 2015, 30(1):30-39.
17. Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL: The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocr Rev* 2013, 34(3):309-338.
18. Chang C, Yeh S, Lee SO, Chang TM: Androgen receptor (AR) pathophysiological roles in androgen-related diseases in skin, bone/muscle, metabolic syndrome and neuron/immune systems: lessons learned from mice lacking AR in specific cells. *Nucl Recept Signal* 2013, 11:e001.

19. Ribas V, Drew BG, Zhou Z, Phun J, Kalajian NY, Soleymani T, Daraei P, Widjaja K, Wanagat J, de Aguiar Vallim TQ *et al*: Skeletal muscle action of estrogen receptor α is critical for the maintenance of mitochondrial function and metabolic homeostasis in females. *Sci Transl Med* 2016, 8(334):334ra354.
20. Collins BC, Mader TL, Cabelka CA, Iñigo MR, Spangenburg EE, Lowe DA: Deletion of estrogen receptor α in skeletal muscle results in impaired contractility in female mice. *J Appl Physiol (1985)* 2018, 124(4):980-992.
21. Dubois V, Simitsidellis I, Laurent MR, Jardi F, Saunders PT, Vanderschueren D, Claessens F: Enobosarm (GTx-024) Modulates Adult Skeletal Muscle Mass Independently of the Androgen Receptor in the Satellite Cell Lineage. *Endocrinology* 2015, 156(12):4522-4533.
22. Dubois V, Laurent MR, Sinnesael M, Cielen N, Helsen C, Clinckemalie L, Spans L, Gayan-Ramirez G, Deldicque L, Hespel P *et al*: A satellite cell-specific knockout of the androgen receptor reveals myostatin as a direct androgen target in skeletal muscle. *FASEB J* 2014, 28(7):2979-2994.
23. Ophoff J, Van Proeyen K, Callewaert F, De Gendt K, De Bock K, Vanden Bosch A, Verhoeven G, Hespel P, Vanderschueren D: Androgen signaling in myocytes

- contributes to the maintenance of muscle mass and fiber type regulation but not to muscle strength or fatigue. *Endocrinology* 2009, 150(8):3558-3566.
24. Shimizu N, Yoshikawa N, Ito N, Maruyama T, Suzuki Y, Takeda S, Nakae J, Tagata Y, Nishitani S, Takehana K *et al*: Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle. *Cell Metab* 2011, 13(2):170-182.
25. Shimizu N, Maruyama T, Yoshikawa N, Matsumiya R, Ma Y, Ito N, Tasaka Y, Kuribara-Souta A, Miyata K, Oike Y *et al*: A muscle-liver-fat signalling axis is essential for central control of adaptive adipose remodelling. *Nat Commun* 2015, 6:6693.
26. Vahrenkamp JM, Yang CH, Rodriguez AC, Almomen A, Berrett KC, Trujillo AN, Guillen KP, Welm BE, Jarboe EA, Janat-Amsbury MM *et al*: Clinical and Genomic Crosstalk between Glucocorticoid Receptor and Estrogen Receptor α In Endometrial Cancer. *Cell Rep* 2018, 22(11):2995-3005.
27. Yang F, Ma Q, Liu Z, Li W, Tan Y, Jin C, Ma W, Hu Y, Shen J, Ohgi KA *et al*: Glucocorticoid Receptor:MegaTrans Switching Mediates the Repression of an ER α -Regulated Transcriptional Program. *Mol Cell* 2017, 66(3):321-331.e326.

28. Cvorc A, Yuan C, Paruthiyil S, Miller OH, Yamamoto KR, Leitman DC: Cross talk between glucocorticoid and estrogen receptors occurs at a subset of proinflammatory genes. *J Immunol* 2011, 186(7):4354-4360.
29. Quinn MA, Xu X, Ronfani M, Cidlowski JA: Estrogen Deficiency Promotes Hepatic Steatosis via a Glucocorticoid Receptor-Dependent Mechanism in Mice. *Cell Rep* 2018, 22(10):2690-2701.
30. Arora VK, Schenkein E, Murali R, Subudhi SK, Wongvipat J, Balbas MD, Shah N, Cai L, Efstathiou E, Logothetis C *et al*: Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade. *Cell* 2013, 155(6):1309-1322.
31. Jones A, Hwang DJ, Narayanan R, Miller DD, Dalton JT: Effects of a novel selective androgen receptor modulator on dexamethasone-induced and hypogonadism-induced muscle atrophy. *Endocrinology* 2010, 151(8):3706-3719.
32. Yoshikawa N, Nagasaki M, Sano M, Tokudome S, Ueno K, Shimizu N, Imoto S, Miyano S, Suematsu M, Fukuda K *et al*: Ligand-based gene expression profiling reveals novel roles of glucocorticoid receptor in cardiac metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009, 296(6):E1363-1373.

33. Tronche F, Kellendonk C, Kretz O, Gass P, Anlag K, Orban PC, Bock R, Klein R, Schütz G: Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet* 1999, 23(1):99-103.
34. Miniou P, Tiziano D, Frugier T, Roblot N, Le Meur M, Melki J: Gene targeting restricted to mouse striated muscle lineage. *Nucleic Acids Res* 1999, 27(19):e27.
35. Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierich A, Chambon P, Mark M: Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta) on mouse reproductive phenotypes. *Development* 2000, 127(19):4277-4291.
36. Sato T, Matsumoto T, Kawano H, Watanabe T, Uematsu Y, Sekine K, Fukuda T, Aihara K, Krust A, Yamada T *et al*: Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101(6):1673-1678.
37. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, Sivertsson Å, Kampf C, Sjöstedt E, Asplund A *et al*: Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science* 2015, 347(6220):1260419.

38. Smith CM, Hayamizu TF, Finger JH, Bello SM, McCright IJ, Xu J, Baldarelli RM, Beal JS, Campbell J, Corbani LE *et al*: The mouse Gene Expression Database (GXD): 2019 update. *Nucleic Acids Res* 2019, 47(D1):D774-D779.
39. Shah K, McCormack CE, Bradbury NA: Do you know the sex of your cells? *Am J Physiol Cell Physiol* 2014, 306(1):C3-18.
40. Ogawa S, Chan J, Gustafsson JA, Korach KS, Pfaff DW: Estrogen increases locomotor activity in mice through estrogen receptor alpha: specificity for the type of activity. *Endocrinology* 2003, 144(1):230-239.
41. Longo VD, Mattson MP: Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab* 2014, 19(2):181-192.
42. Hewitt SC, Li L, Grimm SA, Winuthayanon W, Hamilton KJ, Pockette B, Rubel CA, Pedersen LC, Fargo D, Lanz RB *et al*: Novel DNA motif binding activity observed in vivo with an estrogen receptor α mutant mouse. *Mol Endocrinol* 2014, 28(6):899-911.
43. Swinstead EE, Miranda TB, Paakinaho V, Baek S, Goldstein I, Hawkins M, Karpova TS, Ball D, Mazza D, Lavis LD *et al*: Steroid Receptors Reprogram

- FoxA1 Occupancy through Dynamic Chromatin Transitions. *Cell* 2016, 165(3):593-605.
44. Della Torre S, Mitro N, Meda C, Lolli F, Pedretti S, Barcella M, Ottobrini L, Metzger D, Caruso D, Maggi A: Short-Term Fasting Reveals Amino Acid Metabolism as a Major Sex-Discriminating Factor in the Liver. *Cell Metab* 2018, 28(2):256-267.e255.
45. van Nas A, Guhathakurta D, Wang SS, Yehya N, Horvath S, Zhang B, Ingram-Drake L, Chaudhuri G, Schadt EE, Drake TA *et al*: Elucidating the role of gonadal hormones in sexually dimorphic gene coexpression networks. *Endocrinology* 2009, 150(3):1235-1249.
46. Liu D, Sartor MA, Nader GA, Pistilli EE, Tanton L, Lilly C, Gutmann L, IglayReger HB, Visich PS, Hoffman EP *et al*: Microarray analysis reveals novel features of the muscle aging process in men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013, 68(9):1035-1044.
47. Lindholm ME, Huss M, Solnestam BW, Kjellqvist S, Lundeberg J, Sundberg CJ: The human skeletal muscle transcriptome: sex differences, alternative splicing,

- and tissue homogeneity assessed with RNA sequencing. *FASEB J* 2014, 28(10):4571-4581.
48. Welle S, Tawil R, Thornton CA: Sex-related differences in gene expression in human skeletal muscle. *PLoS One* 2008, 3(1):e1385.
49. Quinn MA, Cidlowski JA: Endogenous hepatic glucocorticoid receptor signaling coordinates sex-biased inflammatory gene expression. *FASEB J* 2016, 30(2):971-982.
50. Dubois V, Laurent MR, Jardi F, Antonio L, Lemaire K, Goyvaerts L, Deldicque L, Carmeliet G, Decallonne B, Vanderschueren D *et al*: Androgen Deficiency Exacerbates High-Fat Diet-Induced Metabolic Alterations in Male Mice. *Endocrinology* 2016, 157(2):648-665.

第7章 謝辞

本研究の遂行にあたり、多大なるご指導とご助言を賜りました、東京大学医科学研究所附属病院 抗体・ワクチンセンター免疫病治療学分野ならびにアレルギー免疫科 教授、田中廣壽博士に深謝申し上げます。また、終始直接ご指導を賜りました、同科講師、吉川賢忠博士、マイクロアレイデータ解析を中心にご指導賜りました、同科助教、山崎広貴博士に心より感謝申し上げます。

さらに、マウスを提供して頂くとともに有益なご助言を賜りました愛媛大学プロテオサイエンスセンター 病態生理解析部門 教授、今井祐記博士に深謝申し上げます。

最後になりますが、惜しみないご助言とご協力を賜りました清水宣明博士、栗原明子技官、丸山崇子技官はじめ、東京大学医科学研究所附属病院 アレルギー免疫科教室において在学中の私に関わり導いて下さった全ての皆様に感謝申し上げます。

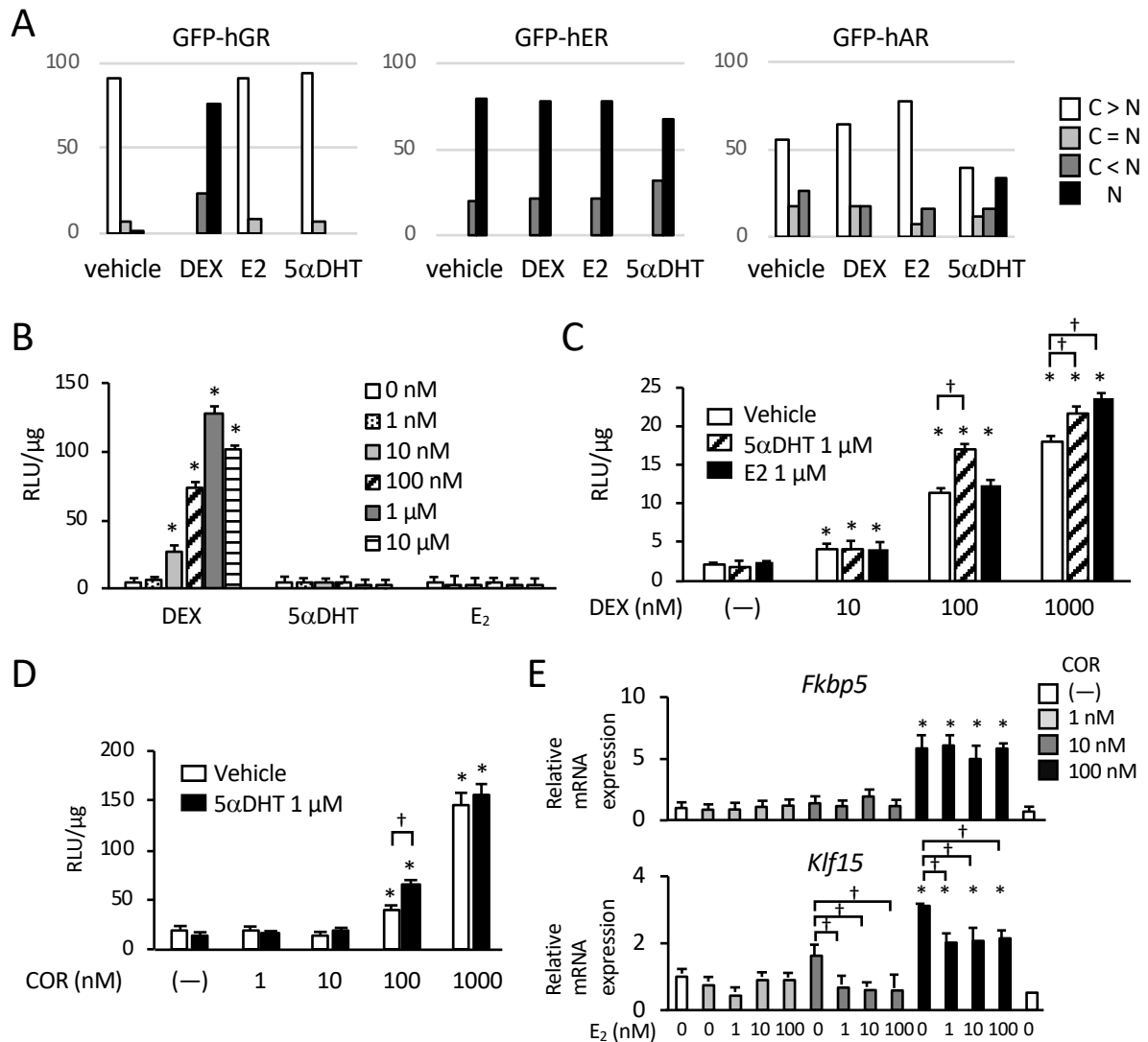


図1. 筋芽細胞におけるGR、ER、AR各受容体活性化に与えるGC、エストロゲン、アンドロゲンの影響

- A) 細胞内局在に与える影響：C2C12細胞に各GFP融合ステロイド受容体発現プラスミドを一過性導入し、GFP-hGR、GFP-hER、GFP-hARを過剰発現させ、無血清培地で24時間培養後に、各100 nMのエストラジオール (E2)、5αデヒドロテストステロン (5αDHT)、デキサメタゾン (DEX) あるいはvehicle (エタノール) で40分間処理後に蛍光顕微鏡で観察し、細胞内局在を解析した。C, 細胞質; N, 核
- B-D) GRE依存性レポーター遺伝子発現に与える影響：C2C12細胞にGRE依存性レポーター遺伝子発現プラスミドであるp2xGRE-Luciferaseを一過性導入し、各リガンドで20時間処理後に細胞を回収し、細胞抽出液を調整してルシフェラーゼアッセイを行ったRLU値を蛋白質質量で除した補正值で各リガンドによるGRE依存性レポーター遺伝子発現誘導量を比較した。n=3, mean ± SEM, * P<0.01 vs vehicle, † P<0.01.
- E) GC依存性GR標的の遺伝子に与えるE2の影響：C2C12細胞を無血清培地に交換して12時間培養後、E₂で2時間前処理後にCORを添加して4時間後に細胞を回収し、定量的RT-PCR法により遺伝子発現量を解析した。n=3, mean ± SEM, * P<0.01 vs 0 nM CORT, † P<0.01.

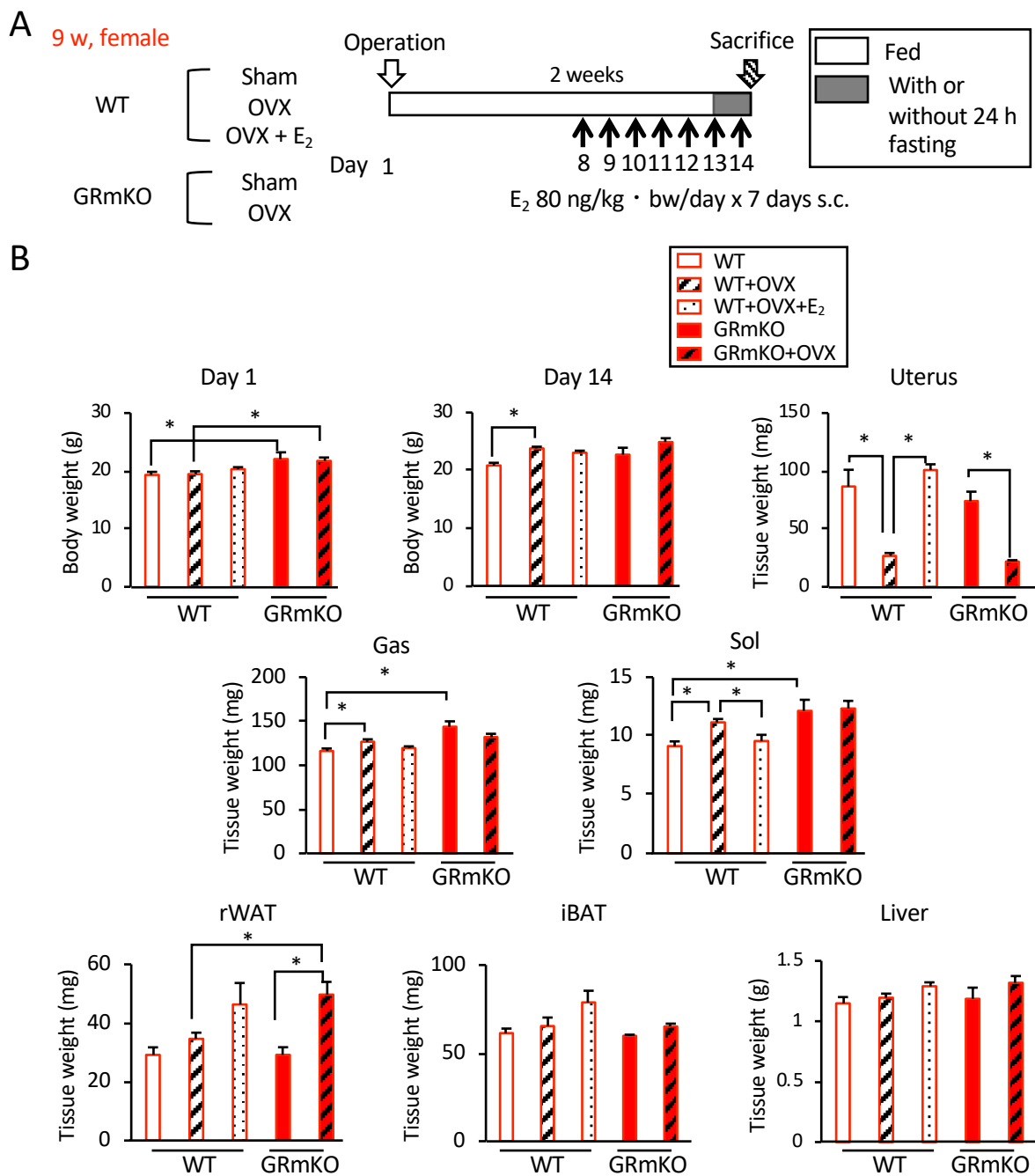


図2. 循環エストロゲン量および骨格筋GR発現量の変化が体組成に与える影響

- A) 実験方法の概要：2週間順化飼育した9週齢メスの野生型 (WT)、GRmKOマウスを卵巣摘除 (OVX) もしくはsham手術し、2週間自由摂食 (Fed) で飼育後に屠殺解析した。エストロゲン (E₂) 投与群はOVX後7日目より7日間、E₂を80 ng/kg · bw/dayの用量で皮下投与 (s.c.) した。さらに、屠殺前24 hの絶食群と自由摂食群に分類した。
- B) 循環E₂量および骨格筋GR発現量の変化が体組成に与える影響：OVXおよびE₂皮下注射を行った、WTおよびGRmKOマウス各群の術前体重、解剖時体重、子宮重量、各骨格筋、脂肪重量を示した (いずれも自由摂食群)。n=4~8, mean ± SEM, * P < 0.025 . Gas, gastrocnemius muscle; Sol, soleus muscle; rWAT, retroperitoneal white adipose tissue; iBAT, intrascapular brown adipose tissue.

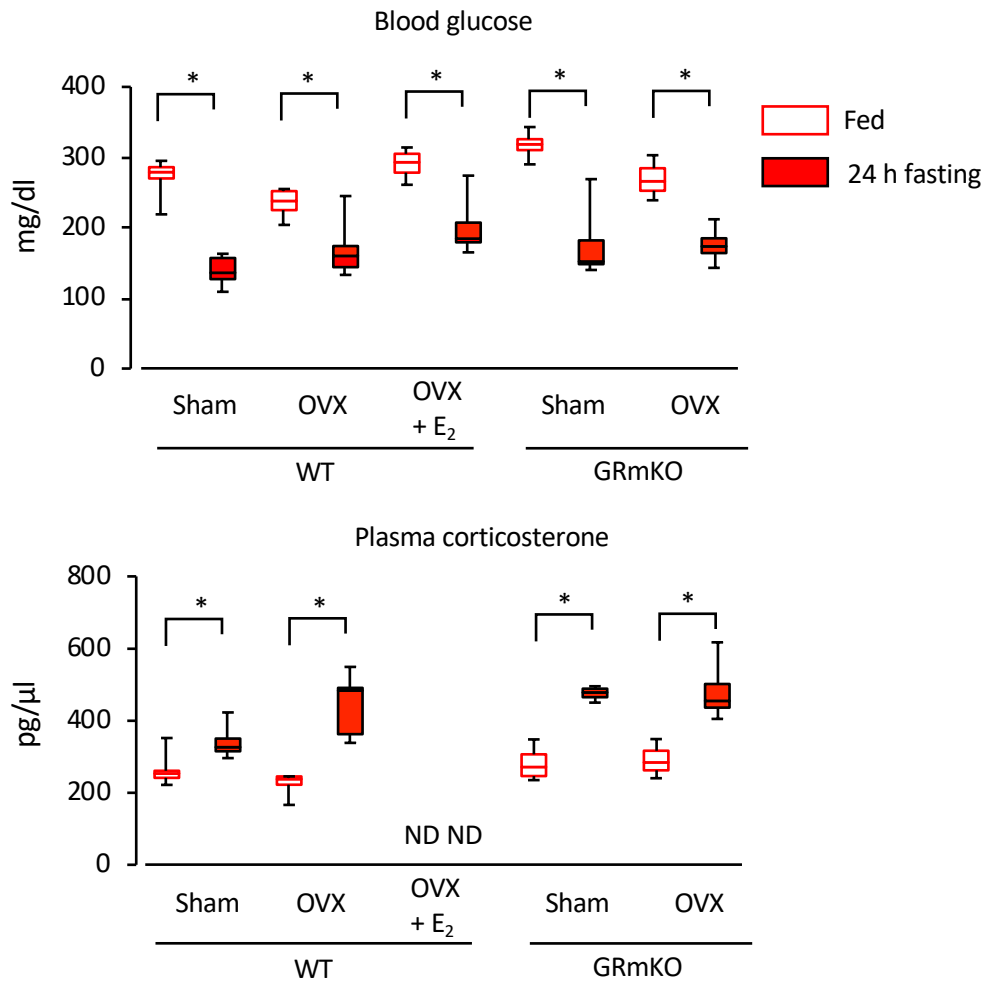


図3. OVXおよびE₂皮下注射および絶食による、野生型、GRmKOマウスの血糖値、血漿コルチコステロン濃度の変化

野生型 (WT) およびGRmKOマウス各群の全血、血漿を用いて測定した、血糖値、血漿コルチコステロン濃度をそれぞれ箱ひげ図で示した。n=4~8, ひげは最大及び最小値, 箱内に中央値, * $P < 0.05$ (Student's unpaired t-test). ND, not determined.

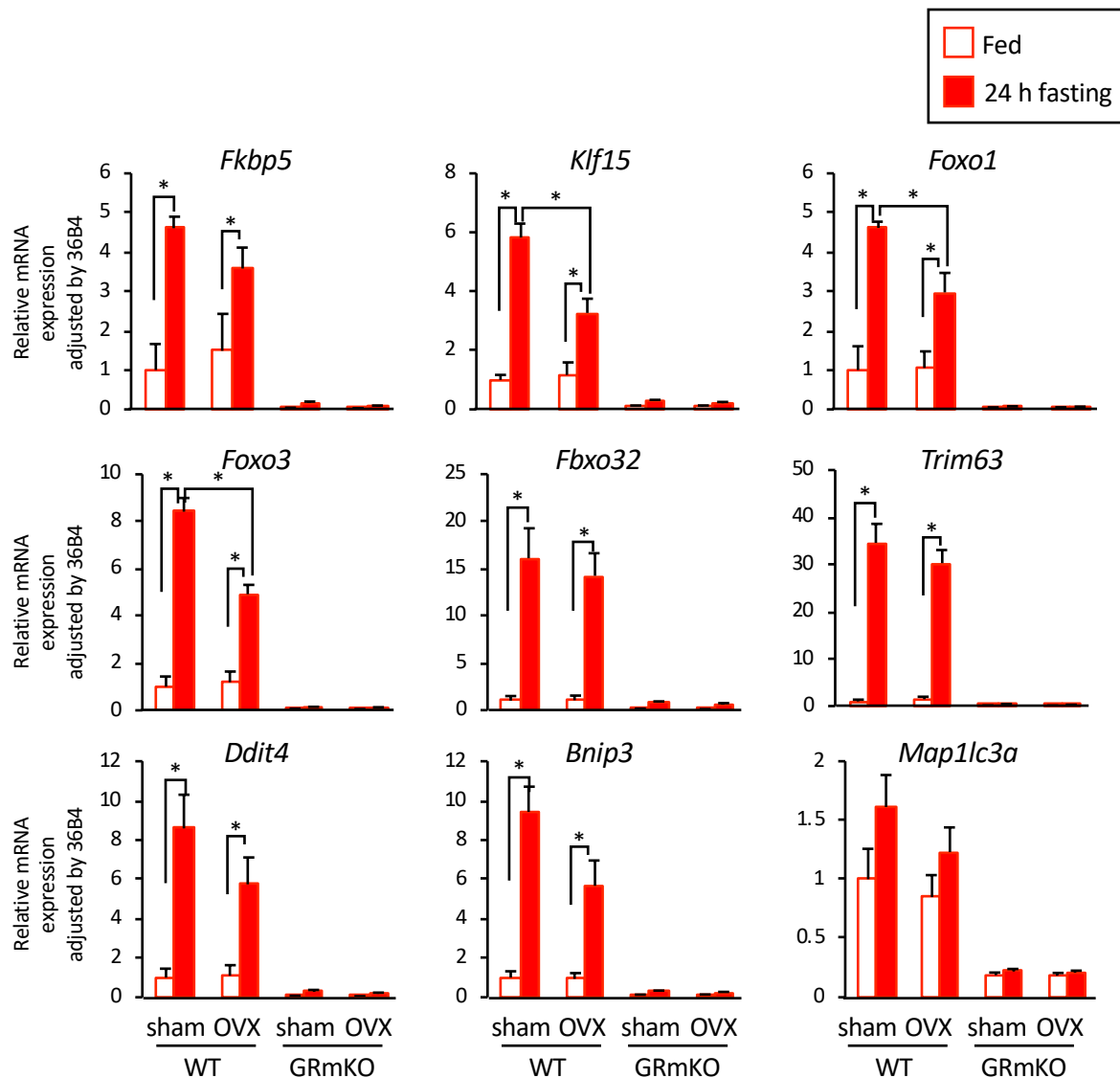


図4. 絶食により誘導される骨格筋GR標的遺伝子mRNA発現に与える、循環エストロゲン量の影響

各マウスより採取した腓腹筋を凍結粉碎し、全RNAを抽出後に調整したcDNAを用いて定量的RT-PCRを行った。測定値はコントロール遺伝子である36B4のmRNA発現量で除した値を、WT、shamにおける値を1とした相対値で示した。n=3~4, mean ± SEM, * P < 0.25. ND, not determined.

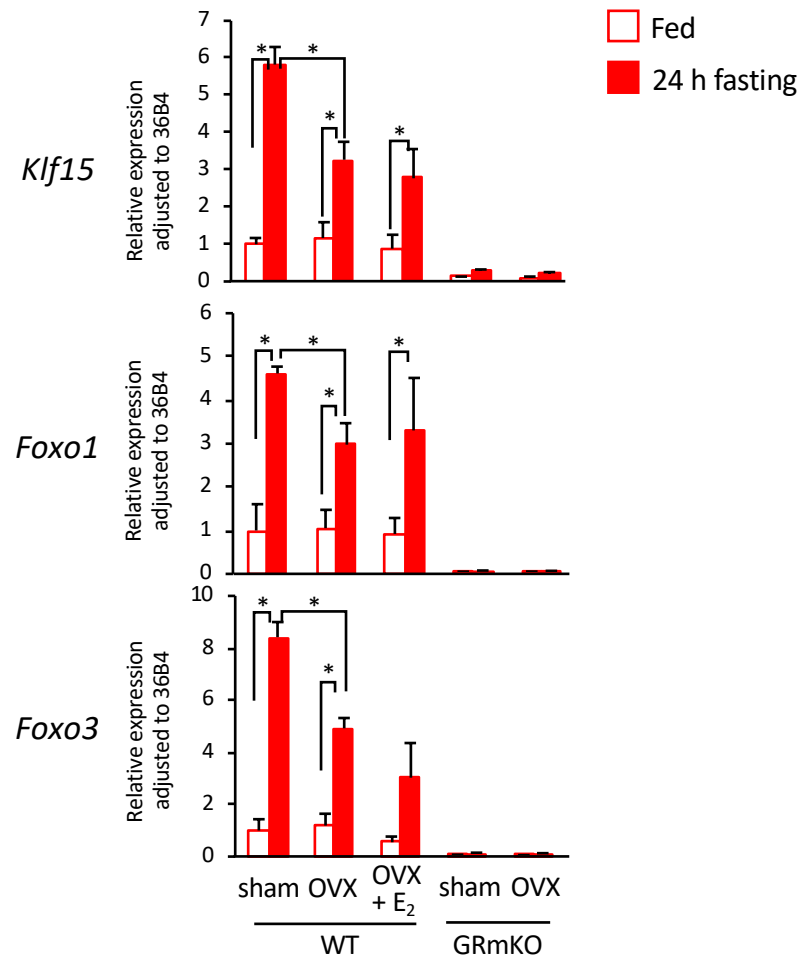
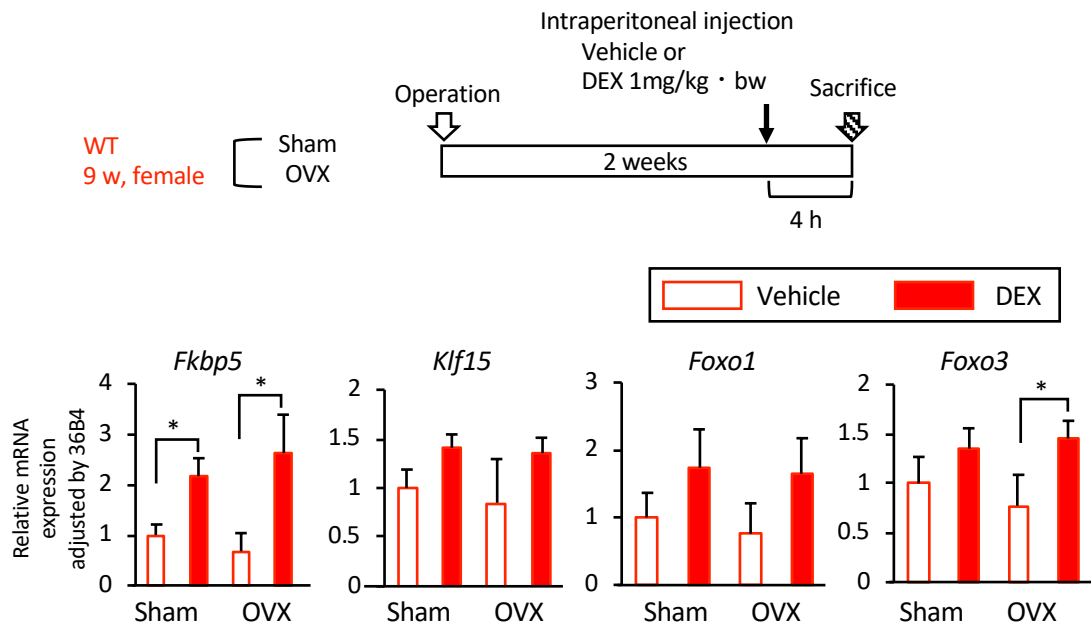


図5. 絶食により誘導される骨格筋GR標的遺伝子発現に与える、循環エストロゲン量の影響

各マウスより採取した腓腹筋を凍結粉碎し、全RNAを抽出後に調整したcDNAを用いて定量的RT-PCRを行った。測定値はコントロール遺伝子である36B4のmRNA発現量で除した値を、WT, sham, fed群の値を1とした相対値で示した。n=3~4, mean ± SEM, * P < 0.05. ND, not determined.

A



B

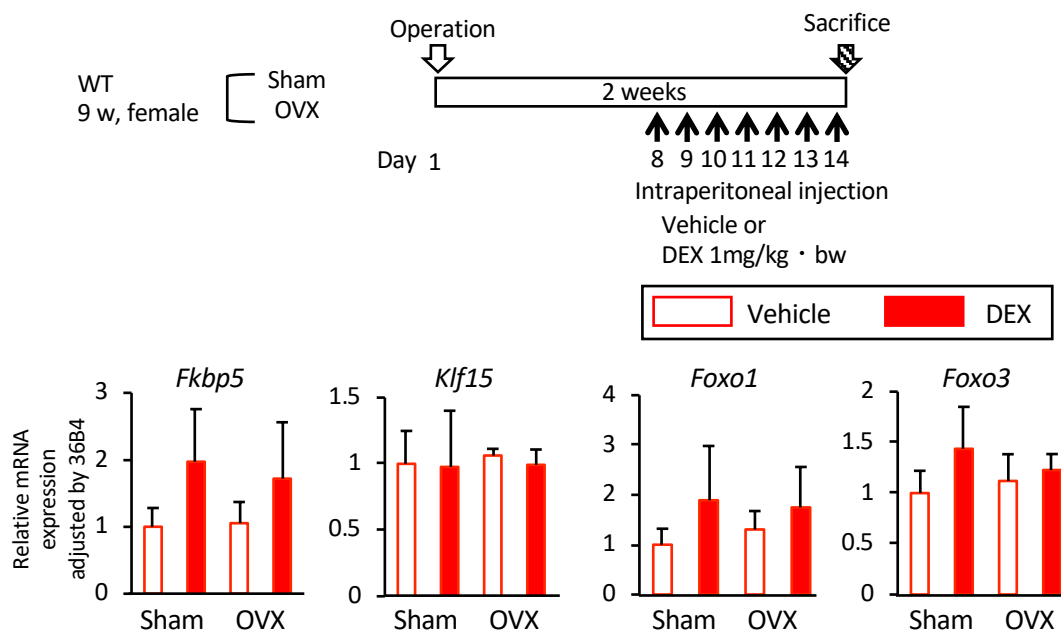


図6. 野生型マウスにおけるGC依存性骨格筋GR標的遺伝子mRNA発現に与えるOVXの影響

2週間順化飼育した9週齢メスの野生型マウス (WT) を、OVXもしくはsham手術し、2週間自由摂食で飼育後に屠殺解析した。

A) 屠殺4時間前に、生理食塩水 (Vehicle) もしくはデキサメタゾン (DEX) 1 mg/kg·bwを腹腔内投与した。

B) 手術後7日目より、VehicleもしくはDEX 1 mg/kg·BWを連日7日間腹腔内投与した。

A, B) マウス腓腹筋より全RNAを抽出してcDNAを調整後、定量的RT-PCRによりmRNA発現量を測定した。測定値はコントロール遺伝子である36B4のmRNA発現量で除した値を、sham、vehicle群の値を1とした相対値で示した。n=3, mean ± SEM, *P < 0.25.

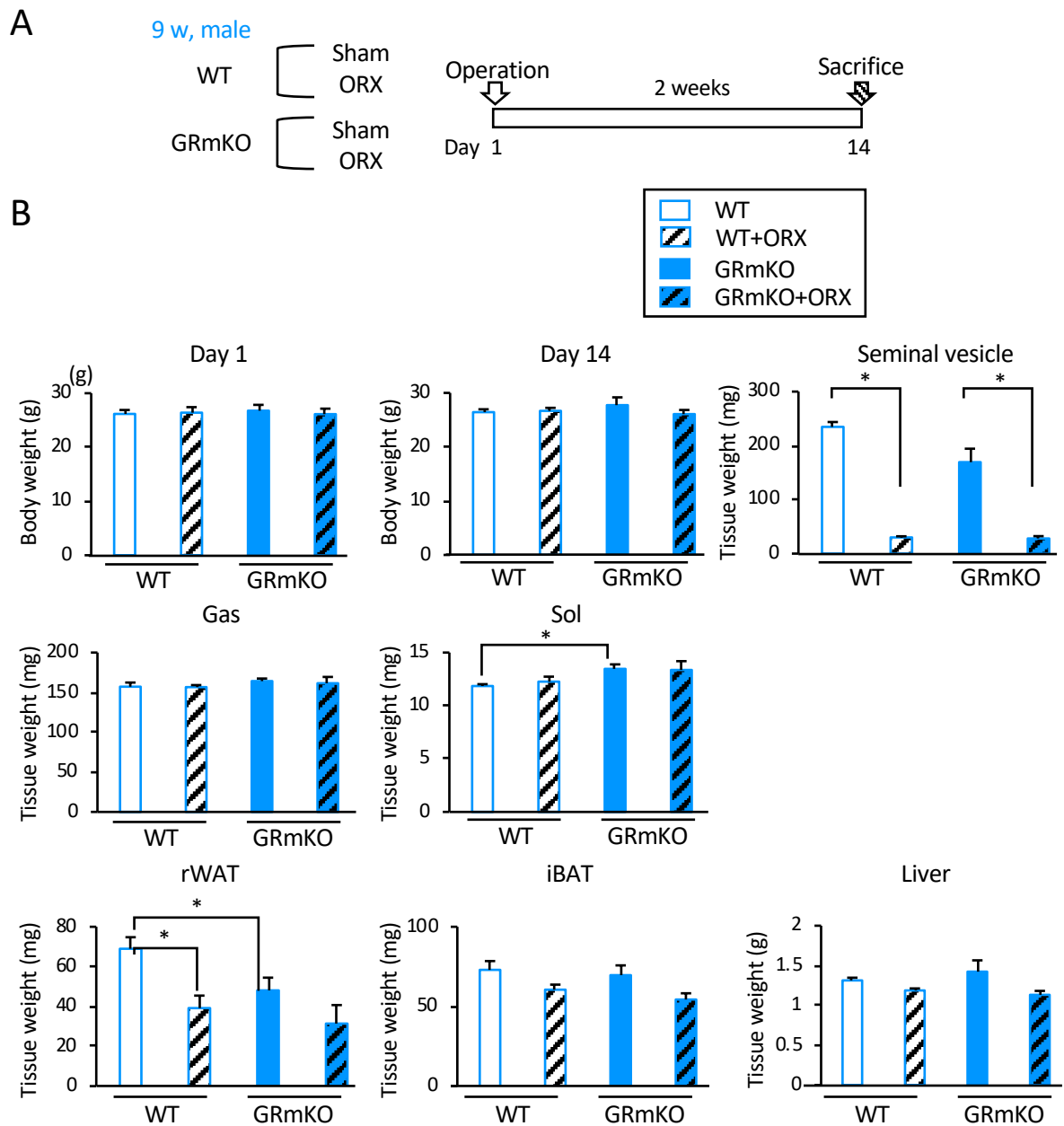
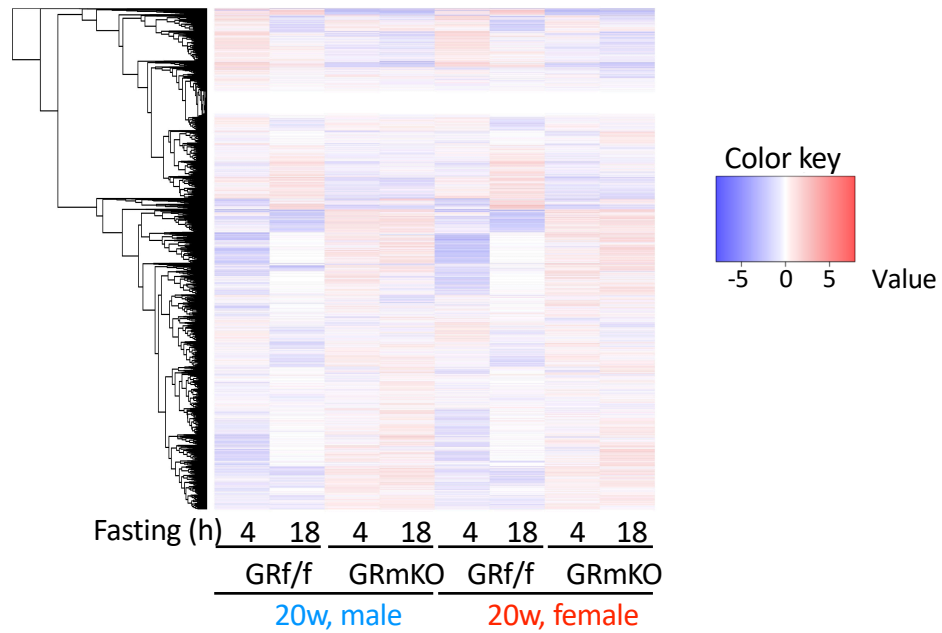


図7. 循環テストステロン量および骨格筋GR発現量の変化が体組成に与える影響

A, B) 9週齢オスの野生型 (WT)、GRmKOマウスを2週間の順化飼育後、ORXもしくはsham手術し、2週間飼育後に屠殺解析した。各マウスの術前体重、解剖時体重、精囊、各骨格筋、各脂肪、肝の重量を示した。n=6-7, mean±SEM, * $P < 0.25$ 。Gas, gastrocnemius muscle; Sol, soleus muscle; rWAT, retroperitoneal white adipose tissue; iBAT, intrascapular brown adipose tissue.

A



B

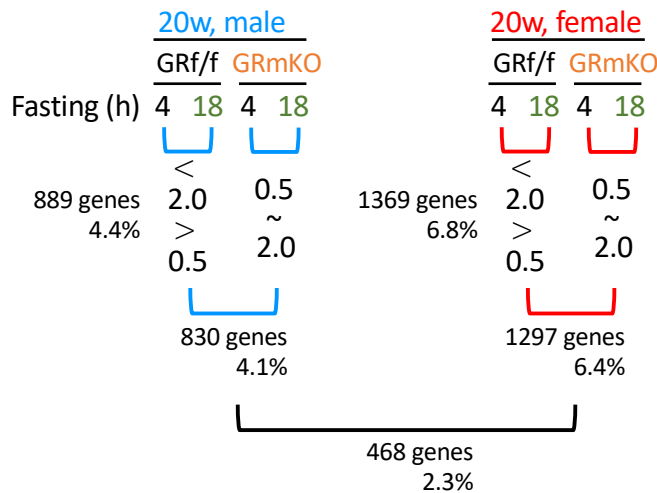
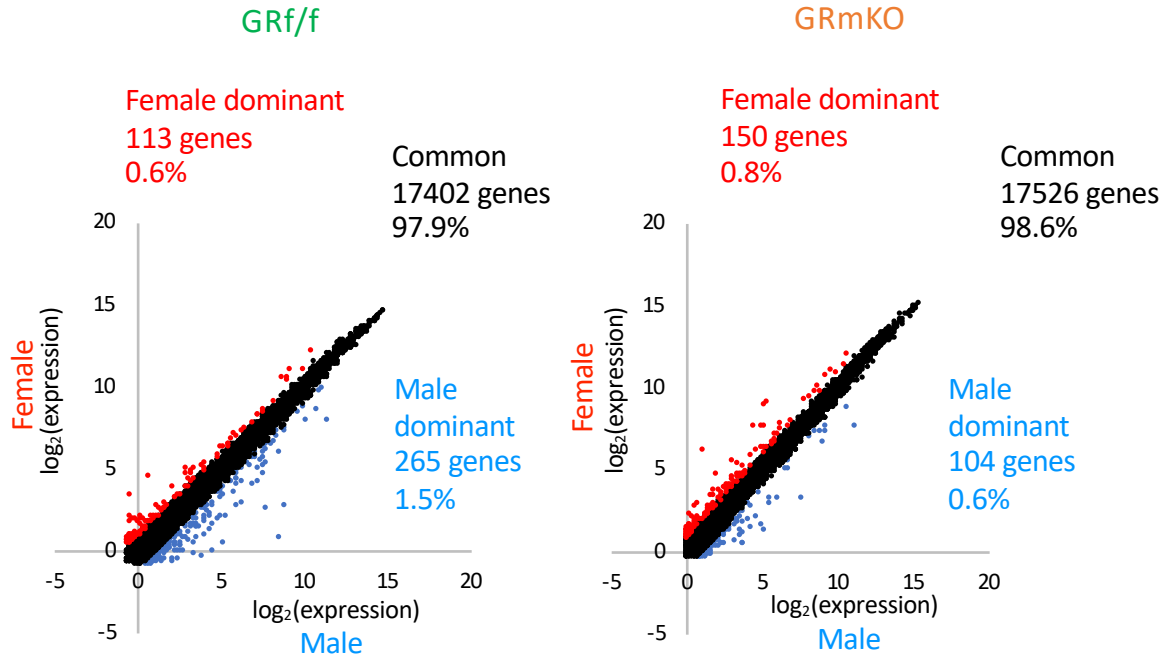


図8. 骨格筋遺伝子発現に与える飢餓ストレス、骨格筋GR量の影響とその性差

- A) 検出用DNAをスポットしていない空白部分の平均値をバックグラウンド (BG) 値とし、raw dataがBG + 2SD未満の遺伝子は、検出が認められなかった遺伝子として除外した。また、Gene Symbol、Entrez ID、RefSeq ID、Ensembl IDのない遺伝子 (プローブ) も除外した。残りのサンプルについて、群間比較解析のため、各群のraw dataの中央値が50になるように係数を乗算して補正した。20193遺伝子発現パターンをクラスター解析し、ヒートマップを作成した。w, 週齢
- B) GRf/fにおいて絶食4 hに対して絶食18 hにより2.0倍以上発現が増加もしくは0.5倍未満に発現が低下した遺伝子をまず抽出した。そのうち、GRmKOにおいて絶食4 hに対する絶食18 hの遺伝子発現量が0.5~2.0の遺伝子をさらに抽出し、雌雄で共通の遺伝子数を求めた。

A



B

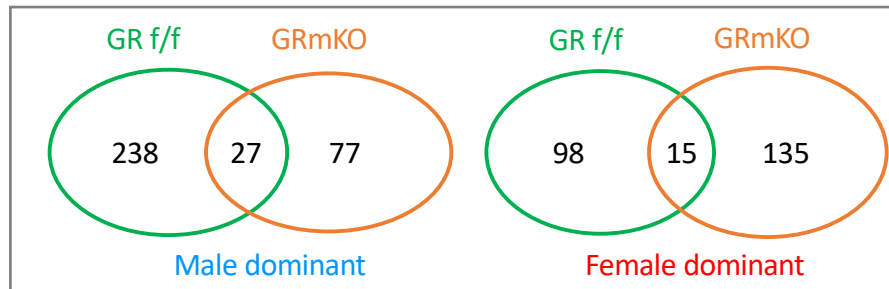
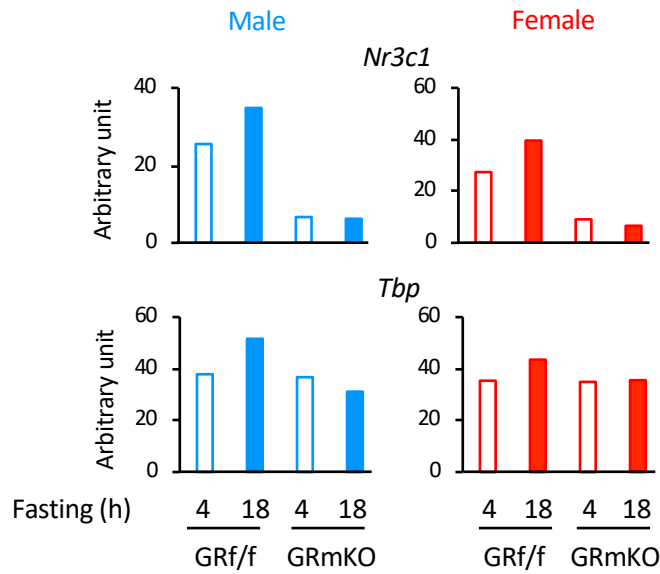


図9. 骨格筋における遺伝子発現の性差と骨格筋GR発現量の影響

- A) 骨格筋における遺伝子発現の性差：絶食 4 h 後のGRf/fおよびGRmKOマウスのいずれのサンプルにおいても有効なシグナルの得られた17780遺伝子において、各々の遺伝子発現量のシグナルを2の自然対数として、オスにおける発現量をX軸にメスにおける発現量をY軸として散布図を作成した。発現量に2倍以上の雌雄差のある遺伝子のうちオス優位の遺伝子を青、メス優位の遺伝子を赤でプロットした。
- B) 骨格筋における遺伝子発現の性差に与える骨格筋GR発現量の影響：GRf/f及びGRmKOにおいてオスもしくはメスで優位に発現している遺伝子数を、各々の特異的遺伝子数と共通の遺伝子数を記したベン図で示した。

A



B

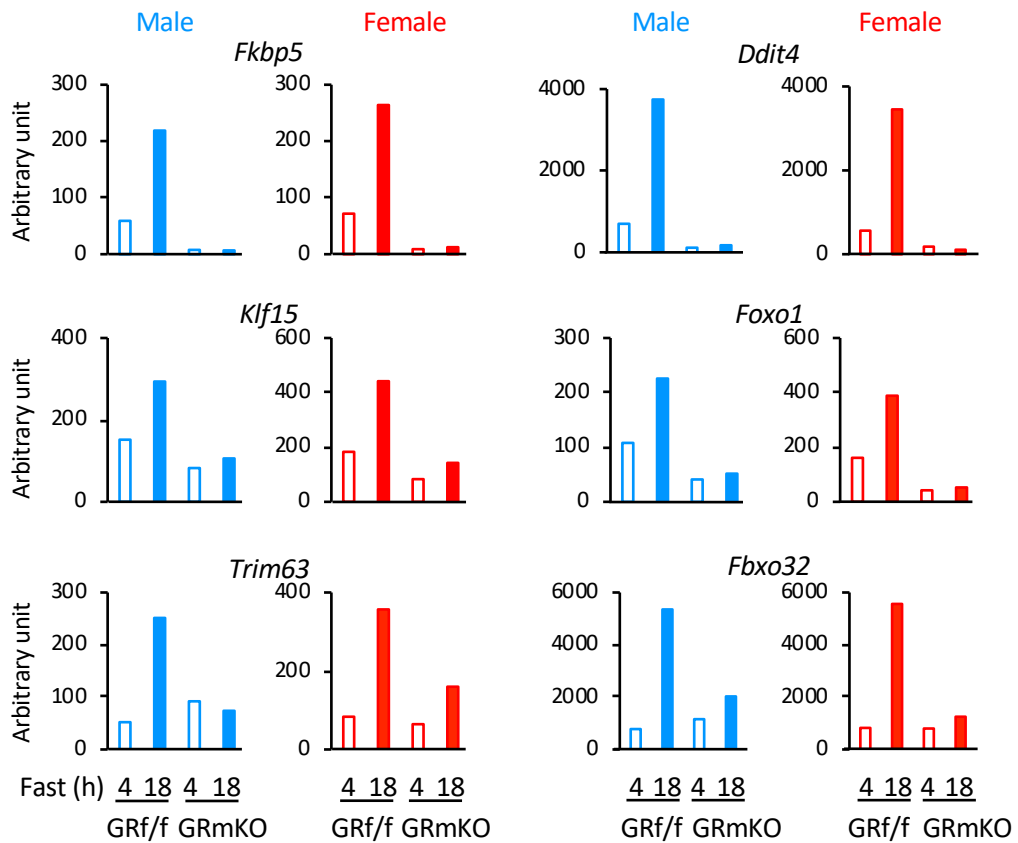


図10. GRf/fおよびGRmKOマウスのGR遺伝子およびGR標的遺伝子発現量の比較

- A) プールしたサンプル (n=3~4) を用いてDNAマイクロアレイ解析を行い、GR (*Nr3c1*)、*Tbp* (TATA binding protein, コントロール遺伝子) の遺伝子発現量を比較した。
- B) DNAマイクロアレイ解析結果における主な骨格筋GR標的遺伝子の発現量を示した。

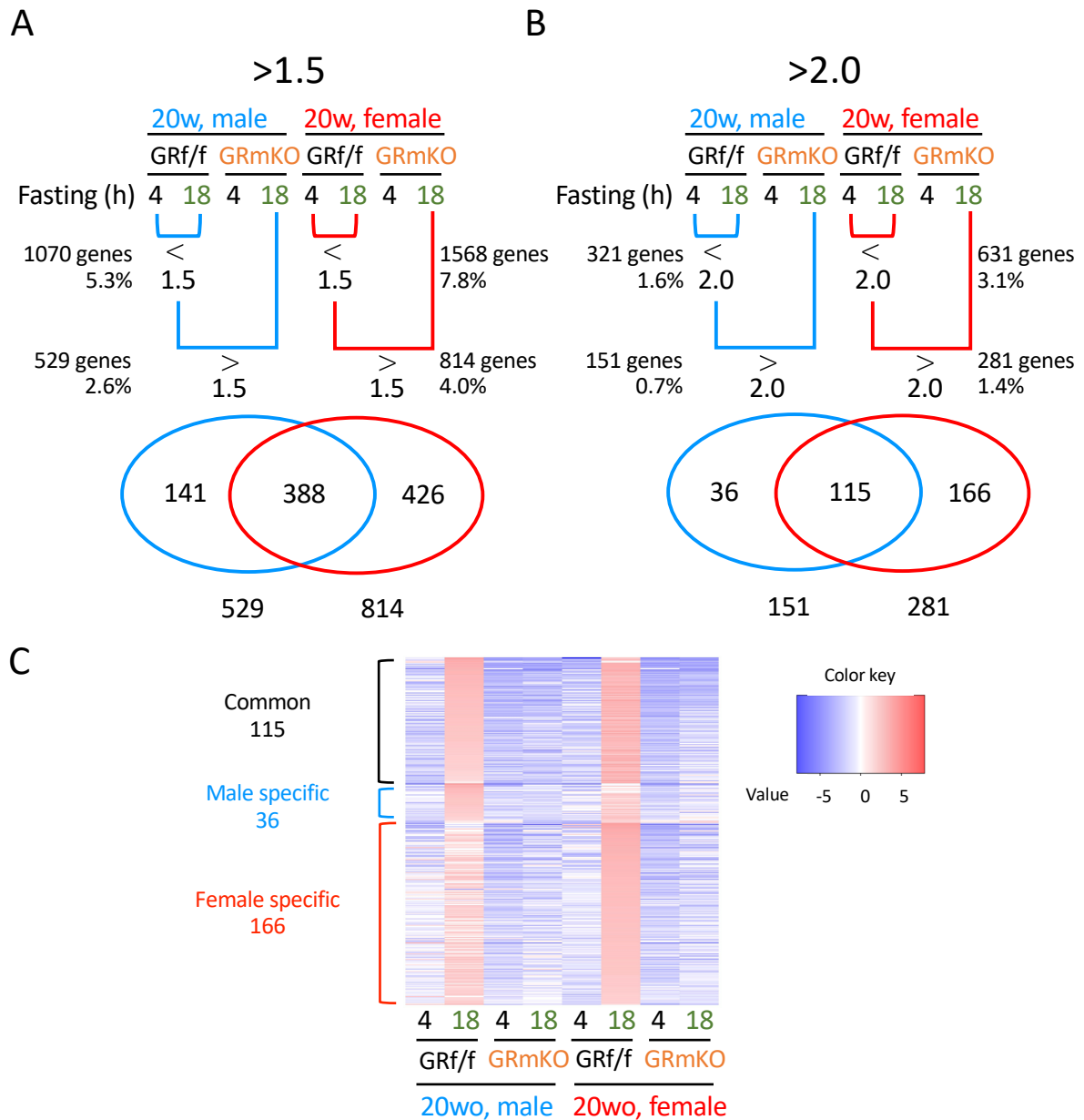


図11. GR標的遺伝子の同定とその性差

- A) GR標的遺伝子の同定①：GRf/fにおいて絶食4 hに対して絶食18 hにより1.5倍以上発現が増加した遺伝子をまず抽出した。そのうち、GRf/fにおける絶食18 hでの遺伝子発現量が、GRmKOにおける絶食18 hでの遺伝子発現量の1.5倍以上の遺伝子をGR標的遺伝子とした。上記で規定した雌雄のGR標的遺伝子数を、各々の特異的遺伝子数と共通の遺伝子数を記したベン図で示した。
- B) GR標的遺伝子の同定②：Aと同様の手法で閾値を2.0とした際のGR標的遺伝子を同定し図示した。
- C) Bで抽出したGR標的遺伝子の発現パターンをヒートマップで図示した。

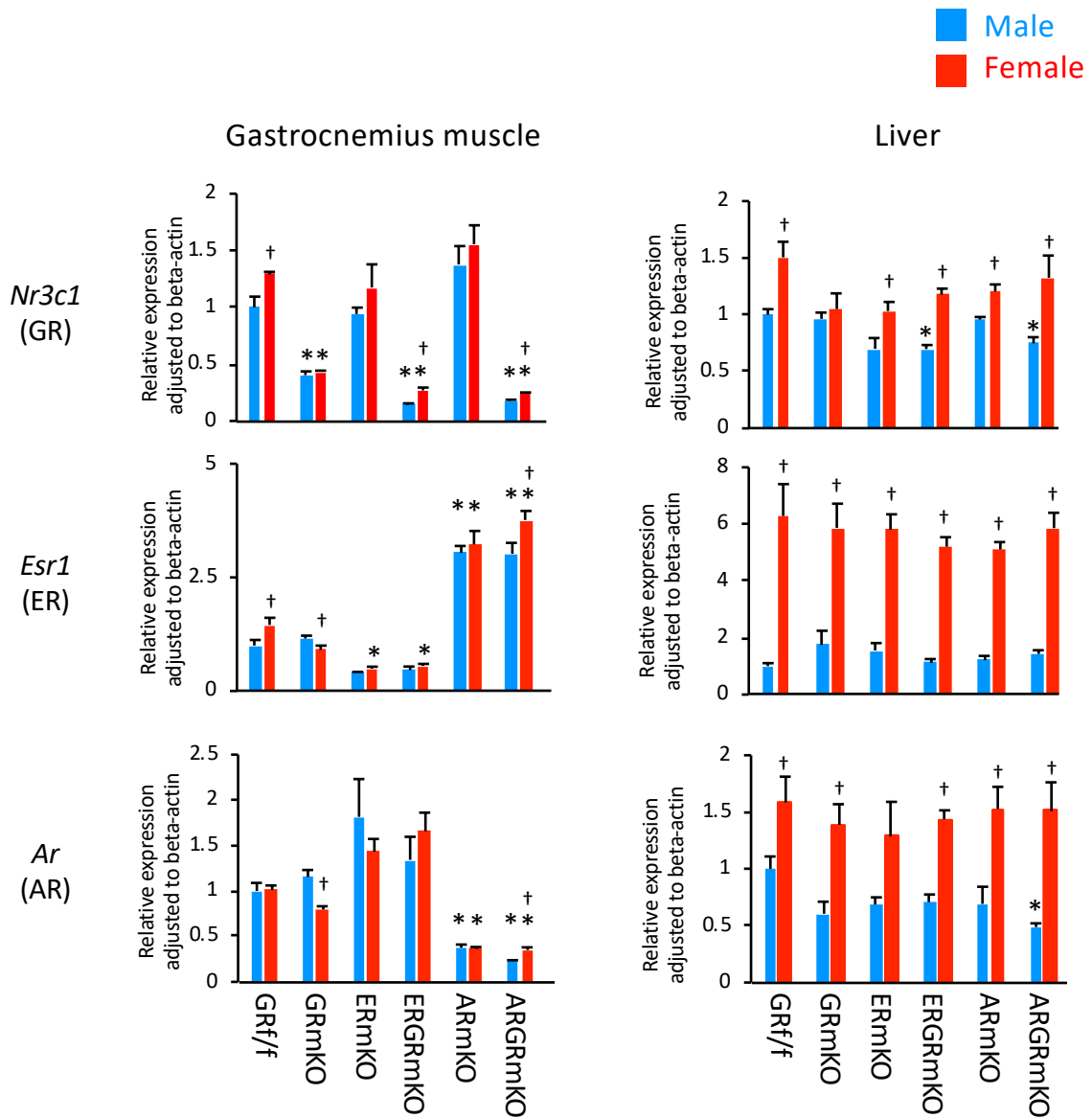


図12. 骨格筋特異的GR、ER、ARノックアウトマウスおよびERGR、ARGRダブルノックアウトマウスにおける各受容体mRNA発現量の解析

GRmKO、ERmKO、ARmKO、ERGRmKO、ARGRmKOマウスの雌雄を作出し、各20週齢マウス骨格筋および肝臓におけるGR、ER、ARのmRNA発現量をqRT-PCR法で解析した。測定値はコントロール遺伝子であるbeta-actinのmRNA発現量で除した値を、GRf/fオスのmRNA発現量を1とした相対値で示した。n=3~4, mean ± SEM, * $P < 0.01$ (vs GRf/f), + $P < 0.05$ (vs male) .

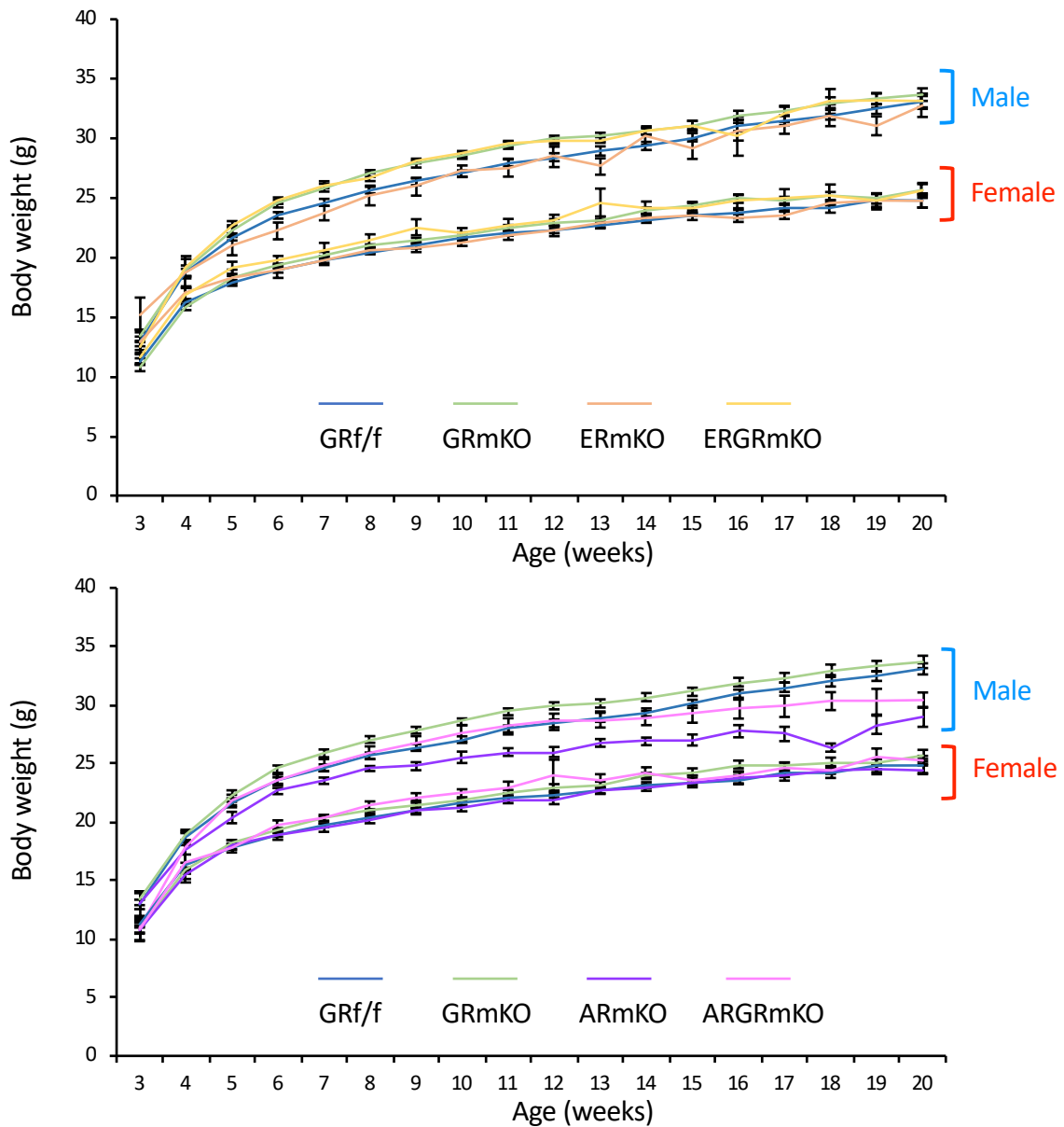


図13. 骨格筋特異的GR、ER、ARノックアウトマウスおよびERGR、ARGRダブルノックアウトマウスの体重変化

GRf/f、GRmKO、ERf/f、ERmKO、ARf/f、ARmKO、ERGRf/f、ERGRmKO、ARGRf/f、ARGRmKOマウスの雌雄を作出し、20週齢までの体重変化をGRf/fマウスと骨格筋特異的ノックアウトマウス、骨格筋特異的ダブルノックアウトマウスで比較した。n=6~16，mean±SEM.

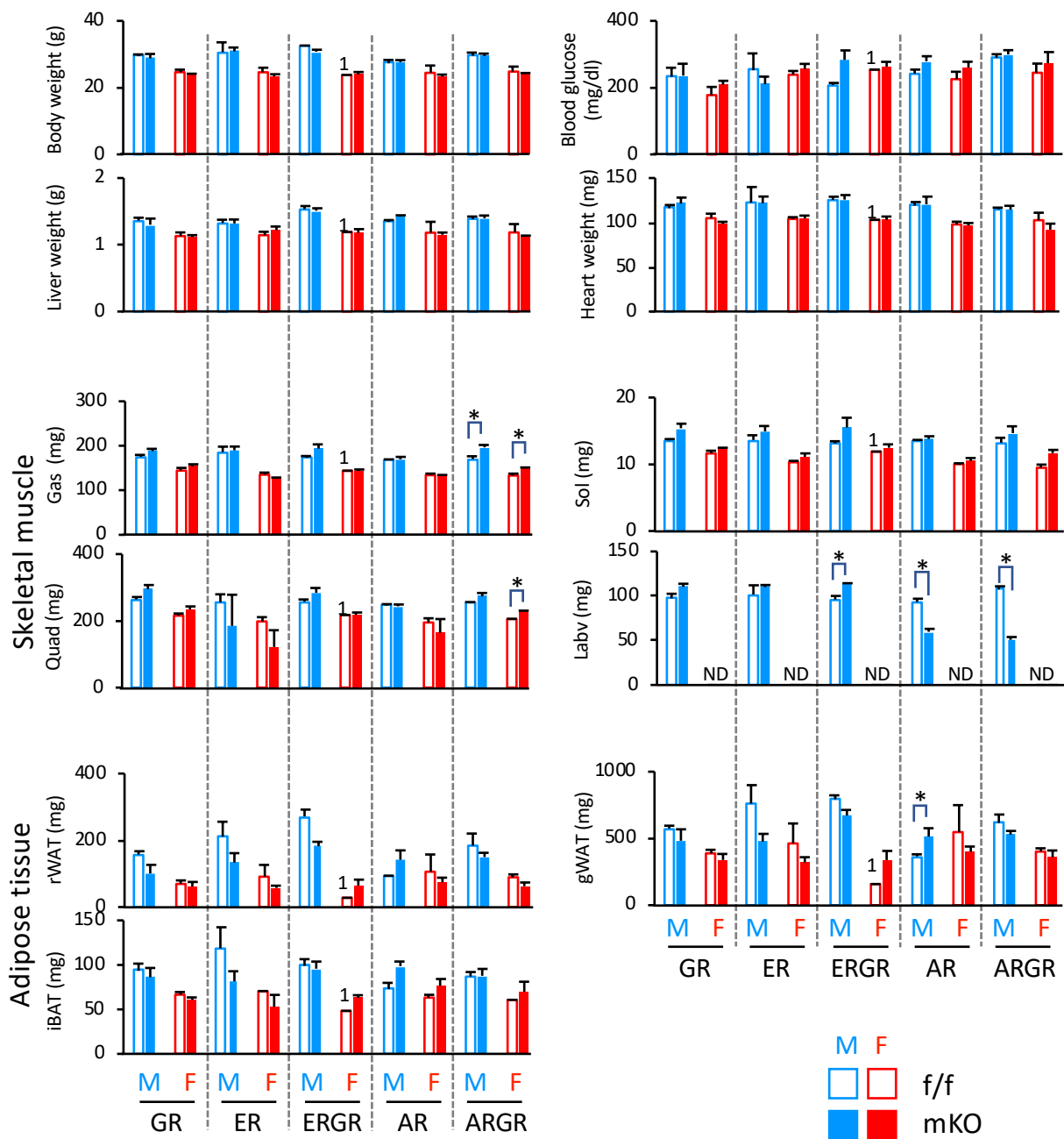


図14. 骨格筋特異的GR、ER、ARノックアウトおよびERGR、ARGRダブルノックアウトがマウス体組成に与える影響

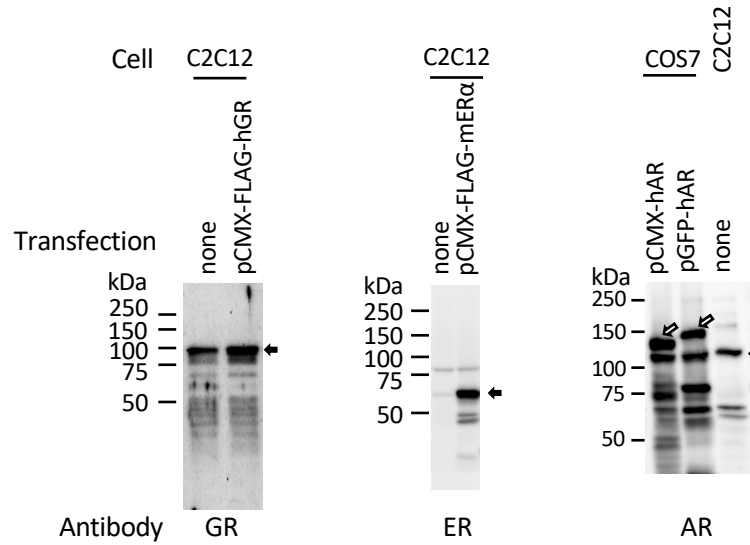
GRf/f、GRmKO、ERf/f、ERmKO、ARf/f、ARmKO、ERGRf/f、ERGRmKO、ARGRf/f、ARGRmKOマウスの雌雄を作成し、20週齢で解剖した際の組織重量、血糖値を各受容体f/fマウスと骨格筋特異的ノックアウトマウス、骨格筋特異的ダブルノックアウトマウスと比較した。n=1~5 (n<3はバーの上に数値を示した), mean±SEM, *P<0.05。Gas, gastrocnemius muscle; Sol, soleus muscle; Quad, quadriceps muscle; Labv, Lavator ani + bulbocavernosus muscle; rWAT, retroperitoneal white adipose tissue; gWAT, gonadal WAT; iBAT, intrascapular brown adipose tissue; ND, not determined.

	四肢/会陰筋重量		白色脂肪重量	
	♀	♂	♀	♂
GRmKO	↑ / ND	↑ / ➡	➡	↓
ERmKO	G → / ND S ↗ Q ↘	G → / ➡ S ↗ Q ↘	↓	↓
ERGRmKO	➡ / ND	➡ / ↑	➡	↓
ARmKO	➡ / ND	➡ / ↓	↓	➡
ARGRmKO	↑ / ND	↑ / ↓	↓	↓

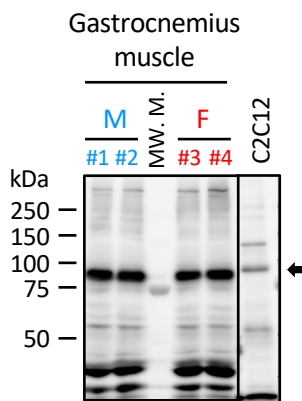
図15. 骨格筋特異的GR、ER、ARノックアウトおよびERGR、ARGRダブルノックアウトによるマウス体組成変化

図中、対照（各f/fマウス）と同等（➡）、対照より有意に増加（↑）、対照より有意に減少（↓）、対照より増加傾向（➡）、対照より減少傾向（↓）を各々示す。

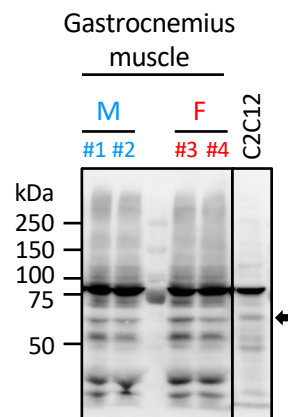
A



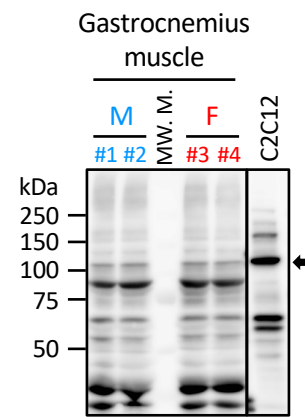
B



C

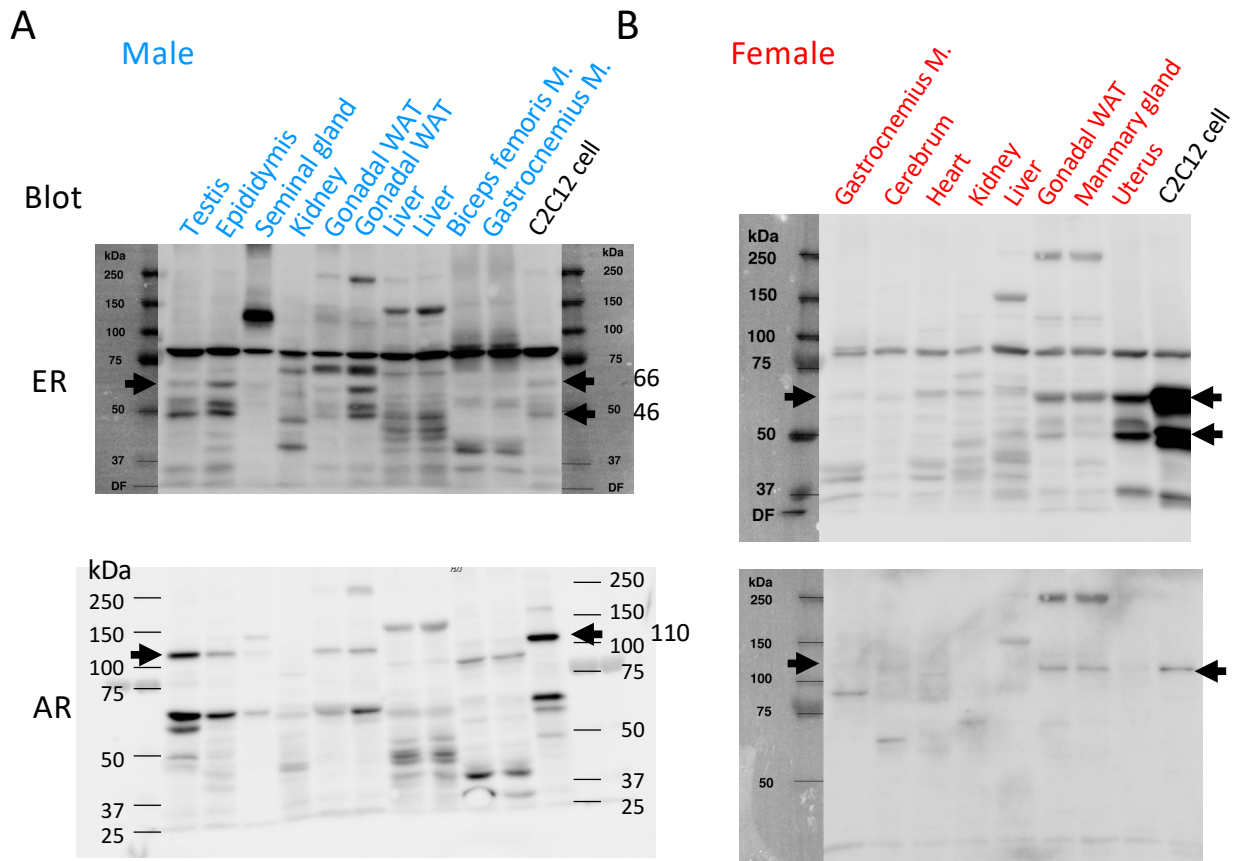


D



補足図1. 筋芽細胞および腓腹筋における内在性GR、ER、ARのタンパク質発現

- A) 筋芽細胞における内在性GR、ER、ARのタンパク質発現：C2C12細胞もしくはCOS7細胞に図に示すプラスミドを一過性導入した際の細胞抽出液を指標に、C2C12細胞内在性のGR、ER、ARのタンパク質発現をウエスタンブロット法により解析した。黒矢印は各受容体タンパク質特異的バンドを示す。白矢印はヒトARタンパク質を示す。
- B) マウス腓腹筋におけるGRのタンパク質発現：各組織の凍結断片を破碎後にRIPA bufferで組織抽出液を調整し、各10 μ gを用いてウエスタンブロット法を行った。コントロールにC2C12細胞抽出液を用いた。矢印はGRのバンドを示す。MW.M.; molecular weight marker
- C) マウス腓腹筋におけるERのタンパク質発現：各組織の凍結断片を破碎後にRIPA bufferで組織抽出液を調整し、各10 μ gを用いてウエスタンブロット法を行った。コントロールにC2C12細胞抽出液を用いた。矢印はERのバンドを示す。
- D) マウス腓腹筋におけるARのタンパク質発現：Bと同様に各組織抽出液を調整し、各10 μ gを用いてウエスタンブロット法を行った。コントロールにC2C12細胞抽出液を用いた。矢印はARのバンドを示す。MW.M., molecular weight marker.



補足図2. マウス各組織における内在性ER、ARのタンパク質発現

- A) オスマウス各組織におけるER、ARのタンパク質発現：各組織の凍結断片を破碎後にRIPA bufferで組織抽出液を調整し、各10 μ gを用いてウエスタンブロット法を行った。コントロールとしてC2C12細胞の細胞抽出液を同時に泳動した。矢印はERもしくはARのバンドを推定される分子量とともに示す。M., muscle; WAT, white adipose tissue.
- B) メスマウス各組織におけるER、ARのタンパク質発現：各組織の凍結断片を破碎後にRIPA bufferで組織抽出液を調整し、各10 μ gを用いてウエスタンブロット法を行った。コントロールとしてC2C12細胞においてFLAG-mER α を過剰発現させた際の細胞抽出液を同時に泳動した。矢印はERもしくはARのバンドを示す。M., muscle; WAT, white adipose tissue.

表 1. 腓腹筋においてオス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Male vs Female
Odc1	ornithine decarboxylase, structural 1	187.040041
Tubb5	tubulin, beta 5 class I	59.86323734
Eif2s3y	eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 3, structural gene Y-linked	35.31922346
Sult1e1	sulfotransferase family 1E, member 1	22.29365772
Camp	cathelicidin antimicrobial peptide	19.55356748
Abhd5	abhydrolase domain containing 5	17.99743008
Amd1	S-adenosylmethionine decarboxylase 1	10.15410603
Pzp	pregnancy zone protein	9.943829856
1700001022Rik	RIKEN cDNA 1700001022 gene	9.487620177
Serpina1d	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 1D	9.034575227
Serpina1e	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 1E	7.917709255
Actr3b	ARP3 actin-related protein 3B	7.815216825
8430426J06Rik	RIKEN cDNA 8430426J06 gene	7.612113016
Ngp	neutrophilic granule protein	7.071180131
Nek5	NIMA (never in mitosis gene a)-related expressed kinase 5	6.97370099
Slc27a2	solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 2	6.891209604
Serpina1c	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 1C	6.824470137
Serpina3k	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3K	6.776882526
Ugt2b38	UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B38	6.533177291
Sdsl	serine dehydratase-like	6.409583114
Ttr	transthyretin	6.339372116
Apoa1	apolipoprotein A-I	6.331625008
Fscn2	fascin actin-bundling protein 2	6.295501797
Ugt2b5	UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B5	6.242061064
Bglap3	bone gamma-carboxyglutamate protein 3	5.880085414
Ddx3y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	5.275629213
Chil3	chitinase-like 3	5.240003341
Serpine3	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 3	5.200583844
42615	septin 2	5.003489341
Apoa2	apolipoprotein A-II	4.781634691
Ltf	lactotransferrin	4.652542339
Gc	group specific component	4.625971475
Nppc	natriuretic peptide type C	4.56286937
Olfir320	olfactory receptor 320	4.561680014
Fgg	fibrinogen gamma chain	4.410054141
Cyp4a10	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 10	4.349488351
Tdo2	tryptophan 2,3-dioxygenase	4.253602409
Alb	albumin	4.21986586
Urah	urate (5-hydroxyiso-) hydrolase	4.149712636
Cyp1b1	cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1	4.112604819
Nmrk2	nicotinamide riboside kinase 2	4.073490812
Smox	spermine oxidase	4.064854878
Cyp3a41a	cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 41A	4.007434297
Lyzl4	lysozyme-like 4	4.004828867
Hpd	4-hydroxyphenylpyruvic acid dioxygenase	3.995564734
Ly6g6d	lymphocyte antigen 6 complex, locus G6D	3.90838766
Prdm10	PR domain containing 10	3.779121929
Kcnf1	potassium voltage-gated channel, subfamily F, member 1	3.752654435

表 1. 腓腹筋においてオス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Male vs Female
Dnase1	deoxyribonuclease I	3.740345018
Cyp2c29	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 29	3.706323579
Fbp1	fructose biphosphatase 1	3.679463027
Olf1263	olfactory receptor 1263	3.672251196
Slc30a2	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 2	3.639883121
Olf309	olfactory receptor 309	3.559417936
Arg1	arginase, liver	3.519990378
Nnat	neuronatin	3.516969409
Ahsg	alpha-2-HS-glycoprotein	3.443931347
Slc51a	solute carrier family 51, alpha subunit	3.404072589
Fam132b	family with sequence similarity 132, member B	3.35374534
Slc2a3	solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 3	3.321412551
Gm15470	predicted gene 15470	3.319716708
Gm853	predicted gene 853	3.217518947
Stab2	stabilin 2	3.201121552
Cfap57	cilia and flagella associated protein 57	3.199483777
Vmn1r192	vomer nasal 1 receptor 192	3.187365704
Uox	urate oxidase	3.147455791
Ces1c	carboxylesterase 1C	3.132376883
Tmem114	transmembrane protein 114	3.124392659
Spdya	speedy/RINGO cell cycle regulator family, member A	3.089882982
ApoN	apolipoprotein N	3.077706232
Vmn2r26	vomer nasal 2, receptor 26	3.075644279
C4bp	complement component 4 binding protein	3.072678093
Gsta3	glutathione S-transferase, alpha 3	3.069567272
Hoxc8	homeobox C8	3.064725078
Map3k7	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7	3.048214889
Abhd1	abhydrolase domain containing 1	3.038049368
Myb	myeloblastosis oncogene	3.035721181
Usp22	ubiquitin specific peptidase 22	2.965636973
Gm5893	predicted gene 5893	2.963767788
ApoH	apolipoprotein H	2.95428696
Wnt7a	wingless-type MMTV integration site family, member 7A	2.94362759
Cyp4a14	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 14	2.933832724
Cyp1a2	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 2	2.925420536
A630001G21Rik	RIKEN cDNA A630001G21 gene	2.879776188
Olf1120	olfactory receptor 1120	2.867114785
F7	coagulation factor VII	2.843678031
Gm5885	predicted gene 5885	2.831112515
Olf791	olfactory receptor 791	2.822757165
S100a8	S100 calcium binding protein A8 (calgranulin A)	2.812186263
Setx	senataxin	2.797987275
Snx25	sorting nexin 25	2.781890743
Fos	FBJ osteosarcoma oncogene	2.776193925
Etnpp1	ethanolamine phosphate phospholyase	2.773052004
Fgl1	fibrinogen-like protein 1	2.760153008
Rap2b	RAP2B, member of RAS oncogene family	2.756944039

表1. 腓腹筋においてオス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Male vs Female
Tmem37	transmembrane protein 37	2.747143211
Gm9945	predicted gene 9945	2.738633263
Odf3l2	outer dense fiber of sperm tails 3-like 2	2.737030244
Thap8	THAP domain containing 8	2.736923292
Fga	fibrinogen alpha chain	2.728775205
Fetub	fetuin beta	2.709276175
Nckap5	NCK-associated protein 5	2.703177957
Pon1	paraoxonase 1	2.689910975
Timd2	T cell immunoglobulin and mucin domain containing 2	2.689038027
Fabp1	fatty acid binding protein 1, liver	2.686019072
Azgp1	alpha-2-glycoprotein 1, zinc	2.670027559
Itpr1	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor 1	2.665025893
Tusc5	tumor suppressor candidate 5	2.655692088
Cd5	CD5 antigen	2.648128209
Khdc3	KH domain containing 3, subcortical maternal complex member	2.643307241
LOC102634835	uncharacterized LOC102634835	2.634986441
Hpx	hemopexin	2.626216777
Sult2a8	sulfotransferase family 2A, dehydroepiandrosterone (DHEA)-preferring, member 8	2.617181568
Mcm10	minichromosome maintenance 10 replication initiation factor	2.592302582
Speer4f2	spermatogenesis associated glutamate (E)-rich protein 4f2	2.592204028
Sptbn4	spectrin beta, non-erythrocytic 4	2.58711711
Olf1219	olfactory receptor 1219	2.583944921
Chrna1	cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 1 (muscle)	2.582415358
Crip3	cysteine-rich protein 3	2.568476875
Ifi2712b	interferon, alpha-inducible protein 27 like 2B	2.556816216
Ccdc172	coiled-coil domain containing 172	2.552841696
Zfp710	zinc finger protein 710	2.545471101
Aff3	AF4/FMR2 family, member 3	2.542561304
Olf1010	olfactory receptor 1010	2.541815928
Cyp2a12	cytochrome P450, family 2, subfamily a, polypeptide 12	2.527979055
Apoa5	apolipoprotein A-V	2.526769495
Upk3b	uroplakin 3B	2.516700486
Bhmt	betaine-homocysteine methyltransferase	2.513984969
Kdelr3	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 3	2.509931695
Il17re	interleukin 17 receptor E	2.503067032
Vmn1r36	vomer nasal 1 receptor 36	2.488916202
Gpr141	G protein-coupled receptor 141	2.478310606
Plppr5	phospholipid phosphatase related 5	2.474430694
Lep	leptin	2.467308448
Eif4a3	eukaryotic translation initiation factor 4A3	2.456855895
Fut7	fucosyltransferase 7	2.454129638
Olf176	olfactory receptor 176	2.438792591
Apoc4	apolipoprotein C-IV	2.427226302
Cacna1a	calcium channel, voltage-dependent, P/Q type, alpha 1A subunit	2.424739324
Gon4l	gon-4-like (C.elegans)	2.42086574
Gm10024	predicted gene 10024	2.42051061

表 1. 腓腹筋においてオス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Male vs Female
Kif4-ps	kinesin family member 4, pseudogene	2.416171572
Hspa1a	heat shock protein 1A	2.413309683
Cenpl	centromere protein L	2.407903498
Mrgprb3	MAS-related GPR, member B3	2.405399265
Zic5	zinc finger protein of the cerebellum 5	2.398364243
Baalc	brain and acute leukemia, cytoplasmic	2.369206023
Nek6	NIMA (never in mitosis gene a)-related expressed kinase 6	2.358797534
Stt3b	STT3, subunit of the oligosaccharyltransferase complex, homolog B (S. cerevisiae)	2.354756418
Pip	prolactin induced protein	2.351638238
Anxa8	annexin A8	2.342948879
Smim6	small integral membrane protein 6	2.332268745
Krtap11-1	keratin associated protein 11-1	2.325685568
Platr26	pluripotency associated transcript 26	2.322578474
BC049702	cDNA sequence BC049702	2.310918143
9930012K11Rik	RIKEN cDNA 9930012K11 gene	2.306161786
Irx3	Iroquois related homeobox 3	2.303278315
Olf31	olfactory receptor 31	2.295933929
Svs1	seminal vesicle secretory protein 1	2.291305643
Ighv2-4	immunoglobulin heavy variable V2-4	2.284662775
Fanca	Fanconi anemia, complementation group A	2.283080742
Abcg5	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 5	2.281781322
Acsm1	acyl-CoA synthetase medium-chain family member 1	2.281494384
Hp	haptoglobin	2.279246899
Isl2	insulin related protein 2 (islet 2)	2.278711253
Thegl	theg spermatid protein like	2.269671165
Penk	preproenkephalin	2.26888565
Gck	glucokinase	2.266174887
Sly	Sycp3 like Y-linked	2.264015521
Sh2d3c	SH2 domain containing 3C	2.260195876
Ssxb1	synovial sarcoma, X member B, breakpoint 1	2.259482031
Elmod1	ELMO/CED-12 domain containing 1	2.254415602
Cpeb1	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 1	2.249110782
Scn5a	sodium channel, voltage-gated, type V, alpha	2.247808403
Sult1c2	sulfotransferase family, cytosolic, 1C, member 2	2.240567945
Sele	selectin, endothelial cell	2.235129158
Neto2	neuropilin (NRP) and tolloid (TLL)-like 2	2.225890581
Zfp651	zinc finger protein 651	2.22342443
Efcc1	EF hand and coiled-coil domain containing 1	2.221211499
Apoc1	apolipoprotein C-I	2.220184191
Dspp	dentin sialophosphoprotein	2.218806367
Kcnk18	potassium channel, subfamily K, member 18	2.21513058
Spef2	sperm flagellar 2	2.211977143
Tspcar	thrombospondin type laminin G domain and EAR repeats	2.211812356
4933408J17Rik	RIKEN cDNA 4933408J17 gene	2.208967102
Ttl7	tubulin tyrosine ligase-like family, member 7	2.208081697
Usp17ld	ubiquitin specific peptidase 17-like D	2.206996179

表 1. 腓腹筋においてオス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Male vs Female
Raph1	Ras association (RalGDS/AF-6) and pleckstrin homology domains 1	2.205484633
Gbp6	guanylate binding protein 6	2.203730727
Pipox	pipecolic acid oxidase	2.200540776
Ccdc36	coiled-coil domain containing 36	2.198712108
Fam19a1	family with sequence similarity 19, member A1	2.194332974
4930556J24Rik	RIKEN cDNA 4930556J24 gene	2.191042622
Olf1364	olfactory receptor 1364	2.184892757
Pla2g2e	phospholipase A2, group IIE	2.176230101
Olf1458	olfactory receptor 1458	2.17613673
Slc16a12	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 12	2.173967175
Dgkh	diacylglycerol kinase, eta	2.171787381
Dnase1l3	deoxyribonuclease 1-like 3	2.170110083
Apba1	amyloid beta (A4) precursor protein binding, family A, member 1	2.166380479
Dtl	denticleless E3 ubiquitin protein ligase	2.163436819
Olf3	olfactory receptor 3	2.162249157
Scn4b	sodium channel, type IV, beta	2.160915766
Mib1	mindbomb E3 ubiquitin protein ligase 1	2.15863716
Golm1	golgi membrane protein 1	2.155469947
Lrrc1	leucine rich repeat containing 1	2.151316779
Olf1408	olfactory receptor 1408	2.144791642
Ugt2b34	UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B34	2.138084645
Lamc3	laminin gamma 3	2.13458615
Gadd45g	growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma	2.132969953
Proc	protein C	2.131056922
Vstm2l	V-set and transmembrane domain containing 2-like	2.12619489
Hhip1	hedgehog interacting protein-like 1	2.126096504
Speer4cos	spermatogenesis associated glutamate (E)-rich protein 4C, opposite strand transcript	2.120733359
D830030K20Rik	RIKEN cDNA D830030K20 gene	2.116688397
Plac1	placental specific protein 1	2.116440612
S100a9	S100 calcium binding protein A9 (calgranulin B)	2.111784963
Zfp60	zinc finger protein 60	2.111180805
Gdap1	ganglioside-induced differentiation-associated-protein 1	2.109381224
1700022A21Rik	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like pseudogene	2.106878822
C130074G19Rik	RIKEN cDNA C130074G19 gene	2.103254396
Atp13a3	ATPase type 13A3	2.102621769
Apom	apolipoprotein M	2.102138777
Cst8	cystatin 8 (cystatin-related epididymal spermatogenic)	2.098655726
Olf774	olfactory receptor 774	2.096615194
Tulp2	tubby-like protein 2	2.09653409
Apol7a	apolipoprotein L 7a	2.095485535
Vmn1r183	vomer nasal 1 receptor 183	2.095474822
Wnk1	WNK lysine deficient protein kinase 1	2.095074293
Mss51	MSS51 mitochondrial translational activator	2.094764065
Rab25	RAB25, member RAS oncogene family	2.093291918
Krt8	keratin 8	2.089406121
Rbpjl	recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region-like	2.081727921

表 1. 腓腹筋においてオス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Male vs Female
1810024B03Rik	RIKEN cDNA 1810024B03 gene	2.078759175
Chac1	ChaC, cation transport regulator 1	2.076520089
Kcnab3	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 3	2.072246219
Sbsn	suprabasin	2.07023787
C130050O18Rik	RIKEN cDNA C130050O18 gene	2.067357575
Olf371	olfactory receptor 371	2.067079224
Vldlr	very low density lipoprotein receptor	2.066502432
Zfp536	zinc finger protein 536	2.064646713
Tnfrsf12a	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12a	2.064344035
Tspan18	tetraspanin 18	2.063558475
Pdzk1	PDZ domain containing 1	2.060635326
Lrriq3	leucine-rich repeats and IQ motif containing 3	2.05524599
Npr3	natriuretic peptide receptor 3	2.05515708
4933407L21Rik	RIKEN cDNA 4933407L21 gene	2.054175289
Slc30a1	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 1	2.04746033
Eppin	epididymal peptidase inhibitor	2.044930079
Dzip3	DAZ interacting protein 3, zinc finger	2.044124374
Dnah7c	dynein, axonemal, heavy chain 7C	2.039753618
2810407A14Rik	RIKEN cDNA 2810407A14 gene	2.036499996
Lrrc27	leucine rich repeat containing 27	2.033246971
Gm13178	predicted gene 13178	2.032575395
Prl3c1	prolactin family 3, subfamily c, member 1	2.029625221
Strn	striatin, calmodulin binding protein	2.028490494
Amer3	APC membrane recruitment 3	2.028168584
Slc22a26	solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 26	2.024340506
Hamp2	hepcidin antimicrobial peptide 2	2.021591113
Acaa1b	acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1B	2.015928358
Gm9725	predicted gene 9725	2.01280968
Ubl4b	ubiquitin-like 4B	2.011308287
Htra4	HtrA serine peptidase 4	2.009457175
Spr2e	small proline-rich protein 2E	2.002358915
C130079G13Rik	RIKEN cDNA C130079G13 gene	2.00097278

表2. 腓腹筋においてメス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Female vs Male
Fsd1l	fibronectin type III and SPRY domain containing 1-like	16.53377337
Grm5	glutamate receptor, metabotropic 5	15.68904532
Calca	calcitonin/calcitonin-related polypeptide, alpha	6.350007127
Il31ra	interleukin 31 receptor A	5.014957246
Rgs7	regulator of G protein signaling 7	4.867432172
Firre	functional intergenic repeating RNA element	4.642791796
Mrgprg	MAS-related GPR, member G	4.499809964
Ostn	osteocrin	4.209344048
Kif11	kinesin family member 11	4.058745463
Elovl6	ELOVL family member 6, elongation of long chain fatty acids (yeast)	3.804662895
Sall3	sal-like 3 (Drosophila)	3.790390537
Zfp280b	zinc finger protein 280B	3.789543101
Mup19	major urinary protein 19	3.719960927
B4galt5	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 5	3.655072057
Mmp3	matrix metalloproteinase 3	3.579444795
Actc1	actin, alpha, cardiac muscle 1	3.57670138
Stc2	stanniocalcin 2	3.438148926
Xist	inactive X specific transcripts	3.36794955
4933412E12Rik	RIKEN cDNA 4933412E12 gene	3.116927789
Greb1	gene regulated by estrogen in breast cancer protein	3.065406904
Mup2	major urinary protein 2	3.056970778
Pax8	paired box 8	2.985443277
Msantd1	Myb/SANT-like DNA-binding domain containing 1	2.962396771
Sfrp4	secreted frizzled-related protein 4	2.932260583
Micalcl	MICAL C-terminal like	2.925002818
Tnnt1	troponin T1, skeletal, slow	2.921292253
Tpsb2	trypsin beta 2	2.90987662
Nr3c2	nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2	2.851341231
Spata21	spermatogenesis associated 21	2.841561883
Serpinb1b	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B, member 1b	2.82828255
Casr	calcium-sensing receptor	2.809631782
Ces1d	carboxylesterase 1D	2.746762989
Olf807	olfactory receptor 807	2.7445266
Pappa	pregnancy-associated plasma protein A	2.739896067
Ear10	eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 10	2.735083168
Mettl21e	methyltransferase like 21E	2.712479796
Capn15	calpain 15	2.678068143
Fbxw14	F-box and WD-40 domain protein 14	2.675127171
Rprm	reprimin, TP53 dependent G2 arrest mediator candidate	2.640696957
Klhc8a	kelch domain containing 8A	2.633604134
H19	H19, imprinted maternally expressed transcript	2.633579309
Olf1240	olfactory receptor 1240	2.551366744
Gp2	glycoprotein 2 (zymogen granule membrane)	2.529620806
Ssh2	slingshot homolog 2 (Drosophila)	2.507415729
Clec18a	C-type lectin domain family 18, member A	2.492901225
Mrpl33	mitochondrial ribosomal protein L33	2.464001333
Slc1a5	solute carrier family 1 (neutral amino acid transporter), member 5	2.407577857
4930512B01Rik	RIKEN cDNA 4930512B01 gene	2.38847677
Gpx3	glutathione peroxidase 3	2.384646379

表2. 腓腹筋においてメス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Female vs Male
Cd70	CD70 antigen	2.380910297
Klra15	killer cell lectin-like receptor, subfamily A, member 15	2.355700388
Plac8	placenta-specific 8	2.349869952
Ifttd1	intermediate filament tail domain containing 1	2.321971868
Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	2.317097157
4930522H14Rik	RIKEN cDNA 4930522H14 gene	2.31256139
Dbx2	developing brain homeobox 2	2.305134543
Igfbpl1	insulin-like growth factor binding protein-like 1	2.30293237
Arhgap26	Rho GTPase activating protein 26	2.291216813
Tpsab1	trypsin alpha/beta 1	2.283650377
Tcaf1	TRPM8 channel-associated factor 1	2.262465568
Klk1b7-ps	kallikrein 1-related peptidase b7, pseudogene	2.257584071
Gm5538	predicted gene 5538	2.252997915
Atp4b	ATPase, H+/K+ exchanging, beta polypeptide	2.250909214
9130230L23Rik	RIKEN cDNA 9130230L23 gene	2.247580106
Neu2	neuraminidase 2	2.240490468
Pcx	pyruvate carboxylase	2.224124726
Mtus2	microtubule associated tumor suppressor candidate 2	2.217180816
Plod2	procollagen lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2	2.215396957
Acaca	acetyl-Coenzyme A carboxylase alpha	2.189997228
Olf1274-ps	olfactory receptor 1274, pseudogene	2.182728307
Fgf3	fibroblast growth factor 3	2.182000825
Fmn3	formin-like 3	2.18093318
Ngfr	nerve growth factor receptor (TNFR superfamily, member 16)	2.165556018
Fam214a	family with sequence similarity 214, member A	2.163492279
1700086P04Rik	RIKEN cDNA 1700086P04 gene	2.159082302
Ccl12	chemokine (C-C motif) ligand 12	2.151296033
Asf1b	anti-silencing function 1B histone chaperone	2.149617553
Tmem194	transmembrane protein 194	2.143755203
Emx2	empty spiracles homeobox 2	2.143454841
Sesn1	sestrin 1	2.133183654
Peo1	progressive external ophthalmoplegia 1 (human)	2.122783508
Obsl1	obscurin-like 1	2.120527036
Tsga10	testis specific 10	2.118977753
Ear2	eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 2	2.111864368
Tnni1	troponin I, skeletal, slow 1	2.108470465
AW551984	expressed sequence AW551984	2.104951812
Cma1	chymase 1, mast cell	2.103543437
Gm5108	predicted gene 5108	2.10334423
Scd3	stearoyl-coenzyme A desaturase 3	2.10319971
6330409D20Rik	RIKEN cDNA 6330409D20 gene	2.100925326
C6	complement component 6	2.100184293
Fasn	fatty acid synthase	2.099650359
Vmn1r43	vomer nasal 1 receptor 43	2.098370936
Npm2	nucleophosmin/nucleoplasmin 2	2.094717347
A530058N18Rik	RIKEN cDNA A530058N18 gene	2.092944884
Vmn1r50	vomer nasal 1 receptor 50	2.090153727
Lrfr4	leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 4	2.089046002
Tph2	tryptophan hydroxylase 2	2.088656002

表2. 腓腹筋においてメス優位に発現している遺伝子

symbol	description	GRf/f Female vs Male
Cd69	CD69 antigen	2.086781934
1700006J14Rik	RIKEN cDNA 1700006J14 gene	2.070992209
Tlr3	toll-like receptor 3	2.050581368
Zswim5	zinc finger SWIM-type containing 5	2.036806787
Mfsd8	major facilitator superfamily domain containing 8	2.035038343
Gm39325	predicted gene, 39325	2.032019065
Gpha2	glycoprotein hormone alpha 2	2.029828602
Itgb2l	integrin beta 2-like	2.025915916
Gm5111	predicted gene 5111	2.022903771
Pla2g5	phospholipase A2, group V	2.022088274
Socs7	suppressor of cytokine signaling 7	2.020648261
4933424G06Rik	RIKEN cDNA 4933424G06 gene	2.015669366
Bst1	bone marrow stromal cell antigen 1	2.013018439
Hyal3	hyaluronoglucosaminidase 3	2.003723107
Rpap2	RNA polymerase II associated protein 2	2.000684488

表3. オスのGR標的遺伝子

オス18h f/f vs 4h f/fの誘導の高い順に表示(2倍以上)。グレーはメスにおける誘導も高い遺伝子。N.D., not determined.

symbol	description	オス 18h f/f vs 4h f/f	オス 18h f/f vs 18h mKO	メス 18h f/f vs 4h f/f	メス 18h f/f vs 18h mKO
Adrg5	adhesion G protein-coupled receptor G5	123.7186375	66.5732884	N.D.	N.D.
Pih1h3b	PIH1 domain containing 3B	26.81891304	16.95768473	16.16873712	16.78441004
C87499	expressed sequence C87499	7.62984391	6.454385256	9.677709661	6.036953513
2410006H16Rik	RIKEN cDNA 2410006H16 gene	7.337019277	3.377533669	7.579490282	4.193489325
Arddc3	arrestin domain containing 3	7.080754734	9.340769081	6.712953695	9.223988549
Fbxo32	F-box protein 32	6.863740497	2.64002583	6.75042107	4.445944542
Sesn1	sestrin 1	6.781206761	5.8016851	6.470655329	8.606863405
8430408G22Rik	RIKEN cDNA 8430408G22 gene	6.706738013	12.11842102	8.867074426	20.95750832
Acot2	acyl-CoA thioesterase 2	6.21150048	3.816177625	11.20022902	8.922039025
1700001C02Rik	RIKEN cDNA 1700001C02 gene	6.087286659	3.323500609	N.D.	N.D.
Vmn1r191	vomerinasal 1 receptor 191	6.032574185	10.27217067	10.32090084	10.81758595
Odc1	ornithine decarboxylase, structural 1	5.897391863	25.61072619	434.3823995	15.70408145
Slc34a1	solute carrier family 34, member 1	5.861322114	5.313370339	9.314183734	10.2329649
Olfir683	olfactory receptor 683	5.69986033	4.315653872	7.121039122	5.736203874
Lrba	LPS-responsive beige-like anchor	5.48841248	2.121718495	4.557896357	3.153208607
Ddit4	DNA-damage-inducible transcript 4	5.356579682	21.66017766	6.145047186	32.40494037
Fam134b	family with sequence similarity 134, member B	5.193071958	2.0448535	7.80253914	2.164603382
Gadd45a	growth arrest and DNA-damage-inducible 45 alpha	5.176994509	2.059144835	5.9846829	2.232989197
Slc7a2	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	5.113325446	11.18335224	7.254287908	13.64030858
Tbc1d15	TBC1 domain family, member 15	5.100995134	2.466462671	5.444025116	3.98519172
1810032O08Rik	RIKEN cDNA 1810032O08 gene	5.056992738	3.019624598	7.857287102	3.59838994
Olfir203	olfactory receptor 203	5.031575308	8.953193517	8.375436647	7.7259471
Trim63	tripartite motif-containing 63	4.821871772	3.401931551	4.278014256	2.231443253
Tgif1	TGFB-induced factor homeobox 1	4.772981556	2.800483784	7.303902744	4.243510036
Etd2r	ectodysplasin A2 receptor	4.741307177	3.868886716	3.885112577	1.717245925
Slc12a2	solute carrier family 12, member 2	4.705929971	2.932014921	2.241772434	1.135229017
Ppp1r15a	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 15A	4.647419502	11.50475037	11.79162888	7.867950883
Gm15470	predicted gene 15470	4.578139549	13.00756174	6.63903935	7.217004755
Olfir47	olfactory receptor 47	4.562267314	5.214472235	5.526386053	5.645205338
Adrb2	adrenergic receptor, beta 2	4.383360545	4.353157758	5.32251846	5.547696637
Ddi2	DNA-damage inducible protein 2	4.372500389	3.265907481	8.296021647	4.032571281
Rgs2	regulator of G-protein signaling 2	4.20695468	3.389958639	6.492816208	2.94459932
Zwint	ZW10 interactor	4.197790665	3.962025619	3.422381852	3.899068616
Fgf	c-fos induced growth factor	4.148827278	2.342063373	5.182786565	3.632576267
Clip1	CAP-GLY domain containing linker protein 1	4.13561409	5.032077176	5.959330887	4.645081174
Pdk4	pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4	3.9996655	7.225661997	3.391577556	7.322100477
Setd1b	SET domain containing 1B	3.98145184	4.508976466	4.368064544	5.431310383
Nrap	nebulin-related anchoring protein	3.929824974	3.334114098	3.239329799	3.405021437
Ubqln2	ubiquilin 2	3.907420169	5.529052489	7.000011652	5.356605802
Ttlf	tubulin tyrosine ligase-like family, member 7	3.868163369	17.35649741	7.908836922	9.310112848
Zfyve1	zinc finger, FYVE domain containing 1	3.835919445	11.80576215	7.517335448	18.0223975
Ccdc77	coiled-coil domain containing 77	3.808706635	2.193221973	3.29491233	1.679441775
Egl-3	egl-9 family hypoxia-inducible factor 3	3.791110394	11.68659209	6.486210777	9.527341538
Gucd1	guanylyl cyclase domain containing 1	3.735156793	4.868732713	4.790114574	5.159031761
Pde4d	phosphodiesterase 4D, cAMP specific	3.71296015	2.68923491	5.561693698	1.543800606
Fkbp5	FK506 binding protein 5	3.706356966	32.59902764	3.67969389	21.30437073
Filip1	filamin A interacting protein 1	3.688863415	3.672629976	4.348473762	3.280956977
Srxn1	sulfiredoxin 1 homolog (S. cerevisiae)	3.675324589	3.417478163	7.974148533	4.942648595
Gbp10	guanylate-binding protein 10	3.654753493	16.51620692	7.563981761	18.2915499
Gbp6	guanylate binding protein 6	3.62495043	3.815350921	10.28869853	8.947670259
Ulk1	unc-51 like kinase 1	3.575448175	2.424824141	5.50812426	4.329871013
Acs1	acyl-CoA synthetase short-chain family member 1	3.513773702	2.418741816	4.254150752	2.198344786
Gm26681	predicted gene, 26681	3.50362741	2.266050178	3.032585101	1.311713736
Hnmpa112-ps	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 2, pseudogene	3.348744234	3.028868822	3.701609714	2.864359039
Gm4802	predicted gene 4802	3.343334161	4.033273164	4.115404538	5.891332766
Cdkn1a	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (P21)	3.286758379	3.357357491	6.771875306	5.607968683
Elmo2	engulfment and cell motility 2	3.273679224	3.0952536	1.046351707	1.886055752
D230025D16Rik	RIKEN cDNA D230025D16 gene	3.194172669	3.348351838	10.55939841	9.217690388
Asb11	ankyrin repeat and SOCS box-containing 11	3.155831228	5.455221807	3.99262101	2.961114595
Csers1	coiled-coil serine rich 1	3.138065949	2.517343784	5.117720969	2.620974944
Enox2	ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 2	3.123235311	4.282946705	5.60107273	5.726671158
Btg2	B cell translocation gene 2, anti-proliferative	3.111593424	3.161433544	9.393094616	5.977840022
Gpatch8	G patch domain containing 8	3.055143164	2.364706566	6.707928876	3.58333189
Fubp1	far upstream element (FUSE) binding protein 1	3.017768444	2.497437018	3.271645142	1.357372268
Cnksr1	connector enhancer of kinase suppressor of Ras 1	3.01317334	7.798329963	4.115216656	5.244904781
Mafk	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein K (avian)	2.96443496	2.772097699	4.444619995	4.123100524
Fkbp9	FK506 binding protein 9	2.961101267	4.223572264	3.399880433	7.341218066
Bnip3	BCL2/adenovirus E1B interacting protein 3	2.931082313	2.675075249	N.D.	4.309387863
Lox	lysyl oxidase	2.920010145	2.536591129	5.606566332	3.580060042
Stfa2	stefin A2	2.898560421	2.524877606	4.734057618	3.335864009
Smcr8	Smith-Magenis syndrome chromosome region, candidate 8 homolog (human)	2.855492119	3.075007323	4.203148113	4.366065596
Gsr	glutathione reductase	2.84136182	6.433800215	2.372058542	6.412161908
Maff	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein F (avian)	2.830984342	3.025897654	9.266626184	9.1225984
Ube4a	ubiquitination factor E4A	2.816787489	2.950576889	3.577103266	3.01462998
Sox4	SRY (sex determining region Y)-box 4	2.0081663	5.519520285	2.72042407	
Asb4	ankyrin repeat and SOCS box-containing 4	2.759143805	3.296776413	1.444885136	2.283945904
Tra2b	transformer 2 beta homolog (Drosophila)	2.753107164	3.031556116	4.875377206	1.180174089
Gcc2	GRIP and coiled-coil domain containing 2	2.741534442	2.285938457	3.505724695	2.948957277
Wapl	WAPL cohesin release factor	2.710907341	2.152435589	3.585871473	0.909794794
Msr1	macrophage scavenger receptor 1	2.69944935	3.197517205	4.186757901	4.791753842
Myc	myelocytomatosis oncogene	2.699254179	3.052973931	3.608228616	3.557963273
Slc14a1	solute carrier family 14 (urea transporter), member 1	2.675062646	3.951273449	N.D.	N.D.
Pramef8	PRAME family member 8	2.667240397	2.570617674	2.608485374	1.939443983
Fbxl3	F-box and leucine-rich repeat protein 3	2.660348893	8.261827066	3.748474748	7.543496237
Tuba1c	tubulin, alpha 1C	2.624110938	5.969512126	2.848735477	6.623290632
Slc15a4	solute carrier family 15, member 4	2.609770937	4.263156458	3.262662382	3.44429564
Gzfl	GDNF-inducible zinc finger protein 1	2.604949739	3.238485299	2.548915659	4.564679797
Gm8968	predicted gene 8968	2.594169675	3.102923965	3.348265193	4.620507028

表3. オスのGR標的遺伝子

オス18h f/f vs 4h f/fの誘導の高い順に表示 (2倍以上)。グレーはメスにおける誘導も高い遺伝子。N.D., not determined.

symbol	description	オス 18h f/f vs 4h f/f	オス 18h f/f vs 18h mKO	メス 18h f/f vs 4h f/f	メス 18h f/f vs 18h mKO
Noct	nocturnin	2.585299254	3.702298162	2.694155335	3.988221462
Mapk1ip1	mitogen-activated protein kinase 1 interacting protein 1	2.556949862	4.046512875	2.350992154	3.178547529
Gclm	glutamate-cysteine ligase, modifier subunit	2.532445657	2.639985976	4.365836362	5.382915751
Fscn2	fascin actin-bundling protein 2	2.530119993	5.139635383	5.13130782	2.163750808
Slc9a1	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 1	2.513654073	2.720219098	2.488302496	2.926564398
Ranbp9	RAN binding protein 9	2.506758811	2.207377777	4.119162418	3.211471626
Slc40a1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	2.501133746	4.288032457	4.183795364	11.7689631
Glul	glutamate-ammonia ligase (glutamine synthetase)	2.498235119	9.605599936	2.93445859	9.218196133
Prom1	prominin 1	2.49611159	2.161827459	2.596822254	1.714835637
Zfp869	zinc finger protein 869	2.486349464	2.101356429	3.400971178	1.714323067
Fam13c	family with sequence similarity 13, member C	2.485083448	3.174254328	3.122409028	2.911487011
Klh38	kelch-like 38	2.459769704	4.388925117	2.778051207	5.359075748
Zfand2a	zinc finger, AN1-type domain 2A	2.379809591	2.098050461	2.760178693	2.510532115
Usp3	ubiquitin specific peptidase 3	2.375354779	2.004670248	2.653270214	2.022520992
Adprm	ADP-ribose/CDP-alcohol diphosphatase, manganese dependent	2.373233363	3.055191076	2.483590411	3.001248279
Oser1	oxidative stress responsive serine rich 1	2.370370336	2.73831531	3.124639389	2.661341231
Tmem55b	transmembrane protein 55b	2.362454552	3.744649815	2.548472188	3.585151483
Tfdp2	transcription factor Dp 2	2.348260671	2.504044492	2.804285001	3.931386772
Calcoco1	calcium binding and coiled coil domain 1	2.342477114	2.388787965	2.741494083	2.092435109
Cyp27a1	cytochrome P450, family 27, subfamily a, polypeptide 1	2.324331631	4.002418285	4.230919287	6.775324011
Tmem37	transmembrane protein 37	2.312571666	5.617842455	2.768003681	5.896568007
Pard6b	par-6 family cell polarity regulator beta	2.296973353	3.487131518	1.190904774	1.900345058
Doc2b	double C2, beta	2.280023587	6.47670511	3.943327116	4.952168099
Zfp790	zinc finger protein 790	2.270564766	2.034189094	2.362318931	2.585286677
Emx2os	Emx2 opposite strand/antisense transcript (non-protein coding)	2.269176827	5.359224786	2.454734595	5.649083235
Scaf11	SR-related CTD-associated factor 11	2.25208715	2.514204602	3.028419382	1.673139186
Gm9864	predicted gene 9864	2.237464154	2.818006727	3.632698218	2.721534948
Fbxo31	F-box protein 31	2.236622414	4.532143058	3.498956537	6.04045829
Apbb3	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family B, member 3	2.231040476	4.59482758	2.19541581	3.030785961
Dnm3	dynamins 3	2.220678479	2.271421894	3.420954333	2.202681535
Klh7	kelch-like 7	2.217582326	2.235293356	1.792321455	1.592511972
Cebpd	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	2.216904498	4.104015205	4.16922092	3.431831014
Tango2	transport and golgi organization 2	2.211697128	2.35196914	3.559583946	4.209612853
Olf573-ps1	olfactory receptor 573, pseudogene 1	2.204264261	2.79217024	1.724121387	2.440286249
Rusc2	RUN and SH3 domain containing 2	2.196447385	2.092352713	2.323472182	2.500812342
Dcaf10	DDB1 and CUL4 associated factor 10	2.16089959	3.530230728	1.965399458	2.597745371
Mlf1	myeloid leukemia factor 1	2.149295893	2.092123091	1.205282805	4.260946949
AI854703	expressed sequence AI854703	2.148356915	2.650239201	2.357189884	1.896718355
Utp15	UTP15 small subunit processome component	2.143093156	2.658346069	1.589426211	2.201611267
Rbm25	RNA binding motif protein 25	2.131798688	2.330635651	1.784143468	1.644431121
Pex12	peroxisomal biogenesis factor 12	2.131416411	2.249667758	2.524172128	1.9009801
Slc7a6	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 6	2.129528491	2.280696324	2.841244328	2.818140294
Angptl7	angiopoietin-like 7	2.129030439	2.354967471	3.51620484	2.427847574
Dbt	dihydrolipoamide branched chain transacylase E2	2.122988498	2.756661234	2.388286525	2.040855601
Ezh1	enhancer of zeste 1 polycomb repressive complex 2 subunit	2.122526685	2.06179231	1.934878303	1.675037041
Ate1	arginyltransferase 1	2.114849373	2.248133948	1.465705174	1.412059257
Usp7	ubiquitin specific peptidase 7	2.113650034	3.465595479	1.915377814	2.559412931
Atp6v1h	ATPase, H+ transporting, lysosomal V1 subunit H	2.112743177	2.504163695	2.182306125	1.982753677
Npc1	Niemann-Pick type C1	2.109259348	2.097138739	5.242394258	4.865488445
Plin4	perilipin 4	2.09955902	3.075238686	1.798384569	2.511342954
Foxo1	forkhead box O1	2.091976262	4.374389258	2.411286909	7.377520212
Nfil3	nuclear factor, interleukin 3, regulated	2.082825768	4.623425775	2.526801984	9.867095311
Pnpla2	patatin-like phospholipase domain containing 2	2.080093329	5.938882604	3.376649564	7.830614733
Fhl4	four and a half LIM domains 4	2.070570811	2.419069894	1.6755057	1.244164305
Jag1	jagged 1	2.054352095	2.280573133	3.267915577	2.998962798
Srfbp1	serum response factor binding protein 1	2.049198292	2.062032685	2.210865251	2.105620221
Ier5	immediate early response 5	2.047229335	7.528842847	2.796498299	6.813830266
C2cd2	C2 calcium-dependent domain containing 2	2.040550046	4.582644437	2.104649455	2.190938369
Cep85l	centrosomal protein 85-like	2.031712612	2.969724798	1.419097466	2.311312188
Hipk3	homeodomain interacting protein kinase 3	2.021221144	2.698886998	2.641139101	2.864564525
Map1lc3b	microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta	2.019437505	2.270584632	2.944476559	3.23111189
Nfatc2ip	nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic, calcineurin dependent 2 interacting protein	2.000406164	2.894591672	1.398205778	3.744612807
Llg12	lethal giant larvae homolog 2 (Drosophila)	2.000054748	2.025958163	1.517319523	1.722138038

表4. メスのGR標的遺伝子

メス18h f/f vs 4h f/fの誘導の高い順に表示 (2倍以上)。グレーはオスの誘導も高い遺伝子。N.D., not determined.

symbol	description	オス 18h f/f vs 4h f/f	オス 18h f/f vs 18h mKO	メス 18h f/f vs 4h f/f	メス 18h f/f vs 18h mKO
Odc1	ornithine decarboxylase, structural 1	5.897391863	25.61072619	434.3823995	15.70408145
Pih1h3b	PIH1 domain containing 3B	26.81891304	16.95768473	16.16873712	16.78441004
Trpm8	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 8	N.D.	N.D.	14.88525605	7.34735787
Rnf39	ring finger protein 39	N.D.	N.D.	14.27092824	9.936337571
Olf641	olfactory receptor 641	N.D.	N.D.	12.76741714	6.799876654
Ppp1r15a	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 15A	4.647419502	11.50475037	11.79162888	7.867905883
Acot2	acyl-CoA thioesterase 2	6.21150048	3.816177625	11.20022902	8.922039025
D230025D16Rik	RIKEN cDNA D230025D16 gene	3.194172669	3.348351838	10.55939841	9.217690388
Acot1	acyl-CoA thioesterase 1	7.844797718	1.784078895	10.42697137	2.489894966
Vmn1r191	vomerolateral 1 receptor 191	6.032574185	10.27217067	10.32090084	10.81758595
Gbp6	guanylate binding protein 6	3.62495043	3.815350921	10.28869853	8.947670259
C87499	expressed sequence C87499	7.692984391	6.454385256	9.677709661	6.036953513
Btg2	B cell translocation gene 2, anti-proliferative	3.111593424	3.161433544	9.393094616	5.977840022
Slc43a1	solute carrier family 43, member 1	5.861322114	5.313370339	9.314183734	10.2329649
Maff	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein F (avian)	2.830984342	3.025897654	9.26662184	9.1225984
Vmn1r19	vomerolateral 1 receptor 19	N.D.	N.D.	9.177085025	2.894697073
8430408G22Rik	RIKEN cDNA 8430408G22 gene	6.706738013	12.11842102	8.867074426	20.95750832
Olf203	olfactory receptor 203	5.031575308	8.953193517	8.375436647	7.7259471
Ddi2	DNA-damage inducible protein 2	4.372500389	3.265907481	8.296021647	4.032571281
Srxn1	sulfiredoxin 1 homolog (S. cerevisiae)	3.675324589	3.417478163	7.974148533	4.942648595
Ttl7	tubulin tyrosine ligase-like family, member 7	3.868163369	17.35649741	7.908836922	9.310112848
1810032O08Rik	RIKEN cDNA 1810032O08 gene	5.056992738	3.019624598	7.857287102	3.59838994
Fam134b	family with sequence similarity 134, member B	5.193071958	2.0448535	7.80253914	2.164603382
2410006H16Rik	RIKEN cDNA 2410006H16 gene	7.337019277	3.377533669	7.579490282	4.193489325
Gbp10	guanylate-binding protein 10	3.654753493	16.51620692	7.563981761	18.29115499
Zfyve1	zinc finger, FYVE domain containing 1	3.835919445	11.80576215	7.517335448	18.02239375
Tgif1	TGFB-induced factor homeobox 1	4.772981556	2.800483784	7.303902744	4.243510036
Taf7	TATA-box binding protein associated factor 7	3.362895608	1.941827153	7.259866121	3.020646843
Slc7a2	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	5.113325446	11.18335224	7.254287908	13.64030858
Olf683	olfactory receptor 683	5.69986033	4.315653872	7.121039122	5.736203874
S100g	S100 calcium binding protein G	2.955482441	0.78291781	7.021313111	2.47637744
Ubqln2	ubiquilin 2	3.907420169	5.529052489	7.000011652	5.356605802
Cdkn1a	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (P21)	3.286758379	3.357357491	6.771875306	5.607968683
Fbxo32	F-box protein 32	6.863740497	2.640402583	6.75042107	4.445944542
Arndc3	arrestin domain containing 3	7.080754734	9.340769081	6.712953695	9.223988549
Gpatch8	G patch domain containing 8	3.055143164	2.364706566	6.707928876	3.58333189
Gm15470	predicted gene 15470	4.578139549	13.00756174	6.63903935	7.217004755
Rgs2	regulator of G-protein signaling 2	4.20695468	3.389958639	6.492816208	2.94459932
Egln3	egl-9 family hypoxia-inducible factor 3	3.791110394	11.68659209	6.486210777	9.527341538
Sesn1	sestrin 1	6.781206761	5.8016851	6.470655329	8.606863405
Ddit4	DNA-damage-inducible transcript 4	5.356579682	21.66017766	6.145047186	32.40494037
Hmox1	heme oxygenase 1	2.266605133	1.757052928	5.98761402	7.206576741
Gadd45a	growth arrest and DNA-damage-inducible 45 alpha	5.176994509	2.059144835	5.9846829	2.232989197
Clp1	CAP-GLY domain containing linker protein 1	4.13561409	5.032077176	5.959330887	4.645081174
Ifrd1	interferon-related developmental regulator 1	3.570830184	1.82135357	5.859113475	3.277375584
Lox	lysyl oxidase	2.920010145	2.536591129	5.60566332	3.580060042
Enox2	ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 2	3.123235311	4.282946705	5.60107273	5.726671158
Zranb1	zinc finger, RAN-binding domain containing 1	2.77796348	1.424915032	5.577924771	2.800276209
Olf47	olfactory receptor 47	4.562267314	5.214472235	5.526386053	5.645205338
Sox4	SRY (sex determining region Y)-box 4	2.803092558	2.0081663	5.519520285	2.72042407
Ulk1	unc-51 like kinase 1	3.575448175	2.424824141	5.50812426	4.329871013
Tbc1d15	TBC1 domain family, member 15	5.100995134	2.466462671	5.444025116	3.98519172
Hectd1	HECT domain containing 1	2.417445452	1.716579556	5.360465677	3.81982874
Adrb2	adrenergic receptor, beta 2	4.383360545	4.353157758	5.32251846	5.547696637
Gabrarpl1	gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor-associated protein-like 1	3.180237741	1.563348243	5.298041488	2.508282922
Tcp1l12	t-complex 11 (mouse) like 2	2.904863845	1.946494315	5.261601718	3.501253457
Npc1	Niemann-Pick type C1	2.109259348	2.097138739	5.242394258	4.865488445
Vnn1	vanin 1	3.071772828	1.985225821	5.22390928	3.096883934
Inmt	indolethylamine N-methyltransferase	3.664336284	1.319494224	5.212095529	2.978761921
Fgf	c-fos induced growth factor	4.148827278	2.342063373	5.182786565	3.632576267
Fscn2	fascin actin-bundling protein 2	2.530119993	5.139635383	5.13130782	2.163750808
Ccser1	coiled-coil serine rich 1	3.138065949	2.517343784	5.117720969	2.620974944
Arnt	aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator	N.D.	N.D.	4.833279307	5.779085974
Osbpl1a	oxysterol binding protein-like 1A	2.199317781	0.938638426	4.820532573	2.18172494
Atf3	activating transcription factor 3	0.922829094	1.117817174	4.791853889	3.040013873
Gucd1	guanylyl cyclase domain containing 1	3.735156793	4.868732713	4.790114574	5.159031761
Stfa2	stefin A2	2.898560421	2.524877606	4.734057618	3.335864009
Zrsr1	zinc finger (CCCH type), RNA binding motif and serine/arginine rich 1	3.378013427	1.728389007	4.680637542	3.013576385
Usp22	ubiquitin specific peptidase 22	1.8116743	2.542361121	4.588935636	2.093680553
Lrba	LPS-responsive beige-like anchor	5.48841248	2.121718495	4.557896357	3.153208607
Fbxo30	F-box protein 30	1.863981813	1.392434476	4.495937842	2.70831432
Mafk	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein K (avian)	2.96443496	2.772097699	4.44619995	4.123100524
Setd1b	SET domain containing 1B	3.98145184	4.508976466	4.368064544	5.431310383
Gclm	glutamate-cysteine ligase, modifier subunit	2.532445657	2.639985976	4.365836362	5.382915751
Filip1	filamin A interacting protein 1	3.688863415	3.672629976	4.348473762	3.280956977
Ampd3	adenosine monophosphate deaminase 3	1.504715802	1.222925202	4.306106304	2.839171579
Trim63	tripartite motif-containing 63	4.821871772	3.401931551	4.278014256	2.231443253
Cacng5	calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 5	2.709607101	1.93783842	4.262593255	2.355623042
Slc25a33	solute carrier family 25, member 33	1.865719509	2.57432949	4.257322843	4.430464884
Acss1	acyl-CoA synthetase short-chain family member 1	3.513773702	2.418741816	4.254150752	2.198344786
Itpkc	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase C	1.839619672	1.611953014	4.252160113	3.032794754
Cyp27a1	cytochrome P450, family 27, subfamily a, polypeptide 1	2.324331631	4.002418285	4.230919287	6.775324011
Smcr8	Smith-Magenis syndrome chromosome region, candidate 8 homolog (human)	2.855492119	3.075007323	4.203148113	4.366065596
Msr1	macrophage scavenger receptor 1	2.69944935	3.197517205	4.186757901	4.791753842
Slc40a1	solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1	2.501133746	4.288032457	4.183795364	11.7689631
Cebpd	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	2.216904498	4.104015205	4.16922092	3.431831014

表4. メスのGR標的遺伝子

メス18h f/f vs 4h f/fの誘導の高い順に表示 (2倍以上)。グレーはオスの誘導も高い遺伝子。N.D., not determined.

symbol	description	オス 18h f/f vs 4h f/f	オス 18h f/f vs 18h mKO	メス 18h f/f vs 4h f/f	メス 18h f/f vs 18h mKO
Ranbp9	RAN binding protein 9	2.506758811	2.207377777	4.119162418	3.211471626
Gm4802	predicted gene 4802	3.343334161	4.033273164	4.115404538	5.891332766
Cnksr1	connector enhancer of kinase suppressor of Ras 1	3.01317334	7.798329963	4.115216656	5.244904781
Igkv4-72	immunoglobulin kappa chain variable 4-72	1.557219677	1.038607415	4.093947035	2.144861777
Sec24a	Sec24 related gene family, member A (S. cerevisiae)	1.367176115	3.207834516	4.066405137	5.672133699
Asb11	ankyrin repeat and SOCS box-containing 11	3.155831228	5.455221807	3.99226101	2.961114595
Doc2b	double C2, beta	2.280023587	6.47670511	3.943327116	4.952168098
Fbxl3	F-box and leucine-rich repeat protein 3	2.660348893	8.261827066	3.748474748	7.543496237
Hnrnpa12-ps	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 2, pseudogene	3.348744234	3.028868822	3.701609714	2.864359039
Fkbp5	FK506 binding protein 5	3.706356966	32.59902764	3.67969389	21.30437073
Gm9864	predicted gene 9864	2.237464154	2.818006727	3.632698218	2.721534948
Hist1h1c	histone cluster 1, H1c	3.419711146	1.73629017	3.617424083	2.063488265
Myc	myelocytomatosis oncogene	2.699254179	3.052973931	3.608228616	3.557963273
Ube4a	ubiquitination factor E4A	2.816787489	2.950576889	3.577103266	3.01462998
Tango2	transport and golgi organization 2	2.211697128	2.35196914	3.559583946	4.209612853
Thbs1	thrombospondin 1	1.456400889	1.876450922	3.556836726	7.151626909
Gbp8	guanylate-binding protein 8	2.243632375	1.812554992	3.554142171	5.325462911
Angptl7	angiopoietin-like 7	2.129030439	2.354967471	3.51620484	2.427847574
Zfp410	zinc finger protein 410	1.605345462	2.398396993	3.512831436	3.952270753
Gcc2	GRIP and coiled-coil domain containing 2	2.741534442	2.285938457	3.505724695	2.949857277
Fbxo31	F-box protein 31	2.236622414	4.532143058	3.498956537	6.040415829
Mt1	metallothionein 1	1.799794382	1.862422518	3.480459671	6.620680127
Zwint	ZW10 interactor	4.197790665	3.962025619	3.422381852	3.899068616
Dnm3	dynamins 3	2.220678479	2.271421894	3.420954333	2.202681535
Fkbp9	FK506 binding protein 9	2.961101267	4.223572264	3.399880433	7.341218066
Impact	impact, RWD domain protein	2.271622696	1.654744529	3.397289991	2.032512669
Pdk4	pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4	3.9996655	7.225661997	3.391577556	7.322100477
Pnpla2	patatin-like phospholipase domain containing 2	2.080093329	5.938882604	3.376649564	7.830614733
1810013L24Rik	RIKEN cDNA 1810013L24 gene	1.888782466	3.25478526	3.375419452	3.285286056
Arntl	aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like	2.587530918	1.755970173	3.352929488	3.491853013
Gm8968	predicted gene 8968	2.594169675	3.102923965	3.348265193	4.620507028
Ifitm7	interferon induced transmembrane protein 7	1.7778675	1.813711379	3.331301542	2.585992025
Jag1	jagged 1	2.054352095	2.280573133	3.267915577	2.998962798
Slc15a4	solute carrier family 15, member 4	2.609770937	4.263156458	3.262662382	3.44429564
Atf4	activating transcription factor 4	1.542796645	1.429082244	3.251402668	2.09864919
Nrap	nebulin-related anchoring protein	3.929824974	3.334114098	3.239329799	3.405021437
Csrp3	cysteine and glycine-rich protein 3	3.032865777	1.35987571	3.23243689	2.278374922
Peg3	paternally expressed 3	1.489798389	1.677014366	3.214471013	2.34077938
Gadd45g	growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma	1.382582127	3.498646714	3.194797813	9.603008298
Anxa13	annexin A13	N.D.	N.D.	3.17739033	3.655637946
Fibin	fin bud initiation factor homolog (zebrafish)	1.765069301	2.39013321	3.16366796	4.760185881
Slc20a2	solute carrier family 20, member 2	1.845962863	7.039461672	3.155782994	7.934377343
Mx2	MX dynamin-like GTPase 2	2.815658872	1.50936872	3.146501148	2.134756358
Rhpn1	rhophilin, Rho GTPase binding protein 1	2.242542132	1.734928026	3.136220089	2.361191728
Oser1	oxidative stress responsive serine rich 1	2.370370336	2.73831531	3.124639389	2.661341231
Fam13c	family with sequence similarity 13, member C	2.485083448	3.174254328	3.122409028	2.911487011
Errf1	ERBB receptor feedback inhibitor 1	1.391221962	1.083408438	3.085932252	2.357148115
Tmbim1	transmembrane BAX inhibitor motif containing 1	1.566230431	1.405343332	3.08551846	2.617079378
Spns2	spinster homolog 2	1.592700093	6.187913995	3.075308374	8.230005945
Wbp1l	WW domain binding protein 1 like	1.700966759	11.13245353	3.058374801	15.92133894
Jsrp1	junctional sarcoplasmic reticulum protein 1	1.864955062	1.593822613	3.049496884	2.023844267
Zfp113	zinc finger protein 113	1.659288864	1.270575574	3.008278376	2.176913546
Tfmc6	transmembrane and coiled-coil domains 6	1.860778011	1.767072378	3.007688729	2.344851705
Vps37a	vacuolar protein sorting 37A (yeast)	1.806768702	2.142812843	3.003438567	2.55256851
Hbp1	high mobility group box transcription factor 1	1.977108432	1.971399701	2.979652085	2.67752959
Abhd4	abhydrolase domain containing 4	2.251608494	1.812826551	2.972876309	2.537452682
Ube2g1	ubiquitin-conjugating enzyme E2G 1	1.66663561	1.771965665	2.97113469	2.7663846
Wdr93	WD repeat domain 93	0.377383746	0.301854676	2.968975925	2.571755662
Map1lc3b	microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta	2.019437505	2.270584632	2.944476559	3.23111189
Glul	glutamate-ammonia ligase (glutamine synthetase)	2.498235119	9.605599936	2.93445859	9.218196133
Mstn	myostatin	1.638410681	2.375893483	2.924989648	4.358317006
Pl15	peptidase inhibitor 15	N.D.	N.D.	2.895423494	3.358650476
Taf8	TATA-box binding protein associated factor 8	1.736806257	2.155054023	2.877249915	4.754793215
Tuba1c	tubulin, alpha 1C	2.624110938	5.969512126	2.848735477	6.623290862
Gm4788	predicted gene 4788	1.788522602	2.879500846	2.844351636	6.500410853
Slc7a6	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 6	2.129528491	2.280696324	2.841244328	2.818140294
Junb	jun B proto-oncogene	0.989008303	1.500359314	2.8396151	3.189746575
Abhd1	abhydrolase domain containing 1	N.D.	N.D.	2.839492006	2.257033955
Foxo3	forkhead box O3	2.21947474	0.962315582	2.828241469	2.264502623
Mt2	metallothionein 2	1.599698764	1.087728145	2.825313904	4.285429915
Cyp2d22	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 22	1.810297802	1.957362004	2.816650472	2.55024356
Anapc16	anaphase promoting complex subunit 16	1.814320542	1.427046343	2.807417384	2.40182431
Tfdp2	transcription factor Dp 2	2.348260671	2.504044492	2.804285001	3.931386772
Pnrc1	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	1.836707712	2.602279831	2.797946072	3.463653431
Ier5	immediate early response 5	2.047229335	7.528842847	2.796498299	6.813830266
Bcl2l11	BCL2-like 11 (apoptosis facilitator)	N.D.	N.D.	2.786716227	2.434369333
Klhl38	kelch-like 38	2.459769704	4.388925117	2.778051207	5.359075748
Gsk3b	glycogen synthase kinase 3 beta	1.892955336	2.925782848	2.778020954	2.33731515
Rnf115	ring finger protein 115	2.176011155	1.554621709	2.77565351	2.089431547
Tmem37	transmembrane protein 37	2.312571666	5.617842455	2.768003681	5.896568007
Dpf3	D4, zinc and double PHD fingers, family 3	1.273432279	1.426685621	2.767020675	4.641827986
Abi1	abi-interactor 1	1.495752121	3.61348442	2.764067576	2.400571843
Sorbs1	sorbin and SH3 domain containing 1	1.819696877	3.795712833	2.761134988	5.999261692
Zfand2a	zinc finger, AN1-type domain 2A	2.379809591	2.098050461	2.760178693	2.510532115
Calcoco1	calcium binding and coiled coil domain 1	2.342477114	2.388787965	2.741494083	2.092435109
Mafg	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein G (avian)	1.973070484	2.482058272	2.740226065	2.1766354

表4. メスのGR標的遺伝子

メス18h f/f vs 4h f/fの誘導の高い順に表示 (2倍以上)。グレーはオスの誘導も高い遺伝子。N.D., not determined.

symbol	description	オス 18h f/f vs 4h f/f	オス 18h f/f vs 18h mKO	メス 18h f/f vs 4h f/f	メス 18h f/f vs 18h mKO
Rhbd2	rhomboid 5 homolog 2	1.811577347	1.462709996	2.73913914	2.20447311
Stx1a	syntaxin 1A (brain)	3.065512074	1.989038745	2.71463776	2.21937035
Ptp4a1	protein tyrosine phosphatase 4a1	1.97637055	2.396089954	2.698810278	3.91406424
Noct	nocturnin	2.585299254	3.702298162	2.694155335	3.988221462
Ly6g	lymphocyte antigen 6 complex, locus G	1.627859921	3.75904213	2.693672098	2.784812171
Asb15	ankyrin repeat and SOCS box-containing 15	1.185756072	1.153255011	2.685475284	2.73157736
Slc38a2	solute carrier family 38, member 2	1.469384108	4.471608869	2.674312811	5.742142645
Csmpl	cysteine-serine-rich nuclear protein 1	0.78533574	0.873161181	2.674300747	2.667691248
Spsb1	spiA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 1	1.999336987	3.091984978	2.674210034	5.001868498
RioK2	RIO kinase 2 (yeast)	1.436753059	1.074832949	2.674095045	6.275817378
Osgin1	oxidative stress induced growth inhibitor 1	1.984099444	2.391697572	2.667178615	3.854858447
Ccn1	cyclin L1	1.253019853	1.19699945	2.654238563	3.077864949
Usp3	ubiquitin specific peptidase 3	2.375354779	2.004670248	2.653270214	2.022520992
Mtmr14	myotubularin related protein 14	1.996949671	2.726873753	2.653180847	2.380718434
Mettl21e	methyltransferase like 21E	1.214355724	14.99266596	2.645826933	55.36058147
Gm5643	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 pseudogene	2.245288601	1.529103249	2.644554157	2.217842834
Hipk3	homeodomain interacting protein kinase 3	2.021221144	2.698886998	2.641139101	2.864564525
Agmo	alkylglycerol monooxygenase	1.771398356	2.497643067	2.629572881	2.498084189
Gm6054	predicted gene 6054	1.815322997	1.45369956	2.613244997	2.601161752
Mustn1	musculoskeletal, embryonic nuclear protein 1	2.1753792	1.989089952	2.588083674	2.174720591
Prdm2	PR domain containing 2, with ZNF domain	1.812622001	2.826866843	2.58125833	2.32046021
St3gal5	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5	1.441144654	3.41603197	2.580285609	6.85773387
Ipk3	inositol hexaphosphate kinase 3	1.857635064	3.529634509	2.57346741	5.8876896
Olfrl375	olfactory receptor 1375	1.983306489	2.053221147	2.567382638	2.789753404
Lpin1	lipin 1	1.961413397	3.512978479	2.558940431	3.409536723
Gzfl	GDNF-inducible zinc finger protein 1	2.604949739	3.238485299	2.548915659	4.564679797
Tmem55b	transmembrane protein 55b	2.362454552	3.744649815	2.548472188	3.585151483
Crbn	cereblon	2.053592913	1.984187094	2.546681367	2.483148716
Insig1	insulin induced gene 1	1.281483969	2.046117658	2.539985547	3.189836985
Nfil3	nuclear factor, interleukin 3, regulated	2.082825768	4.623425775	2.526801984	9.867095311
Intu	intumed planar cell polarity effector homolog (Drosophila)	2.408283623	1.746034849	2.523584346	2.025271667
Cirh1a	cirrhosis, autosomal recessive 1A (human)	1.881561093	1.539924854	2.520699608	2.068300865
Slc25a20	solute carrier family 25 (mitochondrial carnitine/acylcarnitine translocase), member 20	1.829834474	2.497369315	2.52064857	2.738701962
Tgfr3	transforming growth factor, beta receptor III	1.359717261	15.96052851	2.518955885	14.7413557
Tbcd17	TBC1 domain family, member 17	1.922672565	2.989495346	2.488874373	3.07008665
Slc9a1	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 1	2.513654073	2.720219098	2.488302496	2.926564398
Stab2	stabilin 2	1.503053733	3.721075317	2.486223172	3.108798889
Pik3ca	phosphatidylinositol 3-kinase, catalytic, alpha polypeptide	1.534423869	2.289891782	2.485694312	2.049577142
Adprm	ADP-ribose/CDP-alcohol diphosphatase, manganese dependent	2.373233363	3.055191076	2.483590411	3.001248279
B4gal3	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 3	1.012020807	1.651618912	2.470042191	2.560730888
Siah1a	seven in absentia 1A	1.417321711	1.088807587	2.457361876	2.124048566
Emx2os	Emx2 opposite strand/antisense transcript (non-protein coding)	2.269176827	5.359224786	2.454734595	5.649083235
Hip1r	huntingtin interacting protein 1 related	1.541225648	1.402310781	2.454683086	2.083211446
Fam3a	family with sequence similarity 3, member A	1.017939688	1.653984134	2.453244089	3.254377607
Ankle2	ankyrin repeat and LEM domain containing 2	1.629006389	1.862288553	2.450990728	2.082713323
Akirin2	akirin 2	1.814929112	2.161898447	2.450075661	2.972359884
Hmgcs2	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2	1.781720919	2.851300047	2.430425865	2.086578237
Nfe2l2	nuclear factor, erythroid derived 2, like 2	1.911872649	3.511496515	2.421637407	3.674737817
Kif15	Kruppel-like factor 15	1.935615531	2.772482298	2.412834698	3.096179
Foxo1	forkhead box O1	2.091976262	4.374389258	2.411286909	7.377520212
Map10	microtubule-associated protein 10	2.098655785	1.595226848	2.404425061	2.557798073
Slc39a14	solute carrier family 39 (zinc transporter), member 14	1.872402568	1.788647592	2.402430319	2.042755389
Cyr61	cysteine rich protein 61	1.305408026	1.232801693	2.401605604	2.143678904
Dbt	dihydroipoamide branched chain transacylase E2	2.122988498	2.756661234	2.388286525	2.040855601
Sorbs3	sorbin and SH3 domain containing 3	1.754175705	1.805733028	2.38335825	2.012377391
Gsr	glutathione reductase	2.84136182	6.433800215	2.372058542	6.412161908
Rnf114	ring finger protein 114	1.584532853	2.481751367	2.370596719	2.40709931
Hnrnpa1	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	2.328815654	1.236512795	2.364721471	3.167773267
Zfp790	zinc finger protein 790	2.270564766	2.034189094	2.362318931	2.585286677
Tubb4b-ps1	tubulin, beta 4B class IVB, pseudogene 1	1.918151349	2.150040159	2.359226875	2.265511174
Mapk1ip1	mitogen-activated protein kinase 1 interacting protein 1	2.556949862	4.046512875	2.350992154	3.178547529
Pef1	penta-EF hand domain containing 1	1.893966611	3.112256525	2.337867172	3.384835284
Net1	neuroepithelial cell transforming gene 1	1.150046597	3.026662085	2.324073948	6.117620672
Rusc2	RUN and SH3 domain containing 2	2.196447385	2.092352713	2.323472182	2.500812342
Rnf181	ring finger protein 181	1.956742993	2.205475647	2.297710882	2.806100728
Ackr2	atypical chemokine receptor 2	1.287067614	3.182654195	2.292662947	3.642124002
Rora	RAR-related orphan receptor alpha	1.734534832	3.390710496	2.286231905	5.804888906
Z610318N02Rik	RIKEN cDNA Z610318N02 gene	1.720649165	3.774333744	2.277982719	4.035894924
Gm5265	predicted pseudogene 5265	1.557828785	2.171302159	2.272341534	2.751064623
Zfp346	zinc finger protein 346	1.433420633	1.580230261	2.270293564	2.230510154
Papss2	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 2	1.425426453	2.717873448	2.263560079	3.200874125
Mtus1	mitochondrial tumor suppressor 1	1.105253436	1.248454647	2.262067121	2.504626136
Zfp36	zinc finger protein 36	0.758125901	9.262952435	2.259952854	14.15969359
Epc2	enhancer of polycomb homolog 2 (Drosophila)	1.666711551	1.407720211	2.258948208	2.068198063
Mast2	microtubule associated serine/threonine kinase 2	1.030055613	1.682923693	2.255111459	4.212185408
Pim3	proviral integration site 3	1.376351011	1.560343087	2.250036957	2.73285669
Prr14	proline rich 14	1.583936956	1.390314478	2.245682768	2.205653509
Ucp2	uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	1.456745739	5.13922919	2.244781401	6.969468202
Gm6781	predicted gene 6781	1.249514921	1.854430477	2.243098578	2.987703639
Eef1a2	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 2	2.699566695	2.541434331	2.242239823	3.660704194
Trim23	tripartite motif-containing 23	1.460290193	2.30099847	2.24047039	2.740627889
Srfbp1	serum response factor binding protein 1	2.049198292	2.062032685	2.210865251	2.105620221
Pfkfb4	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 4	1.87523771	5.012996815	2.198721735	5.518147744
Apbb3	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family B, member 3	2.231040476	4.59482758	2.19541581	3.030785961
Hist1h3f	histone cluster 1, H3f	1.966136992	1.478242984	2.194938796	2.040585429
Ddx56	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 56	1.938098385	2.594566133	2.190074564	2.793015406

表4. メスのGR標的遺伝子

メス18h f/f vs 4h f/fの誘導の高い順に表示 (2倍以上)。グレーはオスの誘導も高い遺伝子。N.D., not determined.

symbol	description	オス 18h f/f vs 4h f/f	オス 18h f/f vs 18h mKO	メス 18h f/f vs 4h f/f	メス 18h f/f vs 18h mKO
Nov	nephroblastoma overexpressed gene	2.262035661	1.205847776	2.184131821	2.102551119
Asb5	ankyrin repeat and SOCs box-containing 5	1.718107715	1.834438552	2.176309936	2.066041417
Igf3p3	insulin-like growth factor binding protein 3	1.576251282	7.587942596	2.169641122	14.69466368
Ascc1	activating signal cointegrator 1 complex subunit 1	1.564227479	2.770642912	2.14026821	3.142592885
Aaed1	AhpC/TSA antioxidant enzyme domain containing 1	1.589864805	2.406085548	2.135591448	3.706153324
Pdpr	pyruvate dehydrogenase phosphatase regulatory subunit	1.648649343	6.247632083	2.1317039	5.543042742
Ddx24	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 24	1.792979953	2.175398645	2.126259416	2.536175748
Ppm1b	protein phosphatase 1B, magnesium dependent, beta isoform	1.829641767	3.231587373	2.121597839	3.825044868
Odf3l2	outer dense fiber of sperm tails 3-like 2	0.796510512	15.15320841	2.110841152	16.71302075
Prrt2	proline-rich transmembrane protein 2	1.974873	1.589648571	2.107464786	2.189925759
C2cd2	C2 calcium-dependent domain containing 2	2.040550046	4.582644437	2.104649455	2.190938369
Mrgprg	MAS-related GPR, member G	1.494661349	1.348311203	2.084445509	6.266038609
Hspb7	heat shock protein family, member 7 (cardiovascular)	1.740533467	1.797762331	2.075187721	2.174995766
Ctdp1	CTD (carboxy-terminal domain, RNA polymerase II, polypeptide A) phosphatase, subunit 1	1.848559723	2.378770015	2.074480918	2.803249486
Spag9	sperm associated antigen 9	1.682189107	2.828138219	2.073330753	2.52105134
Psen1	presenilin 1	1.339695391	4.609991455	2.071256187	4.919951935
Gaa	glucosidase, alpha, acid	1.804240956	2.254331503	2.069218334	2.002121758
Hist2h3c2	histone cluster 2, H3c2	1.693126983	1.21944484	2.052694711	2.734422843
Arl4d	ADP-ribosylation factor-like 4D	1.456501315	2.156052534	2.048871671	3.467990433
Nufip1	nuclear fragile X mental retardation protein interacting protein 1	1.874862768	1.733535732	2.044021271	2.408770695
Olfm2	olfactomedin 2	1.443745141	2.382770349	2.037104895	2.033323582
Ddx3x	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 3, X-linked	1.700225634	2.082356886	2.036980762	2.268637993
Ddx20	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 20	1.432163306	4.774300904	2.00068848	4.639855847

表5. 雌雄共通GR標的遺伝子（1.5倍以上の誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0006511~ubiquitin-dependent protein catabolic process	13	3.394	2.27E-05	USP7, NPLOC4, USP3, UBE4A, UBE2G1, RLIM, ARIH1, PSMA1, PSMD13, SQSTM1, FBXO32, ITCH, USP22
GO:0016567~protein ubiquitination	19	4.961	1.04E-04	UBE4A, ASB11, FEM1B, RNF181, RLIM, KLHL7, KLHL38, ARIH1, RNF114, CRBN, DCAF10, FBXO32, KLHL24, NFE2L2, ITCH, ASB5, FBXL3, HECTD1, RNF13
GO:0006914~autophagy	11	2.872	2.51E-04	FAM134B, GABARAPL1, NPC1, TBC1D17, MAP1LC3B, SQSTM1, ULK1, FOXO1, UBQLN2, WIPI2, VPS33A
GO:0043161~proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process	11	2.872	3.69E-04	RNF115, CRBN, RMND5A, PSMD12, PSMD2, NFE2L2, ARNTL, RLIM, RNF181, TRIM63, FBXL3
GO:0071243~cellular response to arsenic-containing substance	4	1.044	4.46E-04	DDX3X, ZFAND2A, HMOX1, MKNK2
GO:0010614~negative regulation of cardiac muscle hypertrophy	4	1.044	0.00112	RGS2, GSK3B, FBXO32, TRIM63
GO:0048268~clathrin coat assembly	4	1.044	0.00181	EPS15, PICALM, CLINT1, FCHO2
GO:0071456~cellular response to hypoxia	8	2.089	0.00258	ADRB2, HP1BP3, HMOX1, RGCC, RORA, NFE2L2, VLDLR, SLC9A1
GO:0071549~cellular response to dexamethasone stimulus	5	1.305	0.00424	MSTN, FOXO1, FBXO32, TRIM63, DDIT4
GO:0006898~receptor-mediated endocytosis	6	1.567	0.00443	ADRB2, APOB, MSR1, PICALM, CD36, VLDLR
GO:0031333~negative regulation of protein complex assembly	4	1.044	0.00523	DDX3X, ULK1, IMPACT, GSK3B
GO:0030301~cholesterol transport	4	1.044	0.00523	NPC1, APOB, MSR1, CD36
GO:0006897~endocytosis	10	2.611	0.00553	EPS15, DNM3, NPC1, MSR1, PICALM, ATP6V1H, STAB2, CLINT1, FCHO2, VLDLR
GO:0010886~positive regulation of cholesterol storage	3	0.783	0.00637	APOB, MSR1, CD36
GO:0016239~positive regulation of macroautophagy	4	1.044	0.0078	SQSTM1, ULK1, HMOX1, WAC
GO:0006351~transcription, DNA-templated	49	12.79	0.00836	TAF1D, EZH1, ASCC1, FOXO1, RORA, RLIM, BZW1, ACTR8, CIRH1A, NFIL3, MYC, AKIRIN2, SERTAD2, ATF7IP, ARNTL, LPIN1, GZF1, ELL2, BTG2, ZFP280D, HIPK3, TGIF1, DNMTIP2, LIN54, USP22, NFE2L2, MYNN, SETD1B, SOX4, ATF1, CALCOCO1, DDX3X, ZFP410, TFDP2, CHD1, HBP1, WAC, MAFG, MAFF, KAT7, CEBPB, CEBPD, TAF8, TAF7, KLF15, MAFK, NUP62, SRFBP1, RERE
GO:0006355~regulation of transcription, DNA-templated	57	14.88	0.00902	HP1BP3, TAF1D, EZH1, ASCC1, FOXO1, RORA, RLIM, BZW1, ACVR1B, CIRH1A, ACTR8, NFIL3, MYC, AKIRIN2, SERTAD2, ATF7IP, ARNTL, LPIN1, GZF1, ELL2, BTG2, ZFP280D, ZFP790, HIPK3, ZFP869, TGIF1, PRDM2, DNMTIP2, LIN54, NFE2L2, USP22, MYNN, SETD1B, SOX4, ATF1, CALCOCO1, DDX3X, TFDP2, ZFP410, CHD1, WAC, HBP1, MAFG, MAFF, KAT7, CEBPB, CEBPD, TAF8, TAF7, ZFP119B, KLF15, MAFK, SAMD4, SRFBP1, PHF21B, APBB3, RERE
GO:0019915~lipid storage	4	1.044	0.01223	PLIN5, CD36, ABHD4, PNPLA2
GO:0097421~liver regeneration	4	1.044	0.01488	CEBPB, EZH1, HMOX1, MYC
GO:0010744~positive regulation of macrophage derived foam cell differentiation	3	0.783	0.01591	APOB, MSR1, CD36
GO:0008202~steroid metabolic process	6	1.567	0.0177	NPC1, STS, APOB, HMGCS2, VLDLR, FDFT1

表5. 雌雄共通GR標的遺伝子（1.5倍以上の誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:2000379~positive regulation of reactive oxygen species metabolic process	4	1.044	0.01783	CDKN1A, CD36, NFE2L2, GADD45A
GO:0030433~ER-associated ubiquitin-dependent protein catabolic process	5	1.305	0.01919	NPLOC4, DNAJB9, UBE4A, CCDC47, UBQLN2
GO:0070301~cellular response to hydrogen peroxide	5	1.305	0.01919	LCN2, OSER1, IMPACT, FOXO1, NFE2L2
GO:0032869~cellular response to insulin stimulus	6	1.567	0.02121	SORBS1, SLC25A33, FOXO1, MYC, LPIN1, SLC9A1
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	28	7.311	0.02205	MAVS, EZH1, FOXO1, SOX4, NUFIP1, JAG1, RORA, CALCOCO1, ATF1, ACVR1B, DDX3X, IFRD1, MYC, AKIRIN2, CEBPB, CEBPD, TAF7, KLF15, ARNTL, LPIN1, PRPF6, ACVR2A, ADRB2, GSK3B, RGCC, NFE2L2, SLC40A1, SLC9A1
GO:0006417~regulation of translation	7	1.828	0.02214	DDX3X, RGS2, IMPACT, MKNK2, EPRS, SAMD4, PPP1R15A
GO:0008203~cholesterol metabolic process	6	1.567	0.02216	NPC1, APOB, HMGCS2, CYP27A1, VLDLR, FDFT1
GO:0042254~ribosome biogenesis	6	1.567	0.02216	DDX27, GTPBP4, SBDS, DDX56, DDX3X, TSR1
GO:0071850~mitotic cell cycle arrest	3	0.783	0.02541	CDKN1A, RGCC, GADD45A
GO:0030308~negative regulation of cell growth	7	1.828	0.02548	ACVR1B, CDKN1A, CTH, DDX3X, OSGIN1, SESN1, SERTAD2
GO:0006364~rRNA processing	7	1.828	0.02637	DDX27, SBDS, DDX56, NOP2, RRP1, UTP15, CIRH1A
GO:0048511~rhythmic process	7	1.828	0.0282	ENOX2, GSK3B, RORA, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0070534~protein K63-linked ubiquitination	4	1.044	0.03054	RNF115, UBE2G1, ITCH, HECTD1
GO:0001833~inner cell mass cell proliferation	3	0.783	0.03273	GINS1, SBDS, TAF8
GO:0042953~lipoprotein transport	3	0.783	0.03273	APOB, MSR1, CD36
GO:0071346~cellular response to interferon-gamma	5	1.305	0.03399	GBP8, GBP6, GBP10, EPRS, MYC
GO:0042787~protein ubiquitination involved in ubiquitin-dependent protein catabolic process	7	1.828	0.03419	KLHL7, ARIH1, RNF115, RMND5A, ITCH, RNF181, HECTD1
GO:0031623~receptor internalization	4	1.044	0.03484	DNM3, PICALM, CD36, ULK1
GO:0034381~plasma lipoprotein particle clearance	2	0.522	0.03563	MSR1, CD36
GO:0008299~isoprenoid biosynthetic process	3	0.783	0.03667	HMGCS2, GGPS1, FDFT1
GO:0055072~iron ion homeostasis	4	1.044	0.03945	LCN2, PICALM, HMOX1, SLC40A1
GO:0006865~amino acid transport	4	1.044	0.03945	SLC7A2, MYC, SLC43A1, SLC7A6
GO:0001676~long-chain fatty acid metabolic process	3	0.783	0.04077	CD36, ACOT2, ACOT1
GO:0006882~cellular zinc ion homeostasis	3	0.783	0.04077	SLC39A14, SLC30A1, MT1
GO:2000573~positive regulation of DNA biosynthetic process	3	0.783	0.04077	GSK3B, RGCC, MYC
GO:0000045~autophagosome assembly	4	1.044	0.04435	GABARAPL1, MAP1LC3B, ULK1, WIPI2
GO:0042176~regulation of protein catabolic process	3	0.783	0.04504	ODC1, PSMD2, ARNTL
GO:0007623~circadian rhythm	6	1.567	0.0454	GSK3B, RORA, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0006879~cellular iron ion homeostasis	4	1.044	0.0469	LCN2, HMOX1, MYC, SLC40A1
GO:0010501~RNA secondary structure unwinding	4	1.044	0.0469	DDX27, DDX56, DDX3X, DDX24

表6. 雌雄共通GR標的遺伝子（2倍以上の誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0006914~autophagy	6	5.31	7.16E-04	FAM134B, NPC1, MAP1LC3B, ULK1, FOXO1, UBQLN2
GO:0071549~cellular response to dexamethasone stimulus	4	3.54	8.20E-04	FOXO1, FBXO32, TRIM63, DDIT4
GO:0006865~amino acid transport	4	3.54	0.00119	SLC7A2, MYC, SLC43A1, SLC7A6
GO:0010614~negative regulation of cardiac muscle hypertrophy	3	2.655	0.00157	RGS2, FBXO32, TRIM63
GO:0009267~cellular response to starvation	4	3.54	0.00332	GLUL, PDK4, FOXO1, ZFYVE1
GO:0006974~cellular response to DNA damage stimulus	8	7.08	0.00496	CDKN1A, USP3, BTG2, EGLN3, FBXO31, FOXO1, MYC, GADD45A
GO:0072593~reactive oxygen species metabolic process	3	2.655	0.01533	PDK4, SESN1, DDIT4
GO:0044752~response to human chorionic gonadotropin	2	1.77	0.01976	MYC, GCLM
GO:0043066~negative regulation of apoptotic process	8	7.08	0.02273	C87499, CDKN1A, BTG2, HIPK3, FOXO1, APBB3, SLC40A1, SLC9A1
GO:0007265~Ras protein signal transduction	3	2.655	0.02291	CNKSRI1, CDKN1A, ULK1
GO:0014878~response to electrical stimulus involved in regulation of muscle adaptation	2	1.77	0.02464	FBXO32, TRIM63
GO:0032024~positive regulation of insulin secretion	3	2.655	0.02571	GLUL, SOX4, DOC2B
GO:0048511~rhythmic process	4	3.54	0.02606	ENOX2, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0042493~response to drug	6	5.31	0.0271	CDKN1A, NPC1, TGIF1, LOX, GCLM, SLC9A1
GO:0035914~skeletal muscle cell differentiation	3	2.655	0.03068	MAFF, BTG2, MYC
GO:0014894~response to denervation involved in regulation of muscle adaptation	2	1.77	0.03914	FBXO32, TRIM63
GO:0048146~positive regulation of fibroblast proliferation	3	2.655	0.04162	CDKN1A, TGIF1, MYC
GO:0006977~DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in cell cycle arrest	2	1.77	0.04392	CDKN1A, SOX4
GO:0071346~cellular response to interferon-gamma	3	2.655	0.04515	GBP6, GBP10, MYC

表7. オスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0006511~ubiquitin-dependent protein catabolic process	16	3.071	5.80E-06	USP7, NPLOC4, USP3, UBE4A, NUB1, UBE2G1, RLIM, ARIH1, PSMA1, PSMD13, SQSTM1, FBXO32, RANBP1, USP22, ITCH, USP14
GO:0016567~protein ubiquitination	24	4.607	3.14E-05	UBE4A, NUB1, LRRC41, TRIM41, ASB11, FEM1B, RLIM, RNF181, KLHL7, KLHL38, ARIH1, RNF114, CBLB, CRBN, DCAF10, RNF4, FBXO32, KLHL24, NFE2L2, ITCH, ASB5, FBXL3, HECTD1, RNF13
GO:0016239~positive regulation of macroautophagy	6	1.152	1.99E-04	SQSTM1, ULK1, HMOX1, BNIP3, WAC, PAFAH1B2
GO:0043161~proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process	13	2.495	3.04E-04	RNF115, CRBN, PSMD12, RMND5A, RNF4, PSMD2, NFE2L2, ARNTL, TRIM63, RNF181, RLIM, PSMD7, FBXL3
GO:0071243~cellular response to arsenic-containing substance	4	0.768	0.00109	DDX3X, ZFAND2A, HMOX1, MKNK2
GO:0006351~transcription, DNA-templated	67	12.86	0.00174	ZFP638, EZH1, TAF1D, ASCC1, FOXO1, ZKSCAN1, RORA, RLIM, FUBP1, BZW1, CIPC, DDX21, CIRH1A, ACTR8, NFIL3, MYC, AKIRIN2, SERTAD2, ATF7IP, RELA, RING1, POLR1A, ARNTL, FOXJ3, LPIN1, ELL2, GZF1, BTG2, HIPK3, ZFP280D, TGIF1, DNTP2, LIN54, NFE2L2, USP22, MYNN, SETD1B, SOX4, ATF1, CALCOCO1, MLF1, ARX, DDX3X, ZSCAN21, TFDP2, ZFP410, ZSCAN26, CHD1, WAC, HBP1, GTF3C4, MAFG, MAFF, KAT7, CEBPB, CEBPD, TAF8, TAF7, TRIM27, KLF15, MAFK, POLR3E, SRFBP1, RNF4, NUP62, IKBKG, RERE
GO:0070534~protein K63-linked ubiquitination	6	1.152	0.0022	RNF115, RNF4, UBE2G1, TRIM27, ITCH, HECTD1
GO:0006914~autophagy	11	2.111	0.0026	FAM134B, GABARAPL1, NPC1, TBC1D17, MAP1LC3B, SQSTM1, ULK1, FOXO1, UBQLN2, WIPI2, VPS33A
GO:0070301~cellular response to hydrogen peroxide	7	1.344	0.00261	LCN2, OSER1, IMPACT, RELA, FOXO1, BNIP3, NFE2L2
GO:0010614~negative regulation of cardiac muscle hypertrophy	4	0.768	0.00271	RGS2, GSK3B, FBXO32, TRIM63
GO:0060548~negative regulation of cell death	8	1.536	0.00341	NPC1, RNF4, IMPACT, SOX4, BNIP3, OGT, NFE2L2, MYC
GO:0071456~cellular response to hypoxia	9	1.727	0.00376	ADRB2, HP1BP3, HMOX1, RGCC, BNIP3, RORA, NFE2L2, VLDLR, SLC9A1
GO:0048268~clathrin coat assembly	4	0.768	0.00432	EPS15, PICALM, CLINT1, FCHO2
GO:0006629~lipid metabolic process	22	4.223	0.00465	ACOX1, STS, HACD3, PRKAB2, ABHD4, ST8SIA1, PNPLA2, LPIN1, LPCAT3, ACSF2, FDFT1, PLIN5, PNPLA8, APOB, NPC1, SLC16A1, HMGS2, AGPS, NEU1, PLCD1, PAFAH1B2, VLDLR
GO:0010501~RNA secondary structure unwinding	6	1.152	0.00466	DDX27, DDX56, DDX3X, EIF4A1, DDX24, DDX21
GO:0006897~endocytosis	12	2.303	0.00504	EPS15, SH3GL3, DNM3, NPC1, MSR1, PICALM, ATP6V1H, STAB2, NCL, CLINT1, FCHO2, VLDLR
GO:0034389~lipid particle organization	4	0.768	0.0053	PLIN5, RAB3GAP1, SPG20, PNPLA2

表7. オスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0042953~lipoprotein transport	4	0.768	0.00641	APOB, ZDHHC17, MSR1, CD36
GO:0051865~protein autoubiquitination	6	1.152	0.00863	RNF115, RNF4, RNF181, ASB4, HECTD1, RNF13
GO:0006417~regulation of translation	9	1.727	0.00976	EIF4G2, DDX3X, RGS2, EIF2S1, IMPACT, MKNK2, EPRS, SAMD4, PPP1R15A
GO:0010628~positive regulation of gene expression	19	3.647	0.0098	MAFG, LIMS1, RAB3GAP1, MUSTN1, CALCOCO1, ARX, FUBP1, LCN2, ACVR1B, APOB, DDX3X, ANK3, GSK3B, IKBKG, RGCC, NFE2L2, OGT, NFIL3, PPP1R15A
GO:0010886~positive regulation of cholesterol storage	3	0.576	0.01154	APOB, MSR1, CD36
GO:0030301~cholesterol transport	4	0.768	0.01214	NPC1, APOB, MSR1, CD36
GO:0031333~negative regulation of protein complex assembly	4	0.768	0.01214	DDX3X, ULK1, IMPACT, GSK3B
GO:0006364~rRNA processing	9	1.727	0.01228	DDX27, SBDS, DDX56, NOP2, RRP1, UTP15, DDX21, CIRH1A, FBL
GO:0071549~cellular response to dexamethasone stimulus	5	0.96	0.0123	MSTN, FOXO1, FBXO32, TRIM63, DDIT4
GO:0006355~regulation of transcription, DNA-templated	73	14.01	0.01283	HP1BP3, ZFP638, EZH1, TAF1D, ASCC1, FOXO1, ZKSCAN1, RORA, RLIM, ZFP871, FUBP1, BZW1, CIPC, ACVR1B, CIRH1A, ACTR8, NFIL3, MYC, AKIRIN2, SERTAD2, ATF7IP, RELA, RING1, ARNTL, FOXJ3, LPIN1, ELL2, GZF1, BTG2, HIPK3, ZFP280D, ZFP790, ZFP869, TGIF1, PRDM2, NFE2L1, DNTTIP2, LIN54, NFE2L2, USP22, MYNN, SETD1B, SOX4, ATF1, CALCOCO1, MLF1, ARX, DDX3X, ZSCAN21, TFDP2, ZSCAN26, ZFP410, CHD1, WAC, HBP1, MAFG, MAFF, KAT7, CEBPB, CEBPD, TAF8, TAF7, ZFP119B, TRIM27, KLF15, MAFK, SAMD4, SRFBP1, RNF4, IKBKG, PHF21B, APBB3, RERE
GO:0048511~rhythmic process	9	1.727	0.01341	CIPC, ENOX2, GSK3B, RORA, OGT, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0006898~receptor-mediated endocytosis	6	1.152	0.0155	ADRB2, APOB, MSR1, PICALM, CD36, VLDLR
GO:0098779~mitophagy in response to mitochondrial depolarization	9	1.727	0.01589	SQSTM1, ULK1, EIF2S1, IST1, PI4K2A, MSTN, PIK3CA, ITPKC, MYOM1
GO:0007049~cell cycle	25	4.798	0.01633	USP3, ANKLE2, SPICE1, LLGL2, MLF1, WAPL, MAP10, HJURP, TFDP2, ZFP830, ACTR8, PARD6B, CDKN1A, RGS2, ZWINT, PTP4A1, IST1, RGCC, ZFP207, FBXO31, LIN37, USP22, LIN54, GADD45A, CTD1P1
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	36	6.91	0.01985	MAVS, EZH1, FOXO1, NUFIP1, SOX4, RORA, JAG1, ATF1, CALCOCO1, NFATC2IP, ACVR1B, DDX3X, ZSCAN21, OGT, IFRD1, MYC, AKIRIN2, CEBPB, CEBPD, RELA, TAF7, KLF15, ARNTL, LPIN1, NCL, PRPF6, ACVR2A, ADRB2, RNF4, GSK3B, RGCC, IKBKG, NFE2L1, NFE2L2, SLC40A1, SLC9A1
GO:0043066~negative regulation of apoptotic process	23	4.415	0.02244	IER3, LIMS1, RELA, FOXO1, BNIP3, ANKLE2, NCL, C87499, EDNRB, CTH, CDKN1A, ATAD3A, BTG2, DDX3X, NUP62, GSK3B, HIPK3, ZFP830, APBB3, ITCH, PRAMEF8, SLC40A1, SLC9A1
GO:0007163~establishment or maintenance of cell polarity	4	0.768	0.02748	LIMS1, STK25, FSCN2, GSK3B

表7. オスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0019915~lipid storage	4	0.768	0.02748	PLIN5, CD36, ABHD4, PNPLA2
GO:1901216~positive regulation of neuron death	4	0.768	0.02748	PICALM, EIF2S1, GSK3B, DDIT4
GO:0034198~cellular response to amino acid starvation	4	0.768	0.02748	CDKN1A, ULK1, EIF2S1, IMPACT
GO:0010744~positive regulation of macrophage derived foam cell differentiation	3	0.576	0.02834	APOB, MSR1, CD36
GO:0070936~protein K48-linked ubiquitination	5	0.96	0.02943	RNF115, RNF4, UBE2G1, ITCH, UBE2Q2
GO:0043123~positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling	9	1.727	0.0302	MAVS, CTH, ZDHHC17, CD36, NUP62, RELA, HMOX1, IKBKG, EDA2R
GO:0097421~liver regeneration	4	0.768	0.03312	CEBPB, EZH1, HMOX1, MYC
GO:0003215~cardiac right ventricle morphogenesis	3	0.576	0.03892	SOX4, SEMA3C, JAG1
GO:2000379~positive regulation of reactive oxygen species metabolic process	4	0.768	0.03932	CDKN1A, CD36, NFE2L2, GADD45A
GO:0006413~translational initiation	5	0.96	0.04273	ABCE1, EIF4G2, DDX3X, EIF2S1, EIF4A1
GO:0008610~lipid biosynthetic process	3	0.576	0.04468	AGPS, DOLPP1, FDFT1
GO:0071850~mitotic cell cycle arrest	3	0.576	0.04468	CDKN1A, RGCC, GADD45A
GO:0043984~histone H4-K16 acetylation	3	0.576	0.04468	MSL2, KANSL2, OGT
GO:0006446~regulation of translational initiation	4	0.768	0.04607	EIF4G2, EIF3J1, IMPACT, EIF4A1
GO:0034381~plasma lipoprotein particle clearance	2	0.384	0.04829	MSR1, CD36
GO:0050873~brown fat cell differentiation	4	0.768	0.04964	ADRB2, CEBPB, RGS2, BNIP3

表8. オス特異的GR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0046907~intracellular transport	3	2.174	0.00521	TMEM167B, TMEM167, RANBP1
GO:0045862~positive regulation of proteolysis	3	2.174	0.00867	IST1, MGEA5, OGT
GO:0006446~regulation of translational initiation	3	2.174	0.01892	EIF4G2, EIF3J1, EIF4A1
GO:0043243~positive regulation of protein complex disassembly	2	1.449	0.02542	MGEA5, BNIP3
GO:0006629~lipid metabolic process	8	5.797	0.02849	HACD3, AGPS, PRKAB2, ST8SIA1, PLCD1, NEU1, PAFAH1B2, ACSF2
GO:0098609~cell-cell adhesion	5	3.623	0.03353	EIF4G2, PPME1, IST1, PPFIBP1, ELMO2
GO:0009838~abscission	2	1.449	0.03788	IST1, SPG20
GO:0006413~translational initiation	3	2.174	0.04703	EIF4G2, EIF2S1, EIF4A1

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	35	4.342	2.54E-07	USP7, HIP1R, FOXO1, SOX4, OSGIN1, FOXO3, DAXX, CTNBL1, DDX3X, HMOX1, PPP2CA, RHOB, TRP53INP1, AATF, DDX20, FAS, NSMAF, IP6K2, CYR61, NET1, ZFP346, ZFP622, AIFM2, EEF1A2, PRKCD, BCL2L11, ADRB2, PSEN1, SIAH1A, GSK3B, BNIP3L, GADD45G, GADD45A, IGFBP3, SLC9A1
GO:0016567~protein ubiquitination	33	4.094	1.08E-05	ANAPC16, ASB11, KEAP1, MYLIP, FEM1B, RNF181, RLIM, ASB15, KLHL7, ARIH1, DCAF10, KLHL24, ITCH, KLHL41, HECTD1, RNF13, UBE4A, SOCS2, MUL1, HERC2, TRIM23, KLHL38, RNF114, CRBN, SIAH1A, FBXO30, FBXO32, NFE2L2, RNF19B, CHFR, ASB5, FBXL3, ASB6
GO:0006511~ubiquitin-dependent protein catabolic process	19	2.357	2.63E-05	USP7, HERPUD1, NPLOC4, USP3, UBE4A, USP1, UBE2G1, RLIM, PSMA1, ADRM1, ARIH1, PSMD13, SQSTM1, PSMA5, SIAH1A, FBXO32, USP22, ITCH, CHFR
GO:0043161~proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process	18	2.233	5.95E-05	RAD23B, KEAP1, ARNTL, UBE2H, RLIM, RNF181, TRIM63, PLAA, RNF115, CRBN, RMND5A, PSMD12, PSMA5, SIAH1A, PSMD2, NFE2L2, PSMD8, FBXL3
GO:0006915~apoptotic process	42	5.211	8.96E-05	HIP1R, DEDD, MKNK2, EGLN3, FOXO1, FOXO3, FEM1B, DAXX, CTNBL1, ECE1, DDX3X, SQSTM1, HMOX1, BAG3, RHOB, TRP53INP1, FAS, ITCH, RBM25, BCL7B, C5AR1, CHAC1, MUL1, PIM3, PRKCD, BCL2L11, TAX1BP1, DAPK1, DDIT4, LCN2, MEF2D, ZDHHC16, PLK3, PSEN1, SIAH1A, CSRN1, HIPK3, BNIP3L, GADD45G, SIX1, PPP1R15A, PEG3
GO:0006914~autophagy	17	2.109	1.13E-04	SNAP29, GABARAPL1, FOXO1, OPTN, UBQLN2, WIPI2, VPS33A, FAM134B, NPC1, TBC1D17, PSEN1, MAP1LC3B, SQSTM1, ULK1, TRP53INP1, RAB12, VPS16
GO:0048268~clathrin coat assembly	6	0.744	1.23E-04	EPS15, AP2B1, PICALM, HIP1R, CLINT1, FCHO2
GO:0042254~ribosome biogenesis	13	1.613	1.47E-04	KRR1, GTPBP4, TSR1, GAR1, MPHOSPH10, DDX27, DDX56, SBDS, DDX3X, LSG1, RRS1, AATF, GNL3
GO:0035914~skeletal muscle cell differentiation	10	1.241	2.24E-04	KLF5, MEF2D, MAFF, ATF3, BTG2, LEMD2, ANKRD2, KLHL41, EMD, MYC
GO:0007623~circadian rhythm	14	1.737	2.52E-04	KLF9, KLF10, ARNTL, RORA, NOCT, ATF4, CSNK1E, GSK3B, DYRK1A, UBC, DPYD, FAS, NFIL3, FBXL3
GO:0070301~cellular response to hydrogen peroxide	10	1.241	2.96E-04	LCN2, OSER1, IMPACT, FOXO1, RHOB, PDGFD, NFE2L2, PRKCD, NET1, PLEKHA1
GO:0008625~extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors	8	0.993	3.13E-04	DDX3X, PCID2, 0610009O20RIK, DEDD, BAG3, FAS, PIK3R1, DAPK1

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	61	7.568	3.52E-04	TBK1, EZH1, FOXO1, RORA, ZEB1, JAG1, FOXO3, DAXX, ACVR1B, RPRD1B, IFRD1, MYC, AKIRIN2, CYR61, ARID5A, CCNL1, ARNTL, LPIN1, JUNB, PRPF6, ACVR2A, ADRB2, SIX1, RGCC, PYGO1, NFE2L2, SLC40A1, PEG3, MAVS, FGFR1, HMGB2, NUFIP1, SOX4, ATF1, CALCOCO1, ARNT, NR1H2, DDX3X, PKD2, AATF, PIK3R1, ZFP384, KLF5, KLF6, CEBPB, ZBTB7C, KLF9, CEBPD, TAF7, KLF15, ZFP746, CSRP3, DDX58, MEF2D, ATF4, ATF3, CSRN1, GSK3B, ZFP143, RBMXL1, SLC9A1
GO:0034198~cellular response to amino acid starvation	7	0.868	4.64E-04	CDKN1A, ATF4, SLC38A2, ATF3, ULK1, UCP2, IMPACT
GO:0000122~negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	47	5.831	6.83E-04	FGFR1, USP3, EZH1, IMPACT, YBX3, ANKRD2, HIST2H3C2, ZEB1, FOXO3, RLIM, DAXX, NR1H2, TSC22D3, SORBS3, SQSTM1, PPP2CA, EED, DDX20, NFIL3, MYC, AKIRIN2, MEPCE, ATF7IP, KLF5, ZFP36, HIST1H1C, TAF7, IRF2BP2, SPEN, LPIN1, ZFP746, JUNB, GZF1, ATF3, CD36, PLK3, BTG2, PSEN1, PIAS4, HIPK3, SIX1, HIST1H3C, TGIF1, HIST1H3D, HIST1H3F, PEG3, VLDLR
GO:0048705~skeletal system morphogenesis	9	1.117	9.87E-04	ZFAND5, PSEN1, CSRN1, TIPARP, ANKRD11, SIX1, MYC, PLEKHA1, IDUA
GO:0097192~extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	8	0.993	9.95E-04	LCN2, BAG3, GSK3B, MKNK2, FOXO3, FAS, BCL2L11, DAPK1
GO:0030308~negative regulation of cell growth	14	1.737	0.00104	MUL1, HSPA1A, OSGIN1, SESN1, NOV, ACVR1B, CDKN1A, CTH, DDX3X, AGT, CDKN2AIP, DNAJB2, IP6K2, SERTAD2
GO:0043066~negative regulation of apoptotic process	38	4.715	0.00117	IER3, HIP1R, YBX3, FOXO1, ANKLE2, DAXX, DDX3X, AATF, ZFP830, FAS, ITCH, CAT, THBS1, PRAMEF8, DPEP1, PIK3R1, CYR61, PCID2, PIM3, CTNNA1, TAX1BP1, DAPK1, C87499, CDKN1A, CTH, SON, PLK3, BTG2, NUP62, PSEN1, UCP2, HIPK3, GSK3B, BNIP3L, SIX1, APBB3, SLC40A1, SLC9A1
GO:0001649~osteoblast differentiation	13	1.613	0.00133	MEF2D, GTPBP4, DNAJC13, PENK, RBMXL1, TGFB3, CCDC47, H3F3B, CAT, IGFBP3, HNRNPU, JUNB, CYR61
GO:0016239~positive regulation of macroautophagy	6	0.744	0.00155	SQSTM1, ULK1, HMOX1, BNIP3L, RAB12, WAC
GO:0043619~regulation of transcription from RNA polymerase II promoter in response to oxidative stress	4	0.496	0.00175	CD36, HMOX1, ANKRD2, ARNT
GO:0032869~cellular response to insulin stimulus	11	1.365	0.00198	IRS2, GOT1, SORBS1, SLC25A33, UCP2, FOXO1, MYC, LPIN1, ERRF1, PIK3R1, SLC9A1
GO:0006898~receptor-mediated endocytosis	9	1.117	0.00198	ADRB2, APOB, MSR1, PICALM, FTL1, CD36, APOE, HIP1R, VLDLR
GO:0034389~lipid particle organization	5	0.62	0.00209	PLIN5, RAB18, FITM2, PNPLA2, FAF2
GO:0007263~nitric oxide mediated signal transduction	5	0.62	0.00209	CD36, APOE, MT2, MT1, RASD1
GO:0043410~positive regulation of MAPK cascade	12	1.489	0.00215	FGFR1, SPAG9, ZFP622, SORBS3, ADRB2, CD36, AGT, LEPR, FAS, IGFBP3, PRKCD, IGFBP4

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0042147~retrograde transport, endosome to Golgi	9	1.117	0.00221	SPAG9, TBC1D17, WASH1, VPS54, SNX2, BET1L, STX5A, RIC1, GCC2
GO:0008380~RNA splicing	20	2.481	0.00247	USB1, SRSF1, RBM20, MAGOH, XAB2, HNRNPA1, HNRNPU, PRPF6, SON, SNRNP48, GM8994, SCAF11, JMJD6, RBMXL1, ZPR1, PABPC1, DDX20, CWC22, RBM25, RBM17
GO:0071549~cellular response to dexamethasone stimulus	7	0.868	0.00263	MSTN, FOXO1, FBXO32, TRIM63, ERFFI1, HNRNPU, DDIT4
GO:0001833~inner cell mass cell proliferation	5	0.62	0.00271	GINS1, SBDS, NDEL1, TAF8, ZPR1
GO:0032436~positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process	9	1.117	0.00331	CSNK1A1, ARIH1, RNF114, PSEN1, CSNK1E, ZFAND2A, GSK3B, RNF19B, CHFR
GO:0006364~rRNA processing	13	1.613	0.00334	KRR1, RRP1, GAR1, NOL8, MPHOSPH10, UTP15, RNMTL1, DDX27, DDX56, SBDS, NOP2, TFB2M, CIRH1A
GO:0071243~cellular response to arsenic-containing substance	4	0.496	0.00398	DDX3X, ZFAND2A, HMOX1, MKNK2
GO:0001676~long-chain fatty acid metabolic process	5	0.62	0.00428	SLC27A1, ACSL1, CD36, ACOT2, ACOT1
GO:0045604~regulation of epidermal cell differentiation	3	0.372	0.0043	MAFG, MAFF, KEAP1
GO:0097421~liver regeneration	6	0.744	0.00453	SRSF1, CEBPB, UCP2, EZH1, HMOX1, MYC
GO:0006351~transcription, DNA-templated	95	11.79	0.00461	EZH1, DEDD, TAF1D, YBX3, ZXDC, ASCC1, FOXO1, RORA, FOXO3, ZEB1, MAF1, RLIM, DAXX, BZW1, EPC2, EED, TFB2M, CIRH1A, ACTR8, RPRD1B, NFIL3, MYC, FIZ1, AKIRIN2, SERTAD2, ATF7IP, BRF2, ARID5A, CCNL1, IRF2BP2, ARNTL, SPEN, LPIN1, JUNB, ELL2, GZF1, BTG2, PIAS4, FAM120B, HIPK3, ZFP280D, SIX1, ZFP697, TGIF1, DNMTIP2, LIN54, NFE2L2, USP22, MYNN, PEG3, DPF3, HMGB2, SETD1B, SOX4, TXLNG, KEAP1, ZFP112, XAB2, CALCOCO1, ATF1, ARNT, NR1H2, DDX3X, TFDP2, ZFP410, CHD1, TRP53INP1, WAC, HBP1, KLF5, MAFG, KLF6, MAFF, KAT7, CEBPB, KLF9, CEBPD, TAF8, KLF10, TAF7, ZFP775, AFF1, KLF15, MAFK, ZFP746, MEF2D, SON, ATF4, ATF3, SRFBP1, NUP62, JMJD6, CSRN1, ZFP143, RERE
GO:0045893~positive regulation of transcription, DNA-templated	36	4.467	0.00502	HMGB2, ZXDC, FOXO1, SOX4, RORA, FOXO3, CALCOCO1, ARNT, NR1H2, PICALM, AGT, TFB2M, TRP53INP1, WAC, AATF, MYC, SERTAD2, KLF5, ATF7IP, CEBPB, PCID2, TAF8, MAP2K3, MSTN, AFF1, SPEN, KLF15, ARNTL, MEF2D, ATF4, NUP62, PSEN1, SIX1, USP22, NFE2L2, MAPRE3
GO:0006865~amino acid transport	7	0.868	0.00505	SLC38A4, SLC38A2, SLC7A2, SLC3A2, MYC, SLC43A1, SLC7A6
GO:0030433~ER-associated ubiquitin-dependent protein catabolic process	8	0.993	0.00594	NPLOC4, DNAJB9, PSMC4, UBE4A, CCDC47, FAF2, UBQLN2, EDEM1
GO:2000379~positive regulation of reactive oxygen species metabolic process	6	0.744	0.00609	XDH, CDKN1A, CD36, NFE2L2, THBS1, GADD45A

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0098792~xenophagy	11	1.365	0.0062	DPF3, PDK4, RBM18, HIST2H3C2, MSTN, HIST1H3C, HIST1H3D, ITPKC, OPTN, ZFP189, HIST1H3F
GO:0006397~mRNA processing	23	2.854	0.00666	USB1, SRSF1, FIP1L1, RNMT, MAGOH, RBM20, XAB2, HNRNPA1, HNRNPU, NOCT, PRPF6, TUT1, SON, SNRNP48, JMJD6, RBMXL1, GPATCH1, DDX20, ZPR1, PABPC1, CWC22, RBM25, RBM17
GO:0008203~cholesterol metabolic process	10	1.241	0.00708	NPC1, APOB, HMGCS2, CYP27A1, APOE, LEPR, INSIG1, CAT, VLDLR, FDFT1
GO:0006810~transport	91	11.29	0.00727	SRSF1, SLC27A1, STEAP4, SEC24A, ENOX2, AP4E1, AP1G1, SLC20A2, VPS54, PITPNB, VPS37A, VPS33A, SLC7A6, SLC25A20, COPB2, AP2B1, DIRC2, STARD5, APOB, SLC16A1, TBC1D17, APOE, SLC2A3, SLC2A1, LRRC52, RHOB, ATP8B2, VPS16, SLC43A1, SLC1A1, SEC23A, TXNL1, STX1A, TRPM8, RALBP1, MAGOH, SLC3A2, CACNG5, ATP6V1H, GCC2, TMEM38B, TRAPPC12, SLC25A30, TMEM106B, AAAS, CD36, NDEL1, RAB18, IPO7, SLC25A33, SLC25A36, KLHL12, CLIP1, RAB12, STX5A, SLC40A1, SNAP29, ARFGAP1, SLC38A4, SLC39A14, SLC38A2, WASH1, SNX2, TIMM10, CCDC91, TMEM37, SYNPR, SORBS1, SLC30A1, OSBPL1A, PLIN3, ETFDH, PKD2, LSG1, SLC35F5, PEX12, PIK3R1, NMD3, RHBDF2, SPNS2, SLC10A6, HNRNPA1, EPS15, LCN2, NUP62, SLC7A2, UCP2, BET1L, SLC15A4, SLC9A1, VLDLR
GO:0002230~positive regulation of defense response to virus by host	12	1.489	0.0073	MAVS, DDX58, DPF3, PDK4, RBM18, HIST2H3C2, MSTN, HIST1H3C, HIST1H3D, ITPKC, ZFP189, HIST1H3F
GO:0016192~vesicle-mediated transport	17	2.109	0.00822	SEC23A, ARFGAP1, STX1A, SEC24A, AP4E1, AP1G1, OPTN, VPS33A, TRAPPC12, SPAG9, COPB2, AP2B1, PICALM, KLHL12, CLINT1, STX5A, MON1A
GO:0010614~negative regulation of cardiac muscle hypertrophy	4	0.496	0.00955	RGS2, GSK3B, FBXO32, TRIM63
GO:0043280~positive regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	7	0.868	0.00974	DDX3X, PPP2CA, FAS, MYC, BCL2L11, DAPK1, CYR61
GO:0006897~endocytosis	15	1.861	0.01016	DNM3, MSR1, RALBP1, HIP1R, SNX2, ATP6V1H, STAB2, EPS15, AP2B1, NPC1, PICALM, CSNK1E, FCHO2, CLINT1, VLDLR
GO:0034599~cellular response to oxidative stress	8	0.993	0.01022	TXNL1, PENK, BRF2, FOXO1, FOXO3, NFE2L2, PRKCD, SRXN1
GO:0048511~rhythmic process	12	1.489	0.01032	ATF4, ENOX2, KLF9, CSNK1E, KLF10, GSK3B, RORA, ARNTL, NFIL3, HNRNPU, FBXL3, NOCT
GO:0006974~cellular response to DNA damage stimulus	27	3.35	0.01177	USP7, RAD23B, APEX2, USP3, 3110062M04RIK, EGLN3, FOXO1, XAB2, MCM9, EPC2, AATF, WAC, ACTR8, TLK2, MYC, USP1, EME1, HERC2, XPA, CDKN1A, PLK3, PSEN1, BTG2, CDKN2AIP, FBXO31, ALKBH2, GADD45A

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0044342~type B pancreatic cell proliferation	4	0.496	0.01207	NOV, SIDT2, IGFBP3, IGFBP4
GO:0060968~regulation of gene silencing	4	0.496	0.01207	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3F
GO:0042474~middle ear morphogenesis	5	0.62	0.0124	FGFR1, SIX1, INSIG1, PRRX2, MYC
GO:0007049~cell cycle	36	4.467	0.01298	ANAPC16, GNAI3, APEX2, MAU2, USP3, TXLNG, ANKLE2, LLGL2, MAP10, TFDP2, ZFP830, ACTR8, TLK2, CDCA5, MTUS1, CSNK1A1, PIM3, PRKCD, CDKN1A, SON, PLK3, RGS2, SIAH1A, ZWINT, PTP4A1, RGCC, FBXO31, LIN37, USP22, LIN54, ANAPC7, HAUS8, CHFR, GADD45A, CTDP1, MAPRE3
GO:0018105~peptidyl-serine phosphorylation	12	1.489	0.0135	CSNK1A1, MAST2, TBK1, ULK1, CSNK1E, GSK3B, HIPK3, DYRK1A, MKNK2, TLK2, CAB39, PRKCD
GO:0001887~selenium compound metabolic process	3	0.372	0.01362	CTH, SEPHS2, INMT
GO:0042787~protein ubiquitination involved in ubiquitin-dependent protein catabolic process	12	1.489	0.01421	KLHL7, ARIH1, RNF115, RMND5A, SIAH1A, KEAP1, ITCH, HERC2, RNF19B, MYLIP, RNF181, HECTD1
GO:0010906~regulation of glucose metabolic process	5	0.62	0.01432	MLYCD, PDK4, RORA, IGFBP3, IGFBP4
GO:0048662~negative regulation of smooth muscle cell proliferation	6	0.744	0.01445	ANG, RALBP1, HMOX1, NPR3, IGFBP3, PIK3R1
GO:0033120~positive regulation of RNA splicing	4	0.496	0.01493	SRSF1, RBM20, ZPR1, PIK3R1
GO:0033235~positive regulation of protein sumoylation	4	0.496	0.01493	PIAS4, MUL1, ARNT, GNL3
GO:0006355~regulation of transcription, DNA-templated	108	13.4	0.01502	ZXDC, ASCC1, FOXO1, RORA, FOXO3, MAF1, EPC2, EED, TFB2M, RPRD1B, FIZ1, AKIRIN2, ARNTL, JUNB, ELL2, PIAS4, ZFP790, ZFP280D, SIX1, ZFP697, TGIF1, PRDM2, DNMTIP2, NFE2L2, MYNN, HMGB2, SETD1B, SOX4, KEAP1, ZFP617, ATF1, ARNT, NR1H2, DDX3X, TFDP2, KLF5, MAFG, KLF6, MAFF, KAT7, KLF9, TAF8, KLF10, TAF7, ZFP775, KLF15, MAFK, ZFP746, ATF4, ATF3, CDKN2AIP, CSRNP1, ZFP143, ZFP947, RERE, HP1BP3, DEDD, TAF1D, EZH1, YBX3, ZEB1, PRRX2, RLIM, DAXX, ACVR1B, BZW1, CIRH1A, ACTR8, NFIL3, MYC, SERTAD2, ATF7IP, BRF2, ARID5A, CCNL1, IRF2BP2, SPEN, LPIN1, GZF1, BTG2, FAM120B, HIPK3, ZFP869, LIN54, USP22, DPF3, TXLNG, ZFP112, ZFP113, CALCOCO1, TSC2D3, ZFP410, CHD1, TRP53INP1, HBP1, WAC, CEBPB, CEBPD, ZFP119B, ZFP119A, SAMD4, MEF2D, SON, SRFBP1, JMJD6, PHF21B, APBB3, ZFP189
GO:0071456~cellular response to hypoxia	10	1.241	0.01751	ADRB2, HP1BP3, HMOX1, RGCC, BNIP3L, RORA, FOXO3, NFE2L2, VLDLR, SLC9A1
GO:0006417~regulation of translation	11	1.365	0.0181	DDX3X, RGS2, IMPACT, MAGOH, MKNK2, EPRS, FOXO3, SAMD4, PPP1R15A, PAIP2B, DAPK1
GO:1901216~positive regulation of neuron death	5	0.62	0.01871	PICALM, GSK3B, DAXX, ZFP746, DDIT4

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0019915~lipid storage	5	0.62	0.01871	PLIN5, CD36, FITM2, ABHD4, PNPLA2
GO:0055088~lipid homeostasis	6	0.744	0.01965	ACADVL, NR1H2, ACOX1, APOE, IVD, PNPLA2
GO:0071447~cellular response to hydroperoxide	3	0.372	0.01991	CD36, TRP53INP1, PRKCD
GO:0016310~phosphorylation	35	4.342	0.01997	FGFR1, SEPHS2, PFKFB4, TBK1, PFKFB1, MKNK2, ITPKC, EPHB2, MAP3K6, ACVR1B, CLK4, PIK3CA, TLK2, PAPSS2, IP6K3, IP6K2, CSNK1A1, LIMK2, ALPK2, MAP2K3, PDK4, PIM3, PRKCD, DAPK1, ACVR2A, PLK3, MAST2, PANK1, CSNK1E, ULK1, HIPK3, GSK3B, PI4K2A, DYRK1A, NEK7
GO:0043524~negative regulation of neuron apoptotic process	13	1.613	0.0206	C5AR1, CEBPB, OPTN, GCLM, FAM134B, PSEN1, BTG2, APOE, HMOX1, AGT, SIX1, MT1, PIK3CA
GO:0000045~autophagosome assembly	6	0.744	0.02594	GABARAPL1, PSEN1, MAP1LC3B, ULK1, TRP53INP1, WIPI2
GO:0034976~response to endoplasmic reticulum stress	8	0.993	0.02646	HERPUD1, ATF4, CEBPB, NFE2L2, THBS1, PPP1R15A, BCL2L11, PIK3R1
GO:0045732~positive regulation of protein catabolic process	7	0.868	0.02709	IER3, GSK3B, TIPARP, FOXO1, ITCH, MYLIP, STX5A
GO:0071470~cellular response to osmotic stress	3	0.372	0.02717	DDX3X, SERPINB6A, PKD2
GO:0010886~positive regulation of cholesterol storage	3	0.372	0.02717	APOB, MSR1, CD36
GO:0006879~cellular iron ion homeostasis	6	0.744	0.02829	LCN2, FTL1, HMOX1, MYC, SLC40A1, MON1A
GO:0010501~RNA secondary structure unwinding	6	0.744	0.02829	DDX27, DDX56, GM8994, DDX3X, DDX24, DDX20
GO:0006882~cellular zinc ion homeostasis	4	0.496	0.02988	SLC39A14, SLC30A1, MT2, MT1
GO:0055114~oxidation-reduction process	37	4.591	0.02999	XDH, STEAP4, ACOX1, ENOX2, EGLN3, SESN1, FDFT1, GSR, CYP39A1, P4HA2, IVD, HMOX1, ETFDH, LOX, CAT, QSOX1, MTO1, BCKDHA, TXNL1, PDPR, AIFM2, AAED1, SOD3, MSRB3, ACADVL, NNT, CYP27A1, JMJD6, HSDL2, H6PD, AGMO, TXNRD1, DPYD, ALKBH2, HPGD, GLYR1, SRXN1
GO:0098609~cell-cell adhesion	14	1.737	0.03071	YWHAZ, SLC3A2, HIST2H3C2, HSPA1A, ABI1, EPS15, BZW1, UBF1, BAG3, MB21D2, PLIN3, HIST1H3D, CLINT1, EMD
GO:0009791~post-embryonic development	10	1.241	0.03137	APOB, PSEN1, CSRNP1, SIAH1A, TIPARP, PYGO1, CCDC47, BCL2L11, LLGL2, PLEKHA1
GO:0006629~lipid metabolic process	27	3.35	0.03157	SLC27A1, ACOX1, ABHD4, ECHS1, GPCPD1, FDFT1, PLIN5, APOB, SLC16A1, MTMR1, ACSL1, CYP39A1, APOE, INSIG1, STS, PNPLA2, MID1IP1, LPCAT3, LPIN1, ACADVL, PNPLA8, NPC1, NAPEPLD, HMGCS2, MLYCD, HPGD, VLDLR
GO:0006979~response to oxidative stress	11	1.365	0.03229	XPA, PSEN1, APOE, HMOX1, ETFDH, TXNRD1, CAT, GCLM, PRKCD, SRXN1, MSRB3
GO:0032776~DNA methylation on cytosine	5	0.62	0.033	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, H3F3B, HIST1H3F

表9. メスのGR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0015031~protein transport	33	4.094	0.03329	SNAP29, ARFGAP1, SEC24A, AP4E1, AP1G1, VPS54, SNX2, TIMM10, VPS37A, CCDC91, VPS33A, COPB2, AP2B1, TBC1D17, LSG1, RHOB, VPS16, PEX12, PIK3R1, NMD3, RHBDF2, SEC23A, GCC2, EPS15, AAAS, NUP62, PSEN1, RAB18, IPO7, BET1L, RAB12, SLC15A4, MON1A
GO:0033539~fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase	4	0.496	0.0345	ACADVL, ACOX1, IVD, ETFDH
GO:0042176~regulation of protein catabolic process	4	0.496	0.0345	ODC1, PPP2CA, PSMD2, ARNTL
GO:0010628~positive regulation of gene expression	24	2.978	0.03472	MAFG, HMGB2, MUSTN1, HNRNPU, CALCOCO1, NR1H2, LCN2, DDX58, ACVR1B, ATF4, APOB, ATF3, DDX3X, ANK3, AGT, GSK3B, RGCC, PKD2, TRP53INP1, ZPR1, NFE2L2, NFIL3, PPP1R15A, PIK3R1
GO:0033081~regulation of T cell differentiation in thymus	3	0.372	0.03532	CLPTM1, ADRM1, ZEB1
GO:0050687~negative regulation of defense response to virus	3	0.372	0.03532	HTRA1, ITCH, PPM1B
GO:0045815~positive regulation of gene expression, epigenetic	5	0.62	0.03645	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, H3F3B, HIST1H3F
GO:0021510~spinal cord development	5	0.62	0.03645	BAG3, PKD2, EED, SOX4, ZPR1
GO:0030301~cholesterol transport	4	0.496	0.03946	NPC1, APOB, MSR1, CD36
GO:0031333~negative regulation of protein complex assembly	4	0.496	0.03946	DDX3X, ULK1, IMPACT, GSK3B
GO:0008202~steroid metabolic process	8	0.993	0.04236	NPC1, STS, APOB, CYP39A1, HMGCS2, INSIG1, VLDLR, FDFT1
GO:0045648~positive regulation of erythrocyte differentiation	4	0.496	0.04476	ACVR2A, ACVR1B, HMGB2, FOXO3
GO:0006986~response to unfolded protein	6	0.744	0.0452	HERPUD1, CHAC1, FAF2, HSPA1A, THBS1, EDEM1
GO:0071346~cellular response to interferon-gamma	7	0.868	0.04599	GBP8, GBP6, GBP10, EPRS, MYC, CCL6, DAPK1
GO:0071364~cellular response to epidermal growth factor stimulus	5	0.62	0.048	ZFP36, ZPR1, MYC, ERFFI1, PTPN12
GO:0048008~platelet-derived growth factor receptor signaling pathway	5	0.62	0.048	ZFAND5, CSRNP1, TIPARP, PDGFD, PLEKHA1
GO:0010629~negative regulation of gene expression	17	2.109	0.04986	XDH, FGFR1, HMGB2, TBK1, TIPARP, KEAP1, NOCT, NR1H2, ACVR1B, CDKN1A, CD36, PICALM, TGFB3, TGIF1, TRP53INP1, MYC, AKIRIN2

表10. メス特異的GR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	24	5.674	4.16E-07	ZFP346, ZFP622, AIFM2, HIP1R, EEF1A2, FOXO3, DAXX, PRKCD, BCL2L11, CTNBL1, PSEN1, PPP2CA, SIAH1A, BNIP3L, GADD45G, RHOB, TRP53INP1, AATF, DDX20, FAS, NSMAF, IP6K2, CYR61, NET1
GO:0006915~apoptotic process	29	6.856	1.68E-05	HIP1R, DEDD, FOXO3, DAXX, CTNBL1, ECE1, BAG3, RHOB, TRP53INP1, FAS, BCL7B, C5AR1, CHAC1, MUL1, PIM3, PRKCD, BCL2L11, TAX1BP1, DAPK1, MEF2D, PLK3, ZDHHC16, PSEN1, CSRNP1, SIAH1A, BNIP3L, SIX1, GADD45G, PEG3
GO:0008625~extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors	7	1.655	6.72E-05	PCID2, O610009O20RIK, DEDD, BAG3, FAS, PIK3R1, DAPK1
GO:0001649~osteoblast differentiation	10	2.364	5.05E-04	MEF2D, DNAJC13, PENK, TGFBR3, RBMXL1, H3F3B, CAT, JUNB, HNRNPU, CYR61
GO:0048705~skeletal system morphogenesis	7	1.655	7.73E-04	ZFAND5, PSEN1, CSRNP1, TIPARP, SIX1, PLEKHA1, IDUA
GO:0035914~skeletal muscle cell differentiation	7	1.655	8.53E-04	KLF5, MEF2D, ATF3, LEMD2, ANKRD2, KLHL41, EMD
GO:0060968~regulation of gene silencing	4	0.946	0.00205	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3F
GO:0000122~negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	28	6.619	0.0021	FGFR1, YBX3, ANKRD2, HIST2H3C2, FOXO3, ZEB1, DAXX, NR1H2, TSC22D3, PPP2CA, EED, DDX20, MEPCE, ZFP36, KLF5, IRF2BP2, SPEN, ZFP746, JUNB, PLK3, ATF3, PIAS4, PSEN1, SIX1, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3F, PEG3
GO:0033235~positive regulation of protein sumoylation	4	0.946	0.00258	PIAS4, MUL1, ARNT, GNL3
GO:0006986~response to unfolded protein	6	1.418	0.0037	HERPUD1, CHAC1, FAF2, HSPA1A, THBS1, EDEM1
GO:0032776~DNA methylation on cytosine	5	1.182	0.00387	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, H3F3B, HIST1H3F
GO:0008380~RNA splicing	13	3.073	0.004	USB1, SRSF1, MAGOH, XAB2, HNRNPU, SON, SNRNP48, GM8994, JMJD6, RBMXL1, ZPR1, PABPC1, DDX20
GO:0045815~positive regulation of gene expression, epigenetic	5	1.182	0.00433	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, H3F3B, HIST1H3F
GO:0098792~xenophagy	8	1.891	0.00509	DPF3, RBM18, HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, OPTN, ZFP189, HIST1H3F
GO:0048008~platelet-derived growth factor receptor signaling pathway	5	1.182	0.00595	ZFAND5, CSRNP1, TIPARP, PDGFD, PLEKHA1
GO:0007623~circadian rhythm	8	1.891	0.00658	ATF4, KLF9, CSNK1E, KLF10, DYRK1A, UBC, FAS, DPYD
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	33	7.801	0.00725	FGFR1, HMGB2, TBK1, ZEB1, FOXO3, DAXX, ARNT, NR1H2, PKD2, AATF, RPRD1B, PIK3R1, CYR61, ZFP384, KLF5, KLF6, ZBTB7C, KLF9, ARID5A, CCNL1, ZFP746, CSRP3, JUNB, DDX58, MEF2D, ATF4, ATF3, CSRNP1, SIX1, ZFP143, PYGO1, RBMXL1, PEG3
GO:0042147~retrograde transport, endosome to Golgi	6	1.418	0.00796	WASH1, VPS54, SNX2, BET1L, STX5A, RIC1
GO:0042254~ribosome biogenesis	7	1.655	0.00962	KRR1, GAR1, MPHOSPH10, LSG1, RRS1, AATF, GNL3

表10. メス特異的GR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0097192~extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	5	1.182	0.01027	BAG3, FAS, FOXO3, BCL2L11, DAPK1
GO:0033081~regulation of T cell differentiation in thymus	3	0.709	0.01066	CLPTM1, ADRM1, ZEB1
GO:0043066~negative regulation of apoptotic process	21	4.965	0.01231	PCID2, HIP1R, YBX3, PIM3, CTNNA1, DAXX, TAX1BP1, DAPK1, SON, PLK3, PSEN1, UCP2, BNIP3L, SIX1, AATF, CAT, FAS, THBS1, PIK3R1, DPEP1, CYR61
GO:0042474~middle ear morphogenesis	4	0.946	0.01233	FGFR1, SIX1, INSIG1, PRRX2
GO:0002230~positive regulation of defense response to virus by host	8	1.891	0.01244	DDX58, DPF3, RBM18, HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, ZFP189, HIST1H3F
GO:0098609~cell-cell adhesion	10	2.364	0.01557	YWHAZ, UBED1, BAG3, PLIN3, SLC3A2, HIST2H3C2, HSPA1A, ABI1, HIST1H3D, EMD
GO:0043280~positive regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	5	1.182	0.01625	PPP2CA, FAS, BCL2L11, DAPK1, CYR61
GO:0071902~positive regulation of protein serine/threonine kinase activity	4	0.946	0.01703	SLC27A1, ACSL1, PPP2CA, CAB39
GO:0034198~cellular response to amino acid starvation	4	0.946	0.01703	ATF4, SLC38A2, ATF3, UCP2
GO:0001822~kidney development	8	1.891	0.01713	JMJD6, AGT, TIPARP, SIX1, PKD2, PYGO1, CAT, BCL2L11
GO:0015031~protein transport	21	4.965	0.01908	SNAP29, SEC23A, RHBDF2, ARFGAP1, SEC24A, AP1G1, VPS54, TIMM10, SNX2, COPB2, AP2B1, AAAS, PSEN1, RAB18, LSG1, BET1L, RHOB, RAB12, VPS16, PIK3R1, MON1A
GO:0018105~peptidyl-serine phosphorylation	8	1.891	0.01917	CSNK1A1, MAST2, TBK1, CSNK1E, DYRK1A, TLK2, CAB39, PRKCD
GO:0006979~response to oxidative stress	8	1.891	0.01917	XPA, PSEN1, APOE, ETFDH, TXNRD1, CAT, PRKCD, MSRB3
GO:0043410~positive regulation of MAPK cascade	7	1.655	0.01956	FGFR1, ZFP622, AGT, LEPR, FAS, PRKCD, IGFBP4
GO:0000183~chromatin silencing at rDNA	5	1.182	0.02551	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, H3F3B, HIST1H3F
GO:0006810~transport	50	11.82	0.02616	SRSF1, STEAP4, SLC27A1, SEC24A, AP1G1, VPS54, PITPNB, COPB2, AP2B1, STARD5, DIRC2, SLC2A3, APOE, SLC2A1, LRRC52, ATP8B2, RHOB, VPS16, SLC1A1, SEC23A, TRPM8, RALBP1, MAGOH, SLC3A2, SLC25A30, TMEM106B, AAAS, NDEL1, RAB18, SLC25A36, RAB12, STX5A, ARFGAP1, SNAP29, SLC38A4, SLC38A2, WASH1, TIMM10, SNX2, SYNPR, OSBPL1A, PLIN3, LSG1, PKD2, ETFDH, PIK3R1, RHBDF2, SLC10A6, UCP2, BET1L
GO:0044342~type B pancreatic cell proliferation	3	0.709	0.02778	NOV, SIDT2, IGFBP4
GO:0010832~negative regulation of myotube differentiation	3	0.709	0.02778	NOV, ANKRD2, DAXX
GO:0070301~cellular response to hydrogen peroxide	5	1.182	0.02864	RHOB, PDGFD, PRKCD, NET1, PLEKHA1
GO:0021510~spinal cord development	4	0.946	0.02906	BAG3, PKD2, EED, ZPR1

表10. メス特異的GR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

	Count	%	PValue	Genes
GO:0006335~DNA replication-dependent nucleosome assembly	4	0.946	0.02906	HIST2H3C2, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3F
GO:0009791~post-embryonic development	7	1.655	0.02911	PSEN1, CSRNP1, SIAH1A, TIPARP, PYGO1, BCL2L11, PLEKHA1
GO:0060021~palate development	6	1.418	0.02967	CSRNP1, TIPARP, INSIG1, TGFBR3, EPHB2, PLEKHA1
GO:0001558~regulation of cell growth	5	1.182	0.03028	NOV, SOCS2, HTRA1, IGFBP4, CYR61
GO:0045723~positive regulation of fatty acid biosynthetic process	3	0.709	0.03198	NR1H2, AGT, MID1IP1
GO:0033120~positive regulation of RNA splicing	3	0.709	0.03198	SRSF1, ZPR1, PIK3R1
GO:0006397~mRNA processing	13	3.073	0.03286	USB1, SRSF1, MAGOH, XAB2, HNRNPU, SNRNP48, SON, JMJD6, GPATCH1, RBMXL1, PABPC1, DDX20, ZPR1
GO:0016567~protein ubiquitination	14	3.31	0.03506	ANAPC16, SOCS2, SIAH1A, FBXO30, MUL1, KEAP1, KLHL41, HERC2, RNF19B, MYLIP, CHFR, TRIM23, ASB15, ASB6
GO:0071364~cellular response to epidermal growth factor stimulus	4	0.946	0.03639	ZFP36, ZPR1, ERFFI1, PTPN12
GO:2001241~positive regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	3	0.709	0.03642	PPP2R1A, FAS, CTNNA1
GO:0007263~nitric oxide mediated signal transduction	3	0.709	0.03642	APOE, MT2, RASD1
GO:0034389~lipid particle organization	3	0.709	0.03642	RAB18, FITM2, FAF2
GO:0031648~protein destabilization	4	0.946	0.03902	SIAH1A, MUL1, MYLIP, CHFR
GO:0031396~regulation of protein ubiquitination	3	0.709	0.04107	HERPUD1, WASH1, DAXX
GO:0048662~negative regulation of smooth muscle cell proliferation	4	0.946	0.04174	ANG, RALBP1, NPR3, PIK3R1
GO:0030308~negative regulation of cell growth	7	1.655	0.04268	NOV, AGT, CDKN2AIP, MUL1, DNAJB2, HSPA1A, IP6K2
GO:0032436~positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process	5	1.182	0.04333	CSNK1A1, PSEN1, CSNK1E, RNF19B, CHFR
GO:0022008~neurogenesis	5	1.182	0.04333	PSEN1, CHAC1, SIX1, LEMD2, TACC2
GO:0006641~triglyceride metabolic process	4	0.946	0.04456	ACSL1, APOE, INSIG1, CAT
GO:0050732~negative regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	3	0.709	0.04593	PECAM1, PRKCD, ERFFI1
GO:0030837~negative regulation of actin filament polymerization	3	0.709	0.04593	HIP1R, PECAM1, PRKCD

表10. メス特異的GR標的遺伝子（1.5倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0009409~response to cold	4	0.946	0.04747	ACADVL, SLC27A1, TRPM8, AGT
GO:0051898~negative regulation of protein kinase B signaling	4	0.946	0.04747	XDH, LEMD2, MUL1, PLEKHA1
GO:0045893~positive regulation of transcription, DNA-templated	19	4.492	0.04763	KLF5, HMGB2, PCID2, MAP2K3, ZXDC, FOXO3, AFF1, SPEN, ARNT, NR1H2, MEF2D, ATF4, PSEN1, AGT, SIX1, TFB2M, TRP53INP1, AATF, MAPRE3
GO:0006886~intracellular protein transport	10	2.364	0.04855	SEC23A, COPB2, AP2B1, SEC24A, AP1G1, SNX2, RHOB, VPS16, STX5A, RIC1
GO:0006974~cellular response to DNA damage stimulus	15	3.546	0.04932	RAD23B, APEX2, USP1, EME1, HERC2, XAB2, MCM9, XPA, EPC2, PLK3, PSEN1, CDKN2AIP, AATF, TLK2, ALKBH2

表11. オスのGR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0071549~cellular response to dexamethasone stimulus	4	2.703	0.00179	FOXO1, FBXO32, TRIM63, DDIT4
GO:0072593~reactive oxygen species metabolic process	4	2.703	0.00193	PDK4, BNIP3, SESN1, DDIT4
GO:0006914~autophagy	6	4.054	0.00239	FAM134B, NPC1, MAP1LC3B, ULK1, FOXO1, UBQLN2
GO:0006865~amino acid transport	4	2.703	0.00258	SLC7A2, MYC, SLC43A1, SLC7A6
GO:0010614~negative regulation of cardiac muscle hypertrophy	3	2.027	0.00267	RGS2, FBXO32, TRIM63
GO:0006974~cellular response to DNA damage stimulus	9	6.081	0.0063	USP7, CDKN1A, USP3, BTG2, EGLN3, FBXO31, FOXO1, MYC, GADD45A
GO:0007049~cell cycle	11	7.432	0.00692	WAPL, PARD6B, CDKN1A, USP3, RGS2, ZWINT, TFDP2, FBXO31, GADD45A, MLF1, LLGL2
GO:0009267~cellular response to starvation	4	2.703	0.00707	GLUL, PDK4, FOXO1, ZFYVE1
GO:0048146~positive regulation of fibroblast proliferation	4	2.703	0.00882	WAPL, CDKN1A, TGIF1, MYC
GO:0043066~negative regulation of apoptotic process	10	6.757	0.01186	C87499, CDKN1A, BTG2, HIPK3, FOXO1, BNIP3, APBB3, PRAMEF8, SLC40A1, SLC9A1
GO:0060548~negative regulation of cell death	4	2.703	0.01546	NPC1, SOX4, BNIP3, MYC
GO:0007050~cell cycle arrest	4	2.703	0.01598	CDKN1A, MYC, GADD45A, MLF1
GO:0050873~brown fat cell differentiation	3	2.027	0.02068	ADRB2, RGS2, BNIP3
GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	7	4.73	0.02262	USP7, ADRB2, SOX4, FOXO1, BNIP3, GADD45A, SLC9A1
GO:0044752~response to human chorionic gonadotropin	2	1.351	0.02585	MYC, GCLM
GO:0016567~protein ubiquitination	7	4.73	0.03143	KLHL7, KLHL38, UBE4A, DCAF10, ASB11, FBXO32, FBXL3
GO:0014878~response to electrical stimulus involved in regulation of muscle adaptation	2	1.351	0.03221	FBXO32, TRIM63
GO:0001666~response to hypoxia	5	3.378	0.03714	ACOT2, EGLN3, SOX4, BNIP3, DDIT4
GO:0007265~Ras protein signal transduction	3	2.027	0.03772	CNKSRI, CDKN1A, ULK1
GO:0032024~positive regulation of insulin secretion	3	2.027	0.04221	GLUL, SOX4, DOC2B

表12. オス特異的GR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0035264~multicellular organism growth	3	8.571	0.01376	SLC12A2, PDE4D, LLGL2
GO:0008380~RNA splicing	3	8.571	0.04991	SCAF11, TRA2B, RBM25

表13. メスのGR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	21	7.527	1.42E-08	ZFP346, HIP1R, EEF1A2, FOXO1, SOX4, OSGIN1, FOXO3, BCL2L11, ADRB2, PSEN1, DDX3X, GSK3B, SIAH1A, HMOX1, GADD45G, DDX20, IGFBP3, GADD45A, SLC9A1, NET1, CYR61
GO:0034198~cellular response to amino acid starvation	7	2.509	1.01E-06	CDKN1A, ATF4, SLC38A2, ATF3, ULK1, UCP2, IMPACT
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	30	10.75	3.40E-05	FOXO1, SOX4, NUFIP1, FOXO3, JAG1, RORA, CALCOCO1, ARNT, DDX3X, IFRD1, MYC, AKIRIN2, CYR61, CEBPD, TAF7, CCNL1, KLF15, ARNTL, LPIN1, CSRP3, JUNB, ADRB2, ATF4, ATF3, GSK3B, CSRNP1, NFE2L2, SLC40A1, SLC9A1, PEG3
GO:0016567~protein ubiquitination	16	5.735	7.53E-05	ANAPC16, KLHL38, RNF114, CRBN, UBE4A, SIAH1A, FBXO30, ASB11, FBXO32, NFE2L2, TRIM23, RNF181, ASB5, ASB15, FBXL3, HECTD1
GO:0071549~cellular response to dexamethasone stimulus	6	2.151	1.06E-04	MSTN, FOXO1, FBXO32, TRIM63, ERRF1, DDIT4
GO:0032869~cellular response to insulin stimulus	8	2.867	1.41E-04	SORBS1, SLC25A33, UCP2, FOXO1, MYC, LPIN1, ERRF1, SLC9A1
GO:0010614~negative regulation of cardiac muscle hypertrophy	4	1.434	4.26E-04	RGS2, GSK3B, FBXO32, TRIM63
GO:0000122~negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	22	7.885	5.08E-04	ZFP36, USP3, HIST1H1C, IMPACT, TAF7, HIST2H3C2, FOXO3, LPIN1, JUNB, GZF1, SORBS3, ATF3, PSEN1, BTG2, HIPK3, TGIF1, DDX20, HIST1H3F, NFIL3, MYC, AKIRIN2, PEG3
GO:0006914~autophagy	9	3.226	5.14E-04	FAM134B, GABARAPL1, NPC1, TBC1D17, PSEN1, MAP1LC3B, ULK1, FOXO1, UBQLN2
GO:0006357~regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	15	5.376	6.67E-04	MAFG, ZFP36, MAFF, HIST1H1C, CEBPD, TAF7, FOXO1, FOXO3, MAFK, LPIN1, JUNB, EPC2, ATF4, ATF3, TFDP2
GO:0048511~rhythmic process	8	2.867	0.00136	ATF4, ENOX2, GSK3B, RORA, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0006351~transcription, DNA-templated	40	14.34	0.00198	DPF3, SETD1B, ASCC1, FOXO1, SOX4, RORA, FOXO3, CALCOCO1, ARNT, EPC2, DDX3X, TFDP2, ZFP410, HBP1, CIRH1A, NFIL3, MYC, AKIRIN2, MAFG, MAFF, CEBPD, TAF8, TAF7, CCNL1, KLF15, ARNTL, MAFK, LPIN1, JUNB, GZF1, ATF4, ATF3, BTG2, SRFBP1, CSRNP1, HIPK3, TGIF1, USP22, NFE2L2, PEG3
GO:0031333~negative regulation of protein complex assembly	4	1.434	0.00205	DDX3X, ULK1, IMPACT, GSK3B
GO:0006865~amino acid transport	5	1.792	0.00205	SLC38A2, SLC7A2, MYC, SLC43A1, SLC7A6
GO:0007623~circadian rhythm	7	2.509	0.00275	ATF4, GSK3B, RORA, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0043066~negative regulation of apoptotic process	17	6.093	0.00283	HIP1R, FOXO1, PIM3, ANKLE2, C87499, CDKN1A, PSEN1, BTG2, DDX3X, UCP2, GSK3B, HIPK3, APBB3, THBS1, SLC40A1, SLC9A1, CYR61
GO:0043161~proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process	8	2.867	0.00322	RNF115, CRBN, SIAH1A, NFE2L2, ARNTL, RNF181, TRIM63, FBXL3
GO:0045599~negative regulation of fat cell differentiation	5	1.792	0.00335	INSIG1, FOXO1, RORA, ARNTL, JAG1
GO:0060548~negative regulation of cell death	6	2.151	0.00374	NOV, NPC1, IMPACT, SOX4, NFE2L2, MYC

表13. メスのGR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0071243~cellular response to arsenic-containing substance	3	1.075	0.00561	DDX3X, ZFAND2A, HMOX1
GO:0070301~cellular response to hydrogen peroxide	5	1.792	0.00622	OSER1, IMPACT, FOXO1, NFE2L2, NET1
GO:0006915~apoptotic process	16	5.735	0.00711	HIP1R, EGLN3, FOXO1, PIM3, FOXO3, BCL2L11, DDIT4, PSEN1, DDX3X, HIPK3, CSRNP1, HMOX1, SIAH1A, GADD45G, PPP1R15A, PEG3
GO:2000379~positive regulation of reactive oxygen species metabolic process	4	1.434	0.00728	CDKN1A, NFE2L2, THBS1, GADD45A
GO:0002260~lymphocyte homeostasis	3	1.075	0.01002	SPNS2, SLC40A1, BCL2L11
GO:0006355~regulation of transcription, DNA-templated	43	15.41	0.01035	DPF3, SETD1B, ASCC1, FOXO1, SOX4, RORA, FOXO3, ZFP113, CALCOCO1, ARNT, EPC2, DDX3X, TFDP2, ZFP410, HBP1, CIRH1A, NFIL3, MYC, AKIRIN2, MAFG, MAFF, CEBPD, TAF8, TAF7, CCNL1, KLF15, ARNTL, MAFK, LPIN1, JUNB, GZF1, ATF4, ATF3, BTG2, SRFBP1, CSRNP1, HIPK3, ZFP790, TGIF1, PRDM2, USP22, NFE2L2, APBB3
GO:0098792~xenophagy	6	2.151	0.01073	DPF3, PDK4, HIST2H3C2, MSTN, ITPKC, HIST1H3F
GO:0071456~cellular response to hypoxia	6	2.151	0.01073	ADRB2, HMOX1, RORA, FOXO3, NFE2L2, SLC9A1
GO:0001666~response to hypoxia	8	2.867	0.01239	UCP2, HMOX1, ACOT2, EGLN3, SOX4, TGFBR3, ARNT, DDIT4
GO:0072593~reactive oxygen species metabolic process	4	1.434	0.01279	PDK4, SESN1, CYR61, DDIT4
GO:0071333~cellular response to glucose stimulus	5	1.792	0.01332	UCP2, SOX4, PIK3CA, FOXO3, GCLM
GO:0007049~cell cycle	16	5.735	0.01365	ANAPC16, USP3, PIM3, ANKLE2, MAP10, CDKN1A, RGS2, PTP4A1, ZWINT, SIAH1A, TFDP2, FBXO31, USP22, CTDTP1, GADD45A, MTUS1
GO:0035556~intracellular signal transduction	12	4.301	0.01477	ZFP36, MAST2, SPSB1, DDX3X, PSEN1, GSK3B, HMOX1, TGFBR3, ASB11, ASB5, ASB15, NET1
GO:0034976~response to endoplasmic reticulum stress	5	1.792	0.01674	ATF4, NFE2L2, THBS1, PPP1R15A, BCL2L11
GO:0045893~positive regulation of transcription, DNA-templated	15	5.376	0.01752	TAF8, SOX4, FOXO1, MSTN, KLF15, ARNTL, RORA, FOXO3, CALCOCO1, ARNT, ATF4, PSEN1, USP22, NFE2L2, MYC
GO:0043524~negative regulation of neuron apoptotic process	7	2.509	0.01769	FAM134B, BTG2, PSEN1, HMOX1, MT1, PIK3CA, GCLM
GO:0000045~autophagosome assembly	4	1.434	0.01898	GABARAPL1, PSEN1, MAP1LC3B, ULK1
GO:0010501~RNA secondary structure unwinding	4	1.434	0.02014	DDX56, DDX3X, DDX24, DDX20
GO:0002230~positive regulation of defense response to virus by host	6	2.151	0.02092	DPF3, PDK4, HIST2H3C2, MSTN, ITPKC, HIST1H3F
GO:0006882~cellular zinc ion homeostasis	3	1.075	0.02208	SLC39A14, MT2, MT1

表13. メスのGR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0043280~positive regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	4	1.434	0.02387	DDX3X, MYC, BCL2L11, CYR61
GO:0035914~skeletal muscle cell differentiation	4	1.434	0.03393	MAFF, ATF3, BTG2, MYC
GO:0002026~regulation of the force of heart contraction	3	1.075	0.03502	GAA, CSRP3, SLC9A1
GO:0010575~positive regulation of vascular endothelial growth factor production	3	1.075	0.03788	ATF4, RORA, ARNT
GO:0045604~regulation of epidermal cell differentiation	2	0.717	0.03816	MAFG, MAFF
GO:0034395~regulation of transcription from RNA polymerase II promoter in response to iron	2	0.717	0.03816	HMOX1, SLC40A1
GO:0002086~diaphragm contraction	2	0.717	0.03816	ADRB2, GAA
GO:0036499~PERK-mediated unfolded protein response	2	0.717	0.03816	ATF4, NFE2L2
GO:0044337~canonical Wnt signaling pathway involved in positive regulation of apoptotic process	2	0.717	0.03816	GSK3B, MYC
GO:0010906~regulation of glucose metabolic process	3	1.075	0.04084	PDK4, RORA, IGFBP3
GO:0097150~neuronal stem cell population maintenance	3	1.075	0.04084	FOXO1, FOXO3, JAG1
GO:0009267~cellular response to starvation	4	1.434	0.04226	GLUL, PDK4, FOXO1, ZFYVE1
GO:0032922~circadian regulation of gene expression	4	1.434	0.04404	ATF4, RORA, ARNTL, NOCT
GO:0010468~regulation of gene expression	9	3.226	0.04675	NOV, DDX3X, ULK1, PIK3CA, KLF15, STAB2, TRIM63, MYC, PEG3
GO:0034599~cellular response to oxidative stress	4	1.434	0.0477	FOXO1, FOXO3, NFE2L2, SRXN1
GO:0006511~ubiquitin-dependent protein catabolic process	6	2.151	0.04934	USP3, UBE4A, UBE2G1, SIAH1A, FBXO32, USP22

表14. メス特異的GR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	16	9.639	6.23E-08	ZFP346, HIP1R, EEF1A2, OSGIN1, FOXO3, BCL2L11, PSEN1, DDX3X, GSK3B, HMOX1, SIAH1A, GADD45G, DDX20, IGFBP3, NET1, CYR61
GO:0034198~cellular response to amino acid starvation	5	3.012	5.56E-05	ATF4, SLC38A2, ATF3, UCP2, IMPACT
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	21	12.65	1.01E-04	TAF7, CCNL1, NUFIP1, KLF15, FOXO3, ARNTL, RORA, CSRP3, LPIN1, JUNB, ARNT, ATF4, ATF3, DDX3X, GSK3B, CSRNP1, NFE2L2, IFRD1, AKIRIN2, PEG3, CYR61
GO:0016567~protein ubiquitination	11	6.627	5.85E-04	ANAPC16, RNF114, CRBN, SIAH1A, FBXO30, NFE2L2, TRIM23, RNF181, ASB5, ASB15, HECTD1
GO:0035556~intracellular signal transduction	11	6.627	0.00125	ZFP36, MAST2, SPSB1, DDX3X, PSEN1, GSK3B, HMOX1, TGFB3, ASB5, ASB15, NET1
GO:0000122~negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	15	9.036	0.00181	ZFP36, HIST1H1C, IMPACT, TAF7, HIST2H3C2, FOXO3, LPIN1, JUNB, SORBS3, ATF3, PSEN1, DDX20, HIST1H3F, AKIRIN2, PEG3
GO:0006357~regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	10	6.024	0.00417	ZFP36, MAFG, EPC2, ATF4, ATF3, HIST1H1C, TAF7, FOXO3, LPIN1, JUNB
GO:0032869~cellular response to insulin stimulus	5	3.012	0.00511	SORBS1, SLC25A33, UCP2, LPIN1, ERRF1
GO:0010501~RNA secondary structure unwinding	4	2.41	0.00529	DDX56, DDX3X, DDX24, DDX20
GO:0043161~proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process	6	3.614	0.00647	RNF115, CRBN, SIAH1A, NFE2L2, ARNTL, RNF181
GO:0006882~cellular zinc ion homeostasis	3	1.807	0.00863	SLC39A14, MT2, MT1
GO:0098792~xenophagy	5	3.012	0.00885	DPF3, HIST2H3C2, MSTN, ITPKC, HIST1H3F
GO:0031333~negative regulation of protein complex assembly	3	1.807	0.01061	DDX3X, IMPACT, GSK3B
GO:0006351~transcription, DNA-templated	25	15.06	0.01178	DPF3, ASCC1, RORA, FOXO3, ARNT, EPC2, DDX3X, ZFP410, HBP1, CIRH1A, AKIRIN2, MAFG, TAF8, TAF7, CCNL1, KLF15, ARNTL, LPIN1, JUNB, ATF4, ATF3, CSRNP1, NFE2L2, USP22, PEG3
GO:0006915~apoptotic process	11	6.627	0.01458	DDX3X, PSEN1, HIP1R, CSRNP1, HMOX1, SIAH1A, GADD45G, PIM3, FOXO3, BCL2L11, PEG3
GO:0010575~positive regulation of vascular endothelial growth factor production	3	1.807	0.01509	ATF4, RORA, ARNT
GO:0045893~positive regulation of transcription, DNA-templated	11	6.627	0.01557	ATF4, PSEN1, TAF8, MSTN, KLF15, RORA, USP22, FOXO3, NFE2L2, ARNTL, ARNT
GO:0002230~positive regulation of defense response to virus by host	5	3.012	0.01569	DPF3, HIST2H3C2, MSTN, ITPKC, HIST1H3F
GO:0043525~positive regulation of neuron apoptotic process	4	2.41	0.01704	ATF4, GSK3B, FOXO3, BCL2L11
GO:0034976~response to endoplasmic reticulum stress	4	2.41	0.02198	ATF4, NFE2L2, THBS1, BCL2L11

表14. メス特異的GR標的遺伝子（2倍以上誘導）のGO解析（Biological Process）

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0042149~cellular response to glucose starvation	3	1.807	0.02307	ATF4, IMPACT, NFE2L2
GO:0036499~PERK-mediated unfolded protein response	2	1.205	0.02338	ATF4, NFE2L2
GO:0010273~detoxification of copper ion	2	1.205	0.03105	MT2, MT1
GO:0070534~protein K63-linked ubiquitination	3	1.807	0.03581	RNF115, UBE2G1, HECTD1
GO:0036091~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter in response to oxidative stress	2	1.205	0.03866	ATF4, NFE2L2
GO:0097192~extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	3	1.807	0.04298	GSK3B, FOXO3, BCL2L11
GO:1901030~positive regulation of mitochondrial outer membrane permeabilization involved in apoptotic signaling pathway	2	1.205	0.04621	HIP1R, GSK3B
GO:0071456~cellular response to hypoxia	4	2.41	0.04753	HMOX1, RORA, FOXO3, NFE2L2

補足表1. 本研究に使用したプライマー

A. qRT-PCR用プライマー

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
36B4	actggtctaggaccgagaag	ctgacctgttccaccctc
β -actin	aaggccaaccgtgaaaagat	catacggagaccagcatggtg
GR	tgacgtgtggaagctgtaaagt	tggaaacacgaccttctttac
Esr1	caactgggcaaagagagtgc	actactaaccagagcagacc
AR	ccagtccecaattgtgtcaaa	gcaaacctgtcatggtccct
REDD1	ccagagaagagggccttga	ttctgaggagtatggacctacc
Atrogin-1	agtgaggaccggctactgtg	tctaagcgttcgcaaactag
MuRF1	cctgcagagtgaccaagga	tcaaactgtgggagatgcgg
FoxO1	cttcaaggataaggcgaca	agttaagcgggttagacag
FoxO3	gctaagcaggcctcatctca	tctgggagtttgactgcctt
KLF15	acaggcgagaagcccttt	tccaaaagggcgagtctac
FKBP5	aaacgaaggagcaacggtaa	acaccaccttctgtaaact
Bnip3	cctgtcgcagttgggttc	gaggacctcttgacgtgaag
LC3	catgagcagttggtcaaga	agttggtcgtgtcgtacc

B. Genotyping用プライマー

Name	Sequence of primer (5'-3')
Cre1	aaatactctgagtccaaccgggcccc
Cre2	cagtgcgttcgaacgctagagcctgtt
G1	ggcatgcacaattacggccttct
G8	ccttctcattccatgtcagcatgt
Era flox1	ttgcccgataacaataacat
Era flox2	attgtcttttctgacac
AR P1	aagtgaatggctcttggc
AR P2	ttacaggtctggtgcaagcc

補足表2. GRmKOにより飢餓時の変動が雌雄とも消失した遺伝子のGO解析 (Biological Process)

Term	Count	%	PValue	Genes
GO:0051782~negative regulation of cell division	4	0.871	3.00E-04	TXNIP, SUSD2, MYC, INTU
GO:0007623~circadian rhythm	10	2.179	4.48E-04	TYMS, MAT2A, DBP, KLF10, ID4, BHLHE40, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0009267~cellular response to starvation	7	1.525	0.00157	CTSL, GLUL, ALB, KLF10, PDK4, FOXO1, ZFYVE1
GO:0007265~Ras protein signal transduction	6	1.307	0.00293	CNKR1, CDKN1A, RASGRP3, ULK1, DNMT1, RIT1
GO:0097421~liver regeneration	5	1.089	0.00298	TYMS, HMOX1, RGN, AURKA, MYC
GO:0050830~defense response to Gram-positive bacterium	8	1.743	0.0034	SPACA3, HMGB2, GBP6, CD36, CARD9, NOD1, TBK1, GBP10
GO:0048511~rhythmic process	9	1.961	0.00559	ENOX2, USP2, DBP, KLF10, BHLHE40, ARNTL, NFIL3, FBXL3, NOCT
GO:0002931~response to ischemia	5	1.089	0.00659	MEF2C, MAP3K5, MLYCD, BCL2, CAMK2A
GO:0070301~cellular response to hydrogen peroxide	6	1.307	0.00676	OSER1, MAP3K5, IMPACT, FOXO1, FABP1, CBX8
GO:0006914~autophagy	9	1.961	0.01022	FAM134B, GABARAPL1, NPC1, MAP1LC3B, ULK1, PHF23, FOXO1, UBQLN2, STBD1
GO:0006807~nitrogen compound metabolic process	4	0.871	0.01047	GLUL, VNN1, CAD, VNN3
GO:0016239~positive regulation of macroautophagy	4	0.871	0.01185	ULK1, HMOX1, TRIM13, SCOC
GO:0000165~MAPK cascade	6	1.307	0.01481	MEF2C, MAP3K5, IL18, TAOK3, PPM1L, MYC
GO:0046330~positive regulation of JNK cascade	6	1.307	0.01569	MAP3K5, CARD9, NOD1, TAOK3, EDA2R, GADD45B
GO:0008283~cell proliferation	11	2.397	0.01803	FAM83D, GLUL, SBDS, BCL2, NASP, ID4, TXNRD1, LIG4, MYC, GNL3, DDIT4
GO:0006355~regulation of transcription, DNA-templated	63	13.73	0.01818	MEF2C, TAF1D, FOXO1, TCEAL7, FOXO3, CBX8, CITED4, GM15446, FUBP1, ZFP472, ZFP933, ZFP932, BARX2, NOBOX, LOXL2, NFIL3, MKL1, MYC, GABPB2, RXRG, ARNTL, GZF1, HOXC10, KDM2B, BTG2, ZFP790, HIPK3, ZFP869, ZFP558, TGIF1, SCML4, ZFP418, HMGB2, ZFP612, SETD1B, TXLNG, GON4L, ZFP112, CALCOCO1, ZSCAN21, 2410141K09RIK, TFDP2, ZSCAN26, ZFP292, BHLHE40, MLLT3, TXNIP, MAFF, KLF10, TAF7, AKAP8L, ZFP119B, NR4A1, ZFP708, MAFK, ZFP108, SRFBP1, DBP, PHF21B, DNMT1, ID4, APBB3, ZFP949
GO:0019915~lipid storage	4	0.871	0.01841	CD36, FFAR2, ABHD4, PNPLA2
GO:0006885~regulation of pH	4	0.871	0.01841	SLC9A2, PDK4, SLC4A4, SLC9A1
GO:0043524~negative regulation of neuron apoptotic process	9	1.961	0.01972	MEF2C, FAM134B, FZD9, KDM2B, BTG2, BCL2, HMOX1, LIG4, GCLM
GO:0010744~positive regulation of macrophage derived foam cell differentiation	3	0.654	0.02127	MSR1, CD36, IL18
GO:0071456~cellular response to hypoxia	7	1.525	0.02131	ADRB2, S100B, BCL2, HMOX1, FABP1, FOXO3, SLC9A1
GO:0043065~positive regulation of apoptotic process	14	3.05	0.02513	TXNIP, IL18, ZMAT3, NR4A1, FOXO1, FOXO3, STK4, ADRB2, MAP3K5, S100B, DUSP1, HMOX1, GADD45B, SLC9A1
GO:0035914~skeletal muscle cell differentiation	5	1.089	0.02803	MEF2C, MAFF, BTG2, NR4A1, MYC
GO:0033574~response to testosterone	4	0.871	0.02892	DUSP1, NASP, CAD, PSPH
GO:0061077~chaperone-mediated protein folding	4	0.871	0.02892	FKBP9, FKBP6, FKBP5, FKBP10
GO:0043388~positive regulation of DNA binding	4	0.871	0.02892	HMGB2, HIPK3, MYC, CALM2
GO:0000086~G2/M transition of mitotic cell cycle	4	0.871	0.03133	CDKN1A, CDKN2B, USH1C, CALM2
GO:0006974~cellular response to DNA damage stimulus	16	3.486	0.03204	USP3, 3110062M04RIK, ZMAT3, TAOK3, FOXO1, CEP164, MBD4, STXP4, LIG4, CDKN1A, BTG2, HELB, BCL2, FBXO31, TLK2, MYC
GO:0010332~response to gamma radiation	4	0.871	0.03385	BCL2, TRIM13, LIG4, MYC
GO:0043123~positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling	8	1.743	0.03772	CD36, CARD9, NOD1, S100B, TBK1, HMOX1, TRIM13, EDA2R
GO:0034381~plasma lipoprotein particle clearance	2	0.436	0.04148	MSR1, CD36
GO:0044565~dendritic cell proliferation	2	0.436	0.04148	TBK1, AZI2
GO:0015939~pantothenate metabolic process	2	0.436	0.04148	VNN1, VNN3
GO:0009612~response to mechanical stimulus	5	1.089	0.04305	TXNIP, CD36, BTG2, TNC, PSPH
GO:0010666~positive regulation of cardiac muscle cell apoptotic process	3	0.654	0.04332	MAP3K5, FBXO32, CAMK2A
GO:0072593~reactive oxygen species metabolic process	4	0.871	0.04491	BCL2, PDK4, SESN1, DDIT4
GO:0000278~mitotic cell cycle	4	0.871	0.04491	USP3, TFDP2, AURKA, AZI2
GO:0045944~positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	30	6.536	0.04634	MEF2C, HMGB2, HMGN3, TBK1, IL18, FOXO1, FOXO3, JAG1, CALCOCO1, BARX2, ZSCAN21, NOBOX, ZFP292, MKL1, IFRD1, MYC, GABPB2, CD28, TAF7, RXRG, AKAP8L, NR4A1, ARNTL, CAPRN2, EIF4A3, ADRB2, DBP, ID4, SLC40A1, SLC9A1
GO:0014911~positive regulation of smooth muscle cell migration	4	0.871	0.04792	BCL2, IL18, MYC, PLAU
GO:0014902~myotube differentiation	3	0.654	0.04843	MEF2C, BARX2, HACD1