

2023年6月27日

小児炎症性腸疾患の新たな原因が判明 ～エピジェネティックなメカニズムによる SLC02A1 の発現抑制が原因に～

順天堂大学大学院医学研究科小児思春期発達・病態学の伊藤夏希 非常勤助手、工藤孝広 先任准教授、清水俊明 教授、難病の診断と治療研究センターの江口英孝 准教授、岡崎康司 教授、国立成育医療研究センター消化器科の新井勝大 部長、群馬大学大学院医学系研究科小児科学分野の石毛崇 講師らの共同研究グループは、小児炎症性腸疾患（IBD）^{*1}の新たな発症原因を解明しました。SLC02A1^{*2}は、一つの遺伝子の機能が阻害されて引き起こされる IBD の原因遺伝子の一つです。本研究では、姉妹の小児 IBD 患者において、腸管にある細胞の DNA メチル化^{*3}により、SLC02A1 遺伝子発現の抑制が起こり、IBD を発症した可能性が示されました（図 1）。この原因特定は、将来の治療法選択の礎となる重要な知見です。本研究結果は、Inflammatory Bowel Diseases 誌のオンライン版に 2023 年 6 月 16 日付で公開されました。

本研究成果のポイント

- 臨床的に単一遺伝子が原因となる IBD が疑われた小児患者に、全エクソーム解析、DNA メチル化解析、RNA・タンパク発現解析、代謝産物測定などの機能解析を行った。
- SLC02A1 の病的バリエントを片側アレルに有する患者で、腸管で DNA メチル化による SLC02A1 の発現抑制が加わり、IBD を発症した可能性が示された。
- IBD 発症におけるエピジェネティック^{*4}な変化に着目した新たな治療選択につながる。

背景

IBD の病因は遺伝的背景に加え、食生活や腸内細菌叢の変化などの環境要因が複雑に相互作用し発症に至ると考えられています。ごく若年の小児期に発症する IBD は遺伝学的要因が強いとされ、その中には一つの遺伝子の機能が阻害されて引き起こされる、いわゆる monogenic IBD が含まれています。このような IBD は薬剤による標準治療には抵抗性を認めることが多いため、その原因の特定は治療方針を策定する上で重要な情報となります。Monogenic IBD の原因遺伝子の一つである SLC02A1 は、炎症メディエーター（生理活性物質）であるプロスタグランジン E2 の細胞内取り込みを担うトランスポーターで、その働きが阻害されると慢性的に炎症が引き起こされます。SLC02A1 の遺伝子異常が、両親から受け継いだ遺伝子のいずれにも存在すると、浅い潰瘍が小腸に多発する非特異性多発性小腸潰瘍症という monogenic IBD を発症します。近年、IBD の原因を特定するための遺伝学的検査が保険適応となりました。しかしながら、この検査では原因が特定できない小児の IBD 患者も一定数見つかっており、治療戦略を考える上で臨床上の大きな課題となっています。

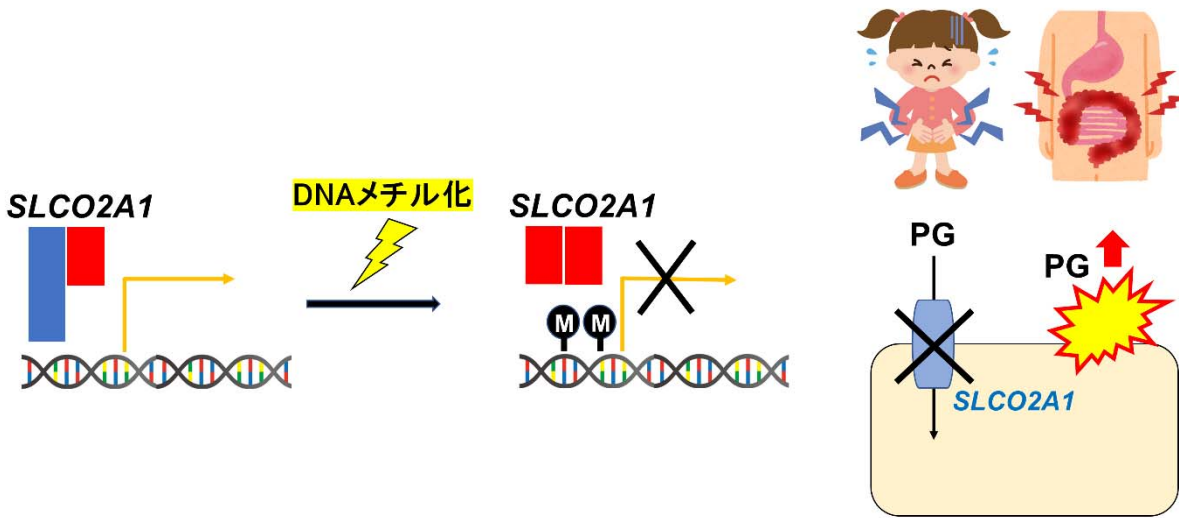
内容 【図2】

本研究では、若年で発症した姉妹 IBD 患者を対象としています。妹は 2 歳時に血便と下痢を発症し、内視鏡検査で大腸に散在するびらん(皮膚や粘膜の表皮が欠けたただれ)と、小腸に多発する潰瘍を認めました。姉は 9 歳時に周期的な腹痛と発熱を発症し、内視鏡検査で大腸は正常粘膜で、小腸に多発する潰瘍を認めました。遺伝学的要因の関与が疑われ、全エクソーム解析(遺伝子をコードする領域であるエクソンに由来する DNA 分子だけを遺伝子解析する手法)で要因探索を行なったところ、いずれの症例でも SLC02A1 遺伝子の片側アレル(対立遺伝子)にスプライシングサイトバリエーション(c.940+1G>A)を共通して検出しました。これまで SLC02A1 が原因となる IBD としては、非特異性多発性小腸潰瘍症のみが知られていますが、この病気は両親から受け継いだ両側のアレルいずれにも病気の原因となる遺伝子の変化があるもので、この姉妹例は適合しません。SLC02A1 が遺伝学的要因以外で関与する可能性について検討するために、腸管の生検組織を用いて、後天的な DNA の修飾である DNA メチル化解析(バイサルファイトシーケンス)を行いました。姉妹の炎症を起こしている病変においてのみ、この SLC02A1 の遺伝子発現を制御するプロモーター領域が高度にメチル化されていることが示されました。さらに、SLC02A1 の RNA 発現解析(リアルタイム PCR)およびタンパク発現解析(免疫蛍光組織染色)を行ったところ、姉妹の炎症病変では、対照群と比較して SLC02A1 の発現が著しく低下していることを確認しました。この SLC02A1 は炎症を仲介するプロスタグランジン(PG) E2 を細胞内に輸送するタンパク質であり、SLC02A1 の機能が低下すると PG の代謝が抑制され、細胞表面の PG のシグナル伝達が増加し炎症が誘発されます。代謝への影響を調べるために、尿中の PG 代謝産物を測定したところ、姉妹いずれも非特異性多発性小腸潰瘍症の患者と同等であり、対照群よりも高値でした。さらに症状が重症な妹では、姉よりも高濃度の PG 代謝産物が検出されました。これらの結果から本姉妹症例の発症メカニズムとして、腸管の細胞で DNA メチル化により SLC02A1 の遺伝子発現が抑制されることにより、PG の取り込み機能が抑制され、高濃度の PG が腸管粘膜に慢性の炎症を引き起こした可能性が示されました。これにより、腸内細菌叢の変化や、食生活、運動などの環境要因等が SLC02A1 の遺伝子発現に影響し、腸管粘膜の炎症を引き起こす可能性が示されました。

今後の展開

これまで SLC02A1 が関与する炎症性腸疾患の原因としては、両親から引き継いだ両側アレルに病気の原因となるような遺伝子の変化のみが知られていました。今回の研究により、遺伝学的検査のみからでは原因が特定されなかった症例で、腸管の局所に後天的な DNA の修飾(DNA のメチル化)がおき、遺伝子発現が抑制され、PG の取り込み活性の低下を引き起こし、その結果として IBD 発症に至った可能性が示されました。SLC02A1 の DNA メチル化がどのようにして引き起こされたのか、まだ明らかになっていませんが、候補となる要因の一つとして腸内細菌叢の関与が考えられます。腸内細菌叢が乱れることにより一過性に炎症を引き起こし、これにより特定の遺伝子の DNA メチル化が亢進する可能性が考えられます。今回の結果から、保険適応となっている遺伝学的検査で原因が特定できなかった小児症例で尿中の代謝産物を測定する重要性が示されました。原因が特定されることにより、臨床経過が重症化した時にも、最適な薬剤を選択し治療を行えるものと考えられます。

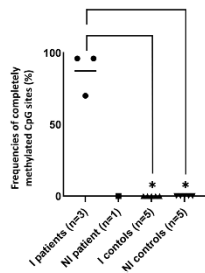
【図1】



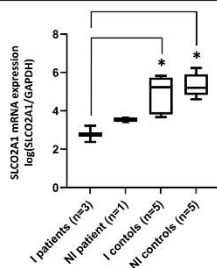
・本研究で明らかになった、炎症性腸疾患発症におけるエピジェネティックなメカニズム
局所の腸管で後天的な修飾であるDNAメチル化がおきることにより、SLCO2A1遺伝子の発現が抑制され、PGの取り込み活性が低下し、これが原因となって腸管粘膜に慢性的な炎症を引き起こした。

【図2】

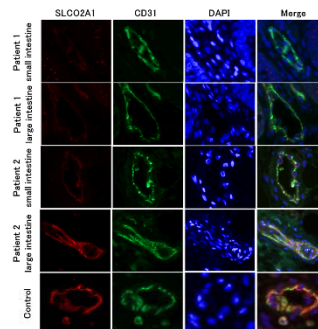
・DNAメチル化解析 (バイサルファイトシーケンス)
姉妹の炎症病変において、有意にSLCO2A1のプロモーター領域が高度にメチル化されていた。



・RNA発現解析 (リアルタイムPCR)
姉妹の炎症病変において、有意にSLCO2A1の発現が低下していた。



・タンパク発現解析 (免疫蛍光組織染色)
姉妹の炎症病変において、SLCO2A1の発現が低下していた。



・代謝産物測定 (尿中PG)

姉妹の尿中PGは非特異性多発性小腸潰瘍症 (CEAS) 患者と同等であり、対照群よりも高値であった。症状が重篤な妹は、姉よりも高値であった。

Urinary t-PGE-M (ng/mmol·Cre)	
Patient 1	277.1
Patient 2	27.3
Mean (range)* of patients with CEAS	42.7 (13.5~111.8)
Mean (range)** of controls	3.1 (2.0~5.9)

用語解説

- *1 炎症性腸疾患 (IBD)： inflammatory bowel disease、消化管粘膜に原因不明の慢性炎症を引き起こす疾患。近年、日本でも患者数が増加している。
- *2 SLC02A1 遺伝子： 単一遺伝子疾患による炎症性腸疾患の一つである非特異性多発性小腸潰瘍症の原因遺伝子。炎症メディエーターであるプロスタグランジン E2 の細胞内への取り込みを担う。
- *3 DNA メチル化： 最もよく知られているエピジェネティック制御機構の一つ。DNA 中の塩基の炭素原子にメチル基が修飾される化学反応。遺伝子発現の制御に関わるプロモーター領域で認められる CG の 2 塩基が密集している箇所 (CpG アイランド) でこのメチル化が高度に起こると、その遺伝子の発現が抑制されることが知られている。
- *4 エピジェネティック： DNA の塩基配列変化を伴わない遺伝子発現制御の仕組み。

研究者のコメント

- ごく若年で発症する IBD は治療抵抗性などがあり、原因を特定し、適切な治療を施すことが重要です。
- 遺伝学的検査が保険適応となっていますが、それでは原因が特定できない症例が少なからず存在し、臨床的課題となっています。
- 本研究を通じて、代謝産物や遺伝子発現などの多角的なアプローチにより原因を特定することが重要であることが広く認知されることを期待します。

原著論文

本研究は *Inflammatory Bowel Diseases* 誌のオンライン版で(2023年6月16日付)先行公開されました。
タイトル： Attenuated expression of *SLCO2A1* caused by DNA methylation in pediatric inflammatory bowel disease

タイトル(日本語訳)： 小児炎症性腸疾患における DNA メチル化による *SLCO2A1* の発現抑制

著者： Natsuki Ito, 1, 2 Takahiro Kudo, 1 Hidetaka Eguchi, 2 Keisuke Jimbo, 1 Atsushi Furuhashi, 3 Toshiaki Okuno, 4 Ichiro Takeuchi, 5 Katsuhiro Arai, 5 Takashi Ishige, 6 Yasushi Okazaki, 2 Toshiaki Shimizu, 1

著者(日本語表記)： 伊藤夏希 1, 2)、工藤孝広 1)、江口英孝 2)、神保圭佑 1)、古旗淳 3)、奥野利明 4)、竹内一朗 5)、新井勝大 5)、石毛崇 6)、岡崎康司 2)、清水俊明 1)

著者所属： 1) 順天堂大学大学院医学研究科 小児思春期発達・病態学、2) 順天堂大学大学院医学研究科 難治性疾患診断・治療学/難病の診断と治療研究センター、3) 順天堂大学大学院医学研究科 研究基盤センター形態解析イメージング研究室、4) 順天堂大学大学院医学研究科 生化学第一講座、5) 国立成育医療研究センター 消化器科、6) 群馬大学大学院医学系研究科 小児科学分野

DOI: 10.1000.333.444.doi, 2000

本研究は 2021 年度 順天堂大学共同プロジェクト研究費(学内)(2021-39)ならびに国立成育医療研究センターの成育医療研究開発費の支援を受け多施設との共同研究の基に実施されました。

なお、本研究にご協力いただいた皆様には深謝いたします。

<研究内容に関するお問い合わせ先>

順天堂大学大学院医学研究科 小児思春期発達・病態学
先任准教授 工藤 孝広 (くどう たかひろ)

群馬大学大学院医学系研究科 小児科学分野
講師 石毛 崇 (いしげ たかし)

<取材に関するお問い合わせ先>

順天堂大学 総務局 総務部 文書・広報課 (担当: 濱田)

TEL: 03-5802-1006 E-mail: pr@juntendo.ac.jp 大学HP: <https://www.juntendo.ac.jp>

国立大学法人群馬大学 昭和地区事務部総務課法規・広報係

TEL: 027-220-7895 FAX: 027-220-7720 E-mail: m-koho@jimu.gunma-u.ac.jp

大学HP: <https://www.med.gunma-u.ac.jp/>