

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16961

研究課題名(和文) SIRT7の腸管組織における機能解析および炎症性腸疾患との関連の探索

研究課題名(英文) Functional analysis of SIRT7 in intestinal tissues and exploration of its association with inflammatory bowel disease

研究代表者

古田 陽輝 (Furuta, Yoki)

熊本大学・病院・特任助教

研究者番号：00869513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ユビキタスに発現しているSir7の腸管組織における機能解析のため、上皮細胞と腸管筋線維芽細胞に分けて解析した。RNA-seqによる解析結果ではWTとSirt7KOから抽出された上皮における遺伝子発現パターンが異なる傾向があることがわかった。腸管筋線維芽細胞における解析では、Sirt7はTGF- β の刺激により発現が亢進することがわかった。またTGF- β の刺激によりcollagenの産生がWTとSIRT7KOでは異なることがわかった。以上のことから、Sirt7は上皮細胞や筋線維芽細胞において遺伝子発現を調整し、炎症や腸管線維化に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はSirt7が腸管炎症や腸管線維化に関与することを示した。Sirt7の機能はNAD依存性であり、NADは加齢によりその活性化が低下する。炎症性腸疾患(IBD)の発症やその活動性が年代によりことなることが報告されており、その原因の一端がSirt7の活性化にある可能性が示唆され、今後のあらたなIBD治療戦略をに寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To analyze the function of ubiquitously expressed Sir7 in the intestinal tissues, we analyzed the epithelial cells and intestinal myofibroblasts separately, and the results of RNA-seq analysis showed that the gene expression patterns in the epithelium extracted from WT and Sirt7 KO tended to differ. In the analysis of intestinal myofibroblasts, Sirt7 expression was upregulated by TGF- β stimulation. In addition, collagen production upon TGF- β stimulation was found to be different between WT and SIRT7KO cells.

These findings suggest that Sirt7 regulates gene expression in epithelial cells and myofibroblasts and is involved in inflammation and intestinal fibrosis.

研究分野：消化器内科学

キーワード：Sirt7 腸炎 炎症性腸疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患 (IBD) の発症ピークは10代後半から20代の若年期にあり、特にクローン病において高齢者の発症は稀である。また、疾患活動性も高齢者では低下することもあり、老化と疾患の発症・疾患活動性との関与が示唆されるが、その分子メカニズムは不明である。

Sirtuin (SIRT)は、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)依存性脱アセチル化酵素であり、SIRT1-7が存在する。標的蛋白質の機能や発現を調節することで代謝などに関与しており、NAD⁺およびSIRTの発現が加齢と共に低下するため、老化・発癌に強く関連することが明らかとなっている。

SIRTのうち、SIRT7はコピキタスに発現しているが、腸管での詳細な機能が明らかでない。

2. 研究の目的

腸管におけるSIRT7の標的蛋白質を明らかにし、その機能を解明することで、IBDの発症や疾患活動性と加齢との関連を明らかとする。

3. 研究の方法

本研究ではSirt7KOマウスを用いて、腸管におけるSIRT7の機能解析を *in vivo*, *in vitro* で行う。SIRT7がコピキタスに発現するため、腸管上皮細胞、間質細胞(筋線維芽細胞)、免疫細胞などに分けてそれぞれの細胞種における機能を解析することとした。

腸炎への影響を検討するため、WTとSirt7KOマウスにおいてDSS腸炎モデルを誘導し、その程度について比較検討することとした。

4. 研究成果

腸管上皮細胞における機能解析

腸管上皮細胞におけるSIRT7の機能を解析するため定常状態およびDSS腸炎誘導下に、WTおよびSirt7KOマウスより腸管上皮細胞を分離し、RNAを抽出しRNA-seqを行った。定常状態におけるRNAの発現はWTとSirt7KOで変化しないものの、DSS腸炎下ではWTとSirt7KOで発現RNAが異なることがわかった。SIRT7KOにて発現が上昇した遺伝子が144遺伝子あり、低下した遺伝子が259遺伝子を認めた。これらの遺伝子群についてGO解析を行ったところ、上昇した遺伝子群には免疫細胞の浸潤に関連した遺伝子が、発現が低下した遺伝子群には腸管上皮機能に関連した遺伝子が多く含まれていた。そのうち、過去にSIRT7と関連がある遺伝子として報告されている遺伝子で腸炎との関連が示唆されているXo3遺伝子については、SIRT7KOにてWTより低下しており、関連が示唆された。現在、それら遺伝子の変化が実際にどのように関与しているのか詳細な検討を行っている。

腸管筋線維芽細胞における機能解析

ヒト大腸筋線維芽細胞株であるCCD-18Coを用いて炎症性サイトカイン(TGF- β , TNF- α , IL-17)の存在下に培養したところ、Sirt7はTGF- β の存在下においてその発現量が増加することがわかった。Sirt7が腸管筋線維芽細胞において線維化に重要なcollagenの産生に影響しているかを検討した。WTマウスとSirt7KOマウスより大腸の筋線維芽細胞を抽出、培養し、それにTGF- β 刺激により線維化へ関与する分子(collagen 1A1, MMR2, TINP-1,

collagen3)の発現をqPCR法にて検証した。結果、TGF- β 刺激によりcollagen1A1の発現はSirt7KOにおいて有意に増加していた。これらのことからSirt7は、腸管線維芽細胞において、炎症状態においてはその発現を負に制御していることが示唆され、炎症状態における過剰な繊維化を制御する機能を有している可能性が考えられた。

まとめ

腸管組織において SIRT7 はさまざまな細胞に発現し、炎症や腸管線維化に関与している可能性が示唆され、重要な機能を有していると考えられた。今後 Sirt7 が制御している蛋白を同定し、機序についてより詳細に解析する。また IBD における Sirt7 およびその候補蛋白の発現を解析し疾患への関与を明らかとする。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Furuta Yoki, Gushima Ryosuke, Naoe Hideaki, Honda Munenori, Tsuruta Yuiko, Nagaoka Katsuya, Watanabe Takehisa, Tateyama Masakuni, Fujimoto Nahoko, Hirata Shinya, Miyagawa Eiko, Sakata Komei, Mizuhashi Yumiko, Iwakura Mikako, Murai Masayuki, Matsuoka Masao, Komohara Yoshihiro, Tanaka Yasuhito	4. 巻 12
2. 論文標題 Possible Association of Mutations in the MEFV Gene with the Intestinal Phenotype of Behçet's Disease and Refractoriness to Treatment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3131 ~ 3131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm12093131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 古田 陽輝
2. 発表標題 生物学的製剤がクローン病の自然史へ与える影響の検討
3. 学会等名 JDDW 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古田 陽輝
2. 発表標題 MEFV遺伝子変異とベーチェット病における消化管病変との関連性
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------