

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09394

研究課題名(和文) SLC02A1トランスポーターの機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of SLC02A1 transporter

研究代表者

林田 真理 (Hayashida, Mari)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：60754364

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：CEAS患者に認められたSLC02A1遺伝子変異型11変異(940+1GA、664GA、1807CT、421GT、1372GT、547GA、1647GT、97GC、770GA、830dupT、830delT)のPGE2輸送機能を解析した。9変異(940+1GA、664GA、1807CT、421GT、547GA、1647GT、770GA、830dupT、830delT)は機能を完全に喪失し、1372GTは部分的機能喪失、97GCは野生型と同程度に機能を維持していた。変異型SLC02A1蛋白では親和性を示すKm値ではなく、時間当たりの取り込み量であるVmax値に差が生じていることも明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究においてCEAS症例で報告されているSLC02A1遺伝子の変異による各変異型の特性が明らかとなったことにより、重症度を含めた臨床像や尿中プロスタグランジンE代謝物値との照合が可能となった。今後、厚生労働省難治性疾患研究事業難治性炎症性腸疾患に関する調査研究により現在作成されているCEASデータベースと本研究結果の照合により、遺伝子情報と臨床像が結びつくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：We performed transport experiment of PGE2 using the oocyte which is expressing mutant SLC02A1 gene (940+1GA, 664GA, 1807CT, 421GT, 1372GT, 547GA, 1647GT, 97GC, 770GA, 830dupT, 830delT) which have been identified in CEAS patients. In 9 mutations (940+1GA, 664GA, 1807CT, 421GT, 547GA, 1647GT, 770GA, 830dupT, 830delT), PGE2 transport was lost completely. In 1372GT, PGE2 transport remained partially lost. In 97GC, PGE2 transport was maintained at the same level of wild-type. It was also revealed that the mutant SLC02A1 protein had a difference in the Vmax value, which is the uptake amount per hour, rather than the Km value indicating affinity.

研究分野：小腸・大腸

キーワード：小腸潰瘍 SLC02A1遺伝子 プロスタグランジン トランスポーター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非特異性多発性小腸潰瘍症は難病に指定されている難治性小腸潰瘍症であり、治療法は確立されておらず患者は若年から慢性貧血と低蛋白血症に悩まされ小腸切除が必要となることも多い。申請者らにより SLC02A1 遺伝子変異による常染色体劣性遺伝病であることが報告され、SLC02A1 関連腸症 (chronic enteropathy associated with SLC02A1 ; CEAS) という概念が詠唱された。SLC02A1 はプロスタグランジン (PG) の輸送に関与するトランスポーターのをコードする遺伝子であり、PG 輸送障害が本疾患の病態であると考えられた。

2. 研究の目的

CEAS 患者で報告された SLC02A1 変異の機能的解析は行われておらず、本研究では CEAS 患者で認められた変異型 SLC02A1 蛋白の PG 輸送能について解析し、CEAS の病態解明に繋げ治療法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

アフリカツメガエル卵母細胞に SLC02A1RNA (野生型、変異型) をマイクロインジェクションにより導入し SLC02A1 蛋白を強制発現させる。放射性同位元素で標識した PGE を添加し、野生型、変異型 SLC02A1 蛋白の PGE 輸送能を解析した。

4. 研究成果

CEAS 患者に認められた SLC02A1 遺伝子変異のうち 11 変異 (940+1GA、664GA、1807CT、421GT、1372GT、547GA、1647GT、97GC、770GA、830dupT、830delT) について検討した。蛋白機能予測プログラム (PROVEAN) では 97GC 変異以外の変異型で機能低下が予測された (Table 1)。

強制発現卵母細胞を用いた PGE2 取り込み実験では、11 変異中 9 変異は完全または完全近くまで機能喪失に至っていた。いっぽう 1372GT は部分的機能喪失に留まり、97GC は野生型に比べて取り込み能に差は見られないことが判明した。変異型 SLC02A1 蛋白では親和性を示す Km 値ではなく、時間当たりの取り込み量である Vmax 値に差が生じていることも明らかとなった。各変異型の特性が明らかとなったことから今後重症度を含めた臨床像や尿中 PGE 代謝物値との照合が可能となった。

Table 1

	変異型	部位	変異の内容	極性変化	プログラムによる機能予測
一塩基置換	97GC	膜ヘリックス	1アミノ酸置換(V33L)	なし	PROVEAN : Neutral SIFT : Tolerated
	421GT	細胞外	終止コドン(E141X)	(-)	PROVEAN : Deleterious SIFT : NA
	547GA	膜ヘリックス	1アミノ酸置換(G183R)	あり	PROVEAN : Deleterious SIFT : Damaging
	664GA	膜ヘリックス	1アミノ酸置換(G222R)	あり	PROVEAN : Deleterious SIFT : Damaging
	770GA	膜ヘリックス	終止コドン(E141X)	(-)	PROVEAN : Deleterious SIFT : NA
	1372GT	細胞外	1アミノ酸置換(V458F)	なし	PROVEAN : Deleterious SIFT : Damaging
	1647GT	細胞質	1アミノ酸置換(K549N)	あり	PROVEAN : Deleterious SIFT : Damaging
	1807CT	細胞外	終止コドン(R603X)	(-)	PROVEAN : Deleterious SIFT : NA
フレームシフト	830dupT	膜ヘリックス	フレームシフト	不明	評価不能
	830delT	膜ヘリックス	フレームシフト	不明	評価不能
イントロン変異	940+1GA	細胞質	Exon7の欠損 (終止コドンとなる)	なし	評価不能

Figure 1

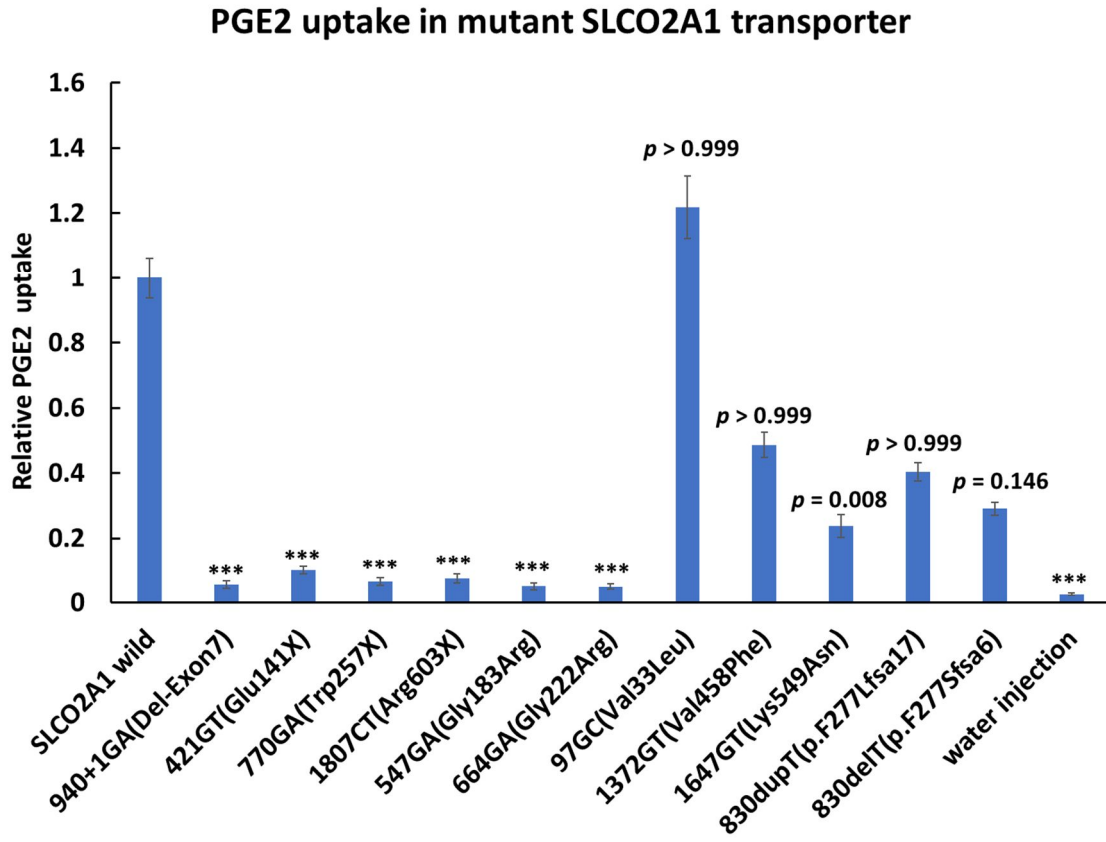
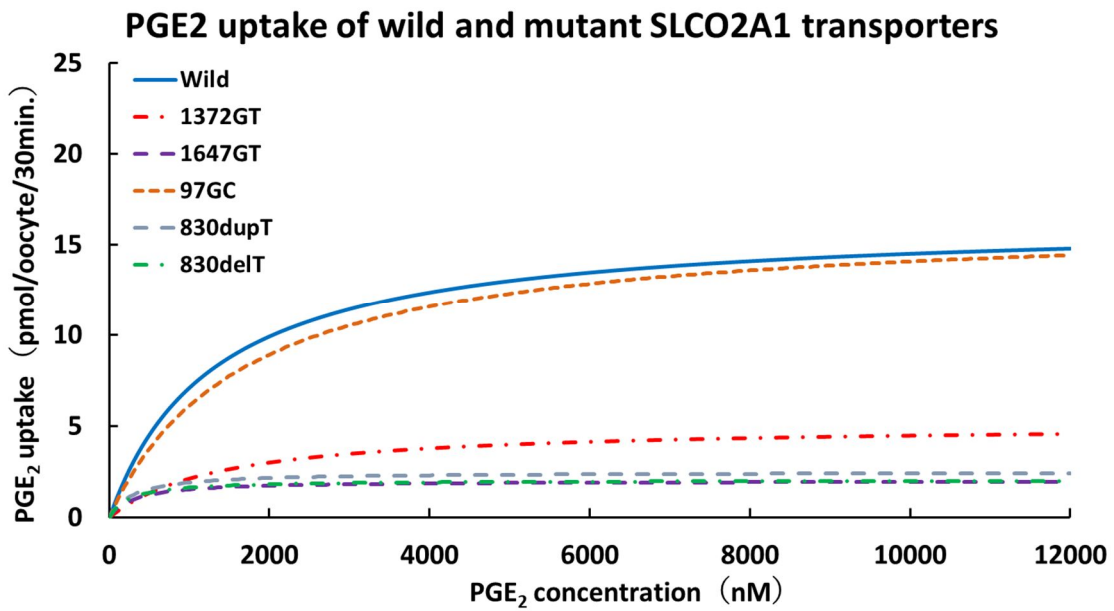


Figure 2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsuno Y, Umeno J, Esaki M, Hirakawa Y, Fuyuno Y, Okamoto Y, Hirano A, Yasukawa S, Hirai F, Matsui T, Hosomi S, Watanabe K, Hosoe N, Ogata H, Hisamatsu T, Yanai S, Kochi S, Kurahara K, Yao T, Torisu T, Kitazono T, Matsumoto T.	4. 巻 Apr 14;25(14):
2. 論文標題 Measurement of prostaglandin metabolites is useful in diagnosis of small bowel ulcerations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 1753-1763.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v25.i14.1753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Umeno J, Esaki M, Hirano A, Fuyuno Y, Ohmiya N, Yasukawa S, Hirai F, Kochi S, Kurahara K, Yanai S, Uchida K, Hosomi S, Watanabe K, Hosoe N, Ogata H, Hisamatsu T, Nagayama M, Yamamoto H, Abukawa D, Kakuta F, Onodera K, Matsui T, Hibi T, Yao T, Kitazono T, Matsumoto T; CEAS study group.	4. 巻 Aug;53(8):
2. 論文標題 Clinical features of chronic enteropathy associated with SLC02A1 gene: a new entity clinically distinct from Crohn's disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 907-915.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-017-1426-y.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosoe N, Ohmiya N, Hirai F, Umeno J, Esaki M, Yamagami H, Onodera K, Bamba S, Imaeda H, Yanai S, Hisamatsu T, Ogata H, Matsumoto T; CEAS atlas group.	4. 巻 Oct 1;11(10):
2. 論文標題 Chronic enteropathy associated with SLC02A1 gene (CEAS) - Characterization of an enteric disorder to be considered in the differential diagnosis of Crohn's disease.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Crohns Colitis.	6. 最初と最後の頁 1277-1281.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/ecco-jcc/jjx068.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 久松理一, 斎藤大祐, 林田真理	4. 巻 115(7):
2. 論文標題 小腸疾患 (non-CD) を見直す - 腫瘍・血管性病変・炎症・希少疾患まで -	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本消化器病学会雑誌	6. 最初と最後の頁 575-586,
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 關 里和, 林田真理, 箕輪慎太郎, 池崎 修, 三井達也, 三浦みき, 斎藤大祐, 田中 弦, 櫻庭彰人, 木村 徹, 櫻井裕之, 久松理一
2. 発表標題 CEASにおける変異SLC02A1 トランスポーターの機能解析
3. 学会等名 第56回日本小腸学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 久松理一
2. 発表標題 難治性小腸疾患の診断と治療（基調講演）
3. 学会等名 第57回日本小腸学会（招待講演）
4. 発表年 2019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
研究分担者	久松 理一 (HISAMATSU TADAKAZU HISAMATSU) (60255437)	杏林大学・医学部・教授 (32610)	