

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16852

研究課題名(和文) TRIM22遺伝子異常による腸炎はIL-6, IL-12産生の制御異常が関与するか

研究課題名(英文) Overexpression of IL-6 and IL-12 may contribute to the pathogenesis of TRIM22 deficiency-related intestinal inflammation

研究代表者

日衛嶋 栄太郎 (Hiejima, Eitaro)

京都大学・医学研究科・特定病院助教

研究者番号：60773520

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)：近年、小児期早期発症の炎症性腸疾患の全エクソン解析において、E3リガーゼであるTRIM22遺伝子変異が発見された。ヒト腸上皮系細胞株を用いた過去の研究では、同遺伝子変異による腸管炎症発症の分子メカニズムが解明できなかった。我々はゲノム編集により作成したTRIM22遺伝子をノックアウトしたヒト単球細胞株を用いて、TRIM22がIL-6, IL-12のmRNAを分解する分子Xの発現に関与することを突き止めた。また、TRIM22がユビキチン化を介して分子Xのタンパク安定性に寄与することを示す結果を得た。現在、TRIM22遺伝子変異による腸管炎症の分子機序の解明を目指して研究を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性の小児期早期発症の炎症性腸疾患(IBD)は、未知の単一遺伝子疾患が多く存在していると考えられる。疾患特異的な治療法確立のためには、遺伝子変異による腸管炎症発症の病態解明が不可欠である。我々はTRIM22遺伝子異常による腸管炎症の発症にIL-6, IL-12産生制御異常が関与している可能性を示唆する結果を得たが、更に腸管炎症の分子機序を明らかにできれば、TRIM22遺伝子異常によるIBDのみならず、IL-6或いはIL-12産生異常を起こす小児期早期発症のIBDの病態解明と新規治療開発の基盤構築につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Recently, whole exome sequencing analysis identified homozygous or heterozygous TRIM22 variants in patients with very early onset inflammatory bowel disease (VEO-IBD) which is defined as IBD presenting before 6 years of age. However, the precise mechanism of the intestinal inflammation in TRIM22 deficiency has not been elucidated. We found TRIM22 may be associated with expression of molecule 'X' which has regulatory effect on IL-6 and IL-12 production. Also, we showed ubiquitination of molecule 'X' in the presence of TRIM22 may be associated with stabilization of molecule 'X'. We are conducting more investigation to clarify the role of TRIM22 in regulation of intestinal inflammation.

研究分野：小児肝臓消化器

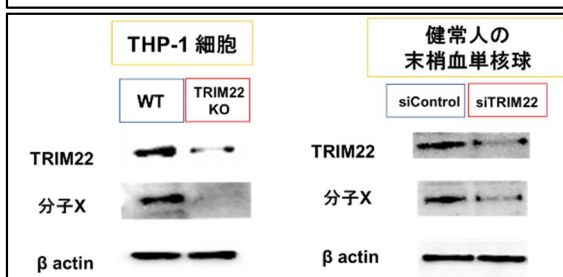
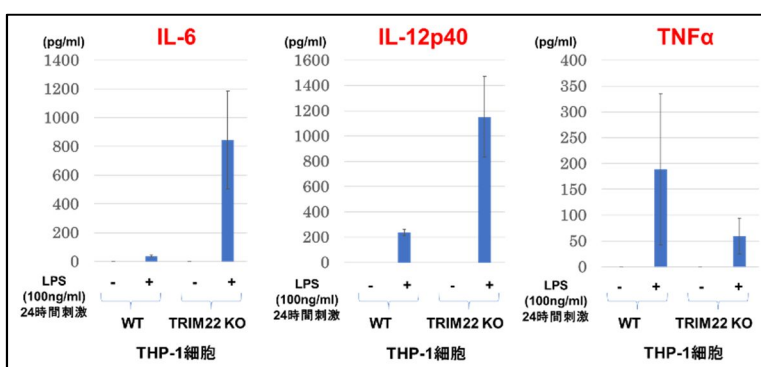
キーワード：小児期発症 炎症性腸疾患 TRIM22 IL-6 IL-12

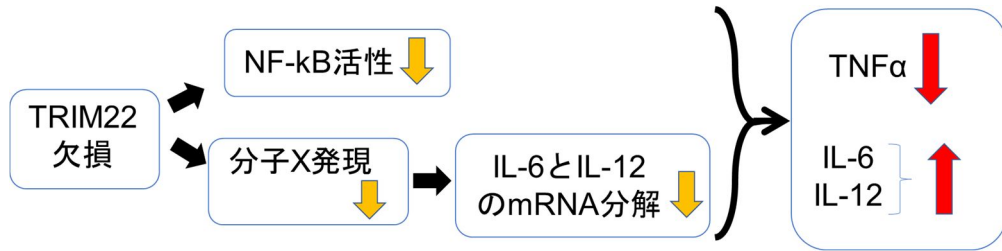
1. 研究開始当初の背景

難治性の小児期早期発症の炎症性腸疾患 (IBD) は、未知の単一遺伝子疾患が多く存在していると考えられる。治療法確立のためには遺伝子変異による腸管炎症発症の病態解明が不可欠である。近年、若年発症の難治性 IBD 患者の全エクソン解析において、TRIM22 遺伝子変異が発見された。TRIM タンパクファミリーは E3 ユビキチンリガーゼ活性を持つタンパクであり、自然免疫系に深く関与している分子として以前より注目されている。その一つである TRIM22 は、ヒト腸上皮系の細胞株において、MDP 刺激後に NF- κ B の活性化を増強し、変異型 TRIM22 は NF- κ B の活性化を障害する (Li Gastroenterology 2016)。同研究の問題点は、変異型 TRIM22 による NF- κ B 活性障害が腸管炎症を惹起する理由を説明できておらず、現時点では TRIM22 変異による難治性 IBD 発症の分子機構は解明されていない。

2. 研究の目的

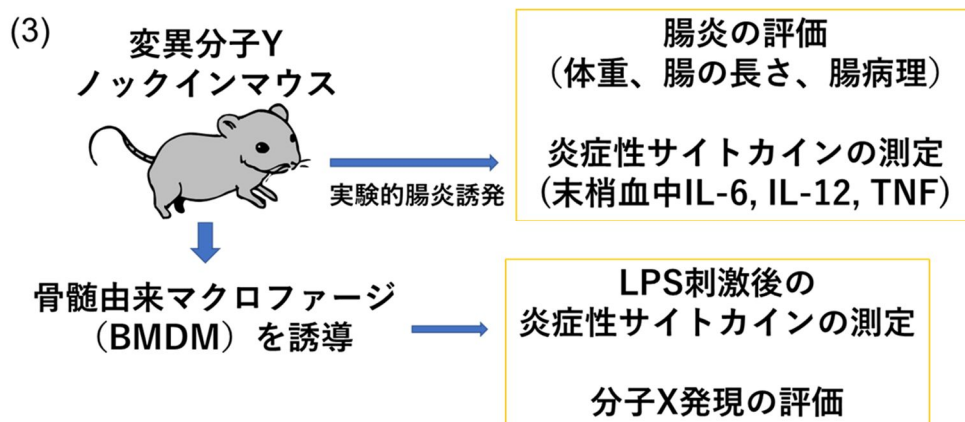
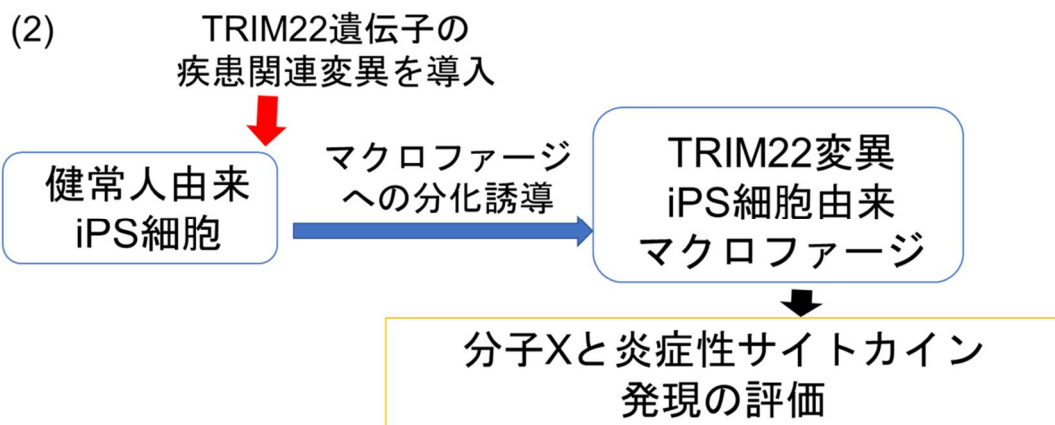
申請者らは TRIM22 遺伝子変異による腸管炎症の分子機序を明らかにすることを目的として、TRIM22 遺伝子をノックアウトしたヒト単球細胞株 (TRIM22 KO THP-1 細胞) を作成した。予備実験において、TRIM22 KO THP-1 細胞は、LPS 刺激後 NF- κ B 活性が減弱し、TNF 産生も低下するが、IL-6、IL-12 の mRNA、タンパクの産生は過剰になることを発見した。また、同細胞株は分子 X という IL-6 と IL-12 の mRNA を分解する酵素のタンパク発現が低下するという結果を得た。このことから、TRIM22 遺伝子異常による腸管炎症の発症には IL-6、IL-12 産生制御異常が関与している可能性があると考えられた。これまでの研究結果をもとに、未解明の TRIM22 変異による腸管炎症の分子機構を明らかにし、IBD の新規治療法に展開するための基盤となる研究を行う。





3. 研究の方法

- (1) TRIM22 遺伝子欠損により分子 X タンパク発現が低下する原因を明らかにするため、分子 X の qPCR を行い、TRIM22 KO THP-1 細胞と野生型 TRIM22 THP-1 細胞間で分子 X の mRNA 量について比較する。その結果に基づいて分子 X 発現低下の分子メカニズムを明らかにする実験を進める。
- (2) IBD 患者で報告された TRIM22 変異を持つ iPS 細胞由来マクロファージにおける分子 X タンパク発現や IL-6, IL-12, TNF の産生能を評価する。
- (3) TRIM22 のマウスホモログは分子 Y である。IBD 患者で認められた TRIM22 変異に相当する分子 Y の遺伝子変異を持つノックイン(KI)マウスを用いて、腸管炎症モデルにおける分子 X 発現や IL-6, IL-12 産生能を調べる。



4 研究成果

「TRIM22 遺伝子欠損により分子 X のタンパク発現が低下する原因について」

TRIM22 KO THP-1 細胞における分子 X の mRNA 量を qPCR で評価したところ、野生型 TRIM22 THP-1 細胞のものと同様であった。従って、TRIM22 が分子 X タンパクの安定性に影響を与えている可能性があると考えられた。

次に共免疫沈降実験を行ったところ、野生型 THP-1 細胞における TRIM22 と分子 X タンパクは無刺激で結合することがわかった。

TRIM22 はユビキチン化に関わる E3 リガーゼ活性を持つため、分子 X タンパクへのユビキチン化を評価する実験を行った。野生型 THP-1 細胞への LPS 刺激後、分子 X のユビキチン化は増加し、TRIM22 KO THP-1 細胞においては減弱していた。

更に分子 X におけるユビキチン化部位の同定を行う目的で、変異型ユビキチンを HEK293T 細胞に発現させたところ、野生型 TRIM22 存在下では LPS 刺激後に分子 X の K29 結合型と K63 結合型ユビキチン化が亢進することがわかった。このことから、TRIM22 存在下でみられる分子 X のユビキチン化は、分子 X のタンパク発現の安定性に寄与している可能性が考えられた。

「TRIM22 変異をもつ iPS 細胞由来マクロファージの作成と、機能評価」

新型コロナウイルス流行による影響で、研究に必要な研究施設、設備が一時的に利用できず、進めることができていない。施設・設備の利用が可能になれば、TRIM22 変異をもつ iPS 細胞由来マクロファージの作成を進める。

「ノックインマウスを用いて、腸管炎症モデルにおける分子 X 発現や IL-6,IL-12 産生能の評価」

申請者の留学先でもあった共同研究者である米国国立衛生研究所では、IBD 患者で認められた TRIM22 変異に相当する分子 Y の遺伝子変異を持つ分子 Y ノックインマウスの作成を行っている。しかし、新型コロナウイルス流行による影響で、研究に必要な研究施設、設備が一時的に利用できず、まだ完成に至っていない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5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 Nishitani-Isa M, Mukai K, Honda Y, Nihira H, Tanaka T, Shibata H, Kodama K, Hiejima E, Izawa K, Kawasaki Y, Osawa M, Katata Y, Onodera S, Watanabe T, Uchida T, Kure S, Takita J, Ohara O, Saito MK, Nishikomori R, Taguchi T, Sasahara Y, Yasumi T	4. 巻 219
2. 論文標題 Trapping of CDC42 C-terminal variants in the Golgi drives pyrin inflammasome hyperactivation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20211889.	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 Honda Y, Maeda Y, Izawa K, Shiba T, Tanaka T, Nakaseko H, Nishimura K, Mukoyama H, Isa-Nishitani M, Miyamoto T, Nihira H, Shibata H, Hiejima E, Ohara O, Takita J, Yasumi T, Nishikomori R.	4. 巻 41
2. 論文標題 Rapid Flow Cytometry-Based Assay for the Functional Classification of MEFV Variants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Immunol .	6. 最初と最後の頁 1187-1197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10875-021-01021-7	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 Nakajima K, Hiejima E, Nihira H, Kato K, Honda Y, Izawa K, Kawabata N, Kato I, Ogawa E, Sonoda M, Okamoto T, Okajima H, Yasumi T, Takita J.	4. 巻 -
2. 論文標題 Case Report: A Case of Epstein-Barr Virus-Associated Acute Liver Failure Requiring Hematopoietic Cell Transplantation After Emergent Liver Transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol .	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.825806	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 日衛嶋 栄太郎(京都大学 大学院医学研究科発達小児科学)	4. 巻 78
2. 論文標題 【原発性免疫不全症候群-最新の疾患分類と新規疾患を中心に-】自己炎症性疾患 インフラマソームに関連しない状態 TRIM22	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨床(0047-1852)78巻増刊7 原発性免疫不全症候群	6. 最初と最後の頁 453-454
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 無
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 日衛嶋 栄太郎(京都大学 大学院医学研究科発達小児科学)	4. 巻 78
2. 論文標題 【原発性免疫不全症候群-最新の疾患分類と新規疾患を中心に-】免疫調節障害 大腸炎を伴う免疫調節不全 TGFβ1欠損症	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨床(0047-1852)78巻増刊7 原発性免疫不全症候群	6. 最初と最後の頁 255-256
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 無
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 Mao L, Kitani A, Hiejima E, Montgomery-Recht K, Zhou W, Fuss I, Wiestner A, Strober W.	4. 巻 130
2. 論文標題 Bruton tyrosine kinase deficiency augments NLRP3 inflammasome activation and causes IL-1 mediated colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Invest.	6. 最初と最後の頁 1793-1807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI128322.	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 Kadowaki T, Ohnishi H, Kawamoto N, Kadowaki S, Hori T, Nishimura K, Kobayashi C, Shigemura T, Ogata S, Inoue Y, Hiejima E, Izawa K, Matsubayashi T, Matsumoto K, Imai K, Nishikomori R, Ito S, Kanegane H, Fukao T.	4. 巻 216
2. 論文標題 Immunophenotyping of A20 haploinsufficiency by multicolor flow cytometry.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 108441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2020.108441.	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4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 日衛嶋 栄太郎(京都大学医学部附属病院 小児科), 井澤 和司, 本澤 有介, 山本 修司, 八角 高裕, 滝田 順子
2. 発表標題 SKI2L遺伝子異常を同定したTricho-hepato-enteric syndromeの1例
3. 学会等名 日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田 由可子(京都大学 大学院医学研究科発達小児科学), 本田 吉孝, 井澤 和司, 芝 剛, 田中 孝之, 東口 素子, 加藤 健太郎, 宮本 尚幸, 伊佐 真彦[西谷], 仁平 寛士, 柴田 洋史, 日衛嶋 栄太郎, 滝田 順子, 西小森 隆太
2. 発表標題 免疫疾患の遺伝的背景 新規機能解析系によるMEFVバリエントの病原性評価・分類の試み
3. 学会等名 日本臨床免疫学会総 48回
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 日衛嶋 栄太郎, 花岡 信太郎, 荒木 亮佑, 滝田 順子
2. 発表標題 新生児期の高インスリン性低血糖症に合併した原因不明の胆汁うっ滞症の一例
3. 学会等名 日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日衛嶋 栄太郎, 本田 吉孝, 前田 由可子, 井澤 和司, 八角 高裕
2. 発表標題 腹部症状に対して抗IL-1療法が有効であったMEFVS242Rバリエントによるパイリン関連自己炎症疾患の1例
3. 学会等名 日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2021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
---------	---------