

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07884

研究課題名（和文）潰瘍性大腸炎感受性遺伝子MIR622の感受性メカニズムの解明と臨床的応用の探索

研究課題名（英文）Elucidation of the susceptibility mechanism for ulcerative colitis of MIR622 and exploration of its clinical application

研究代表者

木内 喜孝（Kinouchi, Yoshitaka）

東北大学・高度教養教育・学生支援機構・教授

研究者番号：20250780

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）：MIR622遺伝子の潰瘍性大腸炎感受性遺伝子としての位置付けを明らかにするため、東アジア人種でのメタ解析による相関解析、アリルによるMIR622遺伝子周囲のメチル化の差、血清中のmiR-622量とアリルとの関連、血清中のmiR-622のバイオマーカーとしての意義について検討を行った。その結果、東アジア人種のメタ解析においては、有意な相関としては検出することができなかった。アリル間でのMIR622遺伝子周囲のメチル化についても有意差を確認することができなかった。血清中のmiR-622量の検討では、潰瘍性大腸炎臨床表現型との相関を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本で急増している潰瘍性大腸炎は、その発症にかかわる遺伝因子が十分に解明されていない。ゲノムワイド相関解析（GWAS）により申請者らは先行研究で新たな日本人固有の潰瘍性大腸炎の疾患感受性遺伝子候補MIR622遺伝子を見出した。MIR622遺伝子がコードするmiR-622のようなMicro-RNAは、一般に標的遺伝子のmRNAを不安定化、翻訳抑制を行う。本研究ではMIR622遺伝子多型が遺伝子周囲のメチル化等に影響を与えmiR-622の発現に影響を与えると考え研究を進めたが、その仮説を裏付ける根拠は得られなかった。

研究成果の概要（英文）：To clarify the positioning of MIR622 as a susceptibility gene for ulcerative colitis, we conducted (1) correlation analysis by meta-analysis in East Asian races, (2) differential methylation around the MIR622 gene by alleles, (3) association between miR-622 and alleles in serum, (4) miR-622 in serum as a biomarker. As a result, we could not detect (1) as a significant correlation in the meta-analysis of East Asian races. (2) We were also unable to confirm significant differences in methylation around miR622 gene among alleles. (3) (4) Examination of miR-622 in serum showed no correlation with ulcerative colitis clinical phenotype.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：潰瘍性大腸炎 MIR622遺伝子 GWAS エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本で急増している潰瘍性大腸炎は欧米と比較し、その発症にかかわる遺伝要因が十分に解明されていない。潰瘍性大腸炎の発症にかかわる遺伝子解析 (GWAS) において、日本人に最適化した新しい手法での解析から、申請者は新たに MIR622 遺伝子上流に存在する一塩基多型 (SNP) の相関を発見した。この相関はこれまで欧米人を含め報告がなく新知見として報告した。MIR622 遺伝子がコードする miR-622 のような Micro-RNA は一般に標的遺伝子の mRNA を不安定化、翻訳抑制を行う。miR-622 の主要なターゲットとしてケモカイン受容体である CXCR4 が同定されている。CXCR4 は血球細胞に定常的に発現しており、白血球の遊走に関与している。腸管粘膜でも炎症の程度に伴って CXCR4 を高発現している IgG 産生形質細胞が増加していることが確認されている。この SNP は miR-622 のプロモーター領域の DNA メチル化およびヒストンメチル化領域の近傍に存在するため、miR-622 の発現に影響している可能性がある。過去に肝細胞で miR-622 のターゲット遺伝子として CXCR4 が報告されているが、CXCR4 陽性の形質細胞が潰瘍性大腸炎の腸管粘膜局所の炎症に応じて増加していることも報告されており、miR-622 発現低下から CXCR4 の発現が増加し潰瘍性大腸炎の発症に関与している、あるいはそのようなサブグループが存在する可能性がある。また、血清中の miR-622 が健康人と比較し潰瘍性大腸炎患者で増加していることも確認されたため、バイオマーカーとして役立つ可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、新規に同定された日本人固有の潰瘍性大腸炎感受性遺伝子候補である MIR622 遺伝子について (1) 東アジア人種でのメタ解析により相関の再現性を確認する、(2) MIR622 遺伝子周囲のメチル化にアレル間で差があるか確認する、(3) 血清中の miR-622 量とアレルとの関連の有無、(4) 血清中の miR-622 量と臨床表現型との関連を検索し、バイオマーカーとしての意義を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 東アジア人種でのメタ解析により相関解析

以下4つのコホートを対象に GWAS メタ解析を行った。

表 メタ解析に用いたコホート

Cohort	Site	Inflammatory bowel disease		Crohn's disease		Ulcerative colitis	
		Case	Control	Case	Control	Case	Control
EAST Asia	Total	14,393	15,456	7,372	15,456	6,862	15,456
SHA1	China	5,088	6,279	2,552	6,279	2,400	6,279
ICG1	Various*	2,735	3,724	1,611	3,724	1,124	3,724
KOR1	Korea	3,188	4,419	1,619	4,419	1,569	4,419
JPN1	Japan	3,382	1,034	1,590	1,034	1,769	1,034

*ICH1 includes individuals recruited from Hong Kong SAR, China, Korea, and Japan.

JPN1 サンプルはすべて Japonica Array V1 でタイピングを行った。メタ解析は METAL を用いて

行った。

(2) MIR622 遺伝子周囲のメチル化、ヒストン修飾の解析

解析対象は潰瘍性大腸炎患者 20 名。

DNA メチル化：MIR622 遺伝子転写開始位置の約 3.5kbp 上流の 14 の CpG 領域(図 1)についてバイサルファイトシーケンスを行いメチル化の状態を確認する。

ヒストンメチル化解析：DNA と結合するたんぱくを架橋し酵素処理によりクロマチンを断片化する。

Anti-Histone H3

(tri methyl K27)

抗体を用いて、免疫沈降を行う

脱架橋を行った

後に、DNA を精製

し、MIR622 遺伝子

上流に存在する

H3K27 メチル化が

報告されている

プロモーター領域の定量を行う。

以上の DNA メチル化解析とヒストンメチル化解析の定量結果をもとに、感受性 SNP のアリルによってメチル化に変化があるかを検討し、SNP が DNA メチル化・ヒストンメチル化に与える影響を調べる。

(3)(4) 血清中の miR-622 定量

解析対象は潰瘍性大腸炎患者 30 名。

定量 PCR を lightcycler 96 system[Roche, Basel, Switzerland]を用いて行った。各サンプルは triplicate で PCR 反応を行った。測定結果について、臨床的活動度、内視鏡的活動度、遺伝子型別で比較した。

4. 研究成果

(1) 東アジア人種でのメタ解析：東アジアにおける SHA1, ICG1, KOR1, JPN1 について MIR622 遺伝子領域について GWAS メタ解析を行ったが、潰瘍性大腸炎群において有意な相関はメタ解析では確認できなかった。(同じく炎症性腸疾患群、クローン病群においても有意な相関は確認できなかった)

(2) MIR622 遺伝子周囲のメチル化、ヒストン修飾の解析

14 ケ所の CpG 領域についてハプロタイプを確認した。主要なハプロタイプ 1、2、3 について解析を行った。疾患感受性 SNP と連鎖不平衡の強いハプロタイプ 1 と他のハプロタイプでメチル化率を比較したが、有意な差は確認できなかった。また同様にヒストンメチル化率について比較したが有意な差は確認できなかった。

(3)(4) 血清中の miR-622 定量

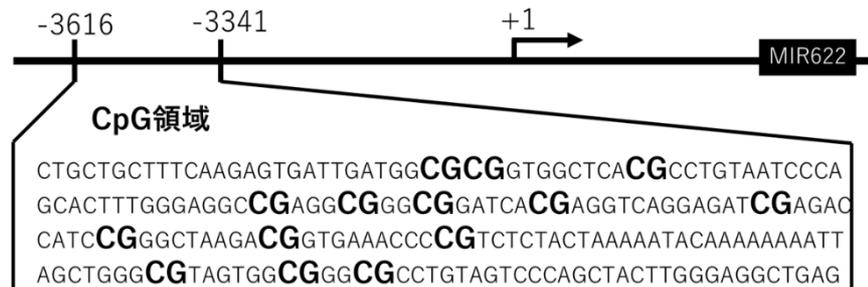


図 1. MIR622 遺伝子における 5' 領域の CpG 配列

図2に臨床的活動期と寛解期との比較を示した。予想に反して、両群において有意差を認めなかった。図3に内視鏡的活動度別の比較を示したが、同様にすべての群間で差を認めなかった。遺伝子型別においても有意差は認めなかった。

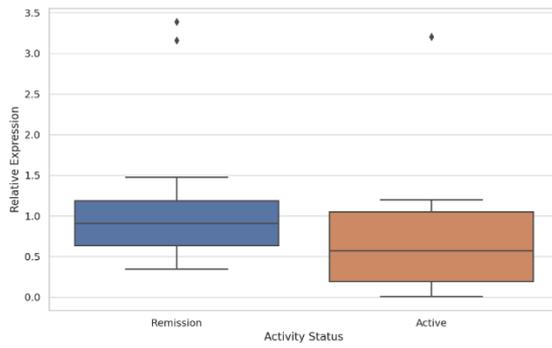


図2. 血清中mir622量—活動期vs寛解期

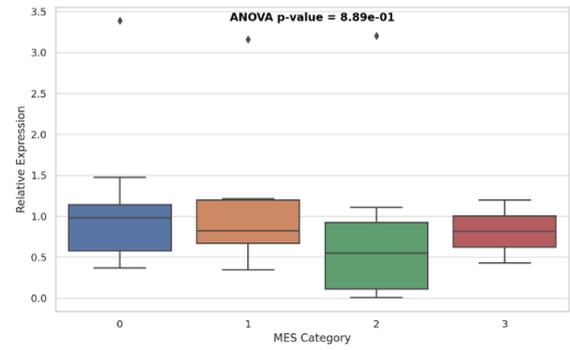


図3. 血清中mir622量—内視鏡的活動度別比較—

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Liu Z, Liu R, Gao H, Jung S, Gao X, Sun R, Liu X, Kim Y, Lee HS, Kawai Y, Nagasaki M, Umeno J, Tokunaga K, Kinouchi Y, et al	4. 巻 55
2. 論文標題 Genetic architecture of the inflammatory bowel diseases across East Asian and European ancestries	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nat Genet.	6. 最初と最後の頁 796-806
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41588-023-01384-0	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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	角田 洋一 (Kakuta Yoichi) (50509205)	東北大学・医学系研究科・講師 (11301)	

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
---------	---------