

Title	Regulation of intestinal homeostasis by the ulcerative colitis-associated gene RNF186
Author(s)	藤本, 康介
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61576
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	藤本 康介
論文題名 Title	Regulation of intestinal homeostasis by the ulcerative colitis-associated gene <i>RNF186</i> (潰瘍性大腸炎関連遺伝子 <i>RNF186</i> は腸管恒常性を制御する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>クローン病や潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患は若年で発症する慢性腸管炎症性疾患の一つであるが、根本的な治療法がなく、我が国では難病に指定されている。他の自己免疫疾患と同様に、遺伝的素因および環境要因の両者が相まって発症するとされるが、その発症メカニズムは未だ明らかではない。近年、次世代シーケンサーをはじめとしたゲノム解析ツールの飛躍的な進歩により、さまざまな疾患を対象としたゲノムワイド関連解析 (GWAS) が行われ、多数の一塩基多型 (SNPs) が同定された。元来、クローン病では、<i>NOD2</i>、<i>IL-10</i>、<i>IL-23R</i>などの免疫関連遺伝子との関係が強く示唆されてきたが、潰瘍性大腸炎に関しては、クローン病に比較し遺伝的素因の解明が進んでいないのが現状である。近年の炎症性腸疾患を対象とした研究から、炎症性腸疾患の発病原因として腸管バリア機構の破綻が一つのトピックスとなっている。他の臓器と異なり、食物や著しい数の微生物に絶えず曝露される腸管は、一層の腸管上皮細胞によって分け隔てられており、非常に重要なバリアを形成している。そのため、腸管上皮細胞の機能異常に伴いバリア機構が破綻すると、腸管炎症が惹起される可能性が高まる。そこで今回私たちは、炎症性腸疾患のGWAS関連遺伝子のうち、腸管上皮細胞に高発現する遺伝子RING-finger protein 186 (<i>RNF186</i>)に着目した。<i>RNF186</i>はRING-fingerタンパクの一つで、RING-fingerドメインを有し、E3ユビキチンリガーゼとして働くことが知られている。また、潰瘍性大腸炎患者ではRING-fingerドメイン内のミスセンス変異 (64番目のアラニンがスレオニンに変異: A64T変異) が同定されている。<i>RNF186</i>の腸管上皮細胞での機能および腸管炎症との関連は未知であることから、遺伝子改変マウスを作製し解析を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>マウスでは<i>Rnf186</i>が大腸上皮細胞に高発現することから、最初は大腸の透過性を検討したところ、<i>Rnf186</i>欠損マウスで小分子に対する透過性が亢進していることがわかった。そこで次に、大腸上皮細胞のタイトジャンクション関連分子を解析したところ、Occludinの発現パターンが変化しているだけでなく、Occludinは<i>RNF186</i>に結合し、K48経路のユビキチン化を受けることがわかった。さらに、LC-MS/MSを用いて野生型および<i>Rnf186</i>欠損マウスの大腸上皮細胞を網羅的に解析したところ、52個のタンパク質で有意な変化を認めた。その中から<i>RNF186</i>の基質を探索したところ、3つのタンパク質(signal recognition particle receptor, B subunit (SRPRB)、glucose-regulated protein, 78kDa (GRP78)、guanine nucleotide binding protein, beta polypeptide 2 (GNB2))が<i>RNF186</i>に直接結合し、ユビキチン化を受けるだけでなく、それらの分解に関わっていることが明らかとなった。<i>Rnf186</i>欠損マウスは腸炎を自然発症しないが、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)の投与によって激しい腸炎を呈し、DSS投与後の大腸上皮細胞ではERストレスの上昇と共に細胞死が誘導されることがわかった。A64T変異を有する<i>RNF186</i>を作製し、Occludinのユビキチン化を検討したところ、ユビキチン化が減弱したことから、同変異は<i>RNF186</i>の機能を低下させることがわかった。ヒトのA64T変異はマウスでは117番目のアラニンがスレオニンに変化する変異(A117T)に相当するため、A117Tノックインマウスを作製した。A117TノックインマウスにDSSを投与すると、野生型と比較して大腸上皮細胞のERストレスが上昇すると共に、腸炎が増悪した。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p><i>RNF186</i>は大腸上皮細胞に高発現しており、さまざまな基質タンパクをユビキチン化することで、その恒常性を制御している。<i>Rnf186</i>欠損マウスでは、基質タンパクの発現パターンが変化するだけでなく、DSSなどの強いストレス下では大腸上皮細胞のERストレスの上昇に伴う細胞死が腸管炎症のリスクを増大させる。さらに、A64T変異は<i>RNF186</i>の機能を低下させ、腸管炎症と関連していることが示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤本 康介	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 竹田 潔
	副 査 大阪大学教授 石井 優
	副 査 大阪大学教授 荒瀬 尚
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>クローン病や潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患は、ここ数十年で患者数が急増している難病の一つである。遺伝的素因および環境要因が相まって発症すると考えられているが、現在の治療法には限界があり、病態解明ならびに新規治療法の開発が急がれている。本論文では、潰瘍性大腸炎の遺伝的素因の解明を目的とし、近年のゲノムワイド関連解析 (GWAS) の結果に基づき、大腸上皮細胞に高発現するRING finger protein (<i>RNF186</i>) の解析を行った。<i>RNF186</i> はE3ユビキチンリガーゼとして機能し、新たにoccludinなど計4個の基質を同定した。作製した<i>Rnf186</i>欠損マウスは、大腸の透過性の亢進とともに、DSS投与により激しい腸炎を呈した。DSS投与により、大腸上皮細胞の小胞体ストレスの上昇および細胞死の増加が起こることで腸管炎症の増悪を来したと考える。さらに、潰瘍性大腸炎患者で同定されたA64T変異が<i>RNF186</i>の機能を低下させ、腸管炎症のリスクになり得ることを示した。以上より、本論文は学位論文に値する。</p>	