

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16113

研究課題名(和文)もやもや病における細胞・組織障害の実態解明

研究課題名(英文)Elucidation of Cellular and Tissue Damage in Moyamoya Disease

研究代表者

折井 みなみ(Orii, Minami)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：60792645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：もやもや病は日本を初めとする東アジア圏の子どもに多く見られる原因不明の難治性脳血管疾患である。大脳への主要な血液供給路である内頸動脈終末部の狭窄・閉塞により深刻な脳虚血・脳梗塞を生じる。

もやもや病の原因遺伝子産物であるミスチリン(別名RNF213)は運動性のATPアーゼ活性とタンパク質ユビキチン化活性を持つ巨大な細胞内タンパク質であり、細胞内の脂質貯蔵場所である脂肪滴に局在して脂肪滴の質・量制御に関わる。この機能がもやもや病患者変異により障害され、特徴的な凝集様構造体とそれに伴う細胞障害が生じること、およびこの構造体形成を起点として炎症が惹起される事を私たちは見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日中韓の東アジア圏の子どもに多く見られるもやもや病は、原因不明の脳血管疾患であり、深刻な脳虚血・脳梗塞や、それに伴う精神発達遅延などを生じる場合がある。さらに側副血行路として脆い新生毛細血管網が誘導され、これが成人以後の脳出血の原因となる。血管バイパス手術が有効ではあるが、現在までに根治療法は存在せず再発も起こりうる。研究代表者等による培養細胞、並びにマウス個体解析による一連の病態解明、メカニズム解明はもやもや病の根治療法に繋がる研究であり、学術的・社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Moyamoya disease (MMD) is a rare cerebrovascular disorder that occurs in all races but mostly in East Asians. Mysterin (also known as RNF213), the causative gene product of moyamoya disease, is a large intracellular protein with AAA+ ATPase activity and ubiquitin ligase activity. Mysterin localizes to lipid droplets and involved in controlling lipid droplets quality and quantity. This function is disrupted by moyamoya disease patient mutations, resulting in characteristic cellular defects.

研究分野：細胞生物学

キーワード：もやもや病 ミスチリン 脂肪滴

1. 研究開始当初の背景

もやもや病は日中韓の東アジア圏に頻発する原因不明の脳血管疾患である。大脳への血液供給路である内頸動脈の終末部において進行性・両側性の狭窄が起こり、脳血流低下や虚血、脳梗塞を生じる。それを解消するために側副血行路として脆い新生血管(もやもや血管)が誘導され、これが成人後の脳出血につながる(図1)。狭窄の原因、メカニズムは未だ不明であり根治療法も確立されていないため、対処療法として頭蓋切除による血管バイパス手術が行われる。しかしながら再発が多く小児患者の負担は特に大きい。

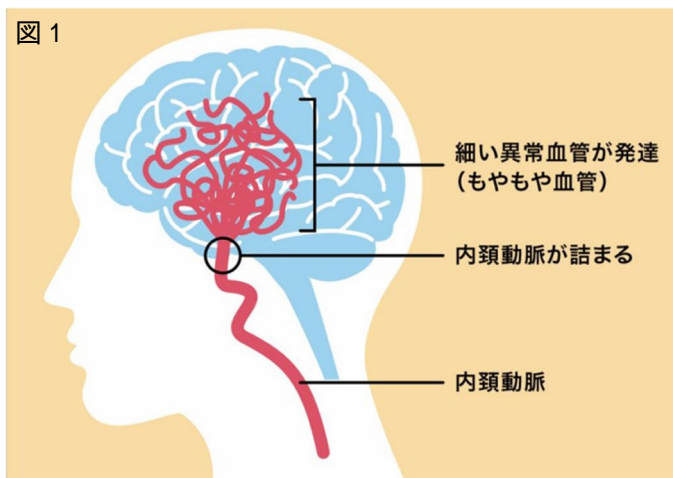


図1 もやもや病

大脳への主要な血液供給路である内頸動脈の終末部において狭窄・梗塞が起こり、代償的に新生血管(もやもや血管)が誘導される。このもやもや血管は脆く脳出血の原因となる。

もやもや病責任遺伝子ミスチリン(別名 RNF213)が細胞内の脂肪貯蔵庫である脂肪滴に局在し、脂質代謝に寄与すること、およびその機能がもやもや病患者変異によって著明に障害されることが最近報告されたことから(Sugihara et al., JCB, 2019)、この障害がもやもや病の病因を形成する実態であると考え、その詳細な研究を開始した。

2. 研究の目的

ミスチリンがいかに脂質代謝を制御するか、そのメカニズムを解明する。さらにもやもや病患者変異による細胞障害の実態を解明する。またミスチリンノックアウトマウスと野生型マウスの代謝に着目した比較を行うことでミスチリンの機能解明、病態解明に繋げる。

3. 研究の方法

野生型ミスチリン、および患者変異型ミスチリンの形成する構造体の細胞内挙動について、培養細胞に発現させ各種細胞内構造マーカーや機能マーカーを用いた免疫染色、および共焦点顕微鏡観察により詳細に観察した。さらにミスチリン発現細胞から得られた細胞内タンパク質を質量分析により解析しその変動を調べることでミスチリン発現における細胞内変動を解析した。また野生型マウスとミスチリンノックアウトマウスにおける各臓器の脂肪蓄積の差や血管における変化の探索を行った。

4. 研究成果

野生型ミスチリンは脂肪滴膜に局在し主要な脂質リパーゼ ATGL を脂肪滴から排除することで脂肪滴の質的・量的制御を行う。一方でもやもや病患者変異型ミスチリンは脂肪滴には局在せず、細胞内に特徴的な凝集様構造体を形成する(図2)。さらにミスチリンが細胞内に侵入したサルモネラ菌を取り囲み、サルモネラ菌をオートファジーによって除去すると同時に NFkB の活性化により炎症を惹起するという最近の報告(Otten, Elsje G et al., Nature, 2021)に基づき、NFkB 活性を調べたところ、この凝集様構造を起点として炎症性反応が惹起されることが明らかになった。またそれに伴って、細胞内の特定の代謝システムに著明な障害が起こることも明らかにした。さらにその機能障害がミスチリンの運動性 ATPase ドメイン部分の変異により消失することも見出した。もやもや病の発病に炎症が関与する可能性が指摘されており、従って、この発見はもやもや病の発病機序と深く結びついている可能性がある。より詳細に今後検討していく予定である。

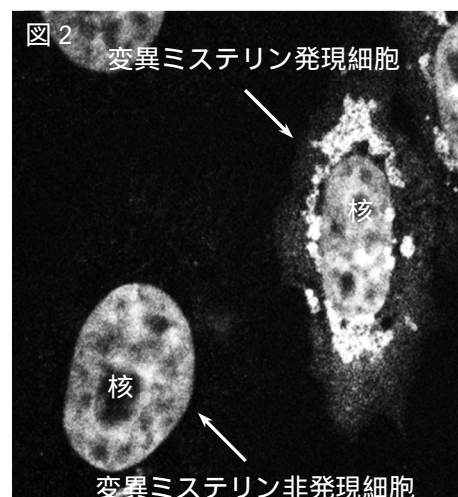


図2 変異ミスチリンは脂肪滴には局在せず、凝集構造体を形成する。

加えて脂肪代謝およびその障害がもやもや病発症に与える影響を調べるため、ミスチリンノックアウトマウスと野生型マウスを通常給餌と高脂肪食給餌により飼育し、各臓器や皮

下脂肪蓄積、代謝を比較したところ、従来報告されている結果とは異なる結果を得た。上記培養細胞における結果と併せて、今後より詳細な観察を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 森戸大介、折井みなみ	4. 巻 57
2. 論文標題 もやもや病の分子病態をめぐる幾つかの論点	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本応用酵素協会誌	6. 最初と最後の頁 19-26
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 1件）

1. 発表者名 志摩喬之、川間敬裕、塩見由麻、増山佐弥子、折井みなみ、森戸大介、久万亜紀子、吉森保
2. 発表標題 損傷リソソーム特異的オートファジーにおけるミステリンの役割
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akiko Kuma, Takayuki Shima, Takahiro Kawama, Sayako Masuyama, Yuma Shiomi, Minami Orii, Daisuke Morito, Tamotsu Yoshimori
2. 発表標題 The role of mysterin/RNF213 in lysophagy
3. 学会等名 The 10th International Symposium Autophagy（国際学会）
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
---------	---------