

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659642

研究課題名(和文)もやもや病におけるFoxp3陽性制御型T細胞の役割についての検討

研究課題名(英文)Role of Foxp3-positive regulatory T cells in moyamoya disease

研究代表者

藤村 幹 (FUJIMURA, Miki)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00361098

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：もやもや病は両側内頸動脈終末部狭窄と異常血管網発達を呈する原因不明の疾患である。制御型T細胞(Regulatory T cell:Treg)を介した免疫応答の役割を検証した。患者末梢血におけるFoxp3陽性TregをFluorescence activated cell sortingにて健常人と比較し、もやもや病患者においてはFoxp3陽性Tregは低値であることを確認した。疾患感受性遺伝子RNF213遺伝子欠損マウスを用いてFoxp3陽性Tregの発現動態を野生型と比較したが差は認めなかった。もやもや病においてTregを介した免疫応答・自己免疫が役割を演じている可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Moyamoya disease is characterized by a progressive stenosis at the terminal portion of the internal carotid artery and an abnormal vascular network at the base of the brain. We investigated the role of regulatory T-cell (Treg) in the patho-physiology of moyamoya disease. Result showed that number of Foxp3-positive Treg was significantly lower in patients with moyamoya disease compared to normal control. We also compared the expression of Foxp3-positive Treg between mice lacking RNF213 (susceptibility gene for moyamoya disease) and wild-type mice, but there was no significant difference. These results suggested that autoimmune response mediated by Treg may play a role in the patho-physiology of moyamoya disease.

研究分野：脳神経外科学

科研費の分科・細目：脳血管障害

キーワード：moyamoya disease immunity regulatory T cell Foxp3 autoimmune response

### 1. 研究開始当初の背景

もやもや病は両側内頸動脈終末部の進行性狭窄と異常血管網発達を特徴とする原因不明の疾患である。遺伝的要因に加えて、感染、自己免疫、放射線照射などの環境要因の関与が示唆されてきたがその詳細は不明である。近年、自己免疫疾患である Graves 病ともやもや病の両病態が高頻度で合併することが東アジア人のもやもや病患者において報告され、もやもや病の病因の1つとしての自己免疫の関与が再注目されているがその詳細は不明である。

### 2. 研究の目的

全身の自己免疫疾患のみならず脳虚血の病態への関与が近年報告されている制御型 T 細胞 (Regulatory T cell: Treg) に着目し、もやもや病の病態における Treg を介した免疫応答・自己免疫の役割解明を目的に研究を行った。

### 3. 研究の方法

初めに、もやもや病患者末梢血における Treg の発現動態を検証するために、Treg のマーカーである Foxp3 に着目し、Foxp3 陽性 Treg について Fluorescence activated cell sorting (FACS) 解析にて健常人と比較検討を行った。

次に、もやもや病における疾患感受性遺伝子である RNF213 の遺伝子欠損マウスを用いた検討を行った。マウスの脾臓を検体として用い、Foxp3 陽性 Treg について FACS 解析にて野生型マウスと比較検討した。さらに炎症惹起物質である muramyl dipeptide (MDP) をマウスに静脈内投与し、その後脾臓を検体として摘出、Foxp3 陽性 Treg について FACS 解析にて野生型マウスと比較検討した。中枢神経における発現については MDP 静脈内投与後の脳組織の免疫組織染色を行い Foxp3 陽性 Treg の発現動態を

検証した。

### 4. 研究成果

もやもや病患者末梢血における Foxp3 陽性 Treg についての FACS 解析による健常人と比較では、もやもや病患者においては健常人と比較して Foxp3 陽性 Treg は低値であることが確認された。

遺伝子変異マウスを用いた検討の結果としては RNF213 遺伝子欠損マウス、野生型マウスともに Foxp3 陽性細胞は (CD4 陽性細胞の約 21% と両群で差を認めなかった。MDP 静脈内投与後についても FACS 解析による Foxp3 陽性 Treg 比率に両群間で差を認めなかった。免疫組織染色については脳実質への Foxp3 陽性細胞の遊走の程度について、RNF213 遺伝子欠損マウスにおいては野生型と比較して遊走細胞が少ない傾向があった。

以上より、もやもや病患者における Foxp3 陽性 Treg を介した免疫応答は、RNF213 疾患感受性遺伝子以外の要因も関与していることが示唆された。またマウスとヒトにおける RNF213 遺伝子の役割が異なっている可能性も考えられた。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

- (1) Fujimura M, Sonobe S, Nishijima Y, Niizuma K, Sakata H, Kure S, Tominaga T: Genetics and Biomarkers of Moyamoya Disease: Significance of RNF213 as a susceptibility gene. **J Stroke** (in press), 2014 (査読あり)
- (2) Sonobe S, Fujimura M, Niizuma K, Nishijima Y, Ito A, Shimizu H, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Kure S, Tominaga T: Temporal profile of the vascular anatomy

- evaluated by 9.4-tesla magnetic resonance angiography and histopathological analysis in mice lacking RNF213; a susceptibility gene for moyamoya disease. **Brain Res** 1552: 64-71, 2014. doi: 10.1016/j.brainres.2014.01.011. (査読あり)
- (3) Fujimura M, Niizuma K, Inoue T, Sato K, Endo H, Shimizu H, Tominaga T: Minocycline prevents focal neurologic deterioration due to cerebral hyperperfusion after extracranial-intracranial bypass for moyamoya disease. **Neurosurgery** 74: 163-170, 2014. doi: 10.1227/NEU.0000000000000238. (査読あり)
- (4) Fujimura M, Kimura N, Ezura M, Niizuma K, Uenohara H, Tominaga T. Development of de novo arteriovenous malformation after bilateral revascularization surgery in a child with moyamoya disease -Case report-. **J Neurosurg Pediatr** 2014 Apr 18 [Epub ahead of print] (査読あり)
- (5) Fujimura M, Akagi K, Uenohara H, Tominaga T: Moyamoya Disease in Pregnancy: A Single Institute Experience. **Neurol Med Chir (Tokyo)** 53: 561-564, 2013 (査読あり)
- (6) Fujimura M, Inoue T, Shimizu H, Saito A, Mugikura S, Tominaga T: Efficacy of prophylactic blood pressure lowering according to a standardized postoperative management protocol to prevent symptomatic cerebral hyperperfusion after direct revascularization surgery for moyamoya disease. **Cerebrovasc Dis** 33: 436-445, 2012. doi: 10.1159/000336765. (査読あり)
- (7) Fujimura M, Tominaga T: Lessons Learned From Moyamoya Disease: Outcome of Direct/Indirect Revascularization Surgery For 150 Affected Hemispheres. **Neurol Med Chir (Tokyo)** 52: 327-332, 2012 (査読あり)
- (8) Shimoda Y, Fujimura M, Inoue T, Shimizu H, Tominaga T: Temporal Profile of De Novo Development of Moyamoya Vasculopathy in an Adult-Case Report. **Neurol Med Chir (Tokyo)** 52: 339-342, 2012 (査読あり)
- (9) 藤村幹、上之原広司、冨永悌二: もやもや病に対する頭蓋外内血行再建術における生体吸収性プレート/チタンプレートのハイブリッド使用による頭蓋骨形成. **脳神経外科ジャーナル** 2014 (査読あり)
- (10) 藤村幹、清水宏明、井上敬、新妻邦泰、冨永悌二: 60歳以上の高齢もやもや病患者に対する血行再建術：周術期過灌流に注目して. **脳卒中の外科** 2014 (査読あり)
- (11) 藤村幹、冨永悌二: もやもや病の研究課題. **脳神経外科ジャーナル** 22: 695-698, 2013 (査読あり)
- (12) 佐々木貴史、藤村幹、赤松洋祐、木村尚人、江面正幸、上之原広司、明城光三、冨永悌二. 周産期に進行性脳梗塞にて発症し両側頭蓋外内血行再建術を行ったもやもや病合併妊娠の1例. **脳神経外科** 40: 1095-1099, 2012 (査読あり)
- [学会発表](計8件)
- (1) 藤村幹、冨永悌二. もやもや病：血行再建術の適応と問題点 (教育講演：第39回日本脳卒中学会) 2014.3.15, 大阪
- (2) 藤村幹、冨永悌二. もやもや病に対するバイパス術後 過灌流に対する予防的降圧とミノサイクリンによる周術期管理の有用性. 第43回日本脳卒中の外科学会. 2014.3.13

- (3) 藤村幹、富永悌二. もやもや病に対する血行再建術:周術期過灌流の診断と治療. **第37回日本脳神経 CI学会総会**. 2014.3.1. 大宮
- (4) 藤村幹、富永悌二. もやもや病に対する頭蓋外内血行再建術前後の吻合部局所 CBF 変化と過灌流症候群の関連. **第25回日本脳循環代謝学会総会**. 2013.12.2.札幌
- (5) Fujimura M, Kure S, Tominaga T. Genetics and biomarkers of moyamoya disease. (**Special lecture; invited, 2013 Moyamoya disease symposium, Samsung Medical Center**) 2013.7.6. Seoul, Korea
- (6) Fujimura M, Tominaga T. Minocycline prevents transient focal neurologic deterioration due to cerebral hyperperfusion after EC-IC bypass for moyamoya disease. **Oral presentation, Congress of Neurological Surgeons USA**. 2012.10.8 Chicago, USA
- (7) Fujimura M, Tominaga T. Natural history and genetics of adult moyamoya. (**Symposium, The 11<sup>th</sup> Japanese-Korean Friendship Conference on Surgery for Cerebral Stroke**). 2012.9.15 Seoul, Korea
- (8) 藤村幹、富永悌二. もやもや病の研究課題. (Plenary session. **第32回日本脳神経外科コンgres総会**) 2012.5.13 横浜

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

- (1)研究代表者 藤村 幹 (FUJIMURA, Miki)  
東北大学・医学系研究科・准教授  
研究者番号: 00361098
- (2)研究分担者 富永 悌二 (TOMINAGA, Teiji)  
東北大学・医学系研究科・教授  
研究者番号: 00217548
- (3)研究分担者 藤村 卓 (FUJIMURA, Taku)  
東北大学・医学系研究科・助教  
研究者番号: 50396496