

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04871

研究課題名(和文) もやもや病感受性遺伝子RNF213が関連する頭蓋内病変スペクトラムと発症予測

研究課題名(英文) RNF213 gene related intracranial findings and risk evaluation for moyamoya disease

研究代表者

呉 繁夫 (Kure, Shigeo)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10205221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：もやもや病感受性変異である、RNF213遺伝子のc.14576G>A変異を持つもやもや病未発症の頭部MRI/MRA所見を検討した。東北メディカル・メガバンク計画のコホート登録者のうち、頭部MRI/MRA検査を受けた参加者の中で変異陽性群と変異陰性群とを比較し、変異陽性群に比較的特徴的なMRI所見を複数見出した。現在、脳各部の体積の測定と群間比較を行っている。群間で違いが見出された所見については、発症リスク予測への応用の可能性を検討している。血漿メタボローム解析では、現在までのところ、遺伝子変異陽性群と陰性群を比べ、血中濃度に有意差がある代謝物は見出していない。

研究成果の概要(英文)：Tohoku Medical Megabank has started screening program of brain MRI findings in its resident cohort. In this study we compared brain MRI/MRA findings of two participant groups that have the c.14576G>A-mutation or not, a Moyamoya disease related mutation in RNF213. Several findings specific to the mutation-positive group were identified. Volumes of various brain regions were measured, which were subject to statistical analysis for significant difference between the two groups. No metabolite has been identified to date, which plasma level differs significantly between the mutation-positive and negative groups.

研究分野：小児科学

キーワード：もやもや病 RNF213遺伝子変異 頭部MRI/MRA検査 東北メディカル・メガバンク

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閉塞と異常側副血管網形成による脳虚血・出血を特徴とする疾患で、約半数は幼児期・学童期の発症である。本症は我が国で疾患概念が確立し、発症頻度も高く、特定疾患（難病）に指定されている。現在の治療は、脳動脈再建術手術であり、虚血による神経障害の改善に有効性が確立している。脳卒中発作の前に診断し、早期介入すれば、神経学的予後は向上すると考えられる。実際に、脳ドック等で診断される無症候性もやもや病の治療予後は良い。

申請者らは、全ゲノム関連解析により17番染色体に存在する RNF213 がもやもや病感受性遺伝子であることを明らかにした (Kamada F, J Hum Genet, 2011)。更に、RNF213 遺伝子解析により患者の73%に共通な創始者変異(多型) c.14576G>A を見出し、この変異を持つことで発症リスクが190倍に上昇する事を報告し、もやもや病の発症リスクを予測する遺伝子検査に関する特許を保有している(特開 2010-259390)。多数の RNF213 遺伝子変異を解析した結果、この高頻度創始者変異 c.14576G>A のホモ接合体はヘテロ接合体に比べ、4歳未満の早期発症者が多く、一過性脳虚血発作(TIA)よりも重篤となる梗塞で発症する症例が多く、予後に関連することを示した (Miyatake S, Neurology 2012)。

もやもや病の臨床診断学および臨床遺伝学上、未解決のまま残されている重要な問題は次の3点である。

(1) RNF213 遺伝子 c.14576G>A 変異の関連する頭蓋内病変の全容が不明

c.14576G>A 変異は典型的な両側性もやもや病、片側性もやもや病、無症候性もやもや病に加え、最近、毛細血管新生を伴わない頭蓋内主幹動脈狭窄との関連も報告され、他の血管病変との関連も示唆されている。

(2) c.14576G>A 変異が関連する頭蓋内血管病変の浸透率が不明

もやもや病の有病率は2~3万人あたり1人であるのに対し、c.14576G>A 変異は一般集団で約1.5%存在するため、もやもや病発症の浸透率はかなり低いと考えられる。無症候性もやもや病、毛細血管新生を伴わない頭蓋内主幹動脈狭窄症、などの他の血管病変の浸透率は全く不明である。

(3) 個人レベルでの発症前診断に有用なバイオマーカーが未確立

c.14576G>A 変異の有無によりハイリスク集団を特定できるが、それ以上の絞り込みは現時点では不可能である。遺伝子変異陽性者の中で、更に血管病変への高いリスクを持つ個体の同定を可能にする、確度の高い発症前診断法の開発が望まれる。

2. 研究の目的

本研究では、もやもや病を発症していない一般集団に存在する c.14576G>A 変異保有者の頭部 MRI や MR アンギオグラフィー(MRA)の解析により、頭蓋内血管病変の同定、発症前予測への有用性の検討、また、血症メタボローム解析によるバイオマーカーを探索し、RNF213 遺伝子検査、頭部 MRI/MRA 所見、血中バイオマーカー濃度を組み合わせることにより、単独の検査より、高効率で確度の高い発症リスク予測法の構築を目的としている。

3. 研究の方法

(1) c.14576G>A 変異保有者の頭部 MRI/MRA 検査による頭蓋内血管病変の種類と浸透率の解明

東北メディカル・メガバンク計画は、東北地方の総計15万人の住民を対象とした日本で最大級の前向き住民コホートを有し、成人を対象とした地域住民コホートと3世代の家族を含む三世代コホートの2種類のコホートから構成されている。地域住民コホート調査において、希望者には頭部 MRI/MRA 検査を高解像度(3テスラ)MR装置を用いて実施するプロジェクトが進行し、多くの参加者の頭部 MRI/MRA 検査結果が集積している。

この MRI/MRA の撮像が終了している参加者の RNF213 遺伝子内の c.14576G>A 変異の有無を遺伝子検査にて明らかにする。c.14576G>A 変異((rs112735431)の検索プロンプトは、東北メディカル・メガバンクで作成したジャポニカ・アレイ(V0.2)に既に搭載されており、このジャポニカ・アレイ V0.2 を用いたゲノム解析が既に3万名で終了している。MRI/MRA 撮像終了者のうちジャポニカ・アレイ V0.2 のゲノム解析が終了して、c.14576G>A 変異のヘテロ接合体またはホモ接合体を合わせて変異陽性群とする。また、MRI/MRA 撮像終了者のうち変異陰性者を変異陽性群として、解析を行った。

遺伝子変異陽性群と陰性群で、MRI/MRA 所見の検討を行い、各群に特徴的な所見を見出すと共に、脳の各部位の体積を測定し、両群で比較検討を行う。

(倫理的配慮)

東北メディカル・メガバンクのコホート参加者の遺伝子検索は東北大学倫理員会で承認され、コホート研究への参加に関するインフォームド・コンセントは登録時に書面で取得されている。(「東北メディカル・メガバンク機構 バイオバンク構築」東北大学倫理員会承認番号 2014-1-15)

(2) もやもや病家族の血漿バイオマーカーの検索

東北メディカル・メガバンクのメタボロー

ム解析を東北メディカル・メガバンク機構のオミックス解析室で実施した。メタボローム解析は、NMR を用いた代謝物の同定・定量の解析が進行しており、既に 5000 名の参加者の血漿メタボローム解析のプロファイルが集積している。こちらも、c.14576G>A 変異陽性群と陰性群との間で、血中濃度が異なる代謝物のリストを作成し、その代謝物の発症リスク予測に関するバイオマーカーとしての有用性を検討する。

4. 研究成果

東北メディカル・メガバンク計画の地域住民コホート登録者のうち、高解像度 (3 テスラ) MR 装置を用いた頭部 MRI/MRA 検査を受けた参加者が既に 7000 名を越えており、この中でゲノム解析が終了し、RNF213 遺伝子の c.14576G>A 変異陽性者であることが判明している対象者が 42 名存在した。一方、c.14576G>A 変異を持たない同数のコホート参加者を対照として、両群の頭部 MRI 所見の比較検討を行った。

c.14576G>A 変異陽性群に比較的多く認められる MRI/MRA 所見として、基底核に認められる flow void 所見、および脳表に認められる ivy sign、を見出し変異陽性者に特徴的な MRI/MRA 所見のリストを作成した。現在、もやもや病発症者の MRI/MRA 所見を比較検討して発症予知に有用な所見の同定を行っている。現在までのところ、遺伝子変異陽性群と陰性群を比べ、血中濃度に有意差がある代謝物は同定できない。

本研究では、c.14576G>A 変異陽性群で頭部 MRI/MRA 所見の検索を実施し、特徴的所見を持つ変異保有者を見出した。これらの所見が、RNF213 遺伝子検査と併用することで、将来の異常血管の発生の予知に有用かどうかの検討行っていく必要がある。

患者では、高解像度 MRI 検査で、終末部の内頸動脈壁の concentric enhancement や中大脳動脈の縮小を認めるとの報告 (Stroke, 2014;45:2457-2460) があるため、変異陽性群でこの所見の検索を行ったが、現在のところこの所見を持つ変異陽性者は見出されていない。また、脳の各部位の体積の測定結果は、遺伝子変異陽性群と陰性群との比較検討を実施している。

変異保有者の血症メタボローム解析データも集積しており、RNF213 遺伝子検査、頭部 MRI 所見、メタボローム解析結果の三者を組合せ、単独では十分な予測性能の向上が見込めない場合でも、複数の解析結果を組み合わせることで、効率的で確度の高い発症前予測法へと進展する可能性を検討している。

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 10 件)

1. Koshiba S, Motoike I, Saigusa D, Inoue J, Shirota M, Katoh Y, Katsuoka F, Danjoh I, Hozawa A, Kuriyama S, Minegishi N, Nagasaki M, Takai-Igarashi T, Ogishima S, Fuse N, Kure S, Tamiya G, Tanabe O, Yasuda J, Kinoshita K, Yamamoto M. Omics research project on prospective cohort studies from the Tohoku Medical Megabank Project. Genes Cells (査読有) 2018 Apr 27. doi: 10.1111/gtc.12588.
2. Yamaguchi-Kabata Y, Yasuda J, Tanabe O, Suzuki Y, Kawame H, Fuse N, Nagasaki M, Kawai Y, Kojima K, Katsuoka F, Saito S, Danjoh I, Motoike IN, Yamashita R, Koshiba S, Saigusa D, Tamiya G, Kure S, Yaegashi N, Kawaguchi Y, Nagami F, Kuriyama S, Sugawara J, Minegishi N, Hozawa A, Ogishima S, Kiyomoto H, Takai-Igarashi T; ToMMo Study Group, Kinoshita K, Yamamoto M. Evaluation of reported pathogenic variants and their frequencies in a Japanese population based on a whole-genome reference panel of 2049 individuals. J Hum Genet. (査読有) 2018 Feb;63(2):213-230. doi:10.1038/s10038-017-0347-1.
3. Tanaka R, Takahashi S, Okano S, Okayama A, Suzuki N, Kure S, Azuma H. Evolution into moyamoya disease in an infant with internal carotid artery aneurysms. eNeurologicalSci. (査読有) 2017 Jan 31;6:80-82. doi:10.1016/j.ensci.2017.01.002.
4. Koshiba S, Motoike I, Kojima K, Hasegawa T, Shirota M, Saito T, Saigusa D, Danjoh I, Katsuoka F, Ogishima S, Kawai Y, Yamaguchi-Kabata Y, Sakurai M, Hirano S, Nakata J, Motohashi H, Hozawa A, Kuriyama S, Minegishi N, Nagasaki M, Takai-Igarashi T, Fuse N, Kiyomoto H, Sugawara J, Suzuki Y, Kure S, Yaegashi N, Tanabe O, Kinoshita K, Yasuda J, Yamamoto M. The structural origin of metabolic quantitative diversity. Sci Rep. (査読有) 2016 Aug 16;6:31463. doi: 10.1038/srep31463.
5. Kanoke A, Fujimura M, Niizuma K,

- Fujimura T, Kakizaki A, Ito A, Sakata H, Sato-Maeda M, Kure S, Tominaga T. Temporal profile of magnetic resonance angiography and decreased ratio of regulatory T cells after immunological adjuvant administration to mice lacking RNF213, a susceptibility gene for moyamoya disease. *Brain Res.* (査読有) 2016 Jul 1;1642:1-9. doi:10.1016/j.brainres.2016.03.009.
6. Kuriyama S, Yaegashi N, Nagami F, Arai T, Kawaguchi Y, Osumi N, Sakaida M, Suzuki Y, Nakayama K, Hashizume H, Tamiya G, Kawame H, Suzuki K, Hozawa A, Nakaya N, Kikuya M, Metoki H, Tsuji I, Fuse N, Kiyomoto H, Sugawara J, Tsuboi A, Egawa S, Ito K, Chida K, Ishii T, Tomita H, Taki Y, Minegishi N, Ishii N, Yasuda J, Igarashi K, Shimizu R, Nagasaki M, Koshihara S, Kinoshita K, Ogishima S, Takai-Igarashi T, Tominaga T, Tanabe O, Ohuchi N, Shimosegawa T, Kure S, Tanaka H, Ito S, Hitomi J, Tanno K, Nakamura M, Ogasawara K, Kobayashi S, Sakata K, Satoh M, Shimizu A, Sasaki M, Endo R, Sobue K, Tohoku Medical Megabank Project Study Group T, Yamamoto M. The Tohoku Medical Megabank Project: Design and Mission. *J Epidemiol.* (査読有) 2016 Sep 5;26(9):493-511. doi:10.2188/jea.JE20150268.
7. Kanoke A, Fujimura M, Niizuma K, Ito A, Sakata H, Sato-Maeda M, Morita-Fujimura Y, Kure S, Tominaga T. Temporal profile of the vascular anatomy evaluated by 9.4-tesla magnetic resonance angiography and histological analysis in mice with the R4859K mutation of RNF213, the susceptibility gene for moyamoya disease. *Brain Res.* (査読有) 2015 Oct 22;1624:497-505. doi:10.1016/j.brainres.2015.07.039.
8. Inoue T, Murakami N, Sakadume S, Kido Y, Kikuchi A, Ichinoi N, Suzuki K, Kure S, Sakuta R. Differing phenotypes of Moyamoya disease in a familial case involving heterozygous c.14429G > A variant in RNF213. *Pediatr Int.* (査読有) 2015 Aug;57(4):798-801. doi:10.1111/ped.12689.
9. Nagasaki M, Yasuda J, Katsuoka F, Nariai N, Kojima K, Kawai Y, Yamaguchi-Kabata Y, Yokozawa J, Danjoh I, Saito S, Sato Y, Mimori T, Tsuda K, Saito R, Pan X, Nishikawa S, Ito S, Kuroki Y, Tanabe O, Fuse N, Kuriyama S, Kiyomoto H, Hozawa A, Minegishi N, Douglas Engel J, Kinoshita K, Kure S, Yaegashi N; ToMMo Japanese Reference Panel Project, Yamamoto M. Rare variant discovery by deep whole-genome sequencing of 1,070 Japanese individuals. *Nat Commun.* (査読有) 2015 Aug 21;6:8018. doi:10.1038/ncomms9018.
10. Ito A, Fujimura M, Niizuma K, Kanoke A, Sakata H, Morita-Fujimura Y, Kikuchi A, Kure S, Tominaga T. Enhanced post-ischemic angiogenesis in mice lacking RNF213; a susceptibility gene for moyamoya disease. *Brain Res.* (査読有) 2015 Jan 12;1594:310-20. doi:10.1016/j.brainres.2014.11.014.
- [学会発表](計0件)
- [図書](計1件)
1. Kure S. Future clinical perspective on RNF213 in Moyamoya disease in “Moyamoya Disease Explored through RNF213” (Ed. Koizumi A, Nagata K, Houkin K, Tominaga T, Miyamoto S, Kure S, Tournier-Lasserre E). pp179-185 in pp185. Springer, Tokyo, 2017
- [産業財産権]
- 出願状況(計0件)
- なし
- 名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:
- 取得状況(計0件)
- なし
- 名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

呉 繁夫 (SHIGEO KURE)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：10205221

(2)研究分担者

富永 悌二 (TEIJI TOMINAGA)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：00217548

(3)研究分担者

田邊 修 (OSAMU TANABE)
東北大学・東北メディカル・メガバンク機
構・教授
研究者番号：70221398

(4)連携研究者

瀧 靖之 (YASUYUKI TAKI)
東北大学・加齢医学研究所・教授
研究者番号：10375115