

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19963

研究課題名(和文)もやもや病の環境および遺伝因子の特定と早期診断法の確立

研究課題名(英文) Identification of genetic and environmental risk factors for moyamoya disease

研究代表者

峰晴 陽平 (MINEHARU, Yohei)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：50716602

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)：本研究では、RNF213遺伝子R4810K変異の臨床的意義の検討、RNF213以外の遺伝因子の特定、環境因子の特定を目標とした。まず、R4810K変異が類もやもや病や冠動脈疾患と関連することを示した。また、もやもや病患者の家族において、R4810K保因者の4人に1人が脳血管狭窄を発症することを報告し、スクリーニング検査に使用しうることを示した。R4810K変異を持たない患者で全ゲノムシーケンスを行い、候補遺伝子群を同定した。環境因子の特定については、片側もやもや病の進行に関わる環境因子を特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

もやもや病は日本人を含めた東アジアに多い脳血管の病気です。もやもや病の原因遺伝子として我々が特定したRNF213遺伝子のR4810K変異は、もやもや病以外の脳血管障害のリスクにもなっていることが分かってきました。本研究により、R4810K変異が頭蓋内血管のみならず、冠動脈など頭蓋外の血管狭窄にも関わっていることを明らかにしました。もやもや病発症には、RNF213遺伝子変異以外の要因も大切であることが分かっており、本研究を通じて、別の候補遺伝子を特定することに成功しました。また、環境要因の一つを明らかにすることもでき、今後病気の全容解明に繋がれると期待されます。

研究成果の概要(英文)：We aimed to determine the significance of the R4810K mutation in RNF213 gene in clinical settings. We also aimed to identify genetic factors other than RNF213 and environmental risk factors for moyamoya disease. First, we found that the R4810K mutation was associated not only with moyamoya disease but moyamoya syndrome or coronary artery disease. For family members of patients with moyamoya disease, carrier of the R4810K mutation had high risk of cerebrovascular disease as one of four carriers had stenocclusive lesions. Whole genome sequencing of patients without the R4810K mutation identified several candidate genes for moyamoya disease. As for environmental risk factors, we found the non-genetic factor which was associated with disease progression of unilateral moyamoya disease.

研究分野：neurosurgery

キーワード：moyamoya disease genetics environmental risk cerebrovascular disease atherosclerosis coronary artery disease

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

もやもや病は原因不明の閉塞性血管障害である。幼児から大人まで幅広い年齢層で脳梗塞や脳出血を引き起こし、重篤な運動感覚障害や知能障害を残す。病気の進行を抑制する根本的な治療は存在せず、新しい予防治療法の開発が必要である。

我々は、過去に RNF213 遺伝子がもやもや病の主要な感受性遺伝子であることを世界に先駆けて報告した。R4810K 変異は、もやもや病のみならず、中大脳動脈狭窄など別の脳血管障害にも関連しており、同変異に起因する血管障害の病態を明らかにする意義は大きい。一方で、R4810K 変異の浸透率は不完全であり、変異があっても発症しないキャリアが存在し、別の遺伝的要因または環境因子が発症に関与していると考えられる。疾患の病態の全容を解明し、発症前診断や新規予防治療を開発するには、これらの因子の特定が不可欠である。

2. 研究の目的

本研究は、もやもや病の遺伝因子と環境因子の全容を解明することを目的とし、RNF213 遺伝子の R4810K 変異の臨床的意義の検討、②RNF213 以外の遺伝因子の特定、③環境因子の特定を課題として掲げた。

3. 研究の方法

多角的アプローチを用いて、閉塞性脳血管障害の病態解明および治療法の開発を行う。

R4810K の臨床的意義の検討：もやもや病の患者の家族について、R4810K の genotyping を行い、MRI スクリーニングとフォローの MRI 検査を行った。類もやもや病、冠動脈疾患と R4810K の関連についても分析した。

RNF213 以外の遺伝因子：Extreme case control analysis により、RNF213 の修飾遺伝因子を特定する。また、全ゲノムシーケンスと全ゲノムメチル化解析を用いて、RNF213 以外の遺伝因子の特定を目指した。

環境因子：片側もやもや病の進行例について、R4810K との関連、環境因子との関連を調べ、病期の進行に関わる因子の特定を目指した。

iPS 研究：患者由来の iPS 細胞から分化させた内皮細胞および平滑筋細胞を用いて疾患モデルを確立する。

4. 研究成果

RNF213 の R4810K 変異については、Down 症候群、NF1 などの基礎疾患を背景にしてもやもや病と同様の血管狭窄を示す類もやもや病においても関連することを示した (Morimoto et al. J Stroke Cerebrovasc Dis 2016)。このことから、NF1 遺伝子などが RNF213 遺伝子変異と相互作用して発症を促進することが示唆され、発症メカニズムの解明のきっかけになると期待される。

R4810K の臨床的意義については、もやもや病家族において、R4810K 変異をスクリーニングすることで、家族の脳血管狭窄の発症を予測できる可能性があることを示した (Matsuda et al. J Stroke Cerebrovasc Dis 2017)。具体的には、R4810K 保因者の 4 人に 1 人が脳血管狭窄を発症し、逆に変異を持たない者は 1 名も発症しなかった。

RNF213 以外の遺伝因子については、RNF213 の R4810K 変異を持たない患者 14 名について、全ゲノムシーケンス解析を行い、関連する候補遺伝子群を同定した。また、一卵性双生児において表現型不一致を示す 2 姉妹を含む 6 組の sib pair で全ゲノムメチル化解析を行い、遺伝子変異以外の要因についても検索を進め、候補となる遺伝因子を特定した。現在、その裏付けとなる解析を進めている。ゲノム情報とエピゲノム情報を統合することで、病態の解明に近づけると考えている。

環境因子の特定については、片側もやもや病の進行に関わる環境因子を特定した。その他の環境因子については、現在様々な生体試料を統合的に解析する準備を進めている。

また、R4810K 変異はもやもや病のみならず、それ以外の脳血管狭窄のリスク因子となることが知られているが、我々は頭蓋内血管のみならず、冠動脈疾患においても RNF213 が発症と関連していることを明らかにした (Morimoto et al. PLoS One 2017)。

動物実験においては、RNF213 が脳の灌流維持や血管新生に重要な働きをしていることを示した (Morimoto et al. Sci Rep 2018)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

1. Morimoto T, Enmi JI, Hattori Y, Iguchi S, Saito S, Harada KH, Okuda H, Mineharu Y, Takagi Y, Youssefian S, Iida H, Miyamoto S, Ihara M, Kobayashi H, Koizumi A. Dysregulation of RNF213 promotes cerebral hypoperfusion. Sci Rep. 2018 Feb 26;8(1):3607
2. Araki Y, Takagi Y, Mineharu Y, Kobayashi H, Miyamoto S, Wakabayashi T. Rapid contralateral progression of focal cerebral arteriopathy distinguished from RNF213-related moyamoya disease and fibromuscular dysplasia. Childs Nerv Syst. 2017 Aug;33(8):1405-1409.

3. Matsuda Y, Mineharu Y*, Kimura M, Takagi Y, Kobayashi H, Hitomi T, Harada K, Uchihashi Y, Funaki T, Miyamoto S, Koizumi A. RNF213 p.R4810K variant and intracranial arterial stenosis/occlusion in relatives of moyamoya disease patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 26(8):1841-1847, 2017 (*corresponding author)
4. Morimoto T, Mineharu Y*, Ono K, Nakatochi M, Ichihara S, Kabata R, Takagi Y, Cao Y, Zhao L, Kobayashi H, Harada KH, Takenaka K, Funaki T, Yokota M, Matsubara T, Yamamoto K, Izawa H, Kimura T, Miyamoto S, Koizumi A. Significant association of RNF213 p.R4810K, a moyamoya susceptibility variant, with coronary artery disease. *PLoS One* 2017;12(4):e0175649 (* Corresponding author)
5. Morimoto T, Mineharu Y, Kobayashi H, Harada KH, Funaki T, Takagi Y, Sakai N, Miyamoto S, Koizumi A. Significant Association of the RNF213 p.R4810K Polymorphism with Quasi-Moyamoya Disease. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2016; 25(11):2632-2636 (* corresponding author)
6. Takagi Y, Hermanto Y, Takahashi JC, Funaki T, Kikuchi T, Mineharu Y, Yoshida K, Miyamoto S. Histopathological Characteristics of Distal Middle Cerebral Artery in Adult and Pediatric Patients with Moyamoya Disease. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2016;56(6):345-9.
7. 峰晴陽平、宮本享. 小児もやもや病における RNF213 遺伝子型の特徴. Mt. Fuji Workshop on CVD 36:20-22, 2018.
8. 峰晴陽平、高木康志、宮本享. 出血性脳卒中に対する急性期の外科治療：高齢者における課題. *Geriatric Medicine (老年医学)*. 2015;53(6):611-616.

〔学会発表〕(計 13 件)

1. 峰晴陽平、森本貴昭、阿河祐二、舟木健史、片岡大治、吉田和道、宮本享. 脳卒中診療におけるゲノム医療の発展と限界. 脳神経外科学会総会学術委員会企画. 2018.10.12. 仙台
2. Mineharu Y and Miyamoto S. Insights into pathophysiology of moyamoya disease through RNF213 and other related genes 脳神経外科学会総会. 2018.10.11. 仙台
3. Morimoto T, Mineharu Y, Kobayashi H, Harada KH, Funaki T, Takagi Y, Sakai N, Miyamoto S, Koizumi A., International Stroke Conference 2017, Significant association of the RNF213 p.R4810K polymorphism with quasi-moyamoya disease, 2017/2/23, George R. Brown Convention Center
4. Mineharu Y, Matsuda Y, Takagi Y, Funaki T, Kobayashi H, Hitomi T, Harada K, Morimoto T, Agawa Y, Yoshida K, Koizumi A, Miyamoto S. Significance of RNF213 for the diagnosis of moyamoya disease and related disorders. 脳神経外科学会総会. 2017.10.12. 名古屋
5. 峰晴陽平、峰晴陽平、高木康志、舟木健史、小林果、人見敏明、原田浩二、森本貴昭、阿河祐二、吉田和道、宮本享、小泉昭夫. 小児もやもや病における RNF213 遺伝子型の特徴. Mt. Fuji Workshop on CVD. 2017.8.26. 大阪
6. 峰晴陽平. 脳動脈瘤の遺伝子解析は血管障害の臨床と研究に如何に貢献するか. 第 49 回日本動脈硬化学会学術集会. 2017.7.6. グランドプリンスホテル広島
7. Yohei Mineharu. From moyamoya disease to coronary artery disease, Kyoto University Thoracic Surgery Conference, Kyoto, 2017.3.10.
8. 森本貴昭, 峰晴陽平, 尾野亘, 中枅昌弘, 市原佐保子, 加畑理咲子, 高木康志, 小林果, 原田浩二, 竹中勝信, 舟木健史, 木村剛, 小泉昭夫, 宮本享, 第 43 回日本脳卒中学会総会, もやもや病感受性遺伝子 RNF213 と冠動脈疾患との関連, 2018/3/15, 福岡国際会議場
9. 森本貴昭, 峰晴陽平, 尾野亘, 中枅昌弘, 市原佐保子, 加畑理咲子, 高木康志, 小林果, 原田浩二, 竹中勝信, 舟木健史, 木村剛, 小泉昭夫, 宮本享, 第 76 回日本脳神経外科学会学術総会, もやもや病感受性遺伝子 RNF213 と冠動脈疾患との関連, 2017/10/13, 名古屋国際会議場
10. 阿河祐二, 峰晴陽平, 森本貴昭, 舟木健史, 高木康志, 原田浩二, 人見敏明, 小林果, 小泉昭夫, 坂井信幸, 宮本享: 頸動脈管径と RNF213 遺伝子多型によるもやもや病と中大脳動脈閉塞の鑑別. 第 76 回日本脳神経外科学会学術総会, 名古屋, 2017.10.13
11. 松田 佳子, 小林 果, 人見 敏明, 奥田 裕子, 塩井 大智, 原田 浩二, 峰晴 陽平, 高木康志, 宮本 享, 小泉 昭夫. もやもや病感受性多型 RNF213 遺伝子 p.R4810K による angiogenesis 抑制の in vitro および in vivo での検討. 脳循環代謝学会, 2015
12. 峰晴 陽平, 高木 康志, 森本 貴昭, 松田 佳子, 小林 果, 人見 敏明, 原田 浩二, 宮本 享, 小泉 昭夫. Mysterin/RNF213 p.R4810K 変異からみたもやもや病の特徴. 脳循環代謝学会, 2015
13. 森本 貴昭, 峰晴 陽平, 坂井 信幸, 高木 康志, 人見 敏明, 小林 果, 谷 正一, 上野 泰, 今村 博敏, 藤堂 謙一, 松田 佳子, 小泉 昭夫, 宮本 享. 内頸動脈管径と RNF213 遺伝子多型によるもやもや病の診断. 脳循環代謝学会, 2015

〔図書〕(計 1 件)

1. Moyamoya Disease Explored Through RNF213: Genetics, Molecular Pathology, and Clinical Sciences. Springer 2017, Chapter 11, p137-150. “Significance of RNF213 in Clinical Management in Japan.” Mineharu Y, Takagi Y and Miyamoto S.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：松田佳子

ローマ字氏名：(MATSUDA, yoshiko)

研究協力者氏名：森本貴昭

ローマ字氏名：(MORIMOTO, takaaki)

研究協力者氏名：舟木健史

ローマ字氏名：(FUNAKI, takashi)

研究協力者氏名：片岡大治

ローマ字氏名：(KATAOKA, hiroharu)

研究協力者氏名：原田浩二

ローマ字氏名：(HARADA, H kouji)

研究協力者氏名：日笠幸一郎

ローマ字氏名：(HIGASA, koichiro)

研究協力者氏名：田原康玄

ローマ字氏名：(TABARA, yasuharu)

研究協力者氏名：松田文彦

ローマ字氏名：(MATSUDA, fumihiko)

研究協力者氏名：小泉昭夫

ローマ字氏名：(KOIZUMI, akio)

研究協力者氏名：宮本享

ローマ字氏名：(MIYAMOTO, susumu)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。