

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06667

研究課題名(和文)もやもや病タンパク質の代謝制御機能

研究課題名(英文)Metabolic function of moyamoya disease protein

研究代表者

森戸 大介 (Morito, Daisuke)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：20514251

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)：研究代表者は東アジアに多いヒト脳血管疾患もやもや病の責任遺伝子をクローニングし、ミステリンと名付けた(別名RNF213)。ミステリン遺伝子のATPアーゼ活性、ユビキチンリガーゼ活性を実験的に証明し、ミステリンが脂肪滴結合性の代謝制御因子であり、もやもや病変異によりその機能が損なわれることを明らかにした。ミステリンの代謝機能について詳しい解明を進め、ミステリンが脂肪滴表面性プロテオームの編成制御因子である可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

もやもや病は我が国を始めとする東アジアに多い重篤なヒト脳血管疾患であり、小児脳梗塞や精神発達遅延、深刻な脳出血を生じる場合がある。病因、病態メカニズムとも明らかでなく、根治療法も確立していない。頭蓋切除による血管バイパス形成が有効であるが、しばしば再発を認める。本研究を含む研究代表者による一連の研究(もやもや病遺伝子の分子クローニング、活性解明と生理・病態機能探索)によりもやもや病の病態メカニズム解明は着実に進んでおり、一定の学術的・社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：I performed molecular cloning of the moyamoya disease gene and named it mysterin (also known as RNF213). I demonstrated its ATPase and ubiquitin ligase activities, its LD localization and metabolic function, and its functional impairment by the moyamoya disease mutations. Further exploration of its metabolic function suggested that mysterin regulates lipid metabolism editing the surface proteome on the LDs.

研究分野：細胞生物学

キーワード：ミステリン RNF213 もやもや病 脂肪滴

様式 F - 19 - 2

1. 研究開始当初の背景

もやもや病は日本を始めとする東アジアの小児に多い脳血管疾患である。脳底の限局された領域において進行性・両側性の動脈狭窄を生じ、脳血流低下、脳虚血、脳梗塞などの結果を招く。血流を補うために側副血行路が形成されるが(もやもや血管)、却ってこの部位からの出血により症状は増悪する(図1)。動脈狭窄の原因、進行のプロセスおよび病変がこの領域に限局される理由のいずれも今まで明らかでなく、根治療法も確立されていない。治療として頭蓋切除をとまなう血管バイパス形成が行われるが、再発も多い。

研究代表者はもやもや病責任遺伝子の分子クローニングを行い、ミスチリンと名付けた(特許 5854423, 2010)。ミスチリン遺伝子産物の活性・機能解明を進め、ミスチリンが細胞内の脂肪貯蔵サイトである脂肪滴(LD)に局在して脂肪代謝に寄与する因子であることを突きとめた。ミスチリンの過剰発現により細胞内の脂肪滴含量は増大し、発現抑制により脂肪滴含量が減少したことから、ミスチリンは脂肪滴形成の正の制御因子であることが示唆された(図2)。またミスチリンの脂肪滴局在はもやもや病変異により著明に障害されていた。

2. 研究の目的

ミスチリンによる脂肪滴制御の分子メカニズム解明、個体代謝におけるミスチリンの位置づけの解明、もやもや病変異による脂肪滴機能の障害メカニズムの解明およびミスチリン脂肪滴機能の障害が細胞にもたらす毒性の解明。

3. 研究の方法

細胞生物学的手法によるミスチリンの発現調節が細胞内脂肪滴に与える影響について、培養細胞内脂肪滴含量の計測や各種の脂肪滴マーカーを用いた計測により明らかにする。培養細胞に導入したもやもや病変異体ミスチリンが形成する構造の詳細および構造体形成による細胞障害の実態について、各種細胞内構造マーカーおよび機能マーカーを用いた計測により明らかにする。またミスチリンノックアウトマウスに高脂肪食負荷をかけ、各種の代謝パラメーター計測を行う。

4. 研究成果

野生型ミスチリンは細胞質ゾルと脂肪滴膜表面を比較的速い速度でシャトルしながら幾つかの特定の脂肪滴表在タンパク質と競合して脂肪滴膜局在化する。ミスチリンと競合する因子の1つに主要な脂肪滴リパーゼであるATGLがあり、ミスチリンによりATGLが脂肪滴から排除されることで脂肪滴の主要成分である中性脂肪の分解が抑制されて、細胞内脂肪滴含量が増大することをつきとめた。ATGL以外にも幾つか同様の標的タンパク質が同定されたことから、ミスチリンは脂肪滴表在プロテオームの調節因子であり、これら因子の局在制御により広汎な脂肪滴機能に関わる可能性が見出された。

もやもや病変異体ミスチリンにおいては上述の機能が部分的に損なわれており、変異ミスチリンが細胞内に凝集塊様の構造を形成することを見出した。また本凝集塊様構造により特定の細胞機能が障害されることを示唆する結果を得た。

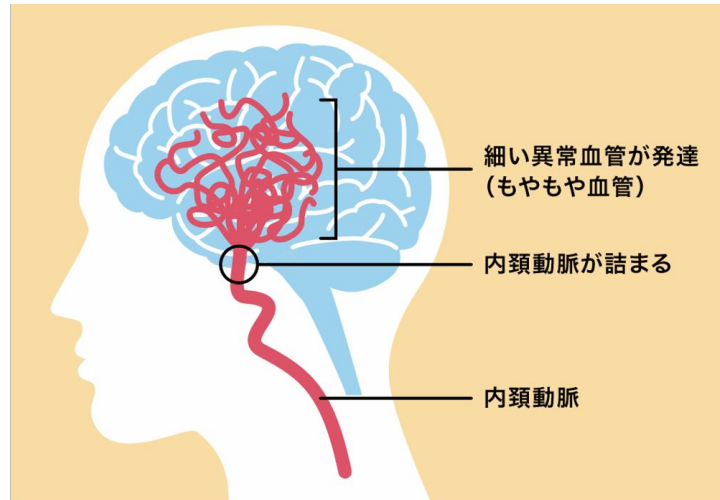


図1 もやもや病の病態。体幹からの主要な血行路である内頸動脈が頭蓋内で狭窄し、脳血流の低下を招く。血液不足(低酸素)状態に応答して、健常者では見られない特異な毛細血管網(もやもや血管)が周辺に形成される。血流低下による脳梗塞に加えて、もやもや血管から出血する場合がある。ミスチリン遺伝子変異単独もしくは他の要因と組み合わせることで発病にいたる。

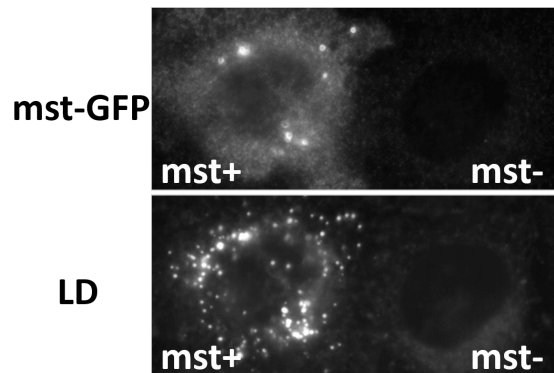


図2(上図) GFPタグを付けたミスチリンをHeLa細胞に一過的に発現させている。左の細胞はミスチリンを過剰発現し、右は過剰発現していない。(下図)この時、ミスチリンを過剰発現した細胞ではLD形成が顕著に増進している。

また、野生型およびミステリンノックアウトマウスを通常給餌および高脂肪食給餌により飼育し、脂肪蓄積および各種代謝パラメーターの変動について検討したところ、従来報告されているのとは異なる結果を得た。現在、詳細解明を進めている。

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 0件）

1. 著者名 森戸大介	4. 巻 91(6)
2. 論文標題 もやもや病遺伝子の代謝制御機能	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 815-819
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910815	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Daisuke Morito
2. 発表標題 The 592 kDa AAA+/Ubiquitin Ligase Regulates the Cellular Fat Metabolism
3. 学会等名 Keystone Symposia "AAA+ Proteins: From Atomic Structures to Organisms" (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Daisuke Morito
2. 発表標題 Unexpected link between moyamoya disease and lipid metabolism
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会（京都市）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森戸大介
2. 発表標題 もやもや病タンパク質による脂肪滴制御とその破綻
3. 学会等名 第64回日本脂質生化学会（東京都）（招待講演）
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
---------	---------