

# 公益財団法人三重医学研究振興会 令和元年度医学研究助成金研究成果報告書

2020年2月10日

緑の風記念三重医学研究振興会賞(基礎医学・看護学部門)

報告者 小林 果(40歳)  
所属・職名 三重大学大学院医学系研究科・環境分子医学・講師

## ○受賞の感想と今後の抱負

この度は緑の風記念三重医学研究振興会賞にお選びいただき、まことにありがとうございます。ご指導いただいた先生方に心よりお礼申し上げます。本研究は、指定難病であり小児脳卒中の主たる原因となるもやもや病について、遺伝・環境の両面から発症機構の解明を行うものです。今回の受賞は大変励みになり、予防・治療につながる成果を目指してさらに研究を進めていきたいと決意を新たにいたしました。

## ○受賞テーマ

RNF213遺伝子と炎症がもやもや病に果たす役割の解明

## ○研究の概要と将来展望

もやもや病は、頭蓋内内頸動脈終端部の狭窄と「もやもや血管」とよばれる代償的な異常血管網形成を特徴とする原因不明の脳血管疾患であり、脳血管狭窄による脳虚血・脳梗塞およびもやもや血管の破綻による脳出血で発症する。本症は若年脳卒中の主たる原因として知られており、本邦では指定難病の一つである。

もやもや病は世界中で見られる疾患であるが、特に日本をはじめとした東アジアで多発する。さらに、症例の10-15%には家族歴を認める点から遺伝要因の病態への関与が示唆されてきたが、関連する遺伝子は長く不明であった。2011年、我々はもやもや病の感受性遺伝子としてRNF213遺伝子を同定し、p.R4810Kが東アジアにおけるもやもや病の感受性多型であることを報告した。p.R4810K多型は日中韓のもやもや病患者において非常に高頻度に認められ(日韓:約80-90%、中国:20%以上)、発症リスクは100倍以上となる。その一方で、p.R4810Kの保因者は一般人口の約3%に認められ、浸透率が非常に低い(保因者のうち300人に1人が発症)ことも明らかとなり、発症にはRNF213遺伝子変異に加えて、環境要因やストレス負荷が重要な役割を果たすことが示唆されている。

また、我々はRNF213遺伝子およびp.R4810K多型の生理的および疾患における役割の検討にも積極的に取り組み、cDNAクローニングベクター、抗体、患者iPS細胞およびRnf213遺伝子改変マウスなど作成した研究リソースを用いて、RNF213 遺伝子がE3-ligase 活性とATPase活性を併せ持つ非常に巨大なタンパク質であること、RNF213 p.R4810Kが血管内皮細胞機能を障害すること、RNF213が脳低灌流応答に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。しかしながら、RNF213がもやもや病に果たす役割には現在も未知な部分が多く、脳血管狭窄を再現する動物モデルの確立にも至っていない。そこで、RNF213がインターフェロンにより高度に発現誘導されることから、RNF213 遺伝子変異と炎症のクロストークがもやもや病の発症につながるとの仮説を得て、RNF213 p.R4810Kと炎症の相互作用が脳血管に与える影響と関与する内皮機能関連分子の解明を目的として、Rnf213遺伝子改変マウスに炎症ストレスを加えたモデルを用いた解析を本研究で行う。

具体的には保有するRnf213ノックアウト、トランスジェニックおよびノックインマウスにインターフェロン等による炎症ストレス負荷をかけ脳血管の狭窄性を中心に表現型を比較検討する。また現在までの研究でRNF213変異は血管内皮細胞機能を阻害することが示されているため、炎症ストレス負荷マウスの脳から血管内皮細胞を単離し、内皮機能に重要な役割を果たす分子群の発現量・リン酸化の変化を遺伝子改変マウス間で比較する。さらに、インターフェロン処理した血管内皮培養細胞を用い、見いだされた候補分子の検証を内皮機能低下に対するレスキュー実験で行う。

原因不明であるもやもや病について、遺伝要因であるRNF213遺伝子と環境要因である炎症の双方に着目しても疾患メカニズムの解明を行うことが、本研究の最大の独創性である。疾患メカニズムの解明には動物モデル等を用いた実験研究が必須であるが、現状ではもやもや病におけるRNF213遺伝子の研究は国内外を問わず臨床遺伝疫学によるものがほとんどで、実験的なアプローチを行う研究グループはごく少数である。本研究は、我々の研究グループが有するRNF213遺伝子改変マウス(我々も含めた国内2グループのみが保有)をはじめ、発現ベクター、抗体(独自に作成)等のリソースを有することで初めて可能な国内外に類を見ないものである。

また得られた知見は遺伝子検査に炎症・感染マーカーを組み合わせたハイリスク群スクリーニング、炎症をターゲットにした予防法探索など遺伝と環境の両面からの予防医学の基盤となり、公衆衛生的な意義も非常に大きい。

マウスモデルで遺伝要因と環境要因について検討しもやもや病表現型の再現を目指す本研究は、分子病態の解明、環境要因の特定、疾患モデルマウスの確立、治療・予防薬の探索ツールの提示などもやもや病研究を推進する効果は極めて大きいといえる。また当マウスが高い頻度で脳血管狭窄を呈することが示されれば、脳梗塞一般のモデルマウスとして病態解明に寄与すると思われる。

また、RNF213遺伝子変異は非もやもや脳血管狭窄、肺高血圧症、冠動脈疾患などもやもや病以外の血管疾患のリスクを上げることが最近報告されている。さらに2019年には、日本人45,000人超を対象とした症例対照研究で、RNF213遺伝子がアテローム血栓性脳梗塞の強力な感受性遺伝子であることが証明された。したがって、本研究でももやもや病分子病態におけるRNF213遺伝子の役割を明らかにすることは、血管狭窄性疾患全般のメカニズムの一端につながりうる発展性を持っている。

○本研究に関連する代表的な原書学術論文(5編)

1. Liu W, Morito D, Takashima S, Mineharu Y, Kobayashi H (equal contribution), Hitomi T, Hashikata H, Matsuura N, Yamazaki S, Toyoda A, Kikuta K, Takagi Y, Harada KH, Fujiyama A, Herzig R, Krschek B, Zou L, Kim JE, Kitakaze M, Miyamoto S, Nagata K, Hashimoto N, Koizumi A. Identification of RNF213 as a susceptibility gene for moyamoya disease and its possible role in vascular development. PLoS One. 6(7):e22542 (2011) (IF:2.776 Citation 372回)
2. Kobayashi H, Yamazaki S, Takashima S, Liu W, Okuda H, Yan J, Fujii Y, Hitomi T, Harada KH, Habu T, Koizumi A. Ablation of Rnf213 retards progression of diabetes in the Akita mouse. Biochem Biophys Res Commun. 432(3):519-525 (2013) (IF:2.705 citation 41回)
3. Kobayashi H, Matsuda Y, Hitomi T, Okuda H, Shioi H, Matsuda T, Imai H, Sone M, Taura D, Harada KH, Habu T, Takagi Y, Miyamoto S, Koizumi A. Biochemical and Functional Characterization of RNF213 (Mysterin) R4810K, a Susceptibility Mutation of Moyamoya Disease, in Angiogenesis In Vitro and In Vivo. J Am Heart Assoc. 4(7): e002146 (2015) (IF:4.660 Citation 47回)
4. 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 (corresponding author), Koizumi A. Dysregulation of RNF213 promotes cerebral hypoperfusion. Sci Rep. 8(1):3607 (2018) (IF:4.011 Citation 8回)
5. Okazaki S, Morimoto T, Kamatani Y, Kamimura T, Kobayashi H, Harada K, Tomita T, Higashiyama A, Takahashi JC, Nakagawara J, Koga M, Toyoda K, Washida K, Saito S, Takahashi A, Hirata M, Matsuda K, Mochizuki H, Chong M, Paré G, O'Donnell M, Ago T, Hata J, Ninomiya T, Dichgans M, Debette S, Kubo M, Koizumi A, Ihara M. Moyamoya Disease Susceptibility Variant RNF213 p.R4810K Increases the Risk of Ischemic Stroke Attributable to Large-Artery Atherosclerosis. Circulation.;139(2):295-298 (2019) (IF:23.054 Citation 5回)

○略歴

2005年3月 三重大学医学部医学科 卒業  
2009年3月 三重大学大学院医学系研究科博士課程 (環境分子医学分野) 修了  
2006年4月-2009年3月 日本学術振興会特別研究員 (DC1) (三重大学 環境分子医学分野)  
2009年4月-2010年3月 京都大学大学院医学研究科 環境衛生学分野 研究員  
2010年4月-2013年3月 日本学術振興会特別研究員 (PD) (京都大学 環境衛生学分野)  
2013年4月-2015年3月 京都大学大学院医学研究科 環境衛生学分野 特定助教  
2015年4月-2016年5月 京都大学大学院医学研究科 環境衛生学分野 特定講師  
2016年6月-2017年3月 京都大学大学院医学研究科 環境衛生学分野 助教  
2017年4月-2019年3月 中部大学生命健康科学部 生命医科学科 准教授  
2019年4月-現在 三重大学大学院医学系研究科 環境分子医学分野 講師

○専門分野

衛生学、予防医学、遺伝学

○医学博士、専門医資格など

博士 (医学) (2009年3月、三重大学)

社会医学系指導医 (2017年4月)

日本衛生学会 代議員