

## 家族性モヤモヤ病の遺伝解析

京都大学大学院医学研究科・環境衛生学分野  
小泉 昭夫

### 研究要旨

もやもや病の感受性多型である *RNF213* 遺伝子 p.R4810K は東アジアにおいて疾患と非常に強く関連するが、一方で白人集団には存在しない。しかしながら、近年の研究により白人もやもや病患者にも p.R4810K 以外の多くの *RNF213* 変異が見出されている。本年度は、チェコスロバキアにおけるもやもや病患者の *RNF213* 変異スクリーニングおよび機能解析を行い、4家系に5つの rare variant を見出し、これらの変異が血管内皮機能低下を導くことを明らかとした。

### A. 研究目的

もやもや病の感受性多型である *RNF213* 遺伝子 p.R4810K は、東アジアにおいてもやもや病との非常に強い相関を示すことが証明されている。一方、白人人口集団においては p.R4810K が存在しないことが明らかとなっているが、近年の研究により、欧米のもやもや病患者に p.R4810K 以外の多くの *RNF213* 変異が見出されることが報告されている。本年度はチェコスロバキアにおけるもやもや病患者の *RNF213* 遺伝子スクリーニングを行い、見出した変異について機能解析を行った。

### B. 研究方法

チェコスロバキアの白人もやもや病患者 18 家系に研究参加への同意を得た。末梢血からゲノム DNA を抽出した後、ダイレクトシーケンシングにより *RNF213* 遺伝子の coding exon の塩基配列決定を行った。機能解析として *RNF213* 変異体をヒト臍静脈内皮細胞 (HUVECs) に強制発現し、migration assay および tube formation assay を行った。

### C. 研究結果

変異スクリーニングの結果、18 家系のうち 4 家系 (22.2%) に 5 つの rare variant (p.D4013N, p.R4019C, p.E4042, p.V4146A および p.W4677L) を見出した。p.D4013N は 2011 年にすでに報告を行った変異であり、報告後、他の研究グループにより別の白人家系でも見出されている。p.R4019C および p.E4042K は同一アレル上で遺伝する double mutation であり、p.R4019C については先行研究により北米白人でも見出されている。p.V4146A は新規の De novo 変異であった。p.W4677L はヨーロッパにおいてアレル頻度 1-2% で存在する rare SNP であり、家系内で不完全分離を示した。機能解析の結果、p.D4013N、p.R4019C および p.V4146A は HUVECs の migration の低下を、さらに p.D4013N および p.V4146A は tube formation の低下を導き (図 1)、p.R4810K と同様に血管内皮機能を阻害することが示された。以上の結果は、これらの変異もやもや病の原因変異であることを示唆し、さらに血管内皮機能低下がもやもや病の病態に関与する可能性が高いことを示している。

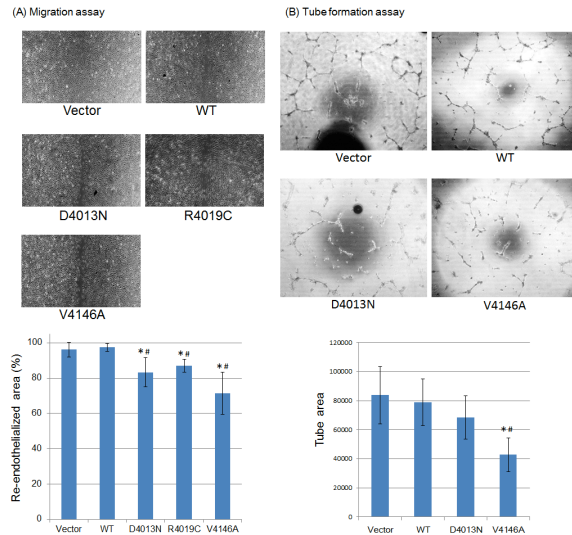


図 1. *RNF213* 変異体の機能解析 (A) Migration assay の代表的な画像 (上)。Re-endothelialized した面積の定量化 (下)。(B) Tube formation assay の代表的な画像 (上)。形成した Tube 面積の定量化 (下)。Vector: empty vector、WT: *RNF213* 野生型強制発現、D4013N: *RNF213* p.D4013N 変異体強制発現、R4019C: *RNF213* p.R4019C 変異体強制発現、V4146A: *RNF213* p.V4146A 変異体強制発現、平均±標準偏差、\* $p < 0.05$  vs Vector、# $p < 0.05$  vs WT

#### D. 結論

本研究により、ヨーロッパ白人もやもや病においても *RNF213* rare variant が比較的多数の患者に見出されることが示され、人種を問わずもやもや病患者の *RNF213* 遺伝子検査が有効であることが示唆された。

#### E. 文献

Koizumi A, Nagata K, Houkin K., Tominaga T, Miyamoto S, Kure S, Tournier-Lasserre E (Editors). Moyamoya Disease Explored Through *RNF213* - Genetics, Pathology and Clinical Sciences. (eBook). *Current Topics in Environmental Health and Preventive Medicine*, Springer, 2017

Banh RS, Iorio C, Marcotte R, Xu Y, Cojocari D, Rahman AA, Pawling J, Zhang W, Sinha A, Rose CM, Isasa M, Zhang S, Wu R, Virtanen C, Hitomi T, Habu T, Sidhu SS, Koizumi A, Wilkins SE, Kislinger T, Gygi SP, Schofield CJ, Dennis JW, Wouters BG, Neel BG. PTP1B controls non-mitochondrial oxygen consumption by

regulating *RNF213* to promote tumour survival during hypoxia. *Nat Cell Biol.*, 18(7): 803-813, 2016

Zhou S, Ambalavanan A, Rochefort D, Xie P, Bourassa CV, Hince P, Dionne-Laporte A, Spiegelman D, Gan-Or Z, Mirarchi C, Zaharieva V, Dupré N, Kobayashi H, Hitomi T, Harada KH, Koizumi A, Xiong L, Dion PA, Rouleau GA. *RNF213* Is Associated with Intracranial Aneurysms in the French-Canadian Population. *Am J Hum Genet.*, 99(5): 1072-1085, 2016

Kobayashi H, Brozman M, Kyselová K, Vizslayová D, Morimoto T, Roubec M, Školoudík D, Petrovičová A, Juskanič D, Strauss J, Halaj M7, Kurray P, Hranai M, Harada KH, Inoue S, Yoshida Y, Habu T, Herzig R, Youssefian S, Koizumi A. *RNF213* rare variants in Slovakian and Czech moyamoya disease patients. *PLoS One.*, 11(10): e0164759, 2016

Cao Y, Kobayashi H, Morimoto T, Kabata R, Harada KH, Koizumi A. Frequency of *RNF213* p.R4810K, a susceptibility variant for moyamoya disease, and health characteristics of carriers in the Japanese population. *Environ Health Prev Med.* 21(5): 387-390 2016

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.* 25(11): 2632-2636, 2016