

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

RNF213 遺伝子 p.R4810K 多型は東アジアにおいてももやもや病と非常に強い相関を示し、また近年は他の血管狭窄性疾患のリスクを上昇させることも報告されている。本年度は、1) 患者遺伝子スクリーニングおよび *RNF213* 遺伝子改変マウスを用いた肺高血圧症モデル実験により、*RNF213* p.R4810K が肺高血圧症に重要な役割を果たすこと、2) 日本人 46,958 名（脳梗塞 17752 名、対照 29206 名）を対象とした患者対照研究により、*RNF213* p.R4810K がアテローム性脳梗塞のリスクを高めること（オッズ比=3.58）を示した。

A. 研究目的

RNF213 遺伝子 はもやもや病の感受性遺伝子として同定され、p.R4810K 多型が東アジアにおいて疾患と非常に強い相関を示すことが証明されている。また近年では肺高血圧症、非もやもや病脳血管狭窄、冠動脈疾患などももやもや病以外の血管狭窄性疾患への関連を示唆する症例研究・遺伝疫学研究が報告されている。

本年度は、1) 肺高血圧症における *RNF213* の役割の検討を目的とした、患者遺伝子スクリーニングとマウスモデルでの機能解析、2) *RNF213* p.R4810K が脳梗塞のリスクファクターであるか検討することを目的とした、大規模日本人集団を対象とした患者対照研究を行った。

B. 研究方法

1) 肺高血圧患者の *RNF213* 遺伝子スクリーニングおよび遺伝子改変マウスによる肺高血圧モデルでの機能解析

27名の日本人肺高血圧症患者に対してダイレクトシーケンスによる *RNF213* 遺伝子 C

末端領域（もやもや病関連変異が集積する領域）の塩基配列決定を行った。

また血管内皮特異的 *Rnf213* トランスジェニック (Tg) マウス、ノックアウト (KO) マウスおよび野生型 (WT) マウスを用いて低酸素下飼育による肺高血圧モデルを作成し、肺高血圧表現型の評価（右心室圧上昇・右室肥大、肺血管の平滑筋層肥厚）、肺血管電子顕微鏡観察、Western Blotting 法による肺 Caveolin-1 の定量を行った。

2) 脳梗塞患者を対象とした *RNF213* p.R4810K 患者対照研究

3つの独立した日本人集団データを用いて2段階での解析を行った。第1段階では、国立循環器病センターバイオバンク (NCVC biobank) から脳梗塞患者 383 名、対照 1011 名の DNA を用いて Taqman 法で *RNF213* p.R4810K の遺伝子型決定を行った。第2段階では、Replication study として2つの GWAS データ：BioBank Japan（脳梗塞患者 16256 名、対照 27294 名）および久山町研究+福岡脳卒中

データベース研究 (Hisayama-FSR) (脳梗塞患者 1113 名、対照 901 名) を用いて、*RNF213* p.R4810K 遺伝型の imputation を行った。*RNF213* p.R4810K と脳梗塞の相関は、additive genetic model でのロジスティック回帰分析により行った。さらにメタアナリシスを inverse variance 法、固定効果モデルで行った。

C. 研究結果

1) 肺高血圧患者におけるもやもや病関連

RNF213 多型の同定および p.R4810K 相当変異によるマウスモデル肺高血圧表現型の増悪

肺高血圧患者 27 名中 2 名 (7.4%) からもやもや病との相関が報告されている 2 つの *RNF213* 多型 (p.R4810K および p.A4399T) が見いだされた。血管内皮特異的 *Rnf213* 変異体 (p.R4810K に相当) Tg マウスにおいては、低酸素暴露により引き起こされた右心室圧の上昇 (図 1)、右心室肥大、肺血管平滑筋層の肥厚といった肺高血圧表現型が野生型マウスと比較して有意に増悪していることが示されたが、*Rnf213* KO および血管内皮特異的野生型 *Rnf213* Tg マウスでは認めなかった。さらに、低酸素暴露した血管内皮特異的 *Rnf213* 変異体 Tg マウスの肺血管において、特徴的な内皮細胞の剥離が電顕観察により観察され、また Caveolin-1 (肺高血圧症の原因遺伝子の 1 つ、血管内皮機能に重要な役割を果たす) が肺において有意に低下していた。

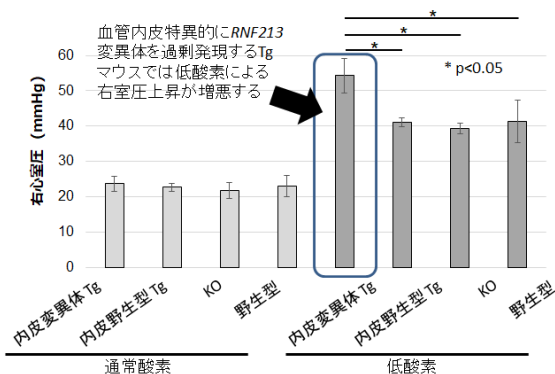


図 1: 血管内皮特異的 *Rnf213* 変異体 Tg マウスにおける低酸素暴露による右心室圧上昇の増悪

2) *RNF213* p.R4810K によるアテローム性脳梗塞リスクの増加

第 1 段階の NCVC biobank データの解析では、脳梗塞患者の 5.2%、対照の 2.1%に *RNF213* p.R4810K が見いだされ有意なリスク上昇を認め (オッズ比=2.60 [95%信頼区間 1.39-4.85]、 $p=0.0019$)、また脳梗塞の種類による層別解析ではアテローム性脳梗塞のみが有意な相関を示した (オッズ比=5.19 [95%信頼区間 2.53-10.64]、 $p=2.6 \times 10^{-6}$)。

第 2 段階の Replication study においても同様の有意な相関が確認された。脳梗塞全体では Biobank-Japan でオッズ比=1.77 [95%信頼区間 1.40-2.24]、 $p=1.6 \times 10^{-7}$ 、Hisayama-FSR でオッズ比=2.90 [95%信頼区間 1.39-6.04]、 $p=0.0045$ の結果が得られた。アテローム性脳梗塞では Biobank-Japan でオッズ比=3.10 [95%信頼区間 1.98-4.84]、 $p=6.9 \times 10^{-7}$ 、Hisayama-FSR でオッズ比=4.20 [95%信頼区間 1.90-9.28]、 $p=3.8 \times 10^{-4}$ であった。

さらに 3 集団でのメタアナリシスも同様の結果を示した (脳梗塞全体: オッズ比=1.91 [95%信頼区間 1.55-2.36]、 $p=1.5 \times 10^{-9}$ 、アテローム性脳梗塞: オッズ比=3.58 [95%信頼区間 2.55-5.03]、 $p=2.0 \times 10^{-13}$) (図 2)。さらに、*RNF213* p.R4810K 保有者は、女性で発症リスクがより高く (オッズ比: 男性 1.50、女性 2.69)、非保有者より発症が 4 歳以上若いことも明らかとなった。

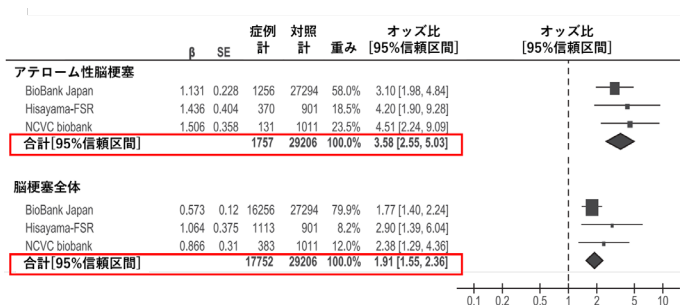


図 2: *RNF213* p.R4810K の脳梗塞への相関のメタアナリシス結果

D. 結論

本研究により、*RNF213* p.R4810K が血管内皮障害を介して肺高血圧症において重要な役割を果たすことが示唆された。さらに、我々の論文報告後に、別の研究グループから日本人肺高血圧患者の9.4%に*RNF213* p.R4810K を認めたとの報告もなされた（一般人口集団では2-3%）。以上から、*RNF213* p.R4810K がももや病と肺高血圧症に双方の遺伝的リスクファクターである可能性は高く、さらに、肺高血圧症の病態に着眼することが*RNF213* によるももや病発症機構解明の糸口となりうると考えられる。

また本年度は*RNF213* p.R4810K がアテローム性脳梗塞のリスクを高めることを、独立した日本人3集団で計46958名（脳梗塞17752名、対照29206名）を解析して証明した。*RNF213* p.R4810K が女性・若年という動脈硬化リスクが低い集団でより脳梗塞リスクを高めるという結果から、*RNF213* p.R4810K は動脈硬化とは異なる機序で比較的大きな脳血管の狭窄を引き起こす可能性が示唆され、ももや病で小児発症が多い点とも整合する。

E. 文献

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

Kobayashi H, Kabata R, Kinoshita H,

Morimoto T, Ono K, Takeda M, Choi J, Okuda H, Liu W, Harada KH, Kimura T, Youssefian S, Koizumi A. Rare variants in *RNF213*, a susceptibility gene for moyamoya disease, are found in patients with pulmonary hypertension and aggravate hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Pulm Circ.*, 8(3):2045894018778155, 2018