

もやもや病における病態仮説two hit theoryの検証 遺伝学的異常および抗原プロセッシング機構の異常 の検討

著者	田代 亮介
号	89
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第4037号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00129474

氏名	たしろ りょうすけ 田代 亮介
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	2020年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	もやもや病における病態仮説 two hit theory の検証 —遺伝学的異常および抗原プロセッシング機構の異常の検討—
論文審査委員	主査 教授 富永 悌二 教授 高瀬 圭 教授 新妻 邦泰 教授 大和田 祐二

論文内容要旨

【背景】もやもや病は頭蓋内内頸動脈終末部の狭窄をきたし、側副血行路としての脳底部もやもや血管の増生を特徴とする脳血管疾患である。比較的稀な疾患であるが、小児・若年成人の脳卒中の原因疾患である。その病態は未解明であり、疾患感受性遺伝子 *ring finger protein 213 (RNF213)* 等の遺伝学的要因、血管内皮細胞・血管形態の異常に加え、感染・放射線等の環境要因が重なって発症する two hit theory が提唱されている。慢性進行性の病態であり、自己免疫疾患との併発が多く、慢性炎症を基盤とする病態と考えられることから、本研究ではもやもや病患者における *human leukocyte antigen (HLA)* 遺伝子の異常(研究1)、および疾患感受性遺伝子として同定された *RNF213* 遺伝子の血管病変との関連(研究2)および免疫機構における役割(研究3)を明らかにすることを目的とした。

【方法】

研究1: 超高解像度 DNA タイピング法を用いた次世代シーケンシングによりもやもや病患者 136 例の *HLA* クラス 1 およびクラス 2 (*HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DPB1*) を決定した。また、expectation maximization algorithm を用いてハプロタイプ推定を行なった。さらに、*HLA* アリルと臨床所見の関連を解析した。

研究2: もやもや病患者 58 例、椎骨動脈解離患者 24 例、健常者 48 例の *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A を解析した。

研究3: *Rnf213* 遺伝子ノックアウト(*Rnf213-KO*)マウス、ヒト *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A のオーソログを相同部位に挿入した *Rnf213* 遺伝子ノックイン(*Rnf213-KI*)マウス骨髄由来樹状細胞によるエンドサイトーシスおよび抗原プロセッシング、抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞の活性化および増殖能を評価した。

【結果】

研究1: 日本人もやもや病では *HLA-DRB1*04:10* アリル(アリル頻度 もやもや病患者 4.77% vs コントロール 1.47%; $p = 1.7 \times 10^{-3}$; オッズ比 3.35)、*HLA-DRB1*04:10-DQB1*04:02* ハプロタイプ(ハプロタイプ頻度 もやもや病患者 4.41% vs コントロール 1.35%; $p = 2.0 \times 10^{-3}$; オッズ比 3.37)の頻度が有意に高かった。また、*HLA-DRB1:04:10* を有するもやもや病患者では甲状腺疾患の併発が有意に多かった。

研究2: *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A を 69%(40/58)のもやもや病患者で認めたのに対して、椎骨動脈解離患者では 0%(0/24)と *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A を有する患者が少なかった($p < 0.001$)。

研究3: *Rnf213-KO*, *Rnf213-KI* マウス 樹状細胞では抗原のエンドサイトーシス能の低下、抗原蛋

(書式12)

白質分解能の低下、抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞活性化能および増殖能の低下を認めた。

【結論】(1) 日本人もやもや病では *HLA-DRB1*04:10* アリル、*HLA-DRB1*04:10-DQB1*04:02* ハプロタイプの頻度が有意に高く、(2) *HLA-DRB1*04:10* アリルは甲状腺疾患併発と関連した。また、*RNF213* 遺伝子は、(3) 椎骨動脈解離との関連は低く、もやもや病との関連が強いこと、(4) *RNF213* 異常により抗原プロセッシング能の低下、抗原特異的 T 細胞応答が低下することが明らかとなった。さらに、(5) ヒト *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A のオーソログを強制発現した *Rnf213* ノックインマウスは *Rnf213* 欠損マウスと類似した表現型を示し、*RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A は機能喪失型変異であることが示唆された。上記結果より、*RNF213* 遺伝子異常に起因する抗原プロセッシング機構の異常を基盤として、*HLA-DRB1*04:10* と関連する自己免疫応答や感染等の二次的要因が加わることで前方循環系を主体とする血管狭窄性・閉塞性病変であるもやもや病の発症に至る可能性が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題目 もやもや病における病態仮説 two hit theory の検証-遺伝学的異常および抗原プロセッシング機構の異常の検討-

所属専攻・分野名 医科学専攻・神経外科学分野

学籍番号 B6MD5083 氏名 田代亮介

本研究の対象であるもやもや病は、頭蓋内内頸動脈終末部の狭窄をきたし、側副血行路としての脳底部もやもや血管の増生を特徴とする脳血管疾患である。本疾患は比較的稀な疾患ではあるが、小児や若年成人における脳卒中の原因疾患として重要な疾患である。本疾患の疾患概念自体は、約半世紀前に確立されたが、その病態は未解明であり、根本治療は存在しない。そのため、本疾患の病態解明は急務である。

もやもや病の病態形成には多種多様な要因が関与すると考えられるが、慢性進行性に内頸動脈の狭窄が進行することや、自己免疫疾患との併発が多いこと、さらに東アジアに患者が集積し家族発症例を認める等の疾患の臨床所見を踏まえて、本研究では、慢性炎症の基盤となる遺伝学的背景および免疫機構と強く関連する疾患感受性遺伝子 *ring finger protein 213 (RNF213)* 遺伝子の機能を明らかにすることを目的とした。

本研究では日本人もやもや病患者 136 例の *human leukocyte antigen (HLA)* 遺伝子型を超高解像度 DNA タイピング法を用いた次世代シーケンスにより決定し、*HLA-DRB1*04:10* アリルともやもや病との関連、特に *HLA-DRB1*04:10* アリルがもやもや病における甲状腺疾患併発と関連することを明らかにした。また、もやもや病と類似した疫学的・病理組織学的特徴を有する椎骨動脈解離と *RNF213* 遺伝子との関連を調べた。もやもや病患者 58 例、椎骨動脈解離患者 24 例、健常者 48 例におけるもやもや病疾患感受性多型 *RNF213* 遺伝子 c.14576G>A (rs112735431) の頻度を調べたところ、*RNF213* 遺伝子 c.14576G>A (rs112735431) と椎骨動脈解離との関連は低いことを明らかにした。さらに、*Rnf213* 遺伝子ノックアウト (*Rnf213-KO*) マウスおよびヒト *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A のオーソログを強制発現した *Rnf213* 遺伝子ノックイン (*Rnf213-KI*) マウスでの樹状細胞の機能を解析し、*Rnf213* 遺伝子の異常により抗原提示細胞における抗原の取り込みやプロセッシングに異常をきたし、その結果 T 細胞応答の低下をもたらすことが明らかとなった。*Rnf213-KO* マウスおよび *Rnf213-KI* マウスで類似した表現型を示すことから、ヒト *RNF213* 遺伝子多型 c.14576G>A (rs112735431) が機能喪失型変異であることが示唆された点も本研究の特筆すべき結果である。

本研究は、従来と異なる観点からもやもや病の病態解明を目指すことを企図する萌芽的研究である。もやもや病の病態仮説として two hit theory が従来より提唱されており、その妥当性はさらなる検証が必要であるが、本研究はもやもや病の病態形成の理解に大きく貢献するものであり、博士の学位に値するものと判断する。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。