

もやもや病遺伝子の生化学・細胞生物学的解析

森戸大介

昭和医科大学 医学部

【研究の背景】

もやもや病は日本、中国、韓国に比較的多く認められる稀な脳血管疾患である。頭蓋内動脈が進行性・両側性に狭窄することにより脳血流が低下し、脳梗塞、脳出血、さらには各種神経機能障害が引き起こされる。

もやもや病における動脈狭窄の原因やメカニズムは長らく不明であったが、2011 年にもやもや病の原因遺伝子が同定され、本遺伝子の機能解明により病因が判明することが期待された。本遺伝子ミスチリンは機能不明の巨大 ATP アーゼ/ユビキチンリガーゼをコードしており、非酵素領域のリジン/アルギニン変異(p.R4810K)により、もやもや病の発病リスクは 300 倍程度上昇する。本変異は東アジア人だけが持ち、東アジアにおける高いもやもや病有病率をよく説明する。

ミスチリンは新奇遺伝子であり、どのような生理・病態機能を持ち、どのようにもやもや病の発病に寄与するのか情報がなかった。我々は世界に先がけてミスチリン遺伝子をクローニングし(2011)、ミスチリン遺伝子産物の活性(2014)や、オルガネラ制御を中心とした生理機能を明らかにしてきた(2015、2017、2019)。これらの成果に立脚してさらに、p.R4810K 変異によるミスチリンの機能異常と、それがもたらす細胞、組織異常(=もやもや病の原因、メカニズム)の解明に取り組んできた。

【目 的】

変異ミスチリンが血管に関連するいずれかの細胞を傷害し、それを起点としてさらに高次の血管組織障害が起こることが考えられた。本研究では血管の組織レベルの障害の起点となる、細胞レベルの障害の実態とその基底となる分子メカニズムをつきとめること、すなわちもやもや病の原因を解明することを目指した。

【方 法】

モデル細胞として HeLa、HEK293、MEF 等の一般的な培養細胞を用いて、変異ミスチリンを導入し、蛍光顕微鏡による細胞内挙動の観察や、各種蛍光プローブを用いた細胞機能の評価を行った。またミスチリンタンパク質がユビキチンリガーゼである点を踏まえて、ユビキチン修飾に着目した生化学的解析を行い、細胞生物学的解析により得られた知見を補完した。

【結 果】

本研究により、変異ミスチリンによる細胞障害の概略の解明に到った。これらについて現在、原著論文として投稿中である。以下に要点のみを記す。

- ・変異ミスチリンは特定のオルガネラを認識する
- ・変異ミスチリンは特定のオルガネラをユビキチン化する
- ・これによりオルガネラは分解される
- ・またユビキチンを起点とした炎症反応が惹起される
- ・すなわち、もやもや病変異ミスチリンの作用は特定のオルガネラの障害および細胞自律的な炎症反応である
- ・以上がもやもや病の原因であると考えられる

【考 察】

研究代表者らとは独立に、ミステリンが細胞に侵入したサルモネラ菌等の病原体を特異的に認識してユビキチン化し、病原体の分解や細胞自律的な炎症応答を引き起こすことが見出されている(2021)。変異ミステリンが特定のオルガネラを認識してユビキチン化し、オルガネラ分解や炎症応答を惹起する現象は、このような抗菌応答に類似している。従って、もやもや病は内在性の無傷のオルガネラを標的にした新奇な自己炎症応答により引き起こされる、新奇な自己炎症性疾患である可能性が高い。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

これまでもやもや病がどのようなタイプの疾患であるか、ほとんど分かっていなかった。本研究によりもやもや病がオルガネラを足場にした細胞自律的な自己炎症を発端とする、まったく新奇な自己炎症性疾患である可能性が強く示唆された。今後、患者サンプル、臨床データ等を用いた検証により、このような疾患概念の検証が進むと共に、新たな疾患概念の理解に基づいた新しい治療アプローチの創出が期待できる。

【参考・引用文献】

1. Liu W, Morito D (co-1st), Takashima S, Mineharu Y, Kobayashi H, Hitomi T, Hashikata H, Matsuura N, Yamazaki S, Toyoda A, Kikuta KI, Takagi Y, Harada KH, Fujiyama A, Herzig R, Krischek 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. 2011;6(7):e22542.
2. Morito D, Nishikawa K, Hoseki J, Kitamura A, Kotani Y, Kiso K, Kinjo M, Fujiyoshi Y, Nagata K. Moyamoya disease-associated protein mysterin/RNF213 is a novel AAA+ ATPase, which dynamically changes its oligomeric state. Sci Rep. 2014 Mar 24;4:4442
3. Kotani Y, Morito D (co-corresponding), Yamazaki S, Ogino K, Kawakami K, Takashima S, Hirata H, Nagata K. Neuromuscular regulation in zebrafish by a large AAA+ ATPase/ubiquitin ligase, mysterin/RNF213. Sci Rep. 2015 Nov 4;5:16161
4. Kotani Y, Morito D (corresponding), Sakata K, Ainuki S, Sugihara M, Hatta T, Iemura SI, Takashima S, Natsume T, Nagata K. Alternative exon skipping biases substrate preference of the deubiquitylase USP15 for mysterin/RNF213, the moyamoya disease susceptibility factor. Sci Rep. 2017 Mar 9;7:44293
5. Sugihara M, Morito D (corresponding), Ainuki S, Hirano Y, Ogino K, Kitamura A, Hirata A, Nagata K. AAA+ ATPase/ubiquitin ligase mysterin stabilizes cytoplasmic lipid droplets. J Cell Biol. 2019 Mar 4; 218(3):949-960.
6. Otten EG, Werner E, Crespillo-Casado A, Boyle KB, Dharamdasani V, Pathe C, Santhanam B, Randow F. Ubiquitylation of lipopolysaccharide by RNF213 during bacterial infection. Nature. 2021 Jun;594(7861):111-116. doi: 10.1038/s41586-021-03566-4.