

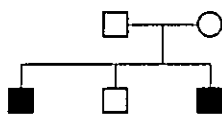
C. モヤモヤ家系の遺伝的集積性

脳血管モヤモヤ病の地誌的、民族的分布の不均衡の原因の解明を行う目的で以下に記す研究を行った。民族の進化の跡を追跡する手段として、mtDNAの塩基変化の比較検討を行なった。これは、mtDNAが、主に母系遺伝をするがために、母系のルーツを探ることができるためである。日本人の家族性モヤモヤ病患者64名（男性16名、女性48名）と、外国人の家族性モヤモヤ病患者6名（男性3名、女性3名）（図1）、モヤモヤ病がないと判断された健康日本人60名を対象とした。

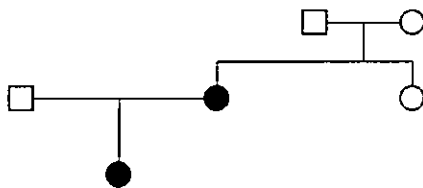


図1 外国の家族性モヤモヤ家系（赤色部）

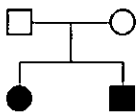
ギリシャの家系-1



ギリシャの家系-2



アルゼンチンの家系



mtDNA (MT3) analysis

ミトコンドリアD-loop内のCambridge Reference Sequence (CRS) (8) のNo.110~No.314の204の塩基配列を調べた。これらの塩基配列の決定後、100塩基当たりに異なる塩基数をaverage sequence divergence(ASD)を求め、各集団間で有意差があるか否か、Mann-whitney検定を行い有意差の検定を行った。

図2 外国人の家族性モヤモヤ病家系

D. 結果及び考察

mtDNA家族性モヤモヤ病患者群では、塩基配列の違いから見た10個のハプロタイプが存在した。また、コントロール群では、30個のハプロタイプが見られた。Average sequence divergence ((ASD: 平均塩基置換数)は、日本の家族性モヤモヤ病群と日本人コントロール群で有意差が見られた ($P < 0.0001$)。ASDは100塩基当たりに異なる塩基数であり、大きいASDは、集団として起源が古いことを示し、小さいASDは、新しい集団で、近縁な人々の集まりを示すと考えられていることから、家族性モヤモヤ家系は、日本人集団の祖先が、ホモサピエンスの進化の系譜⁽⁸⁾の中で生ずるのにやや遅れて、原因遺伝子群が揃い、発病の可能性を生じたものと考察することが可能である。

また、mtDNAのCRS: 263 (7)において、A→G置換が日本及び外国の家族性モヤモヤ病患者群、及び、コントロール群を問わず全例で認められた。また、このCRS: 263 (14)における、A→G置換は、モヤモヤ病を遺伝背景として持っている人々の最もprimitiveな塩基配列の置換と考えられる (表1)。

ギリシャ家系-2と同じ塩基配列を示すモヤモヤ家系が最も多く、全体の45%と最も多数を占めるタイプであった。ギリシャ家系-1は、ギリシャ家系-2の塩基配列のCRS: 195のみが、T→C置換したものであり、1塩基置換が起こるに要する時間は、約12,000年といわれることを考えると、ギリシャ家系-1と-2の進化の過程には約1万2千年の時間的経過があるものと推察できる。さらに、ギリシャ家系-1を原型と考えると、これにさらに2つの塩基置換が起こった福島の家系、さらに3つの塩基置換が起こった福岡の家系がある。従って、ギリシャ家系-1とこれらとの家系との時間的距離は、それぞれ、2万4千年、3万6千年と計算される。また、アルゼンチン家系は、日本の家系、ないしギリシャ-2の家系に新たに塩基変化が2つ加わったものであり、アルゼンチン家系との時間経過には、2万4千年の隔たりがあることが理解される。特に、アルゼンチン家系のCRS232のA→Gの塩基変化は、これまで、MT-3の塩基変化に記載のない塩基変化であり、全く新しい変異と考えられる。このように、ギリシャ家系の塩基配列は、日本の症例と同一の塩基配列、ないしは、日本家系の塩基置換数より少な

い。そして、アルゼンチン家系の塩基配列は、日本の家系、ないしギリシャ家系の塩基配列より派生したものと考えて矛盾しない、ことが判明した。また、最近、ホモサピエンスの進化の仮説として脚光をあびている、遺伝子研究から推定された、約20万円前

のアフリカ起源説が、人類化石の面から見ても正しいことが裏付けられた⁽⁹⁾。このような事実から、モヤモヤ家系が民族の移動・拡散と共に進化し、派生し、モンゴロイドに多く見られるようになってきたという考えが成り立つ(図3)。

表1 外国症例とのmtDNA塩基配列の比較

N position	110	150	151	152	195	199	217	235	263	314
Reference	C	C	C	T	T	T	T	A	A	C
N change	C	T	T	C	C	C	C	G	G	C
Greek-1	-	-	-	-	C	-	-	-	G	-
福島の家系		T	-	-	C	C	-	-	G	-
福岡の家系		T	T	C	C	-	-	-	G	-

N position	110	150	151	152	195	199	217	235	263	314
Reference	C	C	C	T	T	T	T	A	A	C
N change	C	T	T	C	C	C	C	G	G	C
Greek-2	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
高山の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
北海道の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
宮城の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
千葉の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
山口の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
九州の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
大阪の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-

N position	110	150	151	152	153	195	199	217	232	235	263	314
Reference	C	C	C	T	A	T	T	T	A	A	A	C
N change	C	T	T	C	G	C	C	C	G*	G	G	C
Argentina	-	-	-	-	G	-	-	-	G	-	G	-
高山の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
北海道家系	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
宮城の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
千葉の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
山口の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-
九州の家系	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-

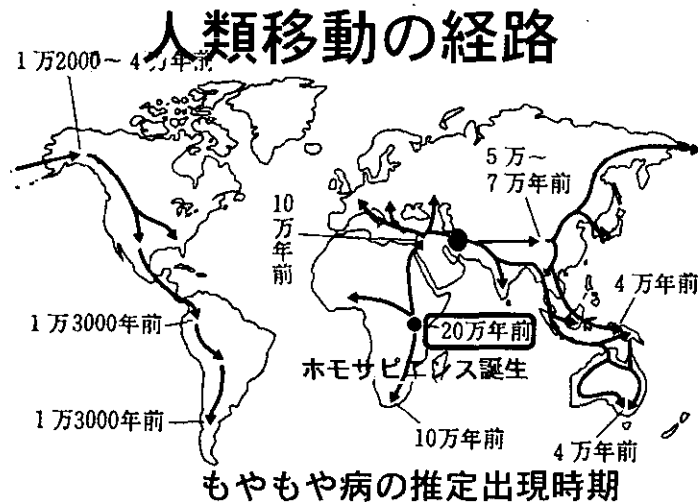


図3 最新の人類進化の経路

今回の検討結果である下記の2つの事実、即ち、
a) 塩基置換数 (mtDNA, MT3) から見ると、familial moyamoya population:1-5塩基、control population:1-6塩基、の相異の範囲であった。

b) Average sequence divergence (ASD) から見ると、Familial moyamoya << control Japanese (p<0.0001) と、2つの集団は有意に異質な集団であることが判明した。という2つの事実から帰納できることは、家族性モヤモヤ患者は集団として独特の遺伝背景を共有している親密なる集団と考えられ、家族性モヤモヤ病集団は、日本人祖先集団より、約12,000年、新しい集団と推定される、ということである。

今後、より広い地域からのサンプルを解析することにより、家族性モヤモヤ病集団の均一性の謎⁽¹⁰⁻¹³⁾が解明されることが期待される。また、本研究で見られた、mtDNAの塩基配列は、家族性モヤモヤ病を他の特殊な集団、例えばsporadicなモヤモヤ集団との識別の手段の1つとして利用でき、将来その重要性が高まるものと期待される。

E. 結 論

外国症例の家族性モヤモヤ病家系の、mtDNAのD-loopの塩基配列を比較検討した結果から、家族性モヤモヤ病集団は、日本人全体の集団に比べ、新しい集団、ないし、近縁な人々の集まりであるということが、改めて有意である、と示された。この事実から、無症候性もやもや病症例、ないしは、もやもや病の初期血管変化のみである症例、が相当数存在する、という事実が推測された。

F. 研究発表

1. 論文発表

別紙参照

2. 学会発表 I

1) 池田秀敏 モヤモヤ病の分子遺伝学、第13回脳血管シンポジウム、大阪、2003年9月6日

2) Ikeda K, Kashihara H, Hosozawa, K, Anan K, Iwasaki, Y, Kuwajima, A, Tamura, M, Satoyoshi, E, Ikeda, H.

Current Incidence and Clinicoradiological Features of Asymptomatic Adult Moyamoya Disease on Brain Check-Up in Japan.

128th Annual Meeting of American Neurological Association meeting, San Francisco, Oct 19-21, 2003

参考文献

1) Ikeda, H., Sasaki, T., et al. Mapping of a familial moyamoya disease gene to chromosome 3p24.2-p26. *Am. J. Hum. Genet.*, 64:533-537, 1999

2) Inoue TK, Ikezaki K, et al. Linkage analysis of moyamoya disease on chromosome 6. *J Child Neurol* 15:2000

3) Yamauchi T, Tada M, et al. Linkage of familial moyamoya disease to chromosome 17q25. *Stroke* 2000

4) 池田秀敏、有波忠雄、櫻井 薫、吉本高志 染色体8qにおけるモヤモヤ病の病因遺伝子に関する研究。厚生科学研究特定疾患対策研究事

- 業、ウイルス動脈輪閉塞症の病因・病態に関する研究、2003、pp41-42.
- 5) Ikeda K. Kashihara H., et al. Current Incidence and Clinicoradiological Features of Asymptomatic Adult Moyamoya Disease on Brain Check-Up in Japan. *Ann Neurol*, 54 (Suppl 7), S64, 2003.
- 6) 池田秀敏、池田憲。もやもや病と遺伝子-脳ドックによるマスキングの結果を加味して-、分子脳血管病、2004、(印刷中)
- 7) Saccone, C. The evolution of mitochondrial DNA. *Curr. Opin. Genet.Dev.*, 4:875-881,1994
- 8) Anderson, S. Bankier, AT, Barrell, BG, de Bruijin, MHL, Coulson, AR, Drouin, J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290 :457-465, 1981.
- 9) Gibbons A. Oldest members of *Homo sapiens* discovered in Africa. *Science*. 300:1641, 2003
- 10) 池田秀敏、吉本高志
家族性モヤモヤ病の地誌的偏在の解明-分子生物学的アプローチを用いて-、厚生科学研究特定疾患対策研究事業、ウイルス動脈輪閉塞症の病因・病態に関する研究、2002、pp51-54.
- 11) 池田秀敏、他
モヤモヤ病と遺伝子-モヤモヤ病の民族的偏在に冠する分子生物学的検討-、分子脳血管病、1:45-48、2002.
- 12) 池田秀敏、吉本高志
家族性モヤモヤ病の地誌的偏在に関する分子生物学的検討(続報)、厚生科学研究特定疾患対策研究事業、ウイルス動脈輪閉塞症の病因病態に関する研究、2003、pp37-40.
- 13) 池田秀敏
モヤモヤ病の遺伝学と分子病態、分子脳血管病、2:447-450、2003.

ABSTRACT

Heredity of moyamoya disease from a point of molecular biology

Hidetoshi Ikeda¹, Takashi Yoshimoto²

Department of Neurosurgery, Kohnan Hospital, Tohoku University.

To clarify the link between the spread of familial moyamoya disease over Asia and the human migration route in ancient, average sequence divergence among patients with moyamoya disease were determined. We added three foreign familial moyamoya families and analyzed the relationship with familial moyamoya cases in Japan. A locus of the D-loop noncoding region (MT3) of mtDNA in 34 probands from familial moyamoya disease, and 60 control Japanese subjects. mtDNA sequencing revealed the average sequence divergence was 0.62%, and 1.08% in the familial moyamoya, and control populations, respectively. Analysis of the frequency distributions of pairwise sequence differences disclosed significant differences ($P < 0.0001$) between the familial moyamoya and control populations. All subjects including foreign moyamoya patients showed the same mtDNA polymorphism in CRS 263 (A->G), which is rare in European populations. Greek patients had a less number of base substitute than Japanese patients, and Argentine patients had more base substitute than Greek and Japanese patients. These suggest the link between the spread of moyamoya disease over Asia and the human migration route in ancient. The inherited nature of familial moyamoya disease was again verified by maternal relationship in the populations of moyamoya patients. These data also predict the presence of unexpectedly a large number of an asymptomatic moyamoya disease in Japan.

Key Words ; mitochondria DNA, D-loop, asymptomatic

家族性もやもや病家系における17q25のtriplet repeatの伸長に関する研究

難波理奈¹、黒田 敏¹、宝金清博²、多田光宏³

A. 研究目的

家族性もやもや病（特発性ウィリス動脈輪閉塞症）は、遺伝病のひとつであると考えられ、その遺伝形式は多因子遺伝あるいは浸透率の低い常染色体優性遺伝が想定されている。これまで家族性もやもや病の原因遺伝子を検索する試みは、いくつか行われてきており、もやもや病家系においてマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析を行った結果、第3、6、17番染色体のそれぞれの領域に強い相関を得たという報告がなされている。これらの報告により、原因遺伝子が存在する領域を特定できたものの、さらなる領域の絞込みや原因遺伝子の同定は未だになされておらず、その詳細な病態を解明するには至っていない。

今回、家族性もやもや病の臨床的な特徴を統計学的に解析したところ、家族内発症例の中で世代を経るにつれて発症年齢が若くなることが判明し、表現促進現象の存在が示唆された。表現促進現象のみられる疾患は、その発症機序に三塩基繰り返し配列の伸長が関与することが知られている。そのため、家族性もやもや病の原因遺伝子にも三塩基繰り返し配列の伸長が関与する可能性があると考えた。そこで、これまでの連鎖解析によって17q25の領域に原因遺伝子が存在することが示されている家系について、同領域における三塩基繰り返し配列の伸長について解析を行った。

B. 研究方法

1969年から2002年まで当施設および関連施設にて経験した、155例のもやもや病症例を母集団とし、発症年齢について統計学的解析を行った。カテゴリデータは χ^2 乗検定、連続データはStudentのt検定にて検討した。家族例と非家族例についてそれぞれの発症年齢については、Kaplan-Meier法とMantel-

Cox log-rank検定を用いて検討した。期待値0.05未満を統計学的に有意差ありと判定した。すべての統計解析は、StatView ver 5.0 (SAS Institute Inc., USA)を用いて行った。

伸長の有無を検討する17q25の繰り返し配列は、以下の手順により同定した。UCSCの Genome Bioinformatics (<http://genome.cse.ucsc.edu/goldenPath/decTracks.html>) より17q25のゲノム塩基配列をダウンロードし、同様に同領域に同定されている遺伝子の配列をダウンロードし、ローカルコンピュータ上にてゲノム配列に対応させ、ゲノム配列の遺伝子のコード領域と非コード領域を区別した。その上でゲノム配列を解析し、遺伝子のコード領域のうち三塩基配列が6つ以上繰り返す配列を抽出した。

一方、繰り返し配列の慎重を検討するサンプルは、これまでの検討により、17q25に責任遺伝子の存在が示唆されている家系の末梢血白血球由来のDNAを用いた。それぞれの繰り返し配列について、特異的なプライマーを設計し、ダイレクトシーケンスを行い、繰り返し配列の有無を検討した。

C. 研究結果

155例のもやもや病患者のうち、家族歴が認められる家族発症例は10家系24症例である。発症年齢の解析では、家族発症例が11.8±11.7歳、孤発例が30.0±20.9歳と、家族発症例にて有意に発症年齢が若い (unpaired t-test, $P = 0.0043$)。Kaplan-Meier法およびMantel-Cox log-rank 検定でも、家族発症例で有意に発症年齢が若い (Fig. 2, $P < 0.0001$) ことが明らかとなった。次に家族発症例について、解析を行った。8組の親子例においては、8例の親と10例の子供が含まれる。8例の親は、22歳から36歳の間で発症しており (mean ± SD ; 30.7 ± 7.5歳)、一方10例の子供は5歳から11歳に発症している (7.2 ± 2.7 yr)。このように、発症年齢は明らかに子供のほうが若い (unpaired t-test, $P < 0.0001$)。8例の親は、3例がTIAで発症し、3例が脳出血に

¹北海道大学医学研究科脳神経外科

²札幌医科大学脳神経外科

³北海道大学遺伝子制御研究所

て発症し、2例が無症候で発見されている。一方子供例では、男性3例女性10例となっている。全例T1Aにて発症している。

この結果より、重症度については評価ができないものの、発症年齢については親世代よりも子世代において有意に発症年齢が若いことが明らかとなった。家族性もやもや病において、表現促進現象の存在が示唆された。臨床解析の結果より、家族性もやもや病において、表現促進現象の存在が示唆されたため、三塩基繰り返し配列の伸長の有無を検討した。17q25の領域に同定されている遺伝子領域について検討したところ、繰り返し数が6以上の三塩基繰り返し配列は12あった。セントロメア側から順にTR1から12と名称を設定し、解析の対象とした。12の三塩基繰り返し配列のうち、エクソン内に存在するのは、hematological and neurological expressed 1 (HN1) 遺伝子のみであり、他は全てイントロン内に存在した。それぞれにおいてダイレクトシーケンスにて、繰り返し配列の繰り返し数を検討したところ、繰り返し数には若干のばらつきが認められるものの、疾患に特異的な変化は認められなかった。

D. 考 察

臨床解析においては、まず孤発例に比べて家族発症例の方が発症年齢が若いことを明らかにした。親子発症例の解析では、親世代の発症年齢より子世代の発症年齢の方が、有意に若かった。家族に患者がいることで生じるバイアスの存在は否定しきれないが、自験例の7家系のうち、子が発端者であったのは5家系、親が発端者であったのは2家系であり、バイアスのみでこの結果が生じるとは考えにくい。今後検査法や治療法の進歩に伴って、さらに多くの二世発症例や三世以上以上の発症例が蓄積されるものと予想されるので、継続して検討が必要であると考えられる。

今回の研究では、家族性もやもや病において表現促進現象が認められることが明らかになった。そのため、本症の分子生物学的な発症機序に三塩基繰り返し配列の伸長が関与するという仮説を立て、解析を行った。表現促進現象は、ある優性形質が世代を経るにしたがって、発症が若年化し、重症化する現象である。表現促進現象が認められるとされる疾患は、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) にて検索すると74疾患あるが、現在のと

ころ、その分子生物学的な発症機序が解明されているのは、Huntington病やMachado-Joseph病など遺伝性の神経変性疾患のみであり、それらの発症機序には、三塩基繰り返し配列の伸長が関与している。三塩基繰り返し配列の伸長の程度が、その疾患の重症度や発症年齢の若年化に反映し、世代が下るほど三塩基繰り返し配列が伸長すると考えられている。もやもや病は多因子遺伝疾患と考えられるため、以前の研究で原因遺伝子が17q25に連鎖していることが証明されている家系において、同領域で存在する三塩基の繰り返し配列について網羅的に解析を行った。しかし、原因遺伝子を解明する結果は得られなかった。その原因としては、1. 17q25の領域で、今のところ未知の塩基配列の部分に存在する三塩基繰り返し配列が病因に関与しているため、2. 本症が多因子遺伝疾患であり、浸透率があまり高くないため、3. 三塩基繰り返し配列の伸長の他に、表現促進現象を示す機序があるため、などが考えられる。

今後、本症の原因遺伝子を解明するためには、遺伝子の翻訳領域の変異のみならず、遺伝子発現を調節する領域の解析を含めた様々なアプローチを行う必要があると考えられる。

E. 結 論

- 1) 家族性もやもや病においては、表現促進現象が認められる。
- 2) 17q25の領域に存在する繰り返し配列について、ダイレクトシーケンスにて伸長の有無を検討したが、明らかな疾患特異的な伸長は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ABSTRACT

Anticipation and Expanded Triplet Repeat in Familial Moyamoya Disease

Rina Nanba, Satoshi Kuroda, Kiyohiro Houkin, Mitsuhiro Tada

The present study was aimed to clarify genetic background of moyamoya disease by comparing clinical features between familial and sporadic cases in order to direct the research work on the responsible genes for familial moyamoya disease. The present study included 155 Japanese patients with moyamoya disease. There were 24 familial cases (10 family pedigrees) and 131 sporadic cases. Their clinical features, including sex, age and symptoms at onset, were compared between familial cases and sporadic cases. A female preponderance was significantly more prominent in familial group than in sporadic group ($P = 0.0421$). Mean age at onset was significantly lower in familial cases than in sporadic case ($P=0.004$). In 8 parent-offspring pairs, mean age at onset was significantly lower in the second generation than in the first generation ($P<0.0001$). The present results suggest that genetic anticipation may be associated with familial moyamoya disease. However, expanded triplet repeats were not identified on chromosome 17q25.

無症候性もやもや病の多施設調査（第一報）

黒田 敏¹、難波理奈¹、石川達哉¹、吉本高志²

A. 研究目的

最近、MRIをはじめとする非侵襲的画像診断法の発達により、偶然、発症以前のもやもや病が発見される機会が増加していると言われている。しかし、現時点では、無症候性もやもや病の臨床像や治療、予後について検討した報告はなく、治療方針も統一されていないと考えられる。しかし、診断技術の発達に伴って、今後もこのような症例が増加することが予想され、近い将来、治療方針などが重要な課題のひとつになると予想される。そこで、本年度、多施設を対象に、これまでに経験した無症候性もやもや病に関する調査を実施したので報告する。

B. 研究方法

本研究班の班員・研究協力者に無症候性もやもや病に関する調査を依頼する手紙を平成15年8月6日に発送し、ご協力を要請した。過去に無症候性もやもや病を経験した場合には、以下の項目についてその症例の臨床データを記入していただいた。そのデータを電子化ファイルとして平成15年10月31日を〆切として回収した。

記入していただいた項目は、氏名、病歴番号、性別、生年月日、診断年月日、診断の動機、家系内発症の有無、合併症、脳MRI所見、脳血管撮影所見、脳血流検査所見、内科治療の有無・内容、外科治療の有無・内容、最終follow-up年月日、最終転帰、経過中イベントなどである。

C. 研究結果

12施設15診療科からのデータが回収された(Appendix参照)。これらのデータをもとに臨床像を解析した。無症候性もやもや病として診断された症例は、30症例であった。男性11例、女性19例で、診断時の年齢は20～67歳(平均43.6±12.0歳)であった(Fig. 1)。確診例が29例、疑診例が1例であった。

診断の動機は頭痛10例、めまい5例、頭部外傷3例、脳ドック5例、家系内発症におけるスクリーニング4例、その他4例であった(Fig. 2)。

脳MRIでは10例に脳梗塞が、1例に年齢不相応な脳萎縮が認められたが、出血巣は認められなかった(Fig. 3)。DSA上の病期は第1～6期とさまざまであったが、第3期、第4期の症例が多く認められた(Fig. 4)。

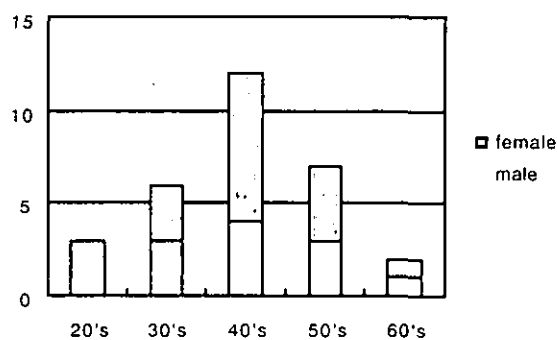


Fig. 1

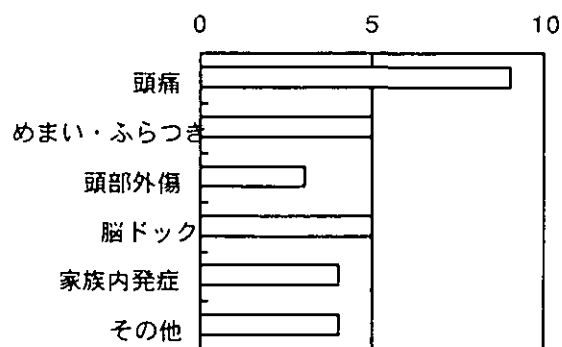


Fig. 2

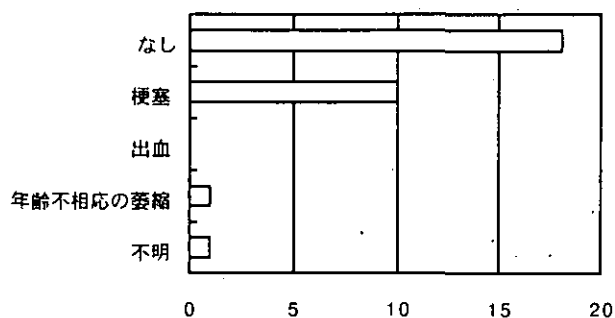


Fig. 3

¹北海道大学医学研究科脳神経外科

²東北大学

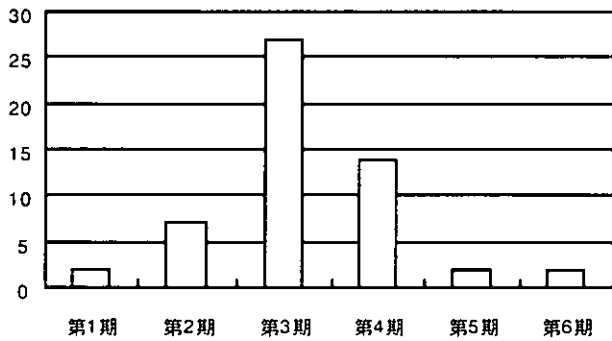


Fig. 4

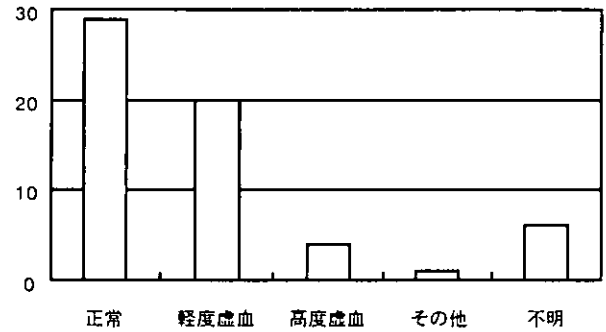


Fig. 5

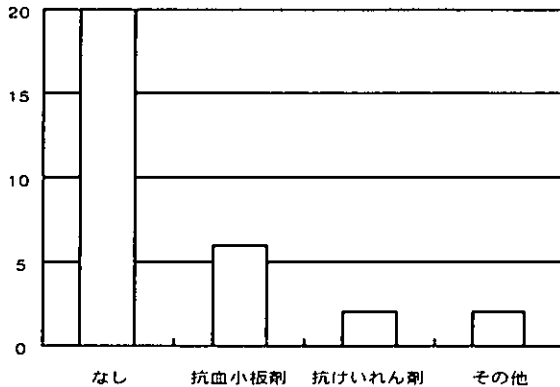


Fig. 6

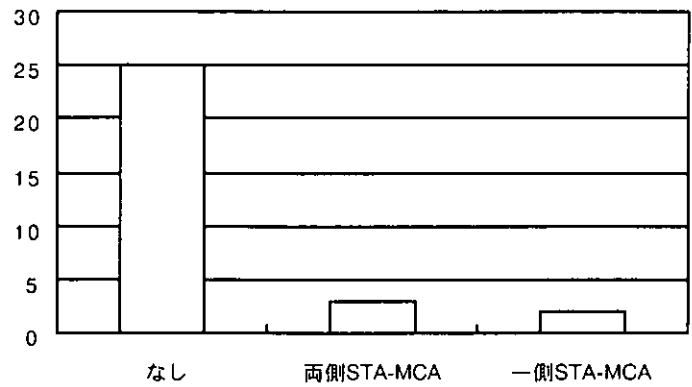


Fig. 7

脳SPECTまたはPETによる脳循環動態の測定が27例54側において実施されていた。その結果、正常29側、軽度虚血（脳血管反応性のみ低下など）20側、高度虚血（CBF、脳血管反応性ともに低下など）4側、その他1側と、正常あるいは軽度虚血の症例が多かったが、無症状でありながら高度虚血を有している症例も少数ながら認められた（Fig. 5）。

内科的治療が10例に実施されており、抗血小板剤6例、抗けいれん剤2例、その他2例であった。抗けいれん剤の投与をうけた2例は、いずれも脳血行再建術を実施されていた（Fig. 6）。外科的治療として脳血行再建術が4例に実施されていた。いずれもSTA-MCA anastomosisを含む術式が両側3例、片側1例に行なわれた（Fig. 7）。

1～168ヶ月間（平均37.6ヶ月間）の経過観察期間中に認められたイベントとしては、内科治療を実施していた1例において病期の進行による脳梗塞の発症が確認された。

D. 考 察

本疾患の登録申請用紙にも、以前から病型の選択肢として「無症候型」が挙げられていることから、家系内スクリーニングの結果などをもとに無症候性もやもや病の存在は以前から広く知られていたと考

えられる。実際、過去にもいくつかの症例報告が散発的になされている。しかし、わが国における無症候性もやもや病の実態に関する検討はなされていないのが現状である。今回の調査は12施設15診療科のご協力により得られたデータをもとにしており、全国における無症候性もやもや病の実態とは必ずしも同一ではない可能性が高い。しかしながら、無症候性もやもや病の実態を多施設にわたって明らかにしようとした試みは初めてのことで考えられる。

その結果、30症例が頭痛、めまい、頭部打撲、脳ドック、家系内発症のスクリーニングなどを契機にしてもやもや病と診断されていることが判明した。無症候性もやもや病における「無症候性」の定義に関しては不明確な部分があるのも否めない。たとえば、本疾患では虚血症状として片頭痛様の頭痛発作をきたすことはよく知られた事実であるが、病歴上、明らかに筋収縮性頭痛と考えられるような場合には、今回、「無症候性」もやもや病と判断していただいた。画像診断では、「無症候性」とはいえ、MRIにて10例に脳梗塞が、SPECT・PETにて24側に何らかの脳虚血の存在が確認された。今後、治療方針を考える上で留意すべき点であると考えられた。今回、20%の症例で抗血小板剤が投与されていた。TIAや脳梗塞の予防が目的と考えられるが、成人もやもや

病の約半数は頭蓋内出血で発症することから、今後、その是非についても議論されるべきであると考えられた。また、今回の調査では4症例において脳血管再建術が実施されていたが、無症候性もやもや病における画像上の手術効果など、今後、検討すべき課題は多いと考えられた。

今回の調査では経過観察中に1症例で病期の進行にともなって脳梗塞が出現したことが判明した。単純に脳血管イベントのリスクを計算すると年間1.1%と比較的低値であるが、経過観察期間が6カ月以内の症例も多く、今後も画像診断を含めた長期間の経過観察が必要であると考えられた。その基礎として、成人もやもや病における発症時期や病期進行の頻度など、これまであまり明らかにされていなかった問題に関しても、同時に検討していく必要があると思われた。

E. 結 論

- 1) 無症候性もやもや病の病態や予後を明らかにする目的で、はじめて多施設から提供された臨床データを解析した。
- 2) 今回の結果を検証するために、より多くの症例を長期間経過観察する必要がある。
- 3) 自然歴を明らかにするために、成人もやもや病の発病や病期の進行についても明らかにする必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

- 1) Akasaki T, Kagiya S, Omae T, Ohya Y, Ibayashi S, Abe I, Fujishima M: Asymptomatic moyamoya disease associated with coronary and renal artery stenoses-a case report. *Jpn Circ J* 62:136-138, 1998
- 2) Kurlemann G, Bongartz G, Krings W, Palm DG: Asymptomatic moyamoya syndrome. Diagnosis by EEG and magnetic resonance angiography. *Monatsschr Kinderheilkd* 139: 235-238, 1991
- 3) 難波理奈、黒田 敏、竹田 誠、七戸秀夫、中山若樹、石川達哉、宝金清博、岩崎喜信：成人無症候性もやもや病の臨床像と予後。 *脳外* 31: 1291-1295, 2003
- 4) Yamauchi T, Houkin K, Tada M, Abe H: Familial occurrence of moyamoya disease. *Clin Neurol Neurosurg.* 99 Suppl 2:S162-167, 1997

Appendix：今回の多施設研究にご協力いただいた施設・診療科（順不同）

岩手医科大学・脳神経外科、慶応義塾大学・神経内科、中国労災病院・脳神経外科および神経内科、奈良県立医科大学・脳神経外科、長崎大学・脳神経外科、九州医療センター・脳神経外科および神経内科、長岡総合病院・脳神経外科、名古屋市立大学・脳神経外科、北里大学・脳神経外科および神経内科、岐阜大学・脳神経外科、札幌医科大学・脳神経外科、北海道大学・脳神経外科

ABSTRACT

Multi-center Survey of Asymptomatic Moyamoya Disease

Satoshi Kuroda, Rina Nanba, Tatsuya Ishikawa, Takashi Yoshimoto

Recent development of non-invasive diagnostic technology, such as magnetic resonance imaging (MRI) and angiography (MRA), is believed to increase the incidence of asymptomatic moyamoya disease. However, no criteria have been established for the managements of such cases. This is the first report to survey clinical features of asymptomatic moyamoya disease based on multi-center data in Japan. Thirty patients were included in this study. All of them have experienced no episode due to moyamoya disease and were incidentally diagnosed as moyamoya disease. There were 11 males and 19 females. Their age ranged from 20 to 67 years, with the mean value of 43.6. MRI detected cerebral infarction in 10 of 30 patients (33.3%). Cerebral angiography revealed that stage 3 and stage 4 were most popular findings. Hemodynamic ischemia, such as impaired reactivity to acetazolamide and/or cerebral blood flow reduction, was observed in 24 hemispheres. Medical treatment was performed in 10 patients, and surgical revascularization was selected in 4. The mean follow-up period was 37.6 months, ranging from 1 to 168 months. During follow-up periods, moyamoya lesion markedly progressed and caused cerebral infarction in one patient. However, neither ischemic nor hemorrhagic stroke occurred in other 29 patients. Further nation-wide studies are necessary to clarify the natural course of asymptomatic moyamoya disease and establish the management guideline for patients with asymptomatic moyamoya disease.

もやもや病患者の脳脊髄液サイトカイン値と新治療法の検討

宝金清博、本望 修、備前明子

A. 研究目的

もやもや病の病因研究では、これまでの長い研究の結果、いくつかの方向性が見えてきている。過去のもやもや病のシンポジウムにおいても指摘されているように、1)原因遺伝子の究明、2)原因物質の同定、3)疾患モデルの作成、などが大きな手がかりとなる。現時点では、3)の疾患モデルの作成は完全に停滞しており、展望がない。一方、多施設の共同研究の結果、1)に関しては、一定の成果が上がっており、染色体3番、6番、17番の3つの染色体ともやもや病の間に高い相関 (rod score) が示されている¹⁾²⁾³⁾。2)に関しては、これまで、手術中に患者から採取された脳脊髄液中のbasic fibroblast growth factor (b-FGF)の高値が証明されており、原因物質そのものではないにしても、本疾患の病因と深く関連していることが示唆されている⁴⁾。本研究では、さらに、最近採取された患者脳脊髄液を用い、b-FGFの測定、および最近測定可能になったその他の血管新生関連のサイトカインの測定を行った。

B. 研究方法

2001年11月から2003年10月までの2年間に札幌医科大学病院及びその関連病院において外科治療を行ったもやもや病は、10例15側である。通常の操作で手術中に得られる脳表面の脳脊髄液を採取し、脳脊髄液中のサイトカインの測定を行った。また、コントロールとして、未破裂脳動脈瘤患者に対する動脈瘤クリッピングの際に得られる脳表面脳脊髄液 (4側)、動脈硬化性の動脈狭窄閉塞症患者 (4側)、脳腫瘍 (Glioma, 2例)の10検体を用いた。測定した物質は、すでにコントロール群との差が明らかになっているb-FGFの再検討と、最近測定が可能となったAngiopoietin 2とHepatic Growth Factor (HGF)の3つのサイトカインである。

C. 研究結果

1) basic FGF

図1に示したように、もやもや病患者においては、コントロール群と比べ、有意に脳表面の脳脊髄液でb-FGFの高値が測定された。

2) Angiopoietin 2

図2に示したように、Angiopoietin 2は、脳動脈瘤、脳虚血性疾患との有意な差は認められなかった。ただ、両側の血行再建術を行った例で、術前後の値を比較すると、有意差は、測定数が少なく、認められなかったが、angiopoietin 2は、二度目の手術の際の測定では、増加傾向を認めた (図3)。

3) Hepatic Growth Factor (HGF)

図4に示したように、HGFは、もやもや病とコントロール群で有意差を認めなかった。

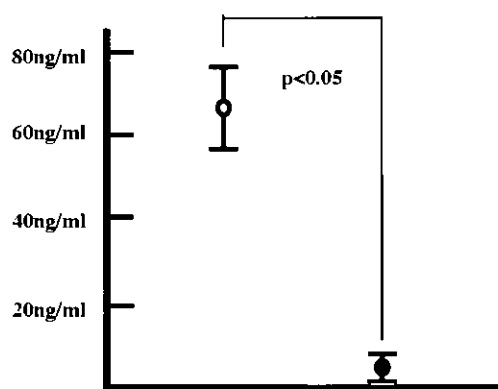


図1 basic FGF

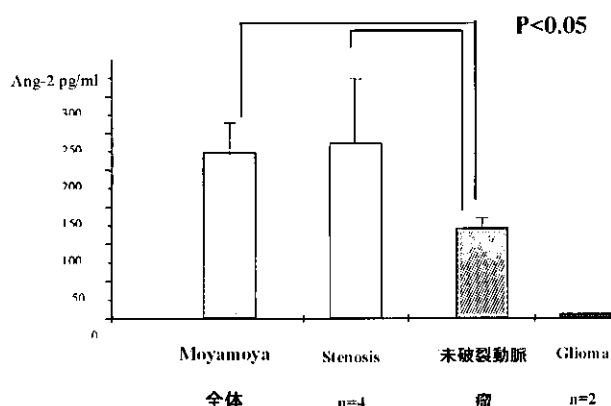


図2 Angiopoietin 2

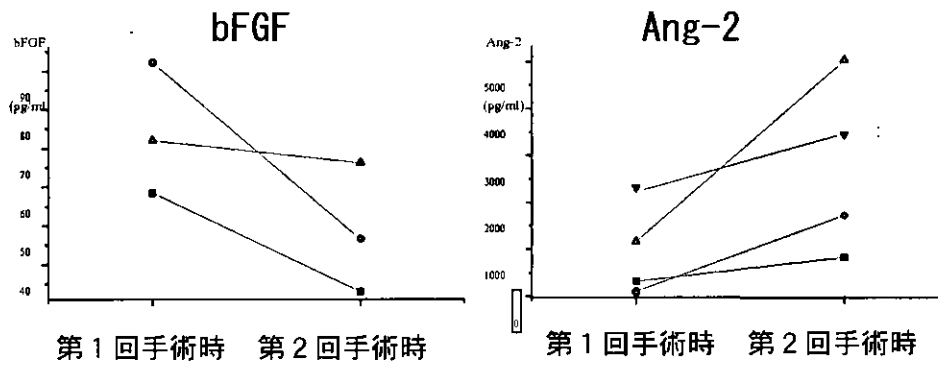


図3 一回目の手術時と二回目の手術時の比較
(b-FGFとAngiotensin 2)

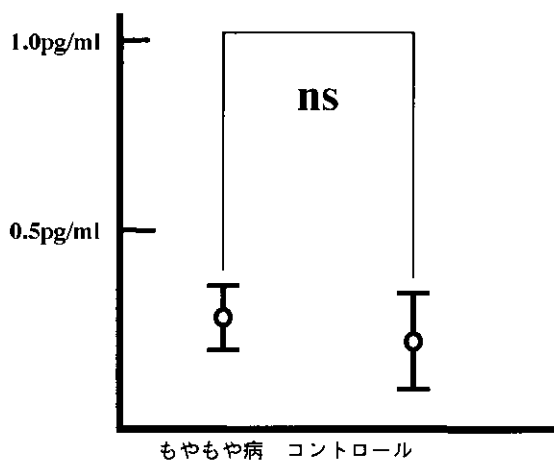


図4 Hepatic Growth Factor

D. 考 察

すでに報告してきたように、もやもや病患者の脳脊髄液においてbasic FGFが高値を示すことが知られている。basic FGFに関しては、患者の硬膜動脈や外頸動脈（浅側頭動脈）で、免疫染色で強く発現していることが報告されている¹⁾²⁾³⁾⁹⁾。ただ、こうした事実がそのままb-FGFがもやもや病の原因物質であるということを意味しているわけではないことは明らかである。b-FGFをはじめとするさまざまなサイトカインが虚血応答の結果としてup-regulationされることが知られており、もやもや病患者の脳脊髄液中の増加も、その虚血応答の結果と解釈できないこともないのである。

今回の検討では、HGFはコントロール群と比べて、増加は認められなかった。また、Angiotensin 2についても、有意な上昇を認めなかった。しかし、一側の血行再建術後に反対側でのangiotensin 2の増加傾向が認められた。このデータは、症例数が不十分であるために、統計学的な有意差を認めること

はできなかったが、本疾患における間接的の血行再建後の血管新生を反映しているものとして興味深い。これまで、間接的な血行再建後の血管新生の程度とサイトカイン（b-FGF）の関連が言及されてきた。しかし、明らかな差異は、これまで認められていない。また、各種のencephalovascularization（脳に対する組織接着術）の効果には、症例による差が大きいことを報告してきた。こうした血管新生の程度の差は、手術の方法による差に由来するもの大きいと思われる⁶⁾⁷⁾。しかし、我々の経験では、encephalo-myovascularization（EMS）のように一定程度確立された手術方法を同一術者が行っても、術後に起こる血管新生には大きな差が見られる。これは、手術に対する患者側の反応に基本的な差が存在することを示唆している。

今回の結果は、また、もやもや病患者に対する新しい血行再建術の可能性を示唆している。従来より、血管新生において、b-FGFとangiotensinは中心的な役割を果たしていることが知られている。これまでは、腫瘍の増大機構における病的な血管新生の中での役割に研究の中心が置かれてきた。しかし、最近では、動脈硬化性虚血性疾患（ASO）に対する血管新生の誘導のために、治療的な血管新生がターゲットとされている。脳における血管新生療法は、現在、実用的なものは開発されていない。また、一般の動脈硬化性の脳虚血に対しては、すでに、直接的なバイパス手術が確立されており、血管新生療法の導入に対する高いmotivationはないように思われる。しかし、もやもや病は、間接的な血行再建術と直接的な血行再建の併用が有効であることが知られており、その一翼を担う間接的な血行再建をより確実にする血管新生療法の開発は重要である。

b-FGFは強力な血管新生能を有するが、脳に対しては、adverse effectが強く、実用的でない可能性が高い。これに対して。Angiopoietinは、詳細な検討はされていないが、脳に対する有望な血管新生誘導が期待される。今後、こうしたサイトカインをencephalosynangiosisのdonor側に何らかの方法で投与することは、今後、もやもや病に対する新しい有望な治療法のオプションが増えることが期待される。

E. 結 論

- 1) もやもや病患者の脳脊髄液中では、basic FGFの増加があることが再確認された。
- 2) Angiopoietin 2やHepatic Growth Factor (HGF) の増加は認められなかった
- 3) もやもや病では、第二回目の脳脊髄液で、angiopoietinの増加傾向があり、一回目の手術による影響（血管新生）が考えられた。
- 4) 今後、angiopoietinなど、血管新生を誘導するサイトカインを用いた治療法の開発が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

参考論文

- 1) Hojo M, Hoshimaru M, Miyamoto S, Taki W, Nagata I, Asahi M, Matsuura N, Ishizaki R, Kikuchi H, Hashimoto N. Role of transforming growth factor-beta1 in the pathogenesis of moyamoya disease. J Neurosurg. 2000 May;92(5):907-8.
- 2) Hoshimaru M, Takahashi JA, Kikuchi H, Nagata I, Hatanaka M. Possible roles of basic fibroblast growth factor in the pathogenesis of moyamoya disease: an immunohistochemical study. J Neurosurg. 1991 Aug; 75(2):267-70.
- 3) Houkin K, Yoshimoto T, Abe H, Nagashima K, Takeda M, Isu T. Role of basic fibroblast growth factor in the pathogenesis of moyamoya disease. Neurosurg Focus 1998, 5(5): Article 2.
- 4) Ikeda H, Sasaki T, Yoshimoto T, et al: Mapping of a familial moyamoya disease gene to chromosome 3p24.2-p26. Am J Hum Genet 64:533-537., 1999
- 5) Inoue TK, Ikezaki K, Sasazuki T, et al: Analysis of class II genes of human leukocyte antigen in patients with moyamoya disease. Clin Neurol Neurosurg 99 Suppl 2:S234-237., 1997
Inoue TK, Ikezaki K, Sasazuki T, et al: Linkage analysis of moyamoya disease on chromosome 6. J Child Neurol 15:179-182., 2000
- 6) Karasawa J, Kikuchi H, Furuse S, Kawamura J, Sakaki T.:Treatment of moyamoya disease with STA-MCA anastomosis. J Neurosurg. 1978 Nov;49(5):679-88.
- 7) Matsushima Y, Suzuki R, Ohno K, Masaoka H, Wakabayashi S, Maehara T.: Angiographic revascularization of the brain after encephaloduroarteriosynangiosis: a case report. Neurosurgery. 1987 Dec;21(6):928-34. 8)
Yamauchi T, Tada M, Houkin K, et al: Linkage of familial moyamoya disease (spontaneous occlusion of the circle of Willis) to chromosome 17q25. Stroke 31:930-935., 2000
- 9) Yoshimoto T, Houkin K, Takahashi A, Abe H. Angiogenic Factors in Moyamoya Disease. Stroke 1996, 27(12):2160-2165.

ABSTRACT

Cytokines in cerebrospinal fluid of patients with moyamoya disease —Possibility for new angiogenetic Treatment—

Houkin K, Honmou O, Bizen A.

Department of Neurosurgery Sapporo Medical University

[Purposes] It is reported that the concentration of basic fibroblast growth factor (b-FGF) is high in the cerebrospinal fluid (CSF) with moyamoya disease. In this study, we have measured other cytokines including angiopoietin 2 and hepatic growth factor (HGF) using newly obtained CSF from patients with moyamoya disease.

[Patients and Methods] Ten patients with moyamoya disease have been treated in last 2 years at Sapporo Medical University Hospital. Cerebrospinal fluid was obtained from the brain surface during the surgery. Control data was obtained from patients with unruptured cerebral aneurysm, cerebrovascular occlusive disease and brain tumor. Basic FGF, angiopoietin 2 and HGF were measured.

[Results] HGF was not significantly high in moyamoya patients. Angiopoietin 2 showed the tendency of increase after the surgery although its initial concentration was not high in moyamoya patients compared to the control patients. Basic FGF was significantly high in moyamoya patients.

[Conclusion] It is conceivable that Angiopoietin 2 plays an important role in the surgically induced angiogenesis in moyamoya disease. It suggest that the induction of angiopoietin and other angiogenetic factor may become another practical treatment for moyamoya disease.

乳幼児モヤモヤ病の手術適応と手術方法の選択

日下康子¹、吉本高志²、中川敦寛¹、白根礼造¹、富永悌二¹

A. 研究目的

乳幼児モヤモヤ病は、発症時重症例や予後不良例が多いと一般的に認識されている。その病態特殊性のため、定まった治療方法はなく、症例ごとに難渋している。小児期発症例が最も多い本疾患において、乳幼児に対する急性期及び慢性期の治療方法に関しては、特に異なると考えられる。本研究班において蓄積されてきた患者データを分析するとともに、一定の治療方針のもとに当科で治療を受けた乳幼児患者の治療方法、治療成績について示す。

B. 研究方法

1. 研究班全国調査結果の分析

1966年から2000年12月までに登録された3歳以下の本症患者176例を対象に検討した。

2. 当科で治療された症例の検討

1989年から2002年12月までの新規発症モヤモヤ病患者99例中、5歳以下の19例について検討した。

C. 研究結果

1. 全国調査結果

発症から初診までに要した期間は0～21年（平均4.2年）で、その後の経過観察期間は0.3～24年（平均6.7年）だった。治療方法は、保存的治療群17例、12.1%、血行再建術施行群は159例、87.9%だった。手術群のうち、直接吻合術（STA-MCA anastomosis）を施行されたのは、右半球49側、左半球48側、間接血行再建術は左右各々112側ずつ施行されており、最も多かった。治療後の予後について、図1～3に示す。これは、平成14年度研究報告書で報告した。

2. 当科で治療された症例の検討

症例は19例、男女比は8：11＝1：1.38で、初回手術時年齢は10ヶ月～11歳、平均5.3歳。発症時病型はTIAが10例、52.6%、脳梗塞9例、47.4%で、9

1. 東北大学大学院医学系研究科神経外科学分野

2. 東北大学

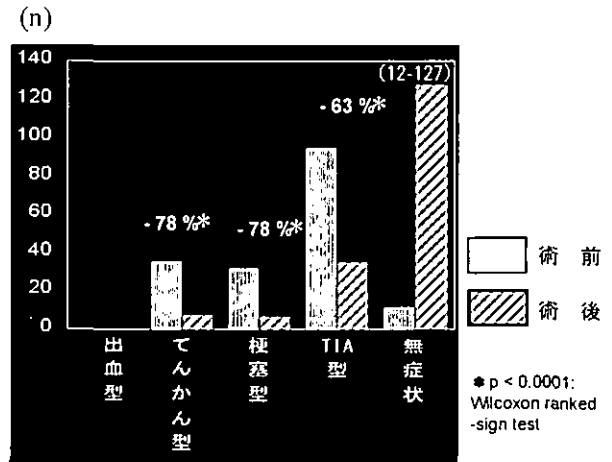


図1 全国調査.術前術後の病態解析

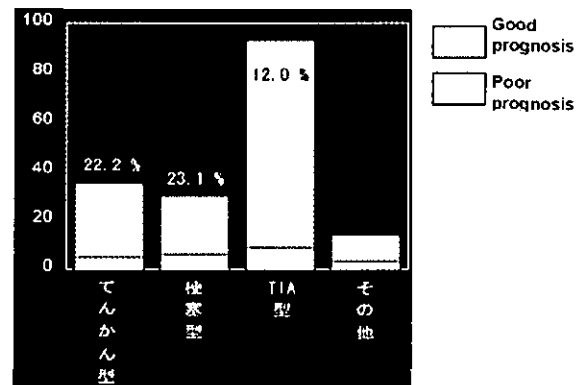


図2 発症時病型別転帰

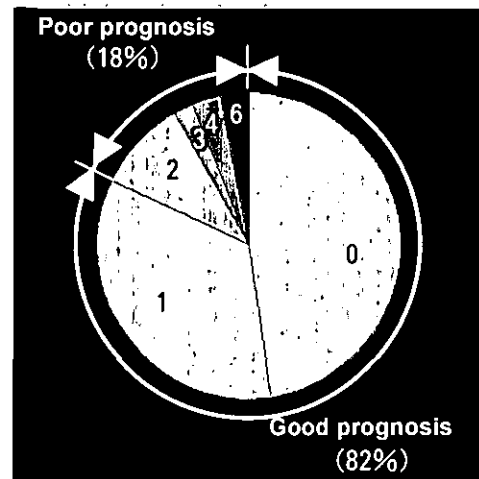


図3 133例の最終転帰
Modified Rankin Scale 0～6.
Good (0, 1) : 82%, Poor (2～6) : 18%

例中3例は臨床症状は痙攣で、画像上は脳梗塞を発症していた。手術方法は、当科での1989年以降の方針に則り、EGMS with dural pedicle insertion、すなわち間接血行再建術を基本としているが、図4. に示したごとく、重症例：乳幼児やTIA頻発症例にはSTA-MCA anastomosisを同時に行う複合術式を施行した。今回の19症例では、間接血行再建術のみが26側大脳半球に施行され、14側では、間接術に加えてSTA-MCA吻合術も施行された。これら19例の治療予後は、全例で術後側副血行路の形成がMRAで認められており、脳循環予備能の改善がSPECT上示されていた。TIAは術後消失し、新たな脳梗塞は認められていない。

術後の知能低下は認められず、mental retardationを認める3例は、いずれも脳梗塞発症型で、初回入院時にすでに認められていたもので、遅発性、進行性のものではなかった。

入院経過中に病態が短期間に悪化した1歳男児を提示する。脳梗塞側の術後15日目には対側に脳梗塞を発症した。

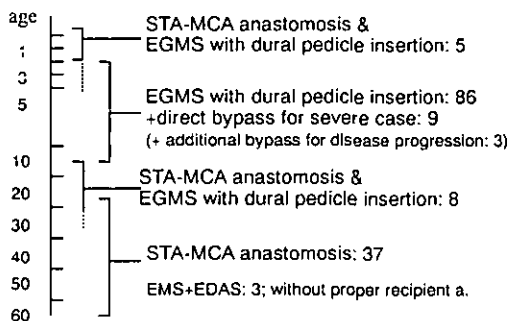


図4 手術方法の内訳

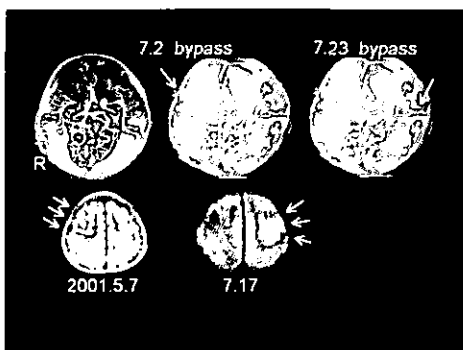


図5a 1歳男児
痙攣を呈し、脳梗塞・左上肢麻痺で搬送入院

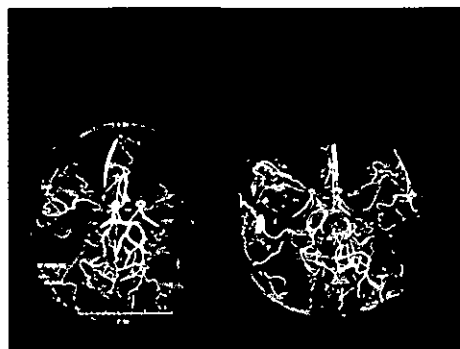


図5b 術前MRA
両側間接+直接血行再建術後MRA

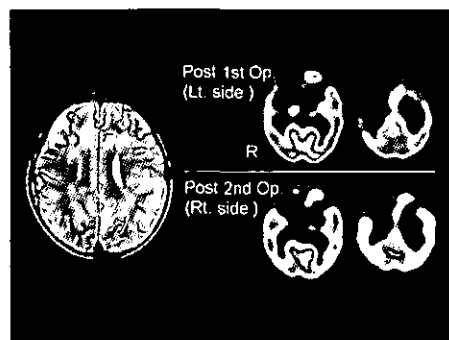


図5c 術後MRI, T2WI, SPECT with Diamox

D. 考 察

一般的には予後不良と捉えられている3歳以下発症児調査班全国集計176例の臨床像の検討結果¹⁾では、発症型はTIAが多く、9割近くが血行再建術を受けており、術後発作が有意に減少していることが示された。長期予後でも、予後不良群は18%と低い数値であり、MRI<MRAによる早期発見、積極的手術および周術期管理の向上が、調査対象施設の治療方針から推察された。当施設では1989年以降、統一した治療方針・手術方法で本症の治療に取り組んできたことより、乳幼児患者の病態及び治療効果について、症例数が少ないことで、逆に詳細に検討しえたと考えられる。発症時から重度の脳梗塞、麻痺を呈する重症型や、短期間に脳梗塞を繰り返す急速進行型が存在する反面、残存健常脳は即効性のある直接吻合術により、治療効果が得られると考えている。また、小児であるだけに、前頭葉の脳血流保持は知能予後に重要と考え、STA-MCA anastomosisのみでは不十分と考え、間接血行再建術を必ず同時に施行して前頭葉の血流改善を図っている²⁾。小児、特に乳幼児ではSTAが将来閉塞してしまう懸念が議論となるが、この場合の吻合術の目的はSTAの永久的な開存、バイパス機能ではなく、

病期の急速進行を念頭においた、即効的血流改善による脳梗塞予防である。したがって、間接血行再建術による側副血行路の十分な発達により将来STAが閉塞したとしても、STAは急性期に十分な役割を果たしたと考えられる。乳幼児へのバイパス手術は、準緊急手術とも考えられ、今後は、初回脳梗塞後の手術時期、対側の手術までの待機時期の検討が必要と考えている。

いっぽうでは、班集計結果、当施設の検討結果の両者ともに、長期予後不良因子としては、脳梗塞の有無およびその程度、痙攣発作の有無が共通しており、発症後の手術治療の限界もあることが示され、早期発見が乳幼児では特に重要であるといえる。これには、初期治療にあたる医師への本疾患の乳幼児発症例があることの啓蒙が必要であろう。

E. 結 論

乳幼児症例であっても、積極的な血行再建術が予後改善に有効と考えられる。予後不良例は脳梗塞発症例に多い。急速進行例があるため、手術時期に関しては、準緊急的に迅速に対応する必要があり、直接吻合術による早急な脳循環の改善が必要かつ有効と考えられる。手術のタイミングに関してはさらなる検討が必要と考えている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

別稿参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

文 献

- 1) 中川敦寛、日下康子、白根礼造、吉本高志. 3歳以下発症の乳幼児もやもや病の病態. 厚生省特定疾患ウィリス動脈輪閉塞症の病因・病態に関する研究班平成14年度研究報告書、吉本高志（編）.2003,pp63-67.
- 2) Yoshida Y, Shirane R, Yoshimoto T. Non-anastomotic bypass surgery for childhood moyamoya disease using dural pedicle insertion over the brain surface combined with encephalogalectomy. *Surgical Neurology* 51:404-411, 1999.

ABSTRACT

Surgical strategy of infantile moyamoya disease

Yasuko Kusaka¹, Takashi Yoshimoto², Atuhiko Nakagawa¹, Reizo Shirane¹, Teiji Tominaga¹

Department of Neurosurgery, Tohoku University Graduate School of Medicine¹
Tohoku University²

As for infantile moyamoya disease, it is recognized that their clinical course and prognosis is often serious. We haven't reached a consensus on the appropriate treatment for them so that we have to tackle treatment strategy of each case. We analyzed the patient data which have been accumulated in this study group and reported it in 2003 annual report. On this paper, We present the results of treatment of infantile patients in our department. We examined 19 cases equal to or less than 5 years old in 99 new onset moyamoya patients since 1989 to December, 2002. The man and woman ratio is 8:11=1:1.38. Their ages at initial treatment were from 10 months old to 11 years old (mean 5.3 y.o.) . Symptom at onset was TIA: 10 cases (52.6%) , cerebral infarction: 9 cases (47.4%). We performed EGMS with dural pedicle insertion (indirect bypass surgery) with basis in 26 sides. For infantile and cases with frequent TIA, STA-MCA anastomosis was added in 14 sides. After those bypass surgery, formation of collaterals was recognized on MRA with all cases, and improvement of CBF was shown on SPECT study. TIA disappeared and no new cerebral infarction is recognized in all cases. Patients with severe infarction revealed poor prognosis with mental retardation. Even for infantile which clinical course is considered to be worse, we believe that positive treatment with bypass surgery is effective against disease progression. It is fact that some infantile cases show rapid progression so that we should perform revascularization including direct bypass in semi-emergence to improve CBF as soon as possible avoiding following cerebral infarction. We need further investigation for timing of initial and second surgery for infant, especially for those with newly onset cerebral infarction.