

200936/46A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

ウイルス動脈輪閉塞症における生体試料の
収集に関する研究

総括
平成 21 年度 研究報告書

平成 22 年 (2010 年) 5 月

主任研究者 宮 本 享

京都大学大学院医学研究科脳神経外科 教授

目次

I. 分担研究報告

1. マイクロ RNA アレイを用いたもやもや病分子マーカーの探索
札幌医科大学脳神経外科
宝金 清博
2. 治療指針に基づいた もやもや病に対する血行再建術の治療成績について
東北大学 脳神経外科、広南病院 脳神経外科
富永悌二、藤村幹
3. 片側もやもや病・類もやもや病に関する全国調査結果
長崎大学大学院医歯薬総合研究科・神経病態制御学（脳神経外科）
永田 泉，林健太郎
4. もやもや病における『高次脳機能障害』の SPECT 診断 3D-SSP 統計画像の
SEE (Level 3) による脳回レベル解析
中村記念病院 脳神経外科
中川原譲二
5. もやもや病の特定疾患申請書の改訂について
北海道大学病院 神経外科
黒田 敏
6. もやもや病中大脳動脈生体試料収集と病理学的特徴について
京都大学 脳神経外科
宮本 享、高木康志

1. 平成 21 年度研究成果の刊行に関する一覧

2. 研究班構成員名簿

マイクロ RNA アレイを用いたもやもや病分子マーカーの探索

札幌医科大学脳神経外科
宝金 清博

研究要旨

もやもや病の発症には遺伝的要素が関係すると考えられているが、疾患原因となる単独の遺伝子はまだ同定されていない。マイクロ RNA (miRNA) は遺伝子をコードしない 18-25 ヌクレオチドの RNA で、転写後の調節因子として働き、その異常は多くの疾患に関わることが知られている。本研究は、もやもや病患者の脳脊髄液中から miRNA を抽出し、正常人との発現の差を網羅的に見ることで、miRNA の疾患マーカーとしての役割と疾患原因解明の可能性を探索する。

A. 研究目的

もやもや病患者の脳脊髄液中のマイクロ RNA (miRNA) 発現パターンを網羅的に解析し、疾患マーカーとしての役割と病態解明の可能性を探索することを目的とする。

B. 研究方法

札幌医科大学附属病院脳神経外科入院中の患者から遺伝子研究の同意書を取得し、髄液検査時または手術時に 3-6mL の脳脊髄液を採取した。患者の内訳は、もやもや病患者 7 名の他、正常コントロールとして顔面痙攣と三叉神経痛の患者 1 名ずつ、他疾患として悪性リンパ腫の患者 2 名、合計 11 名の脳脊髄液を用いた。

脳脊髄液は-80 度で凍結保存しておき、外部業者に委託して脳脊髄液から miRNA の抽出を行った。miRNA の抽出は Ambion 社のキットを用い、続けて逆転写反応、PreAmp 反応を行って、RT-PCR 用の template を作成した。Applied Biosystems 社の miRNA アレイ

(TaqMan® Human MicroRNA A and B Array v2.0) を用い、768 種の miRNA について網羅的な発現解析を行った。

結果の解析は、Applied Biosystems 社の解析システム (ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System) と解析ソフト (ABI PRISM SDS 2.1) を使用し、内部標準遺伝子として MammU6 を用いて、比較 Ct 法 ($\Delta \Delta Ct$ 法) による相対発現定量での解析を行い、スチューデント t テストを用いて検定した。

C. 研究結果

平成 21 年 4 月より札幌医科大学での症例集積を開始し、10 月までに合計 11 名の脳脊髄液を採取した。脳脊髄液からの miRNA 抽出方法はまだ確立されていなかったが、組織や血液からの miRNA 抽出法に準じ、全ての検体から 2-22 ng/ μ l の濃度の miRNA を抽出できた。miRNA アレイでは合計 768 種の miRNA を同定可能であるが、脳脊髄液中には 1 検体につき平均約 120 種類の miRNA が存在していた。発現している

miRNAの種類は、疾患や検体間で差が見られた。

脳脊髄液を採取した11症例の内訳は、もやもや病7例、悪性リンパ腫2例、正常コントロールとして機能性疾患2例であった。このうち最初にもやもや病2例、悪性リンパ腫2例、コントロール1例を用いてmiRNAアレイによる発現解析を行い、もやもや病2検体の両方で他の3検体よりも発現が6.9倍以上となっているmiRNAを7種類同定した。次に、残りのもやもや病5例、コントロール1例を加え、もやもや病7例、コントロール2例で、配列特異的なプローブを用いて7種類のmiRNAの発現レベルをRT-PCR法で定量した。RT-PCRは3回行い、内部標準遺伝子のMammU6と比較した定量値の平均値を、もやもや病群とコントロール群との間で相対発現値として比較した(表1)。

表1. もやもや病における脳脊髄液miRNAの発現

	もやもや群	コントロール群	P値
	n = 7	n = 2	
miRNA A	2.92	1	0.27
miRNA B	3.21	1	0.18
miRNA C	1.92	1	0.50
miRNA D	2.02	1	0.31
miRNA E	4.25	1	0.20
miRNA F	0.88	1	0.91
miRNA G	-	-	-

表1のように、結果の得られた6種のうち、5種類のmiRNAで発現の上昇が見られたが、有意差は得られなかった(miRNAの詳細は非開示とする)。miRNA Gについては、RT-PCRの結果が3回分揃わなかったため、解析を行わなかった。

D. 考察

体液中のmiRNAは、疾患特異的な分子マーカーとしての役割も証明されるようになってきた。し

かし、中枢神経系疾患におけるmiRNAの発現はまだ十分に解明されておらず、特に脳脊髄液中のmiRNAについては未知な部分が多い。一方で、もやもや病についても未だ原因遺伝子が特定されておらず、多遺伝子性疾患の可能性の他、miRNAを含むエピジェネティックな作用の関係している可能性がある。

本研究において、脳脊髄液中からmiRNAを抽出できたこと、もやもや病患者の脳脊髄液中で発現の亢進している可能性のあるmiRNAを複数同定できたことは、もやもや病の分子マーカーの同定と病態解明に大きな一歩となったと考えられる。有意差は出なかったものの、サンプル数を増やすことで、さらなるエビデンスを得られるものと思われる。

結論

もやもや病患者の脳脊髄液からmiRNAを抽出し、その発現パターンをmiRNAアレイを用いて網羅的に調べた。もやもや病で発現が亢進していると考えられたmiRNAを7種類同定し、配列特異的なプローブを用いて発現レベルをRT-PCR法で定量した。もやもや病7例、コントロール2例で相対発現値を比較したが、結果の得られた6種のうち5種類のmiRNAでは発現上昇が見られたものの、有意差は得られなかった。今後はサンプル数を増やすことで、もやもや病に特異的な発現を示すmiRNAを同定できるものと考えられる。

E. 文献

2009年度発表論文なし。

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

治療指針に基づいた もやもや病に対する血行再建術の 治療成績について

東北大学 脳神経外科、広南病院 脳神経外科
富永悌二、藤村幹

研究要旨

治療指針に基づいた、もやもや病に対する血行再建術の短期治療成績を検証することを目的に、2008年以降に統一した手術適応、術後管理の下に STA-MCA 吻合術を行った連続症例について後方視的に検討した。術後は 92.3%で脳虚血症状の消失を認め経過観察期間中に脳梗塞を呈した症例は見られなかった。8.1%で一過性の症候性過灌流を認めた。STA-MCA 吻合術は脳虚血症状を呈し循環不全が証明されているもやもや病に対する有効な治療と考えられた。

A. 研究目的

一定の治療指針に基づいたもやもや病手術例の短期治療成績を検証することを目的とした。

B. 研究方法

対象は 2008 年 1 月から 2009 年 12 月の期間に東北大学ならびに広南病院脳神経外科にて、以下の手術適応、術式、術後管理下に血行再建術を施行したもやもや病 26 例 37 半球側（男/女=8/18）。発症形式は一過性脳虚血発作（TIA）11 例、脳梗塞 13 例、脳室内出血 2 例（2 例いずれも後に脳梗塞、TIA 頻発を呈した）。年齢は 9 歳から 64 歳（平均 35.8 歳）で、成人例 21 例と小児例 5 例を含んでいた。

手術適応は以下のすべてを満たすものとした。(1)脳虚血症状（6ヶ月以内の脳梗塞、TIA）を有すること、(2)IMP-SPECTにて脳血流低下（施設基準値の 80%以下）または脳循環予備能の低下（10%以下）を症候側に認めること、

(3)ADL が自立していること(mRS=0-2)、(4)1 血管支配領域に及ぶような大梗塞がないこと。手術は中大脳動脈 M4 への STA-MCA 吻合術 (single)と EMS を行った。術直後は収縮期血圧を 140mmHg 以下に厳格にコントロールし術翌日 SPECT と 2 日以内の MRI/MRA にて高灌流を認めないことを確認後、段階的に血圧管理を解除した。術後 7 日目前後に SPECT と MRI/MRA を再検した。

C. 結果

術後脳虚血症状は 24 例 (92.3%) にて認めず、2 例 (7.7%) にて術前と比較して軽減した。平均 14 ヶ月の観察期間中に脳梗塞を呈した症例はなかった (0%)。梗塞発症で両側血行再建術を施行した若年女性 1 例で、術後 4 ヶ月時に軽微なくも膜下出血を認めたが (3.8%) 予後に影響なかった。術後急性期の合併症としては症候性過灌流が 3 半球側 (8.1%) で見られたが血圧管理にて過灌流症状は全例で改善した。過

灌流を呈した1例で降圧管理中に同側後頭に脳梗塞を生じ視野障害が後遺した(2.7%)。この1例以外に術後に永久的神経脱落症状が残った症例はなかった。

D. 考察

脳虚血症状を有するもやもや病に対するSTA-MCA 吻合術を含めた血行再建術の有効性は数多く報告され、確立されたものとなっている。一方、動脈硬化性の閉塞性疾患におけるJET criteriaのような明確な手術適応基準は存在しないのが実情である。本研究では一定期間に、脳虚血症状を有しかつ一定以上のhemodynamic compromiseが証明されたもやもや病患者のみに対して一定の術式、術後プロトコル下に治療を行った。結果としてはこれまでの報告どおりに、高率に脳虚血発作の消失が得られ、経過観察期間中に脳梗塞を呈した症例を認めなかった。一方、14ヶ月という短期の観察期間中に1例(3.8%)にて軽微なくも膜下出血を認めており、血行再建術の出血予防効果に関してはJAM trialの結果が待たれる。脳虚血以外にも過灌流病態への対処をつよく意識した術後プロトコルを適応することにより、今回のシリーズで症候性過灌流を呈した症例は8.1%と従来の報告¹より低率であった。一方、降圧中に64歳類もやもや病(動脈硬化を合併)症例にて、後頭葉梗塞を認めたことより、過灌流病態に対する降圧療法に当たっては反対側病変や遠隔病変における脳虚血に更なる配慮を要するものと考えられた。

結論

治療指針に基づいたもやもや病に対する血行再建術の短期治療成績を検証した。STA-MCA 吻合術は脳虚血症状を有し、脳循環不全が証明されているもやもや病に対する有効な治療法と考えられた。周術期には脳虚血のみならず過灌流病態への配慮が重要である。血行再建術の出血イベント予防効果についてはJAM trialの

結果も含めて今後の検証を要するものと思われた。

E. 文献

2009年度発表論文

1. Fujimura M, Mugikura S, Kaneta T, Shimizu H, Tominaga T. Incidence and risk factors for symptomatic cerebral hyperperfusion following superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis in patients with moyamoya disease. *Surg Neurol* 71:442-447, 2009
2. Narisawa A, Fujimura M, Tominaga T. Efficacy of the revascularization surgery for adult-onset moyamoya disease with the progression of cerebrovascular lesions. *Clin Neurol Neurosurg* 111:123-126, 2009
3. Fujimura M, Watanabe M, Narisawa A, Shimizu H, Tominaga T. Increased expression of serum matrix metalloproteinase-9 in patients with moyamoya disease. *Surg Neurol* 72:476-480, 2009
4. Fujimura M, Kaneta T, Shimizu H, Tominaga T. Cerebral ischemia owing to compression of the brain by swollen temporal muscle used for encephalo-myo-synangiosis in moyamoya disease. *Neurosurg Rev* 32:245-249, 2009
5. Nakagawa A, Fujimura M, Arafune T, Sakuma I, Tominaga T. Clinical implications of intraoperative infrared brain surface monitoring during superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis in patients with moyamoya disease. *J Neurosurg* 111:1158-1164, 2009
6. Mori N, Mugikura S, Higano S, Kaneta T, Fujimura M, Umetsu A, Murata T, Takahashi S. The leptomeningeal 'ivy sign' on fluid-attenuated inversion recovery MR imaging in moyamoya disease: A sign of decreased cerebral vascular reserve? *AJNR Am J Neuroradiol* 30:930-935, 2009

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

片側もやもや病・類もやもや病に関する全国調査結果

長崎大学大学院医歯薬総合研究科・神経病態制御学（脳神経外科）
永田 泉，林健太郎

研究要旨

片側性もやもや病および類もやもや病に関する2次調査で得られた類もやもや病108例について集計した。男性42例，女性例66例で男女比は1:1.57であった。平均年齢は30.6歳で2峰性の分布を示したが，小児期に高いピークがみられた。初発症状は運動麻痺が最も多く，画像上，63.4%に脳梗塞を，6.9%に脳出血を認めた。病側の閉塞性病変は内頸動脈終末部が多く，もやもや血管の程度は比較的軽度であった。ほぼ全例に脳血流障害を認めた。約6割に血行再建術が行われていた。

A. 研究目的

類もやもや病患者の全国における実数を把握し病態を解析した上で，診断基準および治療指針を作成することを目的とした。

B. 研究方法

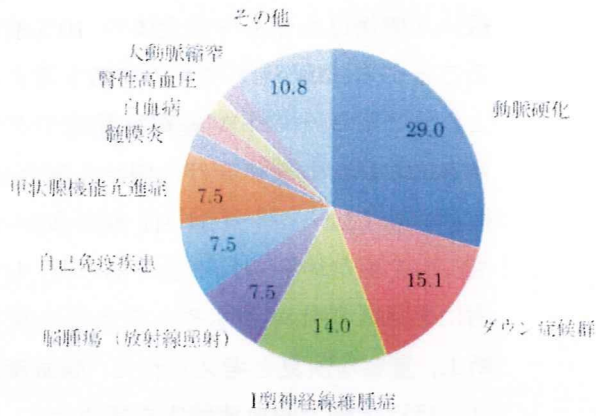
1次調査で片側もやもや病および類もやもや病を診療していた241施設を対象に症状，画像所見，治療，経過について2次調査を施行した。2次調査は114施設より回答があり，類もやもや病108例の情報が得られ，集計した。

C. 研究結果

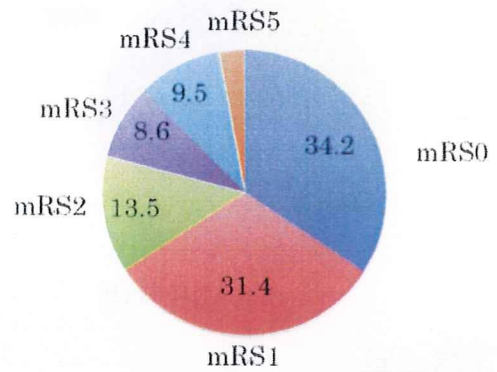
男性42例（38.9%），女性例118例（69.1%）であった。平均年齢は30.6歳で0-9歳に高いピークと50歳前後になだらかなピークを有する2峰性の分布を示した。基礎疾患は動脈硬化（27例）が多く，ダウン症候群（14例），神経線維腫症（13例），脳腫瘍／放射線照射後（7例），自己免疫疾患（7例），甲状腺機能亢進症

（7例）の順であった。もやもや病の家族歴は7.0%にみられた。初発症状は運動麻痺（36.5%）が最も多く，一過性脳虚血発作（19.2%），頭痛（9.6%），てんかん（9.6%）であった。MRI/CTにて，脳梗塞（63.4%），脳出血（6.9%）を認め，36.7%には異常所見はみられなかった。病変は58.8%が両側性であり，41.3%が片側性であった。病期は約6割が第III期であり，病側の閉塞性病変は内頸動脈終末部が約6割を占め，もやもや血管の発達程度は軽度（約4割），中等度（約1割），重度（約2割），なしであった。外頸動脈よりの側副血行は約3割にみられた。90.7%に脳血流低下を認め，8.0%で脳血管予備能の低下を認めた。内科治療では抗血小板薬（43.9%），抗凝固薬（16.3%）が多く，外科手術は25.0%に両側性に，34.0%に片側性に行われ，手術方法は49.4%に直接血行再建術，50.6%に間接血行再建術が行われていた。平均6年7ヵ月間の予後では20.2%で症状は改善していたが，約9割がmodified Rankin scale (mRS)は初発時と著変なかった。特定疾患受給に関しては60.0%が受給していた。

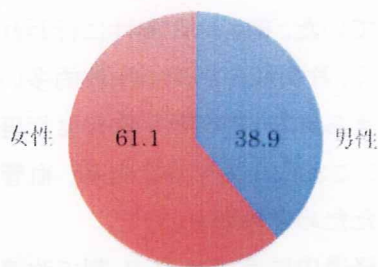
基礎疾患 (%)



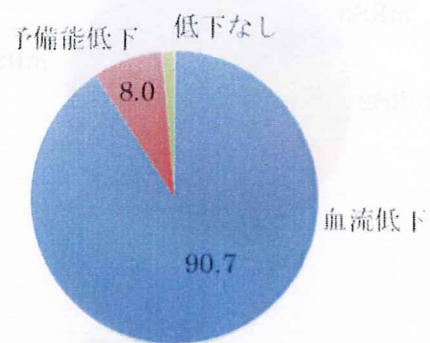
初発時 modified Rankin Scale (%)



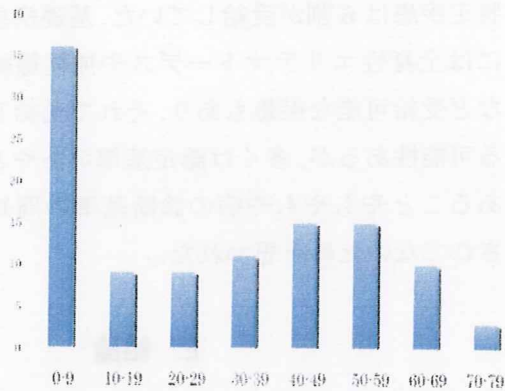
男女比 (%)



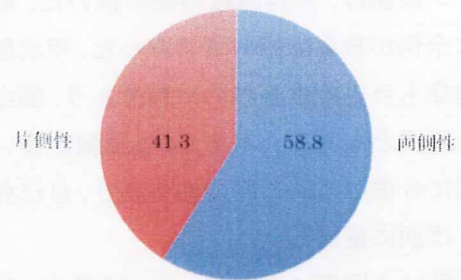
脳血流検査 (%)



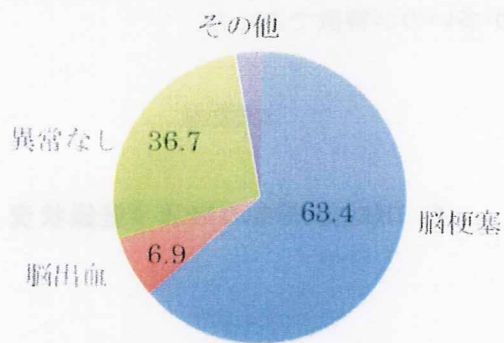
年齢分布



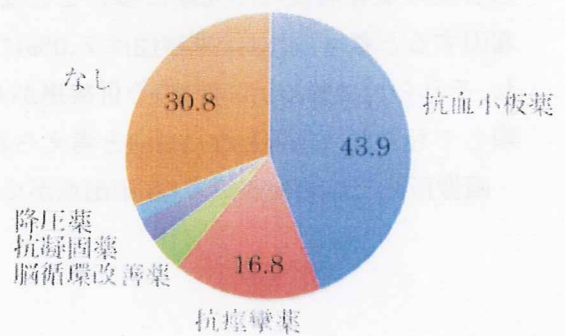
病変 (%)



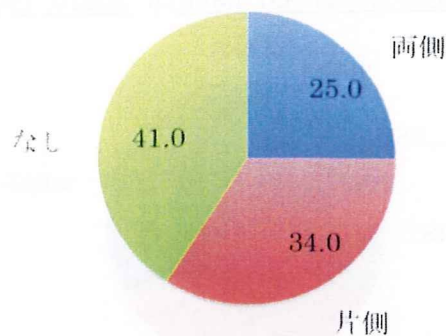
CT/MRI 所見 (%)



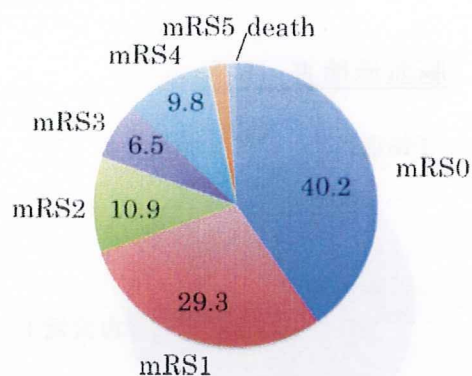
内科治療 (%)



外科治療 (%)



予後 (%)



D. 考察

基礎疾患としては動脈硬化が約 30%を占め、ダウン症候群、神経線維腫症が続いた。脳腫瘍では全例が放射線照射後であった。甲状腺機能亢進症も自己免疫疾患の一種であり、脳血管障害の原因となることもあるが、母数が多いため、偶然に合併している可能性もあり、自己免疫疾患とは別に集計した。

年齢は小児期に高いピークがみられ、確診例と同様の分布を示した。これは先天性疾患を合併では発症年齢が低いことや脳腫瘍／放射線照射後の血管病変は小児期に多いことなどに起因すると考えられた。家族性は 7.0%にみられ、それらでは確診例に偶然、合併疾患があり、類もやもや病に分類されたものと考えられた。

画像所見では脳梗塞が多く、脳出血が少なか

った。脳血管造影では片側例は 4 割を超え、一般に片側例はもやもや病全体の 10%前後であることから、類もやもや病の特徴と考えられた。これまでの報告でも神経線維腫症やダウン症候群における血管病変は片側性の割合が多い。病期分類ではもやもや病 III 期が多かったが、もやもや血管の発達は不良であった。もやもや病における両側性のもやもや血管の新生は診断上、重要な所見と考えられた。脳血流評価では、ほぼ全例で脳血流障害を認めた。

内科治療では抗血小板薬、抗凝固薬などの投与が多く、ごく一部ではワーファリンが使用されていた。手術は片側性に行われていることが多く、片側性の病変が比較的多いことが一因と考えられた。約半数が間接血行再建術であったが、これは小児が多いため、血管吻合が困難だったためと思われる。

経過中に症状は約 2 割で改善しているものの、mRS はあまり変化がなく、基礎疾患があるために ADL の改善は困難であると思われた。特定疾患は 6 割が受給していた。基礎疾患の中には全身性エリテマトーデスや神経線維腫症など受給可能な疾患もあり、それで受給している可能性あるが、多くは認定基準があやふやであることやもやもや病の診断基準の周知がなされていないためと思われた。

E. 結論

類もやもや病に関する全国調査結果を集計した。類もやもや病では脳出血が稀で片側性病変が多いのが特徴であった。

F. 文献

G. 知的財産権の出願・登録状況

もやもや病における『高次脳機能障害』の SPECT 診断 3D-SSP 統計画像の SEE(Level 3)による脳回レベル解析

中村記念病院 脳神経外科部長
中川原譲二

研究要旨

もやもや病では、前方循環の長期にわたる血行力学的脳虚血により、両側前頭葉に不完全脳梗塞が生じる可能性があるが、IMZ SPECT 検査の導入によって、MRI で脳の器質的病変の存在が明らかでない皮質神経細胞の脱落領域の画像化が可能となった。IMZ SPECT 3D-SSP 統計画像の SEE Level 3 による脳回レベルでの解析により、両側内側前頭回の皮質神経細胞の 10%以上の脱落が、高次脳機能障害（行政的）と関連する特異的所見である可能性が判明した。

A. 研究目的

高次脳機能障害支援事業（2001～2005 年度：厚労省）に基づき、脳血管障害を含む脳損傷による記憶障害、注意障害、遂行機能障害、社会的行動障害などの認知障害を『高次脳機能障害』（行政的）、これにより生活に困難をきたす者を『高次脳機能障害者』と呼び、精神障害者保険福祉手帳の対象としての診断基準が示された¹⁾（表 1）。しかし、この診断基準には、MRI、CT、脳波などの検査により原因と考えられる脳の器質的病変が確認されることが要件とされ、もやもや病などでしばしば見られる脳の器質的病変の存在を明らかに出来ない高次脳機能障害（行政的）の診断が問題となる。そこで、神経心理学的検査にて、行政的診断基準により高次脳機能障害と診断された成人もやもや病患者を対象として、皮質神経細胞のマーカーである ¹²³I-Iomazenil (IMZ) SPECT を

用いて高次脳機能障害（行政的）に相応する虚血性の皮質神経細胞脱落の局在診断を試みた。

B. 研究方法

MRI にて大脳皮質障害がないかあるいは軽度と判断される成人もやもや病 13 症例を対象として、IMZ SPECT を施行し、統計画像解析である 3D-SSP を用いて Z-score 解析²⁾を行った。健常者データベースとして 20～36 歳の 18 例で構成された汎用データベースを用いた。解析画像として全脳で正規化された GLB 画像を用いた。MRI 上脳梗塞の見られない前頭葉領域の内側および外側について、Z-score > 2(S.D.)の低下を示すピクセルの集合領域を、脳皮質神経細胞の脱落領域と定義した。

今回は、IMZ-SPECT の 3D-SSP の局在解析手法として開発された stereotactic extraction estimation(SEE) 法の Level 3 解析³⁾を用い

て脳回毎における皮質神経細胞の脱落の程度 (%Extent) を解析し、高次脳機能障害 (行政的) と関連する所見について検討した。

神経心理学的検査については、WAIS-III (Wechsler 成人知能検査)、記憶検査: WMS-R (Wechsler 式記憶検査)、前頭葉機能検査として、(1) Trail Making Test Part A, Part B、(2) Verbal Fluency Test、(3) 浜松式かなひろいテスト、などを施行し、高次脳機能障害 (行政的) の有無を診断した。

C. 研究結果

対象成人もやもや病 13 症例中 4 症例が、記憶検査である WMS-R (Wechsler 式記憶検査) や前頭葉機能検査である浜松式かなひろいテストなどを用いた神経心理学的評価により、行政的診断基準を満たす高次脳機能障害と判定された。

高次脳機能障害と判定された 4 症例では、両側前頭葉の内側に、IMZ-SPECT の 3D-SSP 解析によって皮質神経細胞の脱落領域が認められた。これらの症例について、SEE 法の Level 3 解析を用いて脳回毎に皮質神経細胞の脱落の程度を解析したところ、4 例全例において両側内側前頭回 (medial frontal gyrus)、2 例において両側前部帯状回 (anterior cingulate gyrus) に、Z-score>2, Extent>10% の皮質神経細胞の脱落が認められた (図 1)。

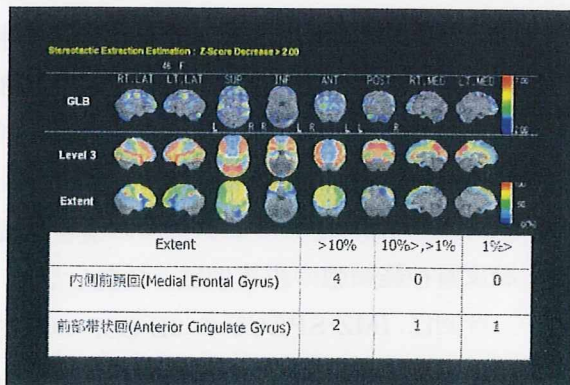


図 1 : 高次脳機能障害と判定された 4 例の SEE

法の Level 3 解析

高次脳機能障害と判定された 4 症例での実際の測定値は、第 1 例目 (左 24.5%、右 23.7%)、第 2 例目 (左 39.9%、右 37.9%)、第 3 例目 (左 37.7%、右 36.5%)、第 4 例目 (左 23.3%、右 26.7%) であった。

一方、高次脳機能障害と判定されなかった 9 例では 3 症例の一侧前頭葉に軽度の皮質神経細胞の脱落領域が見られたが、前頭葉の両側前頭葉の内側において皮質神経細胞の脱落領域が認められる症例はなかった。IMZ-SPECT の 3D-SSP について、SEE 法の Level 3 解析を用いて脳回毎に皮質神経細胞の脱落の程度を解析したところ、1 例で一侧内側前頭回 (medial frontal gyrus) に Z-score>2, Extent>10% の皮質神経細胞の脱落が認められた (図 2)。本例の実測値は左 4.7%、右 10.7% であった。

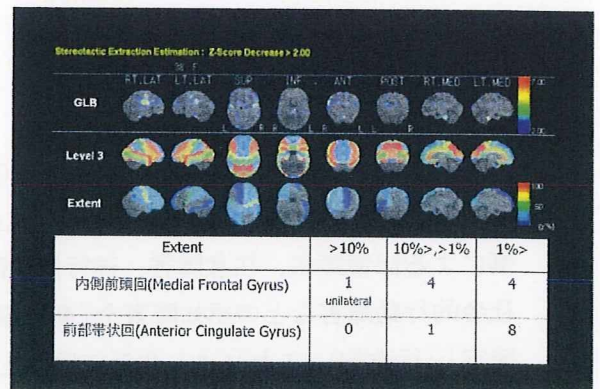


図 2 : 高次脳機能障害を判定されなかった 9 例の SEE 法の Level 3 解析

D. 考察

中枢性 BZR は、大脳皮質に広範に存在する GABA 系抑制シナプスの一部をなし、その分布画像は、皮質神経細胞のマーカーとして臨床的意義を有し、中枢性 BZR に特異的に結合する IMZ を用いた SPECT によって皮質神経細胞の脱落が画像化される。脳虚血症例では、MRI で脳梗塞が見られない皮質領域における

皮質神経細胞の脱落については『不完全脳梗塞』⁴⁾として報告されている。

もやもや病の IMZ-SPECT を 3D-SSP を用いて Z-score 解析を行った結果、高次脳機能障害（行政的）が見られる症例では、両側前頭葉の内側・外側に皮質神経細胞の脱落が認められたが、その機序として、もやもや病の前方循環における血行力学的脳虚血の重症度および長期にわたる持続期間が関与すると考えられた。

今回、行政的診断基準により高次脳機能障害と判定されたもやもや病症例において、IMZ SPECT 3D-SSP 統計画像 (Z-score>2) を SEE 法の Level 3 解析を用いて毎に皮質神経細胞の脱落の程度を解析したところ、いずれの症例でも両側内側前頭回 (medial frontal gyrus) に 10% 以上（実際には 20~40% の範囲）の皮質神経細胞の脱落所見が見出されたが、高次脳機能障害と判定されない症例では、1 例において一側の内側前頭回に 10% 以上の皮質神経細胞の脱落所見が見出されたものの、概してその程度は軽度であった。両側内側前頭回における 10% 以上の皮質神経細胞の脱落所見は、特異的所見と考えられ、行政的診断基準による高次脳機能障害の判定において、器質的障害の診断根拠として用いることが出来ると考えられるが、その有用性の確立には多施設共同研究による検証が必要である。

E. 結論

1. モヤモヤ病では、前方循環の長期にわたる血行力学的脳虚血により、両側前頭葉に不完全脳梗塞が生じる可能性があり、IMZ SPECT の導入によって、MRI などでは明らかに診断出来ない両側前頭葉における皮質神経細胞の脱落領域の画像化が可能である。

2. 3D-SSP 統計画像の SEE Level 3 による脳

回毎の解析により、両側内側前頭回の 10% 以上の皮質神経細胞脱落が、高次脳機能障害（行政的）と関連する特異的所見である可能性が高く、診断を確定する画像診断法として有用と考えられる。

3. 今後は、IMZ SPECT の有用性の確立を目指した多施設共同研究による検証が必要である。

F. 文献

- 1) 高次脳機能障害ハンドブック 診断・評価から自立支援まで 編集：中島 八十一／寺島 彰 医学書院 2006
- 2) Minoshima S, Frey KA, Koeppe RA, et al: A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of fluorine-18-FDG PET. *J Nucl Med* 36: 1238-1248, 1995
- 3) Mizumura S, Kumita S, Cho K, Ishihara M, Nakajo H, Toba M, et al. Development of quantitative analysis method for stereotactic brain image: Assessment of reduced accumulation in extent and severity using anatomical segmentation. *Ann Nucl Med* 2003; 17: 289-295.
- 4) Nakagawara J, Sperling B, and Lassen NA: Incomplete brain infarction may be quantitated with iomazenil. *Stroke* 28: 124-132, 1997

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

もやもや病の特定疾患申請書の改訂について

北海道大学病院 神経外科
黒田 敏

研究要旨

平成 21 年度は、これまで使用されてきた本疾患の特定疾患申請における現状と課題について前年度に検討した結果をもとに、本疾患の診断基準の改訂とともに改訂すべき事項をピックアップした。また、本疾患の特定疾患認定のプロセスを全国的に標準化する必要性にも言及した。

A. 研究目的

本疾患における特定疾患申請（新規および継続）において、診断基準の改訂とともに改訂すべき点を検討した。また、本疾患の特定疾患認定のプロセスを全国的に標準化する必要性について言及した。

B. 研究方法

平成 17 年に改訂されて以来、現在まで使用されているもやもや病の特定疾患認定のための申請書（新規・継続）をもとに、今後、改訂すべき点を抽出した。また、今後、本疾患の罹患患者が過不足なく医療補助を給付できるためのシステム作りのための課題について検討した。

C. 研究結果

1) 新規および継続申請書の書式について

申請書の第 1 頁（表紙）では脳血管撮影も脳 MRA もフィルムとともに提出するように記載されているが、第 4 頁では脳 MRA のみがフィ

ルムを提出が必要であると誤解されかねない記載がなされており、脳血管撮影、脳 MRA いずれもフィルムあるいは電子データの提出が必要である旨を明記すべきであると考えられた。

申請書の第 3 頁では「診断」の項で「确实」、「疑い」いずれかにチェックをするようになっていたが、今後の診断基準の改訂に伴って削除する、あるいは、「両側例」、「片側例」いずれかを選択するように変更する必要性が生じると考えられた。また、「既往症」の項では、自己免疫疾患、髄膜炎、動脈硬化、脳腫瘍、ダウン症候群、レックリングハウゼン病、頭部外傷、頭部放射線照射、その他などの類もやもや病関連疾患の有無について記載する様式となっていたが、これも今後の診断基準の改訂に伴って修正する必要性が生じると考えられた。

申請書の第 3 頁では「脳血管撮影」および「脳 MRA」の項で、今後の診断基準の改訂に伴って選択肢の文面を改訂する必要性が生じると考えられた。さらに、これまでいずれの項にも選択肢として記載されていた「1 と 2 の所見が両側性にある」という記載そのものが、今後の診断基準の改訂に伴って不要になると可能性が

あると考えられた。

2) 認定プロセスの際の問題点について

現時点での最も大きな混乱と問題は、片側型(=疑い例)の取り扱いであろう。本研究班の調査により都道府県によって認定の基準が二分していることが明らかとなっている。近年の研究によって片側例の病態や予後が次第に明らかになっていくことから、今後の診断基準の改訂に伴って、認定プロセスにおける片側例の取り扱いを明確にすべきであると考えられた。

新規申請の場合は、各都道府県で指定された医師が認定作業を実施していると考えられるが、班員からの聞き取りでは各自治体から委嘱されて認定を担当している医師は公表されていないようである。また、更新の判定にはその医師は関与していないようである。数年前から新たに「軽快者」という定義が特定疾患全体で設けられた。しかし、その解釈と判定はきわめて曖昧であり、無症状型としてもやもや病と診断された確実例の症例が、厳格な定期観察を継続されているにもかかわらず、内服治療も外科治療も実施していないという記載のみを根拠に、各都道府県指定の医師の判断を介さずに「軽快者」と判定されている例が全国にわたって多く見受けられている。本来、「軽快者」は術後に病状が長期間安定しており、ごく少ない頻度での通院のみで十分な症例に適用されるべきものと考えられるが、その運用に混乱が生じていると考えられる。

D. 考察

医療現場、監督官庁で見られる上述した混乱は、全てがこれまで放置されてきた診断基準の

曖昧さ、特定疾患認定の運用方法の曖昧さに起因していると考えられる。特定疾患を有する患者が必要かつ十分な医療補助を受けることができるようにするためには、両側例、片側例いずれも「真の」もやもや病と考えるのか？別の疾患概念と考えるのか？を早急にはっきりさせることが必要である。また、類もやもや病の位置づけもより明らかにすべきであろう。したがって、本疾患の診断基準をより明確な形で改訂する必要があると考えられた。

また、各都道府県で審査を実施している医師の判断基準にも大きな隔たりが存在している可能性があることも重要な問題である。診断基準を明確にすることで判定基準をより分かりやすくして、担当医師の意思統一を図ることも大切なミッションを考えられ、今後、診断基準や申請書の書式が改訂されるのをよい機会と捉えて、本研究班から厚生労働省を通して各都道府県に認定のあり方を勧告すべきであると考えられた。

E. 結論

本疾患の認定プロセスの問題点を掲げるとともに、本疾患の診断基準や申請書の書式を改訂する必要性について報告した。

F. 文献

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

もやもや病中大脳動脈生体試料収集と病理学的特徴について

京都大学 脳神経外科
宮本 享、高木康志

研究要旨

もやもや病は未だ原因不明の内頸動脈終末部に狭窄を生じる病変である。今回浅側頭動脈-中大脳動脈吻合術の術中に中大脳動脈小切片を採取し、病理学的に検討した。中大脳動脈はもやもや病の主病巣ではないが、これまでに剖検で得られた内頸動脈終末部の病理所見と同様に、中膜の皮薄化と内弾性板の断片化が認められ、内皮の肥厚が認められた。

A. 研究目的

もやもや病中大脳動脈の病理所見を術中に採取した切片を用いて検討する。

B. 研究方法

対象は京都大学脳神経外科にて、血行再建術を施行したもやもや病 25 例 35 半球側 (男/女=7/18)。発症形式は脳虚血 23 例、出血 2 例。年齢は平均 59.1 歳であった。

手術は中大脳動脈 M4 への STA-MCA 吻合術(single)と EMS を行い、その際 MCA の小切片を採取し、ホルマリン固定後、パラフィン封埋し病理学的に検討した。コントロールサンプルとしては髄膜腫 1 例、神経膠腫 2 例、動脈瘤 3 例から採取した中大脳動脈を用いた。

C. 結果

もやもや病患者の内膜の平均値は 19.4±9.7mm でコントロールは 8.0±4.7mm であり、この差は統計学的に有意であった

($p=0.0041$)、また、もやもや病における中膜の平均値は 23.0±7.7mm でコントロールは 61.8±30.4mm でこの差も統計学的に有意であった ($p=0.0009$)。病理学的にもやもや病の内弾性板は 10 例で破断しており、また 14 例で被薄化しており、正常なものは 7 例のみであった。また、5 例でエオジン好性の沈着が認められた。さらに、分子生物学的検討においては、もやもや病の中膜には ssDNA 陽性の細胞が多く認められ、更に caspase-3 陽性細胞が多く認められた。また、内膜においては HIF-1 α 、endoglin 陽性細胞が多く認められた。

D. 考察

もやもや病は内頸動脈終末部の狭窄ともやもや血管の増勢を特徴とする難病である。これまでに、剖検サンプルを用いて、内頸動脈終末部の内膜肥厚と内弾性板の変成が報告されている。しかし、中大脳動脈末梢部の病理学的所見については報告が少ない。今回、我々は手術時に採取できたサンプルを用いて、中大脳動脈末梢部の病理学的特

徴を検討した。頭蓋内血管の末梢部においても、内頸動脈終末部と同様に内膜肥厚と中膜の被薄化が認められた。これらの事実は、もやもや病の血管の変化が全頭蓋内血管に及んでいることを示している。また、中膜の血管に ssDNA 陽性細胞と caspase-3 陽性細胞が多く存在していたことは中膜の被薄化に caspase 依存性のアポトーシスが関与していることを示している。また、内膜の肥厚には HIF-1 α - endoglin の pathway が非常に重要な役割を示していることが示された。

結論

中大脳動脈はもやもや病の主病巣ではないが、これまでに剖検で得られた内頸動脈終末部の病理所見と同様に、中膜の皮薄化と内弾性板の断片化が認められ、内皮の肥厚が認められた。

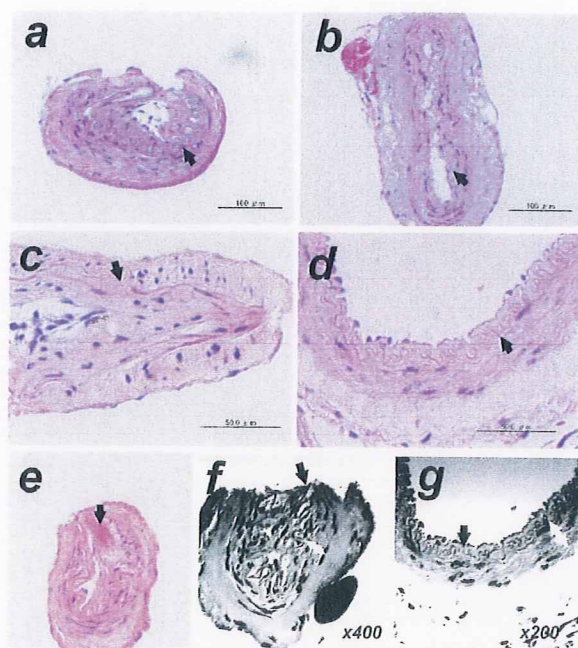


Fig. 1. Hematoxylin and eosin-stained specimens from middle

cerebral artery (a-e). a, c and e. Middle cerebral artery with moyamoya disease. Intimal hyperplasia was obvious (a, arrow indicates internal elastic lamina) The internal elastic lamina appears disrupted (c, arrow indicates disruption). Eosin-positive intimal deposit was shown (e, arrow indicated the deposit). b and d. Middle cerebral artery of control patients (arrows indicated internal elastic lamina). f-g. Histological finding assessed by interference differential microscopy (IDM) of middle cerebral artery specimen. e and f. Middle cerebral artery with moyamoya disease. Intimal hyperplasia was obvious and media was thin (black arrows indicates internal elastic lamina, white arrows indicates the thickness of media) g. Middle cerebral artery of control patient (arrow indicates internal elastic lamina).

E. 文献

1. Expression of hypoxia-inducing factor-1 alpha and endoglin in intimal hyperplasia of the middle cerebral artery of patients with Moyamoya disease. Takagi Y, Kikuta K, Nozaki K, Fujimoto M, Hayashi J, Imamura H, Hashimoto N. *Neurosurgery*. 2007 Feb;60(2):338-45; discussion 345.
2. Histological features of middle cerebral arteries from patients treated for Moyamoya disease. Takagi Y, Kikuta K, Nozaki K, Hashimoto N. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2007 Jan;47(1):1-4.
3. Caspase-3-dependent apoptosis in middle cerebral arteries in patients with moyamoya disease. Takagi Y,

Kikuta K, Sadamasa N, Nozaki K,
Hashimoto N. **Neurosurgery**. 2006
Oct;59(4):894-900; discussion 900-1.

知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧

1. Fujimura M, Mugikura S, Kaneta T, Shimizu H, Tominaga T. Incidence and risk factors for symptomatic cerebral hyperperfusion following superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis in patients with moyamoya disease. **Surg Neurol** 71:442-447, 2009
2. Narisawa A, Fujimura M, Tominaga T. Efficacy of the revascularization surgery for adult-onset moyamoya disease with the progression of cerebrovascular lesions. **Clin Neurol Neurosurg** 111:123-126, 2009
3. Fujimura M, Watanabe M, Narisawa A, Shimizu H, Tominaga T. Increased expression of serum matrix metalloproteinase-9 in patients with moyamoya disease. **Surg Neurol** 72:476-480, 2009
4. Fujimura M, Kaneta T, Shimizu H, Tominaga T. Cerebral ischemia owing to compression of the brain by swollen temporal muscle used for encephalo-myo-synangiosis in moyamoya disease. **Neurosurg Rev** 32:245-249, 2009
5. Nakagawa A, Fujimura M, Arafune T, Sakuma I, Tominaga T. Clinical implications of intraoperative infrared brain surface monitoring during superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis in patients with moyamoya disease. **J Neurosurg** 111:1158-1164, 2009
6. Mori N, Mugikura S, Higano S, Kaneta T, Fujimura M, Umetsu A, Murata T, Takahashi S. The leptomeningeal 'ivy sign' on fluid-attenuated inversion recovery MR imaging in moyamoya disease: A sign of decreased cerebral vascular reserve? **AJNR Am J Neuroradiol** 30:930-935, 2009
7. Liu W, Hashikata H, Inoue K, Matsuura N, Mineharu Y, Kobayashi H, Kikuta KI, Takagi Y, Hitomi T, Krischek B, Zou LP, Fang F, Herzig R, Kim JE, Kang HS, Oh CW, Tregouet DA, Hashimoto N, Koizumi A. A rare Asian founder polymorphism of Raptor may explain the high prevalence of Moyamoya disease among East Asians and its low prevalence among Caucasians. **Environ Health Prev Med** 2010, 15:94-104
8. Murakami T, Ueno M, Takeda A, Yakuwa S, Kuroda S: Multiple coronary stenosis in moyamoya disease. **Circulation** 119:1689, 2009
9. Kuroda S, Houkin K, Ishikawa T, Nakayama N, Iwasaki Y: Novel bypass surgery for moyamoya disease using pericranial flap – Its impacts on cerebral hemodynamics and long-term outcome. **Neurosurgery** (in press)
10. Kuroda S: Cognition and quality of life. Cho BK and Tominaga T (eds) **Moyamoya Disease Update**. pp281-284, Springer 2010
11. Kuroda S: Asymptomatic moyamoya disease. Cho BK and Tominaga T (eds) **Moyamoya**

Disease Update. pp336-340, Springer 2010

12. Kuroda S: New data on surgical therapy for pediatric moyamoya disease. **Nat Rev Neurol** (in press)
13. 黒田 敏、川堀真人、宮本倫行、笹森 徹、遠藤将吾、中山若樹、石川達哉、宝金清博、岩崎喜信：側頭葉から後頭葉にかけて高度の虚血を有するもやもや病に対する脳血行再建術。脳卒中の外科 37:345-349, 2009
14. 宮本倫行、黒田 敏、中山若樹、岩崎喜信：脳血行再建術後に後大脳動脈に可逆的な狭窄を認めた類もやもや病の一例。脳外 (in press)
15. 野川 茂、大木宏一、星野晴彦、鈴木則宏：もやもや病における頭痛—頭痛学会会員へのアンケート調査 第2報—。厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 ウィリス動脈輪閉塞症における病態・治療に関する研究 (主任研究者 橋本信夫)。平成 20 年度総括研究報告書: 16-19, 2009.
16. 野川 茂：もやもや病 (ウィリス動脈輪閉塞症)。In: 神経疾患・診療ガイドライン—最新の診療指針—。鈴木則宏・編。総合医学社、東京。p.p.34-39, 2009.
17. Shigeru Nogawa and Norihiro Suzuki: Involuntary Movement. In: **Moyamoya Disease Update**. Ed by Byung-Kyu Cho, Teiji Tominaga. Springer, Tokyo, Berlin, Heidelberg, New York, 2010, p.p.114-117.

ウイルス動脈輪閉塞症における生体試料の収集に関する研究班

名簿

区分	氏名	所属	職名
主任研究者	宮本 享	京都大学大学院医学研究科 脳神経外科	教授
分担研究者	寶金 清博	札幌医科大学脳神経外科学 講座（現籍 北海道大学）	教授
	富永 悌二	東北大学大学院医学系研究 科神経外科学神経科学	教授
	中川原 穰二	中村記念病院脳神経外科	診療本部長
	永田 泉	長崎大学医歯薬学総合研究 科病態解析制御学	教授
	黒田 敏	北海道大学大学院医学研究 科神経病態学講座脳神経外 科	講師
	高木 康志	京都大学大学院医学研究科 脳神経外科	講師