

ログロブリン抗体 (TgAb)、抗ペルオキシダーゼ抗体 (TPOAb) を測定した。

解析方法：対象を甲状腺機能亢進群と正常群、もしくは抗甲状腺抗体陽性群と陰性群に分けて、臨床背景、狭窄病変の部位について比較した。2群間の平均の比較は unpaired t-test を用い、割合の比較は Fisher's exact test を用いた。P < 0.05 を統計学的有意と定義した。

C. 研究結果

甲状腺機能検査は正常 14 例、亢進 4 例 (バセドウ病 2 例、腺腫様甲状腺腫 1 例、無症候性 1 例)、低下 1 例 (無症候性) だった。TgAb は 5 例で陽性、TPOAb は 4 例で陽性だった。

甲状腺機能と血管病変について、甲状腺機能亢進例と正常例で比較し、血管狭窄部位やもやもや血管の有無に明らかな違いはみられなかった (表 2)。TgAb と血管病変の関連は、抗体陽性例と陰性例で比較し明らかな差は見られなかったが、抗体陽性例では内頸動脈の狭窄・閉塞症例が多い傾向がみられた (表 3)。

表 1. 患者背景 (N = 19)

年齢	48.1±9.5
男性 / 女性	8 / 11
症候性	14
内頸動脈閉塞・狭窄	7
中大脳動脈閉塞・狭窄	18
血管閉塞の基礎疾患	
動脈硬化	10
原因不明	6
バセドウ病	2
先天性代謝疾患	1
甲状腺機能	亢進 4 低下 1 正常 14
TbAb	陽性 5 陰性 14
TPOAb	陽性 4 陰性 14 (1 例データ欠損)

表 2. 甲状腺機能と血管病変

	甲状腺機能 亢進 N = 4	甲状腺機能 正常 N = 14	P
C1 病変	2	4	0.57
C2 病変	0	2	1.0
C3 病変	1	2	1.0
M1 起始部病変	1	9	0.27
M1 中央部病変	3	12	1.0
M1 遠位部病変	1	10	0.25
M2 病変	0	7	0.11
もやもや血管	1/3	2/11	1.00

表 3. 抗サイログロブリン抗体と血管病変

	TgAb 陽性 N = 5	TgAb 陰性 N = 14	P
C1 病変	3	3	0.26
C2 病変	1	1	0.47
C3 病変	2	1	0.15
M1 起始部病変	2	9	0.60
M1 中央部病変	3	13	0.15
M1 遠位部病変	2	10	0.30
M2 病変	2	6	1.00
もやもや血管	0/3	3/11	1.00

表 4. 抗ペルオキシダーゼ抗体と血管病変

	TPOAb 陽性 N = 4	TPOAb 陰性 N = 14	P
C1 病変	4	2	0.005
C2 病変	1	1	0.41
C3 病変	1	1	0.41
M1 起始部病変	2	9	1.00
M1 中央部病変	2	13	0.11
M1 遠位部病変	2	10	0.57
M2 病変	1	7	0.59
もやもや血管	1/3	2/11	1.00

TPOAb に関しては、陽性例は全例で C1 病変がみられたのに対し、陰性例では 14 例中 2

例にとどまり、差がみられた（表 4）。

次に、もやもや病では内頸動脈終末部の狭窄・閉塞が特徴的所見であるため、この部分に注目し、内頸動脈終末部（C1-C2）の狭窄病変の有無別に臨床背景や甲状腺機能、抗甲状腺抗体の違いについて比較した（表 5）。C1-C2 にかけて狭窄病変のある患者 6 例のうち 5 例が女性だった。もやもや血管は C1-C2 病変のある 5 例中 3 例にみられたが、C1-C2 以外の血管病変のみ有する患者ではみられなかった。甲状腺機能については明らかな差はなかったが、TgAb、TPOAb は C1-C2 に狭窄病変がある人で陽性率が高い傾向にあり、特に TPOAb については有意差を認めた。

表 5. 内頸動脈終末部病変の関連因子

	狭窄部位		P
	C1-C2 N=6	C1-C2 以外 N = 13	
年齢(平均)	49.5	47.4	0.67
男性/女性	1/5	7/6	0.18
症候性%	50.0	84.6	0.26
高血圧%	83.3	61.5	0.60
糖尿病%	0.0	46.2	0.11
脂質異常症%	33.3	69.2	0.32
喫煙%	16.7	23.1	1.00
虚血性心疾患%	16.7	0.0	0.32
もやもや血管	3/5	0/9	0.028
甲状腺機能	正常 4 亢進 2	正常 14 亢進 4 低下 1	0.56
TgAb 陽性%	50.0	15.4	0.26
TPOAb 陽性%	66.7	0.0	0.005

D. 考察

本研究では、60 歳未満の成人で頭蓋内脳血管閉塞症を対象に甲状腺機能、抗甲状腺抗体を調べた結果、内頸動脈終末部に狭窄病変のある

患者で抗甲状腺抗体、特に TPOAb の陽性率が高かった。一方甲状腺機能異常と血管病変の明らかな関連はみられなかった。

本研究で測定した TgAb は甲状腺濾胞細胞内に貯蔵されている糖蛋白（サイログロブリン）に対する自己抗体である。TPOAb は、甲状腺組織から抽出されたマイクロゾーム分画に対する自己抗体である。いずれも甲状腺自己免疫疾患（慢性甲状腺炎やバセドウ病）で陽性率が高く、特に TPOAb はバセドウ病で陽性（64-100%）となりやすい。

バセドウ病（Graves 病）は類もやもや病の基礎疾患として知られており、症例報告が散見される。バセドウ病で脳血管病変を合併する機序は明らかではないが、交感神経系の亢進が脳循環代謝、酸素代謝を促進し、虚血症状をおこしやすくするという説や、甲状腺機能亢進が高ホモシスチン血症をひきおこし、動脈硬化が早期に進行することにより血管狭窄病変をおこしやすくするという説がある他に、バセドウ病の免疫学的異常、特に抗甲状腺抗体ともやもや病の関連性が注目されている。

抗甲状腺抗体ともやもや病の関連については、Utku U らがバセドウ病に対する血漿交換療法を施行後に脳血管の狭窄が改善した症例の報告をしており、抗甲状腺抗体そのものが血管病変に関連する可能性を示唆している

(Utku U et al. AJNR Am J Neuroradiol. 2004; 25: 1541-1543)。また Kim SJ らは、甲状腺疾患を合併していない成人もやもや病の患者と対照群（脳梗塞症例・健常人）とを比較して、もやもや病患者では抗甲状腺抗体陽性率が有意に高かった、と報告している (Kim SJ et al. Stroke. 2010;41:173-176)。最近では小児もやもや病 114 例を健常群と比較して甲状腺機能亢進・抗甲状腺抗体陽性例が有意に多かったという報告がある (Li H et al, Stroke. 2011;42:1138-1139)。

本研究の対象ではもやもや病の確診例や両

側内頸動脈終末部閉塞例は除いているが、もやもや病の特徴とされる内頸動脈終末部病変と抗甲状腺抗体の関連性を認めた。バセドウ病は自己抗体産生により甲状腺が刺激されることにより発症するとされているが、真の原因である、自己抗体が産生される機序は不明である。自己抗体が産生される機序と、内頸動脈終末部の血管異常をおこす機構とに何らかの関係がある可能性がある。

結論

若・中年の頭蓋内脳血管閉塞症の患者では、内頸動脈終末部の血管病変を有する例で抗甲状腺抗体陽性率が高い。内頸動脈終末部病変に

免疫学的機序が関与している可能性が示唆された。

E. 文献

2011 年度発表論文

Cerebral microbleeds in patients with moyamoya-like vessels secondary to atherosclerosis. Tanaka M, Sakaguchi M, Miwa K, Kitagawa K. Intern Med. 2012;51(2):167-72.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

・ 我が国のもやもや病の遺伝子座として 17q25.3 が報告されている。我が国の家族歴を有するものでは、ほぼ全例が 17q25.3 に連鎖しており座位の異質性がない。本年度は、感受性遺伝子の特定を行うとともに、日中韓での感受性遺伝子のキャリアの推定を行い、それに基づき患者の数を推定した。

A. 研究目的

もやもや病は、白人やアフリカ人では少なく、東アジアの日本、韓国および中国で頻度が高い疾患である。我が国では、約 1 万人に 1 名の頻度であり、女性に多く、脳出血や脳梗塞として発症することで知られている。また約 15% に家族歴が認められ、遺伝素因の関与が疑われてきた。

遺伝素因が強いことから、原因遺伝子の存在が想定され、2000 年前後より本格的な遺伝子の探索が行われ、3p24-26, 6q25,8q23 および 17q25.3 が報告された。その後、17q25.3 については、2008 年に 15 家系を用いた全ゲノム連鎖解析により確認された。またこの領域はさらに検討され、2010 年には、領域内の遺伝子 Raptor に一般人口では希少な多型が患者に高い頻度で見出されることが発見され、この多型と連鎖不平衡にあるハプロタイプに原因遺伝子が存在することが報告された。その後、この領域にある RNF213 への高い相関が報告され、最終的に我々は、RNF213 を感受性遺伝子と

して同定した。

B. 研究方法

日本人家 8 家系を用い連鎖解析を行うと同時に、これら家系のプロバンドに全ゲノムでの exome 解析を行った。その後、候補領域を BAC を用いて患者一名からライブラリーを作成しこの領域をすべて配列決定した。以上の遺伝的検討の外、候補遺伝子、RNF213 のクローニングを行い、Open reading frame を決定するとともに、生化学的解析を行った。また、Zebrafish で遺伝子発現を抑制し RNF213 と血管形成における役割を見た。さらに、日中韓でのキャリアの頻度の推定を行い東アジアでの患者数を推定した。

研究結果

1) もやもや病感受性多型として RNF213 の p.R4810K の同定：3 世代にわたり家系内にもやもや病の患者がいる 42 家系を集め、そのうちの比較的大きな 8 家系について、再度連鎖解析を行い、遺伝子の存在する候補領域を 17 番染色体の 1.5Mb 領域に狭めた。引き続き、その 8 家系の内最も典型的なケース

と思われる 8 名を選び、その 8 名について、次世代シーケンサーで全ゲノムに存在する大よそ 2.1 万個の遺伝子のエクソン配列を解読した。その結果、17 番染色体の候補領域にある RNF213 の 4810 番目のアルギニンがリジンに代わる多型 (p.R4810K) (注: 遺伝子変異の記載は、我々が見出し NCBI に登録した cDNA AB53788933) に基づく。以下すべての変異の記載はこの cDNA に基づく) のみが唯一、共通した遺伝子多型であることが判明した。さらに、この多型は、8 家系の発症者全員で共有していることが判明した。さらに、日本および韓国の 42 家系で家系内の発症者がこの多型を有しているかどうかを、RNF213 の全エクソン配列の決定により調べたところ、他の多型はなく、いずれの家系でも発症者は、この多型を有していることが判明した。

そこで、連鎖解析で想定される候補領域の SLC26A11 から NPTX1 までの領域における全遺伝子イントロン、エクソン、遺伝子間の配列を含む 260kB の領域を典型的な 1 名の発症者において解読することにした。その結果、p.R4810K を含めて 5 つの希少な未登録多型 (ss179362671, ss179362673 (p.R4810K), ss179362674, ss179362675, ss161110142) が見出された。しかし、大きな欠失、挿入、repeat expansion 等は認められなかった。

次に、この 5 つの希少な遺伝子多型を含む 39 個の遺伝子多型を用いてこれら 42 家系の発症者全員を調べたところ、非常にまれな 5 多型を含めて共有しており、これら 42 家系は全て同じ染色体断片を有していることが分かり、一人の共通の祖先から伝わっていると結論された。各家系における配列決定により、5 つの希少なマーカーは連鎖不平衡が判明し、全家系で共通する多型は、RNF213 遺伝子の p.R4810K と FLJ35220 のイントロン 11 の多型のみであった。後者の多型は、異常な mRNA の形成や遺伝子の発現抑制に結び付かないこ

とが実験的に証明され、RNF213 遺伝子の p.R4810K が機能異常に結びつく多型と結論された。

次に、家族歴の有無を問わず、東アジアの患者と非患者を幅広く比較し調べたところ、日本人の患者では、161 名中 145 名 (90%)、韓国人の患者では、38 名の患者の内 30 名 (79%)、中国人患者では、52 名中 12 名 (23%) が p.R4810K を有していた。また、この多型を持っていると日本人では約 340 倍、韓国人では約 136 倍、中国人では約 15 倍、もやもや病にり患しやすく、患者全体の 251 名では、非患者 751 名に比べ、オッズ比は約 112 倍であった (Table 3)。しかしこの一方で、非患者でもこの遺伝子を有する人が、日中韓でも 2-3% 程度いることが判明した。

次に、p.R4810K 以外の RNF213 の多型を探索するため、東アジア人の患者、および白人において RNF213 の多型の探索を配列決定により行った。その結果、もやもや病に罹患していない人では見つからない 5 つの多型 (p.D4863N, p.E4950D, p.A5021V, p.D5160E, p.E5176G) を中国人患者 40 名中 5 名に見出した。また白人では東アジア人と同じ多型である p.R4810K を持っている患者は見つからず、新たに 4 つの多型をドイツ人 (43 名中 3 名) とチェコ人 (7 名中 1 名で、その 1 名は家系例で家系内の発症者は全て多型を有していた) の患者に見出した。これらの多型は東アジア人非患者 757 名、白人非患者 384 名には見出されなかった。以上から、遺伝学的に RNF213 の多型がもやもや病の発症に深くかかわると結論された (Figure 3)。また、白人で、もやもや病が少ない理由の一つとして、白人集団で p.R4810K の多型が存在しないことが考えられた。

2) RNF213 遺伝子をクローニングおよび生化学的機能解析および p.R4810K の機能への影響の検討

RNF213 遺伝子の機能は NCBI のデータベースでは不明であり、Bioinformatics により予測されているのみである。そこで我々は、RNF213 をクローニングし、その遺伝子の機能を詳細に調べることにした。まず、クローニングされたゲノムは、公共のデータベースに登録されているものよりも塩基数が大きく、591-kDa の細胞質に存在するタンパクをコードしていることが判明した。そこで、この新しい読み枠を AB537889 として国際的データベースに登録した (我々はこの遺伝子が、公共データベース上で登録されている RNF213 と少し変わっているため、新たに見出された遺伝子を *mysterin* と呼ぶことにした)。またこのタンパクの機能部位を試験管内で作成し、機能を調べたところ、タンパクのユビキチン化機能と ATP 分解機能を有する新しいタイプのタンパクで E3 ligase の仲間であることを見出した。この遺伝子は新規であるため機能情報が無く、本当に血管の形成にかかわる遺伝子であるかどうか不明であった。そこで、発現解析を行ったが多くの臓器で発現していた。また本遺伝子には、exon 4 を読み飛ばすマイナー-Splicing

variant が存在し、主たる発現遺伝子は exon 4 を読み飛ばさない AB537889 であることが判明した。

さらに、本遺伝子が、本当に血管系の形成にかかわる遺伝子かどうかを見るために、ゼブラフィッシュでこの遺伝子の発現を抑制してみることにした。発達期にこの遺伝子の発現を抑制すると、頭蓋内の眼動脈や脊椎動脈の分岐の異常が出るのが分かった。特に、頭蓋内の眼動脈の分岐異常は過去に報告されたことのない非常に興味深いものであった (Figure 4)。血管形成に重要な新たな遺伝子であることが判明した。

また、東アジア人に多い p.R4810 およびヨーロッパ人家系患者に見出された p.D4863N の機能解析を行った。いずれの変異も mRNA の安定性、蛋白の安定性、ubiquitin 活性、ATPase 活性においても影響を見出せなかった (33)。したがって、RNF213 の高次構造やポリマーとしての存在など今後さらに検討する必要がある。

3) 日中韓におけるキャリアの頻度

アジア人においてもやもや病が欧米人と比

Table 1. Geographic distribution of p.R4810K in RNF213 in East and Southeast Asian populations.

Area	Country	Location	Genotype of p.R4810K			Sample size	Minor allele frequency (%)	Total Population (million)	Estimated population with p.R4810K in a country (million)	
			GG	GA	AA					
East Asia	China	Dehui	50	0	0	50	0.00	1340.00	11.41	
		Hubeiao	50	0	0	50	0.00			
		Beijing	49	1	0	50	1.00			
		Jinan	50	0	0	50	0.00			
		Xian	92	2	0	94	1.06			
		Baoji	48	0	0	48	0.00			
		Shanghai	49	1	0	50	1.00			
		Changsha	50	0	0	50	0.00			
		Hebin	46	0	0	46	0.00			
		Nanning	49	1	0	50	1.00			
	Tainan	49	0	0	49	0.00				
	Total	582	5	0	587	0.43				
	Korea	Seoul	Seoul	102	3	0	105	1.43	50.00	1.36
			Chonan	28	1	0	29	1.72		
Haman			45	1	0	46	1.09			
Pusan			48	1	0	49	1.02			
Jeju-do			63	2	0	65	1.54			
Total	286	8	0	294	1.36					
Japan	Mainland	Mainland	1339	32	3	1374	1.38	125.00	3.39	
		Okinawa	98	2	0	100	1.00			
		Total	1437	34	3	1474	1.36			
Southeast Asia	Vietnam	Hanoi	103	0	0	103	0.00	90.50	0.00	
	Philippines	Mindao	50	0	0	50	0.00	94.00	0.00	

較し発症率が高い原因として、p.R4810K という創始者変異がアジア人では共通して患者に認められ、欧米人ではそのような共通の変異が認められないためと考えられた。そこで、アジア人 2508 名の DNA を用い各国における遺伝子頻度を推定した。

その結果、中国人における p.R4810K の頻度は、0.43%であり、韓国では 1.36%、日本でも 1.36%であることが判明した。この一方南アジアでは、p.R4810K は検出されなかった (Table1)。以上から東アジアでは、大よそ 1500 万人が p.R4810K 多型のキャリアと推定された。我が国ではその内の 300 人に 1 名すると推定されるため、この発症確率を適応すると、東アジア全体では大よそ 5 万人の患者がいることになる。

考察

本研究では、感受性遺伝子として RNF213 が同定されたが、この遺伝子を持っているキャリアーが全て発症するわけでない。おそらく何らかの環境要因が関与するものと思われる。特にこの遺伝子の多型が 3 つの人種で保存されていることから東アジア人に共通した環境因子への選択圧による選別も考えられ、環境因子を明らかにすることで、予防に重要な進展が期待される。

今後の研究において、以下の 3 つが重要と考えられる。

1. RNF213 による機序とクロストークするシグナル系

RNF213 は、血管形成にかかわる遺伝子であることは判明した。しかし、そのプロセスの詳細は不明である。RNF213 の生化学的な性格付けをより詳細に行い、関連するシグナル系の全貌を解明することは、RNF213 による機序とクロストークするシグナル系を明らかにするものと思われる。

2. In vitro アッセイ系

数十万の化合物のスクリーニングを一挙に

行うには、形質の偏移と強く関連するバイオマーカーの確立と、標的臓器の特性を再現できる細胞系の樹立が必要となる。そのためには、患者から樹立した多分化能を有する iPS 細胞の樹立が有望である。もやもや病の場合、病態を担う系列細胞を特定し in vitro 系で樹立することでその目標が達成される。

3. 環境要因

日中韓で共通する遺伝子の多型である p.R4810K は、共通の祖先にまでさかのぼり、3 つの国々の共通の祖先に由来する変異であることが予測される。もやもや病は、このように長い東アジア人の歴史の中で広がってきた病気といえる。人類へ遺伝的な選択圧を与えてきた最も大きな環境要因は、感染症である。従って、東アジアに共通の感染症が選択圧として作用してきた可能性がある。この仮説は、クロストークが免疫系に作用することを示唆するのかもしれない。

C. 結論

本年度は、感受性遺伝子として mysterin (RNF213 の isomer) がもやもや病の感受性遺伝子であることを見出した。また、アジア人に共通した多型である p.R4810K の頻度が高いことがアジア人での多発を説明することも判明した。今後、この遺伝子多型とともにもやもや病を発症させる環境要因を明らかにする必要がある。

E. 文献

Liu W, Morito D, Takashima S, Mineharu Y, Kobayashi H, Hitomi T, Hashikata H, Matsuura N, Yamazaki S, Toyoda A, Kikuta K, 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. Epub 2011 Jul 20.

Kobayashi H, Abe K, Matsuura T, Ikeda Y, CA36, a type of spinocerebellar ataxia accompanied by motor neuron involvement. Am J Hum Genet. 2011 Jul 15;89(1):121-30. Epub 2011 Jun 16.

Abe K, Ikeda Y, Kurata T, Ohta Y, Manabe Y, Okamoto M, Takamatsu K, Ohta T, Takao Y, Shiro Y, Shoji M, Kamiya T, Kobayashi H, Koizumi A. Cognitive and affective impairments of a novel SCA/MND crossroad mutation Asidan. Eur J Neurol. 2012 Feb 21. doi: 10.1111/j.1468-1331.2012.03669

Ikeda Y, Ohta Y, Kobayashi K, Okamoto M, Takamatsu T, Oota T, Manabe Y, Okamoto K, Koizumi A, Abe K. Clinical features of SCA36: a novel hereditary

Hitomi T, Akechi Y, Habu T, Liu W, Okuda H, Koizumi A. Expansion of intronic GGCCTG hexanucleotide repeat in NOP56 causes S dominant spinocerebellar ataxia with motor neuron involvement (Asidan) Neurology In press

小泉 昭夫、小林 果、人見敏明 もやもや病関連遺伝子 No Shinkei Geka. 2012 Feb;40(2):105-18.

Liu W, Hitomi T, Kobayashi H, Harada K, Koizumi A. Distribution of Moyamoya Disease Susceptibility Polymorphism p.R4810K in RNF213 in East and Southeast Asian Populations. Neurologia medico-chirurgica In press

F. 知的財産権の出願・登録状況

出願番号：特願 2009-244938

発明の名称：モヤモヤ病関連遺伝子及びその利用 特許出願人：国立大学法人京都大学

もやもや病の病態における、循環血液中の血管内皮前駆細胞の 意義

北海道大学病院 脳神経外科
宝金清博、七戸秀夫、黒田 敏

研究要旨

もやもや病患者から血行再建術前、術後に血液を提供していただき、血液中の血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell, EPC) を測定した。現時点では症例数が少なく preliminary な結果であるが、EPC は患者群で低率の傾向がみられた。また血行再建術前後で比較すると、多くの症例で術後に EPC の低下がみられた。

A. 研究目的

近年の研究により血中に存在する血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell, EPC) は、血管の turn over や動脈硬化の進展に重要な役割を演じていることが判明し、さらにもやもや病の成因にも関与している可能性が示唆されている。本研究ではもやもや病患者から血行再建術前、術後に血液を提供していただき、血液中の EPC を測定し、もやもや病の成因や治療による影響に関して研究することを目的とした。

B. 研究方法

当科外来通院中、もしくは入院中のもやもや病患者 (目標登録数：約 50 名)、および健康ボランティア (約 10 名) を対象とした。対象となる患者およびボランティアの方へ本研究に関して説明し、同意された方の研究参加登録をおこなった。

患者から術前と、手術後 4-12 ヶ月後に採血し、血液を遠心分離して MNC (末梢血単核球) を採取した。MNC を抗体 (CD34、CD133、VEGFR2) と反応させ、フローサイトメトリー解析 (FACS: 100,000 event/test) をおこない、CD133+/CD34+、VEGFR2+/CD34+ の細胞を EPC と定義し四分解析をおこなった。

C. 研究結果

現時点での登録者は、成人患者 15 名 (43.2 ± 13.3 才; 平均 \pm SD、以下同様)、小児患者 8 名 (7.3 ± 4.5 才)、健康成人 7 名 (37.1 ± 7.5 才)、健康小児 3 名 (9.7 ± 2.5 才) であった。成人患者では術後採血までおこなったのが 6 名で、最終手術より平均 239 日後であった。小児患者で術後採血をおこなったのは 5 名で、最終手術より平均 188 日後であった。

術前の MNC 分画内での CD133+/CD34+ 細胞率は、成人患者 ($0.21 \pm 0.20\%$)、健康成人 ($0.48 \pm 0.38\%$)、小児患者 ($0.12 \pm 0.08\%$)、健康小児

($0.33 \pm 0.16\%$)であり、成人、小児とも患者群で有意に低率であった。(図 1) VEGFR2+/CD34+細胞率は、成人患者($0.14 \pm 0.11\%$)、健康成人($0.27 \pm 0.31\%$)、小児患者($0.19 \pm 0.16\%$)、健康小児($0.53 \pm 0.10\%$)であり、小児患者は対照群と比べ有意に低下していた。(図 2) また血行再建術前後で比較すると、CD34+/CD133+細胞率に関して、成人患者で術後に有意な低下($p=0.0433$)がみられ、小児患者でも低下傾向($p=0.0906$)がみられた。(図 3) VEGFR2+/CD34+細胞率は、成人、小児とも患者群と対照群で有意差をみとめなかった。(図 4)

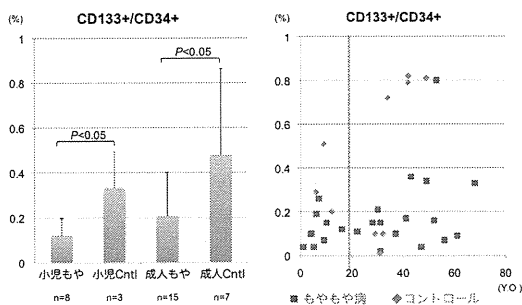


図 1：術前の MNC 分画内での CD133+/CD34+細胞率
(左) 各群における平均値、(右) 各症例の年齢との相関

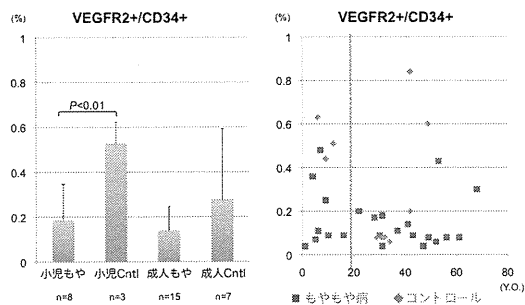


図 2：術前の MNC 分画内での VEGFR2+/CD34+細胞率
(左) 各群における平均値、(右) 各症例の年齢との相関

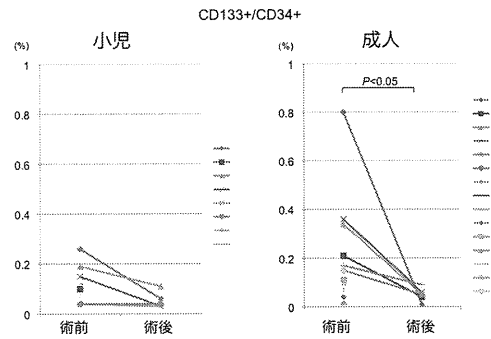


図 3：術前後における CD133+/CD34+細胞率の変化
(左) 小児患者、(右) 成人患者

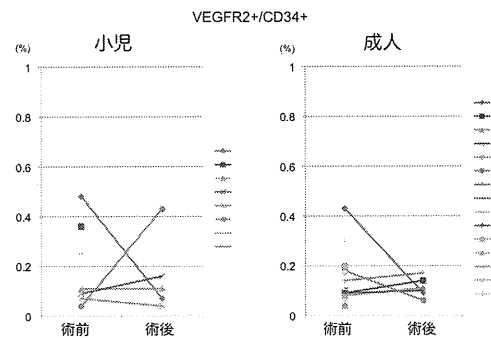


図 4：術前後における VEGFR2+/CD34+細胞率の変化
(左) 小児患者、(右) 成人患者

D. 考察

Yip らは、脳卒中リスク因子患者(高血圧、糖尿病、喫煙、高脂血症)では、健康コントロールに比べ EPC の低下がみられると報告している。(Yip HK et al. Stroke 2010) このことから循環血液中の EPC 数低下は、動脈硬化病変部での消費に由来する可能性が示唆されている。一方、我々は以前の報告でもやもや患者の病的血管に EPC が多数存在していることを明らかにした。(Sugiyama T et al, Neurol Med Chir 2011) 組織学的に、もやもや病の血管病変で EPC が存在していることを考慮すると、循環血液中の EPC 数低下は病変部での消費に由来する可能性がある。

過去には、Rafat N らが 20 人のもやもや患

者（うち小児 5 人）を検討し、患者では CD34⁺/CD133⁺/VEGFR2⁺細胞数が増加していたと報告している。（*Rafat N et al, Stroke 2009*）一方、Kim JH らは 28 人の小児患者において、CD34⁺, CD133⁺, VEGFR2⁺ 細胞が減少し、さらに EPC の管腔形成能が低下していたことを報告した。（*Kim JH et al, J Neurosci Res 2010*）本研究は、現時点では症例数が少なく、今後も検討を続けていく必要がある。

E. 結論

preliminary data ではあるが、小児症例、成人症例ともに、術前の EPC 数が有意に少なく、術後はさらに低下する傾向にあった。これももやもや病発症の原因に関連するものか、結果に由来するものかは現時点では不明である。しかし、組織学的にもやもや病の血管病変で EPC が存在していることを考慮すると、循環血液中の EPC 数低下は病変部での消費に由来する可能性がある。また、術後でのさらなる EPC (CD34⁺/CD133⁺) 数低下は、血行再建術により脳虚血は改善されるが、もやもや病血管病変そのものを治療しているわけではないことに関連しているかもしれない。

F. 文献

- 1) Assessment of Moyamoya Disease Using Multidetector Row Computed Tomography. Sugino T, Mikami T, Ohtaki S, Hirano T, Iihoshi S, Houkin K, Mikuni N. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2012 Feb 22. [Epub ahead of print]
- 2) Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in the initiation of moyamoya disease. Sugiyama T, Kuroda S, Nakayama N, Tanaka S, Houkin K. Neurol Med Chir (Tokyo). 2011;51(11):767-73.
- 3) Early diagnosis and surgical revascularization for a predictive case of moyamoya disease in a boy born to a moyamoya mother. Han H, Kuroda S, Shimoda Y, Houkin K. J Child Neurol. 2012 Mar;27(3):408-13.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

無症候性もやもや病の新たな多施設共同研究(AMORE)について

北海道大学病院 脳神経外科
黒田 敏

研究要旨

平成 23 年度は、無症候性もやもや病の治療指針を確立すべく、新たな介入型の多施設共同研究（Asymptomatic Moyamoya Registry; AMORE）を開始した。過去の当研究班での研究を前進させて、無症候性もやもや病の予後を改善するための方策を明らかにする。

A. 研究目的

近年の非侵襲的画像診断法の普及にともなう、もやもや病が発症以前に発見される機会は確実に増加している。しかしながら、その治療方針は未だに確立されておらず、各施設によって異なるのが現状である。

当研究班では過去に、無症候性もやもや病の自然歴を明らかにする目的で観察型の多施設共同研究を実施した。その結果、集積された 40 例の無症候性もやもや病では、①40%で脳循環動態の異常が、20%で脳梗塞が存在していること、②加齢とともに病期が進行すること、③平均 43.7 ヶ月間の経過観察期間中、年間 3.2%の脳卒中の発症リスクがあること、④脳循環動態の異常が脳梗塞発症と密接に関連していること、⑤約 20%で病期の進行や脳梗塞の新たな出現が認められることが判明した[1]。結論として、無症候性もやもや病は決して安定した病態ではなく、脳卒中の発症リスクは、脳動脈瘤の破裂や脳動静脈奇形の再出血リスクよりもはるかに高いことが判明した。一方、脳

血行再建術が実施された無症候性もやもや病 6 例は経過観察期間中、脳血管イベントをきたさなかったことも明らかとなったが、症例数が少ないため、その効果に関しては明らかにはできなかった[1]。

一方で、ごく最近、経過観察期間中に病期が進行して脳循環動態が悪化した無症候性もやもや病 2 例に対して、STA-MCA バイパスを含む脳血行再建術を実施したところ、脳血管イベントの発生を予防することができたとの報告もなされている[2]。

以上の経緯から、本年度は無症候性もやもや病の予後をさらに改善することを目的として、新たな介入型の多施設共同研究として、無症候性もやもや病レジストリー（Asymptomatic Moyamoya Registry; AMORE）を計画・立案した。

B. 研究方法

本研究は前方視的な非介入型の多施設共同研究である。今年度は、本研究の研究実施計画

書、同意説明文書を作成し、班員の間で討論の上、最終案を作成した。いずれの文書も平成24年1月に北海道大学病院の倫理委員会にて承認された(別掲)。

C. 研究結果

本研究の主任研究者は橋本信夫(国立循環器病研究センター理事長・総長)で、画像判定委員は小笠原邦昭(岩手医科大学脳神経外科)、飯原弘二(国立循環器病研究センター脳神経外科)、菊田健一郎(福井大学脳神経外科)、黒田敏(北海道大学脳神経外科)である。参加施設は、北海道大学、中村記念病院、岩手医科大学、東北大学、東京女子医科大学、慶応義塾大学、東京歯科大学市川総合大学、東京医科歯科大学、千葉県循環器病センター、北里大学、名古屋市立大学、福井大学、京都大学、国立循環器病研究センター、大阪大学、長崎大学の計17施設である。

平成24年1月以降、参加施設で新たに確定診断がなされた無症候性もやもや病を、インフォームド・コンセントを得た上で悉皆的に登録する。3年間にわたって200例の症例を目標に登録を行ない、5年間の経過観察を行なう予定である。各症例の臨床データ、神経放射線学的データ(DSA, MRI/MRA, PET/SPECT)を電子データとして中央委員会に集積する。12ヶ月ごとに参加施設において脳血管イベントの有無、MRI/MRAによる画像評価を繰り返す。

本研究における主要評価項目は「全ての脳梗塞および頭蓋内出血の5年間の発生割合」である。

副次的評価項目としては、

1) 以下の項目の5年間の発生割合

- ① TIA
- ② 無症候性脳梗塞の出現
- ③ 病期の進行
- ④ 無症候性出血病変の出現
- ⑤ 全死亡

- 2) 追跡期間中の、全ての脳梗塞および頭蓋内出血および上記①～⑤のさらなる発生割合

D. 考察

本研究によって無症候性もやもや病の自然経過が明らかになることが期待される。

また、今後は「無症候性」もやもや病の用語についても検討が必要である。もし、本当に「無症候性」もやもや病に年間3%以上もの脳卒中発症リスクが存在するとすれば、それは年間1%未満の破裂リスクを有するとされる「未破裂」脳動脈瘤よりも明らかに発症リスクが高い疾患である。患者さんへの説明に用いる際は、「無症候性」もやもや病というよりも「未発症型」もやもや病と呼称すべきなのかもしれない。今後、広く議論すべき問題であろう。

E. 結論

無症候性もやもや病を対象とした新たな多施設共同研究(AMORE)の開始について報告した。

F. 文献

1. Kuroda S, Hashimoto N, Yoshimoto T, Iwasaki Y: Radiological findings, clinical course and outcome in asymptomatic moyamoya disease: Results of multi-center survey in Japan. *Stroke* 38:1430-1435, 2007
2. 川合かがり、黒田 敏、川堀真人、中山若樹、寺坂俊介、岩崎喜信：病期が進行した無症候性成人もやもや病に対する脳血管再建術—2例報告。 *脳外* 38:825-830, 2010

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

くも膜下出血で発症した、脳動脈瘤合併もやもや病の 3 症例

福井大学医学部 脳脊髄神経外科

新井良和、菊田健一郎

研究要旨

くも膜下出血で発症した、破裂脳動脈瘤合併もやもや病 3 症例の治療経験を報告した。動脈瘤が主幹動脈に存在した 2 例は、瘤内塞栓術により完全閉塞、穿通枝に動脈瘤を認めた他の 1 例は、保存的加療にて発症 1 年後に自然閉塞した。もやもや病に合併する動脈瘤は、その発生部位から、主幹動脈に発生する真性動脈瘤と、もやもや血管や穿通枝に発生する仮性動脈瘤に分かれる。前者では直達手術に比べて低侵襲である血管内治療が安全で効果的と考えられ、後者ではどちらの治療も困難な場合、保存的加療も一つの選択枝となりうると思われた。

もやもや病には約 3 ~ 15%の頻度で脳動脈瘤が合併すると報告されている³⁻⁵⁾。もやもや病患者における脳動脈瘤の直達手術は、自然の側副血行路を損傷する危険、牽引による脳圧迫や一時的脳血流遮断に伴う脳虚血の悪化などリスクも多い。今回我々は、もやもや病に合併した破裂脳動脈瘤 2 例に対し直達手術ではなく脳動脈瘤内コイル塞栓術を施行し、塞栓術が困難であった他の 1 例では保存的加療を選択した。この 3 症例の転帰を検討し報告した。

B. 症例報告

症例 1.(図 1)

4 年前に右被殻出血、左片麻痺で発症し、その時もやもや病と診断を受けた 73 歳の女性がクモ膜下出血で当科搬送された。脳血管撮影を行うともやもや血管を伴った右内頸動脈終末部閉塞と左前

大脳動脈近位部狭窄および脳底動脈先端部に小さな動脈瘤を認めた。血腫の局在からクモ膜下血腫の原因は、この動脈瘤と考え、瘤内塞栓術を行い合併症なく動脈瘤は完全閉塞した。

症例 2.(図 2)

54 歳の女性。視床出血で発症し、この時もやもや病の診断と左後大脳動脈 P2 部に動脈瘤を指摘された。その 1 年後、経過観察していた動脈瘤の破裂によりくも膜下出血を発症し瘤内塞栓術により合併症なく治療された。

症例 3.(図 3)

12 年前に右視床出血で発症した 58 歳男性、この時もやもや病と診断された。今回くも膜下出血で発症し、脳血管撮影にて発達・拡張した後視床穿通動脈末梢に動脈瘤

を認めた。後視床穿通動脈起始部に狭窄があり、瘤内塞栓術が困難であったため保存的加療を選択した。経過観察中再破裂することなく、1年後の脳血管撮影で動脈瘤の自然消失を確認した。

C. 考察

もやもや病に合併した脳動脈瘤は、脆弱なもやもや血管や側副路に発生する末梢性動脈瘤と従来の主幹動脈に発生するものとに分類される^{1,3-5,8,10}。前者は、脳室内出血や脳内出血をしばしば引き起こすが仮性動脈瘤と考えられており、自然消失も報告されている¹⁻⁷。後者は真性動脈瘤であり、もやもや病患者では血行力学的ストレスの増加からも椎骨脳底動脈系に発生することが多い^{2-6,9,11,12}。真性動脈瘤の消失は極めて稀である¹⁰⁻¹¹。もやもや病に合併した動脈瘤の直達手術では、豊富な側副血管が術野に拡がるため進入が困難となることも多い。これに代わる瘤内塞栓術は低侵襲で大変有用であり、我々の症例1,2においても手術合併症なく治療可能であった。しかし、もやもや病患者においては、椎骨・脳底動脈が重要な脳血流供給路となっているため^{4,11}、瘤内塞栓術時の血栓・塞栓症やコイル逸脱などによりこれを阻害することのないよう熟練した慎重な操作が必要である。症例3においては、母血管起始部狭窄のため瘤内塞栓術が困難であったが、経過観察中に動脈瘤は自然消失した。けれども、この現象は必ず起きるとは限らないため、注意深い観察が必要である。

D. 結論

くも膜下出血で発症した破裂脳動脈瘤合併もやもや病に対し、瘤内コイル塞栓術は低侵襲で安全、有用な治療と考えられた。

E. 文献

1. Bucciero A, Carangelo B, Vizioli L. Giant basilar artery aneurysm associated with Moyamoya disease. Case report and review of the literature. *Acta Neurol (Napoli)* 16: 121-128, 1994
2. Hamada J, Hashimoto N, Tsukahara T. Moyamoya disease with repeated intraventricular hemorrhage due to aneurysm rupture: report of two cases. *J Neurosurg* 80: 328-331, 1994
3. Herreman F, Nathal E, Yasui N, Yonekawa Y. Intracranial aneurysms in Moyamoya disease: report of ten cases and review of the literature. *Cerebrovasc Dis* 4: 329-336, 1994
4. Iwama T, Todaka T, Hashimoto N. Direct surgery for major artery aneurysm associated with Moyamoya disease. *Clin Neurol Neurosurg* 99: 191-193, 1997
5. Kawaguchi S, Sasaki T, Morimoto T, Kakizaki T, Kamada K. Characteristics of intracranial aneurysms associated with Moyamoya disease; a review of 111 cases. *Acta Neurochir* 138: 1287-1294, 1996

6. Kawaguchi T, Yokoyama H, Tsutsumi K, Ichikura A, Onituka M, Nakamura S. Surgical treatment of aneurysms at basilar artery and posterior cerebral artery associated with Moyamoya disease: A case report. *No Shinkei Geka* 23: 807-811, 1995
 7. Kim SH, Kwon OK, Jung CK, Kang HS, Oh CW, Han MH, Kim YS, Baik SK
Endovascular treatment of ruptured aneurysms or pseudoaneurysms on the collateral vessels in patients with moyamoya disease. *Neurosurgery* 65:1000-1004, 2009
 8. Kodama N, Sato M, Sasaki T. Treatment of ruptured cerebral aneurysm in Moyamoya disease. *Surg Neurol* 46: 62-66, 1996
 9. Kuroda S, Houkin k, Kamiyama H, Abe H; Effects of surgical revascularization on peripheral artery aneurysms in moyamoya disease: Report of three cases. *Neurosurgery* 49: 463-468, 2001
 10. Massoud TF, Guglielmi G, Vinuera F, Duckwiler GR. Saccular aneurysm in Moyamoya disease: Endovascular treatment using electrically detachable coils. *Surg Neurol* 41: 462-467, 1994
 11. Muizelaar JP. Early operation of ruptured basilar artery aneurysm associated with bilateral carotid occlusion (Moyamoya disease). *Clin Neurol Neurosurg* 90: 349-355, 1988
 12. Nagamine Y, Takahashi S, Sonobe M: Multiple intracranial aneurysms associated with moyamoya disease. *J Neurosurg* 54: 673-676, 1981
- E. 知的財産権の出願・登録状況
なし

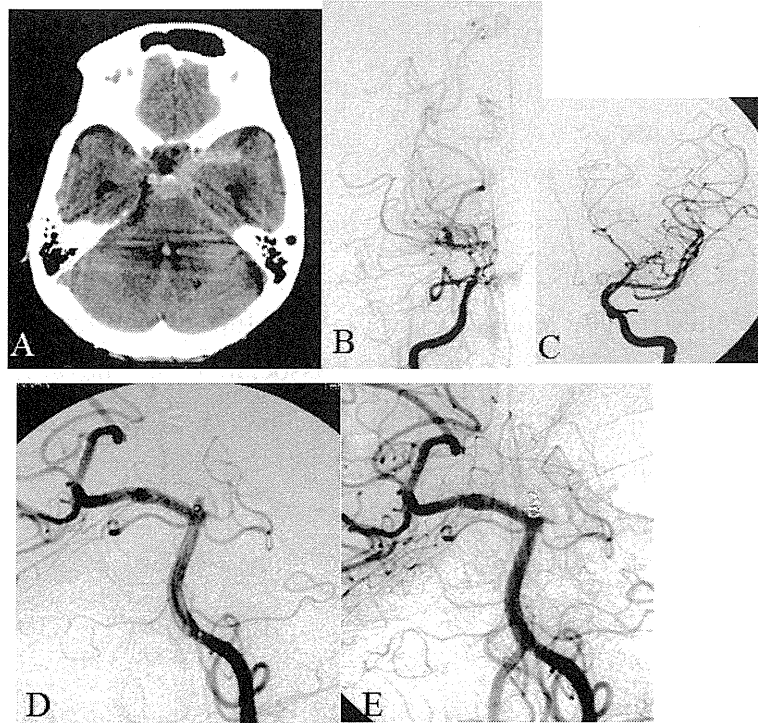


図 1

図 1 (症例 1.)

- A: 入院時頭部 CT. prepontine cistern から左 sylvian fissure にかけても膜下出血を認める。
- B, C: 両側内頸動脈撮影正面像. 右内頸動脈終末部閉塞と左前大脳動脈近位部狭窄を認める。
- D, E: 左椎骨動脈撮影正面像. 脳底動脈先端部の囊状動脈瘤 (D)と瘤内塞栓術後の動脈瘤の完全閉塞を示す(E)。

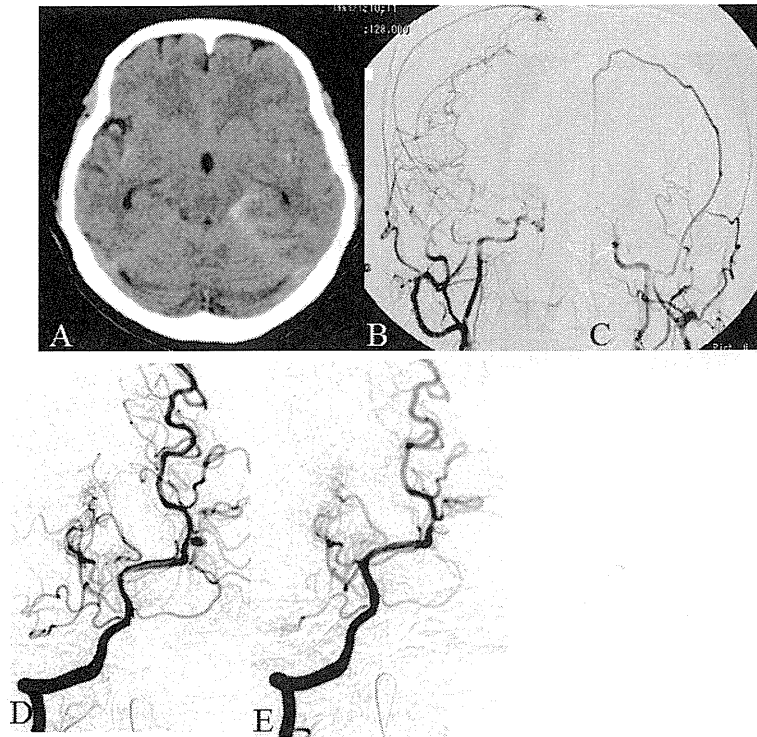


図 2

図 2 (症例 2.)

- A: 入院時頭部 CT. 左 ambient cistern に強いくも膜下出血を認める。
- B, C: 両側総頸動脈撮影正面像. 両側内頸動脈終末部閉塞を認める。
- D, E: 右椎骨動脈撮影正面像. 左後大脳動脈 P2 部の囊状動脈瘤 (D)と瘤内塞栓術後の動脈瘤の完全閉塞を示す(E)。

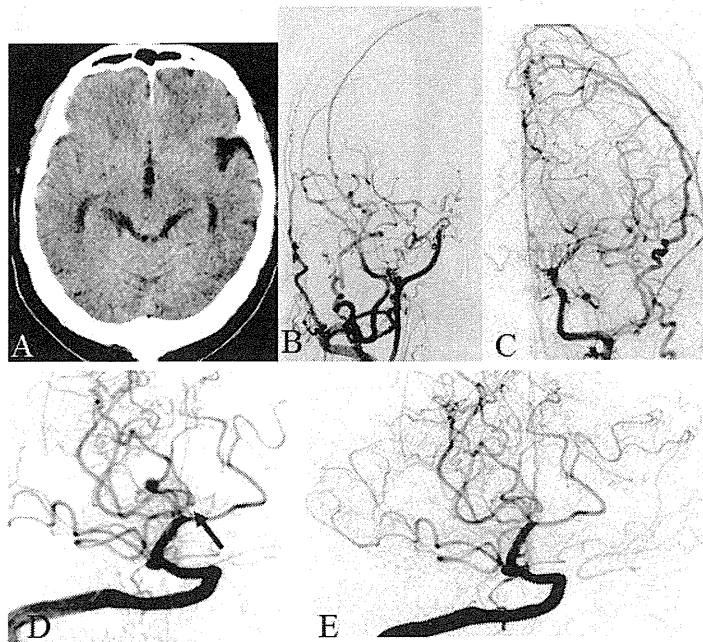


図 3

図 3 (症例 3.)

- A: 入院時頭部 CT. 右 sylvian fissure に少量のくも膜下出血を認める。
- B, C: 両側総頸動脈撮影正面像. 両側内頸動脈終末部閉塞ともやもや血管を認める。
- D, E: 右椎骨動脈撮影正面像. 後視床穿通動脈末梢の囊状動脈瘤 (D)とその起始部狭窄 (→)、および経過観察 1 年後の動脈瘤の自然消失を示す(E)。

IMZ SPECT 統計画像による『高次脳機能障害』の診断 —QSPECT パッケージを用いた画像解析の標準化—

中村記念病院 脳神経外科 診療本部長
中川原譲二

研究要旨

もやもや病における高次脳機能障害例では、両側内側前頭回（MFG）や前方帯状回（ACG）の皮質神経細胞脱落が IMZ SPECT 統計画像 SEE Level 3 解析により捉えられる。しかし、統計画像解析では、SPECT 機種ごとに健常者データベース（NDB）が必要となること、異なる機種では統合解析が出来ないことなどが問題点であった。そこで、SPECT 定量画像解析のために開発された QSPECT パッケージを用いて NDB を再構成し統計画像解析を行なったところ、従来と同等の評価が得られること、機種間差を超えた統合解析が可能であることが判明した。

G. 研究目的

本分担研究では、これまでに探索的研究として、もやもや病における高次脳機能障害例を対象とした ^{123}I -Iomazenil (IMZ) SPECT 統計画像解析 (3D-SSP 1)) を行なってきたが、これらの症例では前方循環の長期にわたる血行力学的脳虚血（不完全脳梗塞）を機序として、両側内側前頭回（MFG）や前方帯状回（ACG）の皮質神経細胞脱落が SEE Level 3 解析 1)) によって捉えられ、同領域が高次脳機能障害の責任病巣であることが推察された 3,4)。しかし、IMZ-SPECT 統計画像解析では、SPECT 機種ごとに健常者のデータベースが必要となること、更に異なる機種では統合的画像解析が出来ないことなどが問題点であった。そこで、IMP-SPECT を用いた脳血流および脳循環予備能の定量解析が、機種間差を超えて統一的な評価が出来る方法として開発された QSPECT パッ

ージ（国循研究所）を用いて、IMZ-SPECT の健常者データベースを作成し、これまでに得られた統計画像解析と同等の結果を得るための最適条件の設定、異なる SPECT 機種を用いても統計画像解析が可能かどうか、などについて基礎的な検討を行なった。

H. 研究方法

1. 健常者のデータベース（NDB）に関する既存の SPECT workstation による再構成と QSPECT による再構成の比較：

東芝社製 GCA9300 を用いて収集された健常人 18 例の IMZ-SPECT データに対して、附属の workstation を用いて 3D-SSP 統計画像を再構成し、T-recon NDB を作成した。一方、東芝社製 GCA9300 を用いて収集された健常人 18 例の IMZ-SPECT データに対して、QSPECT を用いて 3D-SSP 統計画像を再構成