

術群 38 例) の登録が行われ、平成 25 年 4 月現在、手術群 6 例、非手術群 13 例が primary end point に達した。現時点での到達率は手術群 3.2%/年、非手術群 8.2%/年である。登録事業開始 5 年後にあたる平成 18 年 1 月に目標症例数の再設定が行われ、現在すでにこれに到達して新規登録を終了

している。最終的には平成 25 年 6 月に全症例の追跡終了となる見込みである。

E. 文献

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2012年度 モヤモヤ病（ウィリス動脈輪閉塞症）調査研究班 データベース集計

慶應義塾大学 神経内科
此枝史恵, 伊藤義彰, 山田哲, 鈴木則宏

研究要旨

2003年度から2012年度までのモヤモヤ病データベースを集計し解析を行った。2003年度～2012年度までに、総登録施設30施設より、総計1265症例が登録された。2010年10月1日から2012年9月30日までの1年間に新規登録された症例は73例となり、また同期間中に診察、あるいは画像検査によるフォローが行われた症例は、新規症例を含め384例（総症例中36%）であった。

今年度はデータベースを改訂し従来困難であった経時的なデータ解析を試みた。データ移行が不十分な中での解析ではあるが興味深い結果を得ることができた。今後多角的な解析を行うことで新たな知見を発信することが可能になると考えられる。

A. 研究目的

本研究班ではモヤモヤ病の疫学、病態、治療、予後などを明らかにするために、毎年班員およびその協力施設による全国調査を行ってきた。本データベース集計の協力を得られた施設は延べ30施設に及ぶ。本年度は新規登録症例73例を含め、2003年度から2012年度までの全国調査結果を集計し解析を行った。

B. 研究方法

班員ならびに協力施設に対してモヤモヤ病症例の新規登録とフォローアップ調査を依頼した。この結果を当施設で集計し、2003年度から2011年度までのデータベースと統合し、解析を行った。新規登録症例についてはそのままデータを追加し、更新のあったデータ

については当該症例の既存登録データに上書きする形式で集計を行った。

C. 研究結果

1. 2012年度データベース集計結果

本年度のデータベース作成にあたり、全国17施設より、新規症例登録、既登録症例更新の返答が得られた。これにより、2003年から2012年度までの総登録症例数は1265例となり、性別では男性424例、女性838例で男女比は1:1.98であった。今回の調査期間中である2011年10月1日から2012年9月30日の間に、新規登録された症例は73例であった。また、同期間中に診察、頭部MRIなどによる経過観察が行われた症例は新規登録例を含め384例で、既存登録症例の30%であった。

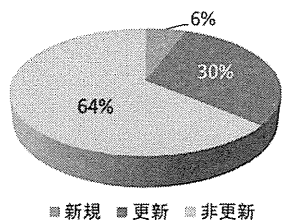


図-1 全登録例のデータ更新・追跡状況

総登録症例 1265 例のうち、ウィリス動脈輪閉塞症の家族歴を認めたものは 169 例 (13%) を占め、901 例 (71%) では家族歴はなかった (16% は不明)。家族歴がある場合の初発時年齢は 0-20 歳の若年発症が多い傾向にあった。

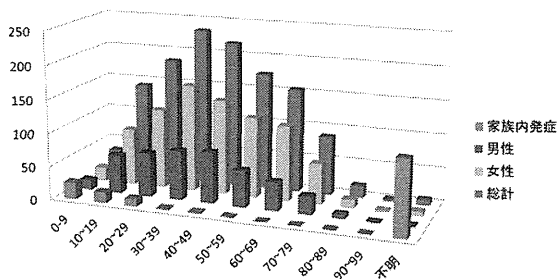


図-2 全登録例における初発年齢分布

2012 年度調査で新規登録された 73 症例 (男性 47 例、女性 26 例) について、発症年齢は 40 歳代に単一のピークをとる一峰性の傾向を認めた。

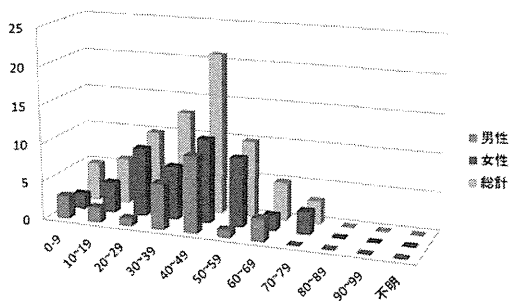


図-3 本年度新規登録症例の初発年齢分布

病型としては、一過性脳虚血発作 34 例 (46%)、脳出血 5 例 (7%)、頭痛 4 例 (6%)、脳梗塞 19 例 (26%)、無症候性 3 例 (5%)、てんかん 1 例 (1%) の順に多く、6 例については確認ができなかった。

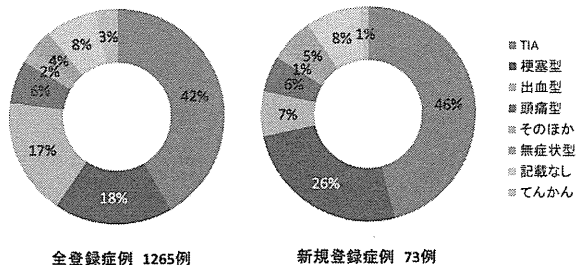


図-4 本年度新規登録症例と全登録症例の初発時・病型分類

また新規登録された 73 例のうち 48 例 (65%) で STA-MCA bypass が行われた。両側が 9 例 (13%)、右側のみが 21 例 (30%)、左側のみが 18 例 (25%) であり、合併症は右側で 30 例中 5 例、左側で 27 例中 6 例みられた。合併症の内訳は右側で創部癒合不全 1 例、東部の褥瘡 1 例、けいれん 1 例、脳梗塞 2 例、左側で硬膜下血腫 1 例、hyperperfusion syndrome 3 例、脳出血とけいれん 1 例であった。

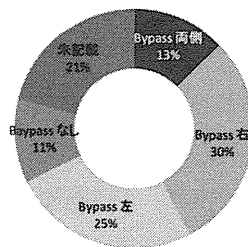


図-5 本年度新規登録症例における STA-MCA bypass 実施状況

2. 経時的な男女比、初診年齢分布の変遷

総登録症例 1265 例について、2003 年ま

で、2004-2008年、2009-2012年に分けて男女比や初診年齢分布に変化があるかどうか調査した。図としては示していないが男女比は男性1に対し2003年までが女性2.11、2004-2008年が女性2.22、2009-2012年が女性1.97と大きく変化はなかった。

またデータの都合上初診年齢での解析となったが2003年まででは若年者にピークがあるのに対し、2004年以降は40-50歳台の中年期にピークがあることが分かった。

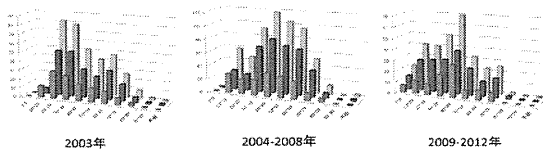


図-6 経年的な初診年齢分布

3. データベース改訂

従来のデータベースの最大の問題点は新たなイベントが起こると上書きするようになっており経時的なデータ解析が非常に困難ということであった。今年度は2003年に現行のデータベースとなってから10年となるのを機にデータベースを改訂し経時的なデータ解析が可能な形式とした。年度内に新データベースへのデータ移行が完成しなかったためパイロット版であるが下記に示すような解析ができるようになった。

図7では病型にかかわらず外科手術をした群と保存的治療群（経過観察のみの症例も含まれる）の長期予後を比較した。10年間での再発は両群間でほぼ同等であることがわかる。今後病型ごとや病期ごと、あるいは術式ごとに外科治療群と保存的治療群の長期予後の解析を進める予定である。

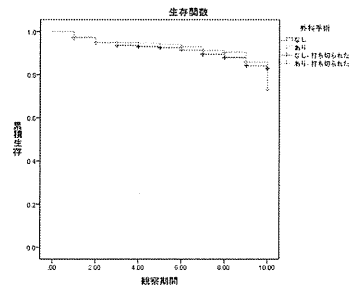


図-7 外科手術と全再発

次に図8と9では抗血小板薬と全再発、抗血小板薬の有無と再発病型を示した。抗血小板薬ありの群ではなしの群に比べ観察年数が5年を過ぎたころから再発が多くなってきていることがわかる。また抗血小板薬の有無と再発病型をみると抗血小板薬なしの群では出血での再発が多いのに対し、抗血小板薬ありの群ではTIA、脳梗塞といった虚血での再発が多いことが分かった。

現在本邦で虚血性脳血管障害に対し使用できる抗血小板薬はアスピリン、シロスタゾール、クロピドグレルの3剤であるが従来のデータベースではこれらのうちどれを使っているかという調査はできていない。この結果をもとに抗血小板薬の種類によって再発や再発病型に差が出るのかを調査するのも興味深い。またウィリス動脈輪閉塞症では血管拡張剤も多く使用されているが、その妥当性は明らかではない。今後はこのような項目についても解析できると考えている。

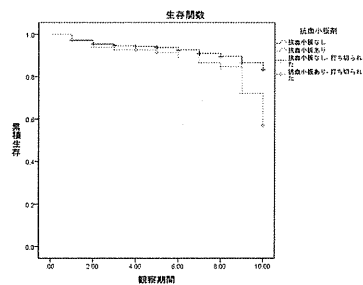


図-8 抗血小板薬と全再発

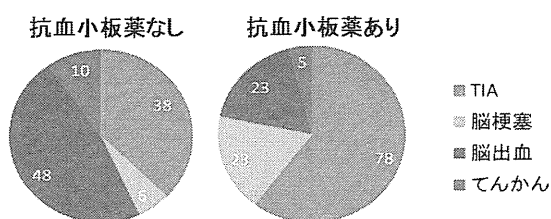


図-9 抗血小板薬の有無と再発病型

D. 考察

本年度の調査では、新規に 73 例が登録され、1 年間の調査期間中に診察、頭部 MRI などによる経過観察が行われた症例は新規登録例を含めると 457 例で、既存登録症例の 36%であった。昨年度は新規登録、更新があったのは 13 施設であったのに対し、今年度は 17 施設とより多くの施設から協力を得ることができた。

これまでウィリス動脈輪閉塞症データベースは調査協力施設の多大な労力のもと作成され、本年度も当疾患の発症年齢、性別、家族内発症の割合、初発症状、治療内容、病状経過などを知る上で貴重なデータが集積された。必ずしも全例が追跡できているわけではないが本疾患が長期にわたりこれだけの規模で観察されているということは本研究班ならではだと思われる。しかし従来のデータベースの特性上経時的なデータ解析は難しく、十分に活用できていなかった。

しかし本年度データベースを改訂したことで上記に示したような解析が可能になった。来年度はデータ移行がすべて完了している予定であり、さらに詳細な解析が可能となるものと考えられる。また家族例以外

の発症要因（甲状腺異常、抗リン脂質抗体など）といった興味深い項目も調査はしているものの従来は解析までには至らなかったが、こういった項目についての解析も期待できる。

このように来年度以降は改訂データベースをもとに本邦発の新たな知見を発信できるようより多角的な解析を行う予定である。また今回の改訂データベースでは昨年度のアナケート調査を踏まえ調査項目の変更、追加はしていないが今後診断基準の変更に合わせ調査項目の見直しも必要になるであろう。

E. 結論

2012 年度のウィリス動脈輪閉塞症データベースの結果につき報告した。今年度データベースの改訂を行い従来困難であった経時変化を解析することが可能になった。まず脳血管造影、MRI に基づく血管評価・経時変化と、外科的治療、抗血小板薬・血管拡張薬などによる内科的治療、予後の関連について評価を行い本邦発の知見を発信できるよう解析を進めていく。

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

謝辞

お忙しい中、データベースにご入力いただきました、以下の御施設に深謝いたします。

北海道大学

脳神経外科

札幌医科大学	脳神経外科	福井大学	脳脊髄神経外科
中村記念病院	脳神経外科	高山赤十字病院	脳神経外科
東北大学	脳神経外科	名古屋市立大学	脳神経外科
広南病院	脳神経外科	犬山中央病院	脳神経外科
福島県立医科大学	脳神経外科	京都大学	脳神経外科
君津中央病院	脳神経外科	大阪大学	内科
千葉大学	脳神経外科	大阪労災病院	脳神経外科
千葉労災病院	脳神経外科	国立循環器病センター	脳神経外科
東京歯科大学市川総合病院	内科	岡山大学	脳神経外科
岐阜大学	脳神経外科	国立病院九州医療センター	
岐阜県総合医療センター	脳神経外科		脳血管内科
岐阜市民病院	脳神経外科	長崎大学	脳神経外科

QSPECT 画像再構成を用いた脳血流 SPECT 統計画像の標準化 —COSMO-JAPAN study に向けた検討—

国立循環器病研究センター 脳卒中統合イメージングセンター部長
中川原讓二

研究要旨

もやもや病における高次脳機能障害例の画像診断法に関する多施設共同研究 COSMO-JAPAN study では、IMZ SPECT 統計画像に加えて脳血流 SPECT 統計画像の標準化が求められている。そこで、脳血流 SPECT 定量画像解析のために開発された QSPECT 画像再構成ソフトを用いて脳血流 SPECT 統計画像解析のための NDB を作成し、平均画像や標準偏差 SD 画像に対して、空間解像度を統一するための画像フィルタ追加の影響や年齢階層別の影響について検討した。その結果、QSPECT 画像再構成により脳血流 SPECT 統計画像解析の標準化が可能と結論した。

A. 研究目的

これまでに探索的研究として行われてきたもやもや病に起因する高次脳機能障害例の¹²³I-Iomazenil (IMZ) SPECT 統計画像解析 (3D-SSP) 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) の皮質神経細胞の脱落が生じることが判明し、同領域における皮質神経細胞の脱落が高次脳機能障害の責任病巣であることが推察されている^{1,2)}。しかし、これまでのIMZ-SPECT統計画像解析では、異なる SPECT 機種ごとに健常者のデータベース(NDB)が必要となり、多施設での統合解析が出来ないことが問題点であった。そこで、脳血流定量画像解析の標準化のために開発された QSPECT 画像再構成ソフト (国循研究所画像診断医学部 飯田秀博らが開発) を用いて、IMZ-SPECT 統計画

像解析のための NDB を作成したところ、異なる SPECT 機種を用いても IMZ-SPECT 統計画像解析が標準化され、統合解析が可能であることが明らかとなった。現在本研究班では、もやもや病における高次脳機能障害例の画像診断法に関する多施設共同研究 COSMO-JAPAN study を準備しているが、この共同研究では IMZ-SPECT 統計画像解析とともに脳血流(IMP)SPECT についても定量画像解析と統計画像解析が予定され、いずれも標準化が求められている。そこで、本研究では QSPECT 画像再構成ソフトを用いて IMP-SPECT 統計画像解析のための NDB を作成し、IMP-SPECT 統計画像解析の標準化について検討した。

B. 研究方法

IMP-SPECT 統計画像解析の標準化に関しては、IMZ-SPECT 統計画像解析の標準化と同様に、既存の SPECT workstation

により再構成された NDB と QSPECT 画像再構成ソフトで作成された NDB が SPECT 機種の違いを超えて同等であるか、年齢階層別の NDB が必要であるか、などを検証すること必要となる。そこで、以下の 2 点について検討を行った。

1. 既存の SPECT workstation により再構成された IMP-SPECT の NDB と QSPECT により再構成された IMP-SPECT の NDB の比較：

東芝社製 GCA9300(N2)、GCA9300(N1)、Ecom、GE 社製 Infinia/VG、シーメンス社製 ecom の 5 機種を用いて、既存の SPECT workstation により再構成された IMP-SPECT の NDB と QSPECT により再構成された IMP-SPECT の NDB を作成した。QSPECT により再構成された IMP-SPECT の NDB については、空間解像度の統一するための Gauss フィルタを追加しない場合と追加した場合を作成し、1 機種について 3 つの NDB の平均画像と標準偏差(SD)画像について比較検討した。

2. QSPECT により再構成された IMP-SPECT の NDB (50-79 歳のデータ) を用いて、年齢階層を 3 段階 (50-59 歳、60-69 歳、70-79 歳) に分け、50-79 歳の全てからなる NDB の平均画像および SD 画像と、年齢階層別 NDB の平均画像および標準偏差 SD 画像とをそれぞれ比較検討し、年齢の影響の程度から、年齢階層別の NDB の必要性について検討した。この検討では、多施設のデータを統合して検討するため、空間解像度を統一するための Gauss フィルタを追加した画像を用いた。

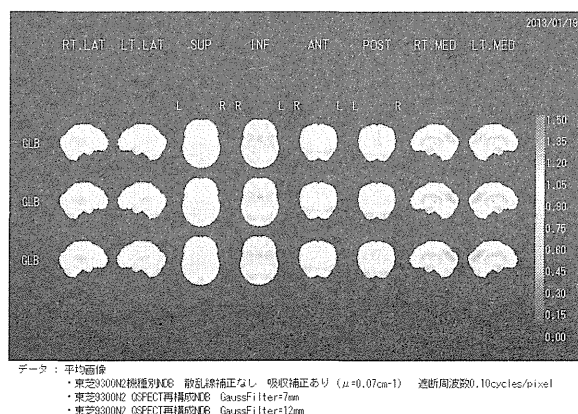
C. 研究結果

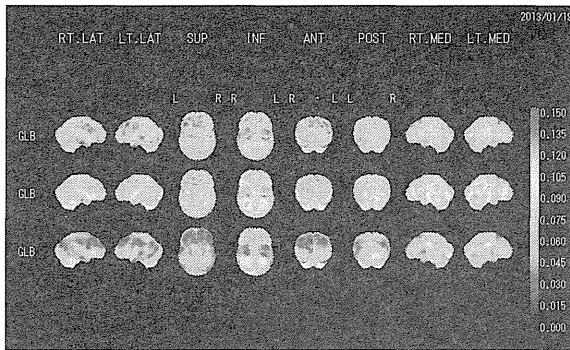
1. 既存の SPECT workstation により再構成された IMP-SPECT の NDB と QSPECT により再構成された IMP-SPECT の NDB の比較：

①東芝社製 GCA9300(N2)を用いて作成された NDB の 3 種類の平均画像と SD 画像を図 1 に示す (上段：既存の SPECT workstation、

中段：QSPECT Gauss フィルタ追加なし、下段：QSPECT Gauss フィルタ追加あり)。平均画像は 3 種類とも同等と判定されたが、SD 画像は QSPECT Gauss フィルタ追加なしで既存の SPECT と同等、Gauss フィルタ追加ありでは大脳で過少評価となった。

尚、東芝社製 GCA9300(N1)および Ecom を用いて作成された NDB の 3 種類の平均画像と SD 画像に関する評価については、東芝社製 GCA9300(N1)とほぼ同等であった。

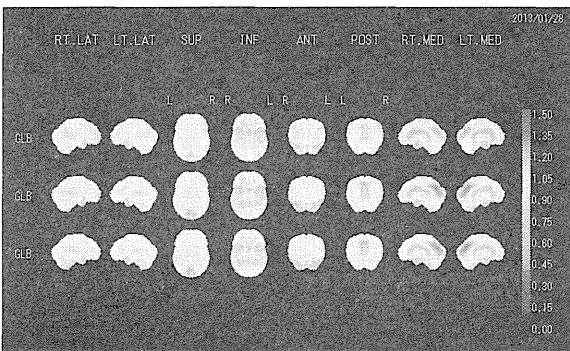




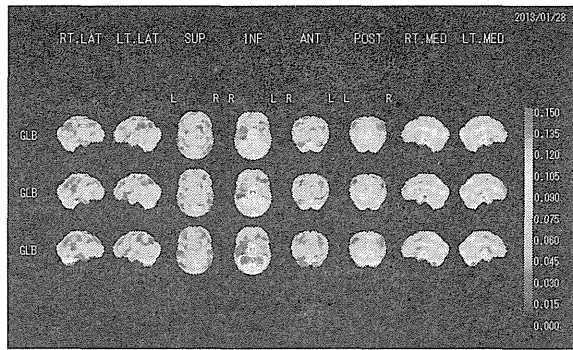
データ：SD画像
 ・東芝3800N2機種別NDB 散乱線補正なし 吸収補正あり ($\mu=0.07\text{cm}^{-1}$) 遮断周波数0.10cycles/pixel
 ・東芝3800N2 QSPECT再構成NDB GaussFilter=7mm
 ・東芝3800N2 QSPECT再構成NDB GaussFilter=12mm

図1：GCA9300(N2)の平均画像（上）とSD画像（下）

②GE 社製 Infinia/VG を用いて作成されたNDBの3種類の平均画像とSD画像を図2に示す(上段:既存のSPECT workstation、中段:QSPECT Gauss フィルタ追加なし、下段:QSPECT Gauss フィルタ追加あり)。平均画像は3種類とも同等と判定されたが、SD画像はQSPECT Gauss フィルタ追加なしで既存のSPECTと同等、Gauss フィルタ追加ありでは小脳で過大評価となった。



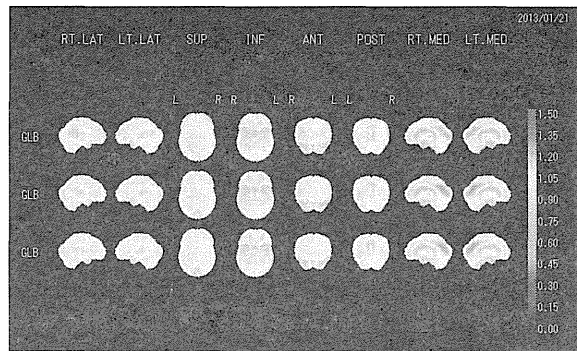
データ：平均画像
 ・GE Infinia/VG 機種別IMP NDB 散乱線補正なし 吸収補正あり ($\mu=0.07\text{cm}^{-1}$) 遮断周波数0.45cycles/cm
 ・GE Infinia/VG QSPECT再構成NDB GaussFilter=7.00mm
 ・GE Infinia/VG QSPECT再構成NDB GaussFilter=10.32mm



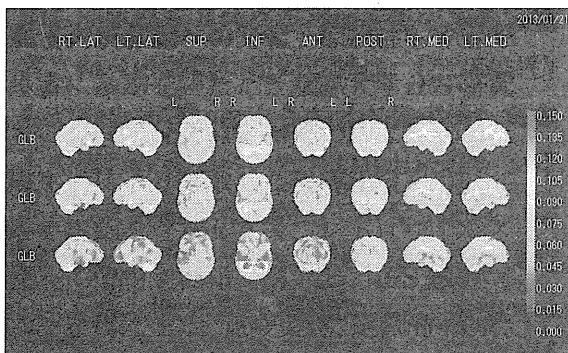
データ：SD画像
 ・GE Infinia/VG IMP機種別NDB 散乱線補正なし 吸収補正あり ($\mu=0.07\text{cm}^{-1}$) 遮断周波数0.45cycles/cm
 ・GE Infinia/VG QSPECT再構成NDB GaussFilter=7.00mm
 ・GE Infinia/VG QSPECT再構成NDB GaussFilter=10.32mm

図2：GE Infinia/VG の平均画像（上）とSD画像（下）

③シーメンス社製 ecom を用いて作成されたNDBの3種類の平均画像とSD画像を図3に示す上段:既存のSPECT workstation、中段:QSPECT Gauss フィルタ追加なし、下段:QSPECT Gauss フィルタ追加あり)。平均画像は3種類とも同等と判定されたが、SD画像はQSPECT Gauss フィルタ追加なしで同等、Gauss フィルタ追加ありでは大脳で過小評価、小脳で過大評価となった。



データ：平均画像
 ・シーメンスecom機種別IMP NDB 散乱線補正なし 吸収補正あり ($\mu=0.07\text{cm}^{-1}$) 遮断周波数0.45cycles/cm
 ・シーメンスecom QSPECT再構成NDB GaussFilter=7.60mm
 ・シーメンスecom QSPECT再構成NDB GaussFilter=10.78mm

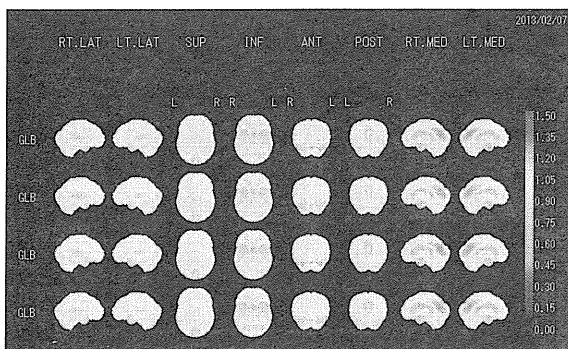


データ：SD画像
 ・シーメンスecam脱被検別IMP-NDB 散乱線修正なし 吸収修正あり ($\mu=0.07\text{cm}^{-1}$) 遮断周波数0.45cycles/cm
 ・シーメンスecam QSPECT再構成NDB GaussFilter=7.00mm
 ・シーメンスecam QSPECT再構成NDB GaussFilter=10.78mm

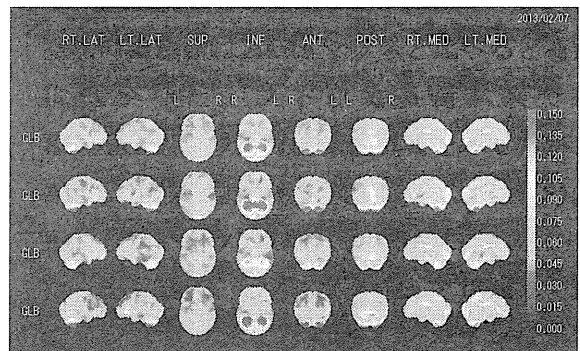
図3：シーメンス ecom の平均画像（上）とSD画像（下）

2. 年齢階層別にみた平均画像と標準偏差SD画像の比較：

QSPECTにより再構成されたIMP-SPECTのNDBについて、年齢階層別（50-79歳の全て、50-59歳、60-69歳、70-79歳）の平均画像とSD画像を図4に示す。



データ：平均画像
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) All n=129
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) 50~59歳 n=46
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) 60~69歳 n=45
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) 70~79歳 n=38



データ：SD画像
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) All n=129
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) 50~59歳 n=46
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) 60~69歳 n=45
 ・QSPECT再構成NDB 空間分解能統一 (13.89mm) 70~79歳 n=38

図4：QSPECTにより再構成されたNDBの年齢階層別の平均画像（上）とSD画像（下）

平均画像については年齢階層による違いは認められなかったが、SD画像では、60-69歳において、わずかに過少となる傾向が見られた。

D. 考察

これまでの探索研究により、高次脳機能障害の診断におけるIMZ-SPECT統計画像解析の有用性が確認されたが、この診断法を普遍化するためには多施設共同研究による検証が欠かせない。そこで、もやもや病における高次脳機能障害例の画像診断法に関する多施設共同研究COSMO-JAPAN studyが計画され、平成25年から症例の登録が開始されることとなった。IMZ-SPECT統計画像解析については、QSPECT画像再構成ソフトを用いたNDBにより、標準化が検討され、多施設で実施可能であることが確認されている。一方、脳血流SPECTについては、QSPECTを用いた定量画像解析はすでに標準化しているが、QSPECTを用いた統計画像解析については標準化の検

討が行われていなかった。

今回、IMP-SPECT 定量画像解析において、SPECT 機種間差を補正できることが証明されている QSPECT を用いて IMP-SPECT 統計画像解析のための NDB を再構成し、既存の SPECT workstation により再構成された NDB と比較したところ、空間解像度を統一するための QSPECT Gauss フィルタ追加なしの条件において、平均画像、SD 画像ともほぼ同等であることが判明した。空間解像度を統一するための QSPECT Gauss フィルタの追加は、SD 画像に対して SPECT 機種毎に異なった過大評価領域や過少評価領域をもたらすことが判明した。SD 画像に基づいて統計学的に有意な異常領域を抽出する 3D-SSP 統計画像解析では、QSPECT 再構成による NDB の作成に際して空間解像度を統一するための Gauss フィルタを追加することは、異常領域の抽出能力に誤差要因をもたらす可能性が高いため、現時点での標準化には、Gauss フィルタの追加は推奨されない。

QSPECT により再構成された IMP-SPECT の NDB を年齢階層別 (50-79 歳の全て、50-59 歳、60-69 歳、70-79 歳) に検討したところ、平均画像については年齢階層による違いは認められず、SD 画像では、60-69 歳において、わずかに過少となる傾向が見られた。この結果より、IMP-SPECT 統計画像解析では、年齢階層別の NDB を作成する必要のないことが明確となった。今回の検討では、多施設のデータを統合して検討するため、空間解像度を統一するための Gauss フィルタを追加した画像を用いたが、今後は、Gauss フィルタを追加しない QSPECT 再

構成 NDB で、同様の検討を行う必要がある。

QSPECT により再構成された IMP-SPECT 統計画像解析のための NDB は、QSPECT 画像収集に対応する全ての SPECT 機種に対して使用できることから、SPECT 機種ごとに NDB を作成する必要がない。また、QSPECT 再構成を用いた 3D-SSP 統計画像解析については、データ収集した SPECT の機種に関わらず統合的に解析可能である。IMP-SPECT 統計画像解析の標準化は、COSMO-JAPAN study を進める上で極めて重要な役割を果たすばかりでなく、本解析が有用な病態に関する多施設共同研究を推進する上でも、極めて重要な成果であると考えられる。

E. 結論

脳血流 SPECT 統計画像解析を標準化するために、QSPECT 画像再構成ソフトを用いて NDB を作成し、既存の SPECT workstation により再構成された NDB との比較を行なったところ、平均画像、SD 画像ともほぼ同等の画像が得られ、SPECT 機種間差、年齢差を超えた統合解析が可能であると結論した。

共同研究者

飯田秀博 国立循環器病研究センター研究
所 画像診断医学部 部長
高橋正昭 中村記念南病院 放射線部 係
長

F. 文献

- 1) Nakagawara J: Iomazenil SPECT (BZP- Receptor). Moyamoya Disease Update, Springer, Tokyo, pp. 189-196, 2010
- 2) Nakagawara J, Osato T, Kamiyama K, et al: Diagnostic imaging of higher brain dysfunction in patients with adult moyamoya disease using

statistical imaging analysis for ^{123}I -IMZ SPECT. Neurologia medico-chirurgica 52: 318-326, 2012

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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

近年、我々はおももや病の感受性遺伝子として RNF213 を同定した。RNF213 の生理的機能および疾患に果たす役割は未解明な部分が多い。本年度は、おももや病に対する新規の試験管内疾患モデル開発を目的に、おももや病患者より iPS 細胞の樹立と血管内皮細胞への分化を行った。また RNF213 の機能を明らかにするために、Rnf213 ノックアウトマウスを作成して糖尿病モデルマウスと交配を行い、Rnf213 欠損が糖尿病に与える影響について検討した。

A. 研究目的

おももや病は、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。

我々は 2011 年にもももや病家系の遺伝解析により 17q25.3 に存在する RNF213 遺伝子をもももや病の感受性遺伝子として同定し、p.R4810K が日中韓の患者が共有する創始者感受性多型であることを示した。RNF213 は ATPase とユビキチンリガーゼ活性を併せもつユニークなタンパクで、ゼブラフィッシュの発現抑制実験により頭部血管発生に重要な役割を果たすことが示されたが、その生理的機能および疾患に果たす役割の多くは明らかでない。

本年度は試験管内疾患モデルの確立のためにもももや病患者由来の iPS 細胞を作成し、血管内皮細胞への分化を行った。また RNF213 の機能を明らかにするために、報告

のあるおももや病と糖尿病の合併性に着目し、Rnf213 欠損が糖尿病モデルマウスに与える影響について検討した。

B. 研究方法

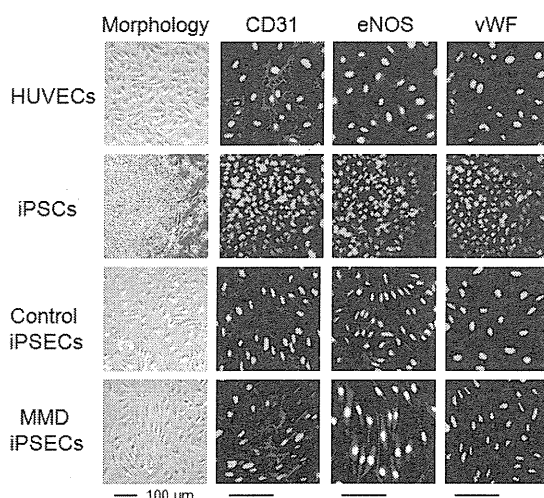
3 世代にわたる常染色体優性遺伝形式で伝達されている家族性おももや病家系の患者 3 名からもももや病特異的 iPS 細胞を樹立し、内皮細胞へ分化誘導を行い、TRA1-60, Flk1, VE-cadherin 抗体でフローサイトメトリーを使って単離した。

また Rnf213 を欠損するノックアウトマウス (KO, *Rnf213*^{-/-}) を作成した後糖尿病モデルマウスである Akita マウス (*Ins2*^{+C96Y}) と交配を行い、Rnf213 KO/Akita マウス (KO/Akita, *Rnf213*^{-/-}, *Ins2*^{+C96Y}) を得て糖尿病に与える影響を検討した。Akita マウスは *Ins2* 遺伝子の C96Y 変異を有し、インスリン前駆体であるプロインスリンの folding 異常をもたらす。その結果、膵 B 細胞で小胞体ストレスによる細胞死が起り、糖尿病を発症することが証明されている。

C. 研究結果

1) もやもや病特異的 iPS 細胞の樹立と血管内皮細胞への分化：家族性もやもや病患者に参加をいただき京都大学 iPS 研究所との共同研究で iPS 細胞の樹立を行った。皮膚生検により採取した皮膚組織を用いて線維芽細胞を培養した後、レトロウイルスを使って山中 4 因子を導入し、iPS 細胞コロニーを樹立した。免疫染色、定量的 PCR、胚様体形成、奇形種形成、核型解析、エピゲノム解析、Short tandem repeat 解析を行い、得られたコロニーから最適なクローンを選択した。得られたもやもや病患者由来の iPS 細胞クローンから血管内皮細胞へと分化させ、TRA1-60 陰性、Flk1 および VE-cadherin 共陽性である細胞をフローサイトメトリーで単離した。血管内皮マーカーの発現を免疫染色 (CD31, eNOS, vWF ; 図 1)、定量的 PCR (CD31, vWF, VE-cadherin, CD34) で確認し、得られた細胞は血管内皮細胞として機能していた。今後は、もやもや病非発症者由来の iPS 細胞より分化した内皮細胞と比較検討を行う。

図1. 血管内皮マーカーの発現



HUVECs: ヒト臍帯静脈内皮細胞 (陽性対照)

iPSCs: iPS 細胞 (陰性対照)

iPSECs: iPS 細胞由来血管内皮細胞

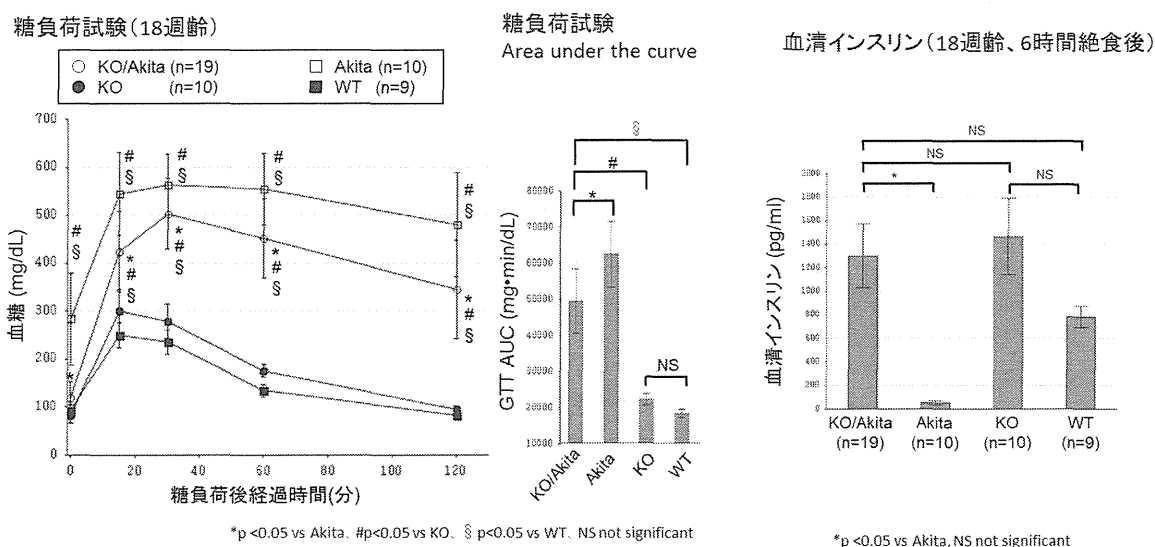
MMD: もやもや病

2) RNF213 遺伝子欠損による Akita マウス糖尿病進行の遅延：KO/Akita マウスの空腹時血糖値は Akita マウスと比べると有意に低かった。ブドウ糖負荷試験では KO/Akita マウスは耐糖能異常を示したが、Akita マウスよりも軽度であった (図 2)。KO と WT マウスの間で耐糖能に差はなかった。KO/Akita マウスは Akita と比較して血清インスリンおよび膵臓インスリン量が有意に高かった (図 2)。Akita マウスでは過食が認められたのに対して、KO/Akita マウスでは摂食量はほぼ正常化しており、血清インスリンによる中枢性の食欲抑制が働いているためと考えられた。さらに膵島の免疫組織化学および電子顕微鏡観察により KO/Akita マウスでは膵β細胞の小胞体ストレスによる傷害が軽度であることが明らかになった。以上より Rnf213 欠損は Akita マウスの血清および膵島インスリン量を増加させることで、摂食量の低下、小胞体ストレスの低下を通じて糖尿病を改善することが示された。小胞体ストレス応答の 1 つとして、異常タンパク質の分解を促進する小胞体関連分解 (ERAD) がよく知られている。Akita マウスの膵β細胞では ERAD により異常プロインスリンのみならず正常プロインスリンの分解も促進していることが報告されており、Rnf213 欠損は ERAD によるプロインスリン分解を抑制する可能性がある。本研究は、RNF213 が ERAD に重要な役割を果たす可能性を示唆している。

D. 結論

本年度は、もやもや病患者由来の疾患特異的 iPS 細胞の樹立および血管内皮細胞への分化を行った。もやもや病細胞モデルとして表現型の解析を進め、疾患メカニズムおよび RNF213 が病態に果たす役割の解明を目指す。またノックアウトを用いた研究では RNF213

図2.KO/Akita, Akita, KO, WTマウスにおける耐糖能および血清インスリンの比較



が ERAD に関与する可能性が示され、今後さらに検討を重ねることで RNF213 の機能の一端が明らかにできることが期待される。

and exome sequencing identifies novel genes for familial goiter. *J Hum Genet.* in press

E. 文献

Kobayashi H, Yamazaki S, Takashima S, Liu W, Okuda H, Yan J, Fujii Y, Hitomi T, Harada KH, Habu T, Koizumi A Ablation of Rnf213 retards progression of diabetes in the Akita mouse. *Biochem Biophys Res Commun.* 432(3):519-525, 2013

Koizumi A, Kobayashi H, Liu W, Fujii Y, Senevirathna ST, Nanayakkara S, Okuda H, Hitomi T, Harada KH, Takenaka K, Watanabe T, Shimbo S. P.R4810K, a polymorphism of RNF213, the susceptibility gene for moyamoya disease, is associated with blood pressure. *Environ. Health Prev. Med.* 18(2):121-9, 2013

小林果, 人見敏明, 小泉昭夫 もやもや病感受性遺伝子の特定 *BioClinica.* 28 巻 1 号 87-91, 2013

Yan JX, Takahashi T, Ohura T, Adachi A, Takahashi I, Ogawa E, Okuda H, Kobayashi H, Hitomi T, Liu WY, Harada KH, Koizumi A Combined linkage analysis

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

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

富山大学 脳神経外科
黒田 敏

研究要旨

平成 24 年度は、無症候性もやもや病の治療指針を確立すべく計画してきた、新たな多施設共同研究（Asymptomatic Moyamoya Registry; AMORE）が本格的に開始された。本研究は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ことを目的としており、これまでの約 1 年間で 13 例が登録されている。

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。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）、飯原弘二（国立循環器病研究

センター)、菊田健一郎(福井大学)、黒田敏(富山大学)である。平成24年6月、事務局を北海道大学から富山大学に移転した。

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

昨年度までに本研究の研究実施計画書、同意説明文書の作成が終了した。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のち、各参加施設においても倫理委員会での審査が行なわれ、順次、症例登録が本格的に開始された。

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施設であったが、本年度、さらに東京大学、岡山大学、富山大学が新たに参加施設として加わった。

C. 研究結果

平成24年4月以降、全国の参加施設から計13例の登録がなされた。今後、目標症例数を確保するために、新たな症例登録の促進を継続するとともに、1年ごとの経過観察を開始する予定である。

画像判定委員会での判定は、省力化を目的にオンラインでの作業法を導入した。

本研究の進捗状況を参加施設に周知するとともに症例登録を促進する目的で、定期的に『AMORE NEWS』を発刊して参加施設に配信した。これまで平成24年8月、10月、平成25年2月の3回にわたって発刊した(別頁参照)。また、本研究の周知を目的に、富山大学脳神経外科のホームページ、および、Facebook ページにも本研究の概要を掲載した。

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行再建術—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



2012年8月16日

AMORE

AMORE NEWS

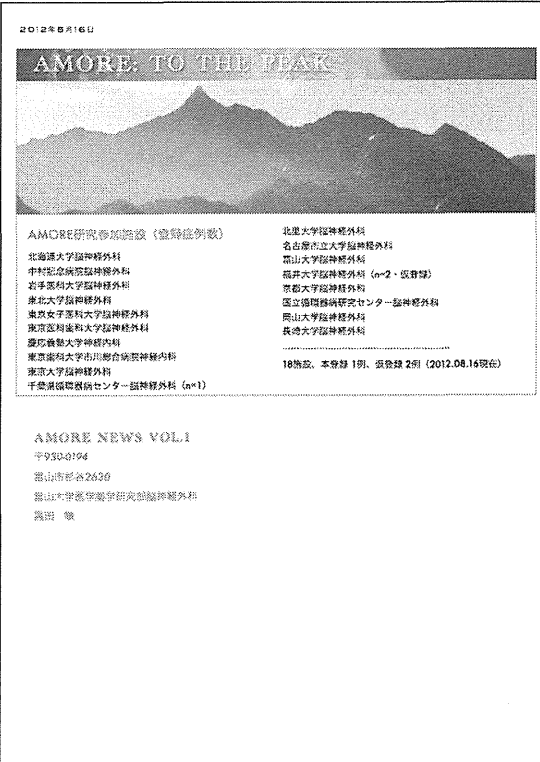
AMORE NEWSを定期発刊します！

AMORE研究の周知・促進を主な目的として定期的にAMORE NEWSをお届けいたします！今後とも、ご協力をよろしくお願いたします！

AMORE
Asymptomatic Moyamoya Disease

AMORE NEWS VOL.1
〒950-0794
新潟市西区2620
新潟大学医学部神経学研究所神経外科
新潟 敬

AMORE NEWS 第一号



2012年8月16日

AMORE TO THE PEAK

AMORE研究参加施設（登録症例数）

北海道大学脳神経外科	北里大学脳神経外科
名古屋大学脳神経外科	名古屋大学脳神経外科
中村記念病院脳神経外科	岡山大学脳神経外科
若手薬科大学脳神経外科	福井大学脳神経外科 (n=2・皮膚科)
東北大学脳神経外科	京都大学脳神経外科
東京女子薬科大学脳神経外科	国立循環器病研究センター脳神経外科
東京慈恵医科大学脳神経外科	岡山大学脳神経外科
慶応義塾大学神経科	長崎大学脳神経外科
東京薬科大学総合病院神経内科	
東京大学脳神経外科	
千葉県循環器病センター脳神経外科 (n=1)	

18施設、本巻録 1例、添付録 2例 (2012.08.16現在)

AMORE NEWS VOL.1
〒950-0794
新潟市西区2620
新潟大学医学部神経学研究所神経外科
新潟 敬

III. 平成 24 年度研究成果の刊行に関する一覧

1. Sugiyama T, Kuroda S, Nakayama N, Tanaka S, Houkin K. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in the initiation of moyamoya disease. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2011;51(11): 767-73.
2. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服事業 ウィリス動脈輪閉塞症における病態・治療に関する研究班：もやもや病（ウィリス動脈輪閉塞症）診断・治療ガイドライン. *脳卒中の外科* 37:321-337, 2009
3. Smith ER, Scott RM: Spontaneous occlusion of the circle of Willis in children: pediatric moyamoya summary with proposed evidence-based practice guidelines A review. *J Neurosurg Pediatrics* 9: 353-360, 2012
4. Houkin K, Ishikawa T, Yoshimoto T, Abe H. Direct and indirect revascularization for moyamoya disease surgical techniques and peri-operative complications. *Clin Neurol Neurosurg* 99 Suppl2: S142-S145, 1997
5. Kuroda S, Houkin K, Ishikawa T, Nakayama N, Iwasaki Y. Novel bypass surgery for moyamoya disease using pericranial flap: its impact on cerebral hemodynamics and long-term outcome. *Neurosurgery* 66:1093-1101, 2010
6. Karasawa J, Touho H, Ohnishi H, Miyamoto S, Kikuchi H. Long-term follow-up study after extracranial-intracranial bypass surgery for anterior circulation ischemia in childhood moyamoya disease. *J Neurosurg* 77: 84-89, 1992
7. Sakamoto T, Kawaguchi M, Kurehara K, Kitaguchi K, Furuya H, Karasawa J. Risk factors for neurologic deterioration after revascularization surgery in patients with moyamoya disease. *Anesth Analg* 85: 1060-1065, 1997
8. Czabanka M, Peña-Tapia P, Scharf J, Schubert GA, Münch E, Horn P, Schmiedek P, Vajkoczy P. Characterization of direct and indirect cerebral revascularization for the treatment of European patients with moyamoya disease. *Cerebrovasc Dis* 32: 361-369, 2011
9. Jung YJ, Ahn JS, Kwon do H, Kwun BD. Ischemic complications occurring in the contralateral hemisphere after surgical treatment of adults with moyamoya disease. *J Korean Neurosurg Soc* 50: 492-496, 2011
10. Bang JS, Kwon OK, Kim JE, Kang HS, Park H, Cho SY, Oh CW. Quantitative angiographic