

201324022A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

ウイルス動脈輪閉塞症の診断・

治療に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 橋本 信夫

平成26年(2014年)5月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ウイリス動脈輪閉塞症の診断・治療に関する研究

The Research Committee on Spontaneous Occlusion of
the Circle of Willis (Moyamoya Disease)

by

Science Research Grants of Ministry of Health, Labour
and Welfare, Japan

平成 25 年度 研究報告書

平成 26 年 (2014 年) 5 月

主任研究者 橋 本 信 夫 国立

循環器病研究センター 理事長

目次

- I. 主任研究者 研究報告
主任研究者 国立循環器病研究センター 橋本 信夫
- II. 分担研究報告
- III. 平成 25 年度研究成果の刊行に関する一覧
- IV. 研究班構成員名簿

総括

主任研究者

国立循環器病研究センター 理事長

橋本 信夫

まとめ

平成 25 年度は、もやもや病に関する新規研究である無症候性もやもや病の新たな多施設共同研究 (AMORE) が進行している。また、Japan Adult Moyamoya trial (JAM trial) は 2001 年度から行われてきたがついに最終結果が報告された。そして、昨今社会問題となっている、高次脳機能障害に対する臨床研究についても Cognitive functional survey of Moyamoya (COSMO) JAPAN study が開始された。また、高齢者のもやもや病に対する MODEST 研究も開始されている。以上のように、これまで通り、日本のみならず世界において、この研究班がもやもや病の臨床および研究をリードしていくことが期待できる。

平成 25 年度 研究成果

寶金らはこれまでとは別の新たな遺伝マーカーによるもやもや病の病因探索を行うことを計画した。従来の構造解析法で見いだされる染色体構造多型や繰り返し配列多型よりはミクロなゲノム構造多型で、DNA sequencing 法で見いだされる SNP よりはマクロなゲノム多型の遺伝子コピー数多型 (Copy Number Variation CNV) が、もやもや病の疾患ゲノムマーカーになりうるか検証する。富永らは 60 歳以上のもやもや病患者に対する血行再建術の治療成績を検証し、60 歳未満の患者と周術期合併症を含めた治療成績について比較検討した。

宮本らは出血発症もやもや病に対するバイパス手術の再出血予防効果を明らかにすることを目的に、2001 年度から無作為振分け試験 (JAM trial) を行っている。平成 20 年 6 月に目標登録症例数 80 例 (手術群 42 例、非手術群 38 例) に到達し、新規登録を停止した。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 (到達率: 手術群 3.2%/年、非手術群 8.2%/年)。多くの登録症例で登録から 5 年 (観察期間) を経過し、現在観察期間内で追跡しているのは 1 例 (手術群) である。平成 25 年 6 月に全症例観察期間満了し、その結果を報告した。

鈴木らは 2003 年度から 2013 年度までのもやもや病データベースを集計し、解析を行った。2013 年度に新規登録された症例は 77 例であり、2003 年度から 2013 年度までの総計では、計 30 施設より 1348 症例が登録された。また既存登録症例で今年度調査期間内に診察があり経過観察が行われている症例は、379 例 (既存登録症例中 30%) であった。

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。中川原らはそこで、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。

小泉らはもやもや病の感受性多型として RNF213 遺伝子の p.R4810K を同定したが、病態に果たす役割は未解明な部分が多い。本年度は、もやもや病疾患 iPS 細胞を血管内皮細胞 (iPSEC) に分化して解析を行い、p.R4810K を有するもやもや病患者由来の iPSEC で血管形成能が低下することを明らかにした。さらに、p.R4810K が有糸分裂異常を引き起こし、ゲノム不安定性を誘導することを証明した。

平成 25 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いる。

以上の様に、平成 24 年度の研究は進展した。今後、引き続いて重要な研究成果がこの研究班より報告されていくことが期待される。

表現促進現象を有する家族性もやもや病のCNV解析 —研究デザインと進捗報告—

北海道大学病院 1) 脳神経外科、2) 神経内科
伊東 雅基¹⁾、宝金 清博¹⁾、佐々木秀直²⁾、濱 結香²⁾、数又 研¹⁾

研究要旨

平成 25 年度は、これまでとは別の新たな遺伝マーカーによるもやもや病の病因探索を行うことを計画した。従来の構造解析法で見いだされる染色体構造多型や繰り返し配列多型よりはミクロなゲノム構造多型で、DNA sequencing 法で見いだされる SNP よりはマクロなゲノム多型の遺伝子コピー数多型 (Copy Number Variation CNV) が、もやもや病の疾患ゲノムマーカーになりうるか検証する。疾患感受性遺伝子を探索する方法論の一つである Extreme Trait Design を参考に、臨床的表現促進現象を有するもやもや病親子という、もやもや病の中では比較的特異と思われるが、臨床遺伝学的な意義の高い表現型に着目して、ゲノムワイドに CNV profile を解析し、新たなもやもや病感受性遺伝多型を探索する。網羅的 CNV 探索にはマイクロアレイを用い、日本人健常対照を使用。現在までに 8 症例の試料収集と CNV profiling を終え、全体で 38 カ所の CNV 変異領域が同定された。

A. 研究目的

もやもや病は、本研究班が発足した当初から、長きに渡り精力的に検討されてきた病因探索の歴史の中で、遺伝的背景に何らかの環境要因が作用して発症する多因子疾患と考えられてきた^{1,2,3)}。2011 年には、RNF213 遺伝子が本邦をはじめとする東アジアにおけるもやもや病の感受性遺伝子であることが確認された^{4,5)}。

これは、ゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study : GWAS) や連鎖解析の手法を端緒に確認された成果である。一連の研究成果で RNF213 遺伝子上の一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism: SNP) が p.R4810K というミスセンス変異をもたらし、東アジアにおけるもやもや病の創始者変異と確認されたものの、どのような機序でもやもや病を発病させ

るのか不明で、現時点で RNF213 遺伝子変異単独では疾患の発症を説明できていない^{6,7)}。しかしながら RNF213 の同定は、本研究班が遺伝学的観点からもやもや病の病因探索を継続してきたマイルストーンとして重要な意義を与えた。遺伝学的見地から今後も病因探索を継続することは意義深い。

こうした観点から、本研究では、病因/病態研究のための新たな試みとして、これまでとは全く異なる新しい疾患ゲノムマーカーを用いたもやもや病の病因探索研究を提案する。これまでのもやもや病の遺伝子探索は、マイクロサテライト多型や SNP あるいは HLA などの特定の gene family を遺伝指標 (ゲノムマーカー) として、もやもや病家系を対象とした連鎖解析、孤発例や家族例を対象とした候補遺伝子との

関連分析あるいはGWAS を主たる方法論としてきた³⁾。今回我々が注目した新たなゲノムマーカーは、遺伝子コピー数多型 (Copy Number Variation) である。CNV は、従来の鏡顕などによる染色体構造異常探索では見つからない程度の微細なゲノム構造多型として知られ、50 base - 30 x 10⁶ base までのDNA 配列の重複・挿入または欠失と定義される⁸⁾。ヒト常染色体では、通常は2 コピーであるが、0 - 数十コピーまでの多様性の存在が知られている。2013年7月までにヒトゲノム上に240万箇所弱のCNVが確認されデータベース化されている⁸⁾。CNVは比較的広い領域の塩基配列がまとまって増幅したり欠失したりするため、単純に遺伝子発現に影響し得るばかりでなく、クロマチン構造が変化したり、隣接領域の遺伝子制御に影響を及ぼすことにより、疾患や体質 (表現型) の原因となりうる⁸⁾。たとえば、唾液アミラーゼ遺伝子コピー数多型の人種差を検討した報告では、狩猟民族であるエスキモーでは農耕民族に比べてアミラーゼ遺伝子コピー数がきわめて少ない。このことは肉を主食とする集団では、穀物を主食とする集団より唾液中のアミラーゼ含有量が少ないという体質にCNVが関与している事例の1つと考えられている⁹⁾。CNVと疾患の関わりでは、自閉症・統合失調症・筋萎縮性側索硬化症の一部・特発性正常圧水頭症の一部などいくつかの疾患との関連が知られている¹⁰⁾。もやもや病とCNVの関係については、KamadaらやLiuらのもやもや病感受性遺伝子探索研究のなかで検討されているが関連が認められなかったとされ^{5,6)}、韓国のグループから少数のもやもや病集団でCNVが確認されているが¹¹⁾、まだ不明な点が多い。

本研究では、疾患感受性遺伝子を探索するためのExtreme Trait Design¹²⁾を参考にして、もやもや病のなかでも特異と考えられる表現型とCNVの関連を調べることで、もやもや病のバイオマーカー発見や病因解明に貢献できるの

ではないかと仮説をたてた。すなわち、これまでとは全く別の新たなアプローチでもやもや病感受性遺伝子/遺伝的多型探索を試みる。

B. 研究のデザイン

もやもや病では、親より子の方が若くして発症する臨床的表現促進現象が確認されている^{13,14)}。本論文執筆に先立ち、Liuらの研究論文で対象とされた47家系のデータからも⁵⁾、18組の親子15家系、もやもや病確定診断症例34名で臨床的表現促進現象(親世代平均48.2歳、子世代平均17.1歳)を確認した(小泉昭夫先生ご提供データを基に検討)。そこで本研究では臨床的表現促進現象を示したもやもや病親子例を対象として、DNAマイクロアレイによる全ゲノム網羅的CNVプロファイリングを実施する。

親世代と子世代の2群で、CNVプロファイルをゲノムワイドに比較して、その差異を検索する。また健常対照者群との比較も行い、もやもや病の臨床的表現促進現象の遺伝的背景をさぐり、発病を促進するバイオマーカーの発見や、発病機序の解明につながるCNV変異領域の同定とそこに含まれる遺伝子の機能解析を行う。

C. 対象と方法

対象は、北海道大学病院脳神経外科に通院歴があるか、研究期間中に新たに通院を開始するもやもや病確定診断例のうち、親子例でかつ臨床的表現促進現象を確認できた者である。表現促進現象の定義は、症候性もやもや病の親子例で、発症あるいは診断時の年齢が親より子の方が1歳以上若い場合とする。無症候性もやもや病についても、clinically un-affected individualsとして対象に含める。なお、想定している年齢差は成人発症(18歳以上)と小児期発症(18歳未満)である。両者とも無症候性という場合も理論上はあり得る。

研究期間は、平成25年8月～平成28年3月までとし、被験者または代諾者から文書による同意の上、末梢血10-15mlと臨床情報の提供を受け、個人情報連結可能匿名化処理のうえ、保護する。本研究は、北海道大学医学部医の倫理委員会の承認を得て実施される。

CNV解析 (whole genome CNV analysis)

末梢白血球から、ゲノムDNAを抽出する。抽出したゲノムDNAの精製と品質チェックののち、マイクロアレイplatformによる全ゲノムコピー数多型検出を実施する。マイクロアレイplatformは、CytoScan HD™ array (Affymetrix社製、CNV解析用に2.67 x 10⁶ マーカーが含まれる)を使用する。コピー数多型の検出には、コピー数多型検出マーカーが50以上含まれ、400kbp以上のサイズ領域を変異箇所検出条件として、Chromosome Analysis Suite (ChAS) Software (Affymetrix提供)を用いる。対照群はAffymetrix社が保有するnormal healthy control data (N = 43、日本人男女)とした。研究の進捗により検出される関心CNV変異領域に含まれる遺伝子産物の検証が可能ないように、末梢血採血後、血漿を分離分注し、-80℃で保存する。

なお、DNA抽出・精製・CNV解析にあたっては、連結可能匿名化処理により各試料に通し番号を付し、個人情報が特定できないようにしてから試料(末梢血2-5ml)を受託研究機関に送付してCNV解析実験に供す。抽出したDNA量、DNA精度情報、マイクロアレイによる全ゲノムCNV解析結果をCD-Rにまとめて電子データとして受け取る。

D. 結果

1980年から研究計画立案時(2013年5月)までに、北海道大学病院脳神経外科で診療を行ったもやもや病全273例のうち、親より子の発症年齢が若い臨床的表現促進現象が確認されたのは、17家系・21親子・39症例(14.3%)であった(表)。その内訳は、母-娘10組、母-息

子7組、父-娘3組、父-息子1組であった。発症時の年齢(平均±標準偏差)は、親世代41.6±10.8歳(29-61歳、N=18)、子世代13.0±10.8歳(1-34歳、N=20)で、成人発症もやもや病(発症年齢18歳以上)が23例、小児発症もやもや病(発症年齢18歳未満)15例であった。また、発症年齢の組み合わせ(親世代-子世代)は、成人発症-成人発症が5親子、成人発症-小児発症が16組であった。病型の組み合わせ(親世代-子世代)は、脳梗塞型-TIA型1組、脳梗塞型-頭痛型1組、TIA型-TIA型1組、出血型-脳梗塞型1組、出血型-TIA型5組、出血型-出血型1組、出血型-頭痛型1組、不随意運動型-不随意運動型1組、無症候性-脳梗塞型3組、無症候性-TIA型5組、不明(要詳細確認)-TIA1組であった。

表. 対象患者の内訳

Pair	Pedigree	Parents			Offsprings		
		Disease Type	Age at Onset or Diagnosis	Sex	Disease Type	Age at Onset or Diagnosis	Sex
1	1	Asymptomatic	36	F	Infarct	1	F
2	2	Asymptomatic	44	F	TIA	11	F
3					TIA	5	F
4	3	Asymptomatic	61	F	Infarct	34	M
5					TIA	10	M
6	4	Hemorrhage	35	F	Headache	30	M
7					TIA	11	M
8	5	Hemorrhage	34	F	TIA	11	F
9			TIA	47	F	TIA	6
10	6	Hemorrhage	48	M	TIA	7	F
11	7	Asymptomatic	35	F	TIA	8	F
12	8	Hemorrhage	23	F	TIA	6	F
13	9	Asymptomatic	46	F	Infarct	6	M
14	10	Hemorrhage	52	F	TIA	31	F
15	11	Hemorrhage	29	F	Infarct	1	M
16	12	Asymptomatic	55	F	TIA	34	M
17	13	Hemorrhage	37	F	Hemorrhage	25	F
18	14	Infarct	39	M	Headache	9	M
19	15	Involuntary movement	57	M	Involuntary movement	14	F
20	16	Infarct	29	F	TIA	9	F
21	17	Unconfirmed	Unconfirmed	M	TIA	3	F

2013年12月末までに、12名の被験者から文書による同意を得て、末梢血採血を実施し、白血球の分離、ゲノムDNA抽出と品質チェック、血漿分離分注保存を実施した。マイクロアレイCNV解析は、8例8試料で実施した。その内訳は、親世代群6試料、子世代群2試料である。実際の親子両方から採血したのは現時点で、1組である。検出されたCNV変異領域は、全部で38カ所(常染色体では20カ所:7・14・16・18・22番染色体;X染色体では16カ所;Y染

色体では2か所)に検出された。1人あたりのCNV変異箇所は1~8カ所であった。変異領域のサイズは 4546.5 ± 6224.1 kbpで、実際のCNVは、常染色体ではコピー数loss(Copy Number = 1)が2カ所、コピー数gain(全てCopy Number = 3)が18カ所であった。またX染色体では、コピー数gain(Copy Number = 3)を1カ所で認め、ほか15カ所でGain mosaic(Copy Number = 2.232 ± 0.041)を認めた。Y染色体ではコピー数gain(Copy Number = 2)を1カ所、Gain mosaicを1カ所(Copy Number = 1.060)で認めた。現時点で、親子間でのCNV変異領域の位置やサイズ、コピー数変異パターンのクラスター分析といった比較検討はまだ実施していない。

E. 考察

本報告では、遺伝学的なもやもや病原因探索の新たな試みを提案した。現時点で考え得る問題点はいくつかある。第1に、本疾患で臨床的表現促進を定義することの困難性が挙げられる。臨床的表現促進現象は、発症年齢や症状の重篤度が親子間で促進される場合と定義され、歴史的にはascertainment biasと考えられていた時代もあったが、遺伝性神経筋疾患で分子遺伝学的メカニズム(trinucleotide expansion mechanism)が明らかになって以来、単なるバイアスではないと認知されるようになった¹⁵⁾。本研究班においても、過去にもやもや病における臨床的表現促進とtriplet repeat伸長との関連性を検討した経緯はあるが、遺伝的表現促進の確認には至っていない¹⁶⁻²⁰⁾。もやもや病がいつ発生したのか?という問題は、過去にも先天性か後天性かで議論された歴史があり、かなり根源的な問題である。したがって本疾患の発症年齢を定義する必要の臨床的表現促進については必然的に難しい問題を孕むことになる。両側内頸動脈終末部の特異的な狭窄性変化がいつはじまったのか現時点で特定することは困難で、脳虚血症状をはじめとする臨床的な発症は、

狭窄病変のはじまりやもやもや血管の発生と時期がずれている可能性は十分あり得る。したがって本研究のように発症年齢をもとに臨床的表現促進を定義してしまうと、実際の血管病変発生時期を見誤る可能性を残す。無症候性例については診断時(発見時)の年齢であり、より一層両側内頸動脈終末部病変などの発生時との差がある可能性が潜在するため、最終的な解析段階でこの点も考慮にいった様々な角度からの解析が重要かもしれない。しかしながら、歴史的に表現促進現象自体がascertainment biasとされ19世紀には無視され続け、20世紀に入りハンチントン舞蹈病で分子遺伝学的な背景が証明された史実をよりどころとして¹⁵⁾、臨床的な曖昧性を残したとしても、本研究を試みる価値があるだろう。さらに言えば、現在の診断基準の曖昧さ、疾患概念は確立していても、その診断結果はどうしても症候群的要素が強くなるを得ない現状の問題点も改めて示唆された。第2に、本研究デザインでは、疾患感受性遺伝子探索の方法論として、Extreme Trait Designを採用した。本手法は本来、common diseaseの背景にあり表現型への寄与は高いがrare variantであるためにGWASで発見されなかった、失われたheritabilityを探索するための新たな手法である¹²⁾。糖尿病などのcommon diseaseの集団のなかから、特異な表現型を有する個体だけを集めて次世代シーケンス技術を応用し特異な表現型への寄与度が高いrare genetic variantを洗い出し、最終的にcommon diseaseで臨床的意義の高いgenetic variantを探しだそうとする。もやもや病はおそらくcommon diseaseではないし、次世代シーケンスを応用してrare variantを探索しようとする研究デザインを本研究のように当てはめることが妥当なのか不明である。第3に、RNF213発見後の経緯と同様と思われるが、表現促進の背景となるCNV変異箇所が様々な角度での解析の結果明らかになったとしても、そ

れが単純に分子生物学的に表現型の説明可能な発見に至る可能性は極めて低い可能性がある。すなわち、遺伝学的な研究の難しさともいえるのかもしれないが、疾患特異的な genomic susceptibility を発見したとしてもその結果は、そのままバイオマーカーとして利用可能かもしれないが、本来の目的である疾患発生メカニズムの決定に至るにはほど遠い。in vitro, in vivo, 画像診断も含めた ex vivo での研究継続と発展が必要不可欠である。それには研究費獲得はもちろんのこと、この領域の basic researcher や translational research に精通する臨床医の育成と carrier path、よりどころとなる研究班の継続なしには、単純なひとつの研究計画ではなしえないのだろう。

しかしながら、もやもや病感受性遺伝子 RNF213 発見を端緒に、本疾患の遺伝学的な原因解明の方向性に間違いがないことが確認された現在、本疾患の genetic heterogeneity, locus heterogeneity, disease heterogeneity を考慮すれば²¹⁾、RNF213 以外の疾患感受性遺伝多型をこれまでとは異なる新たな手法で探索していくことには意義があると思われる。さらに試料収集と解析を進めていく予定である。

F. 結論

表現促進現象を有する家族性もやもや病の CNV 解析について、研究デザインと進捗状況を報告した。現時点で 8 症例の全ゲノム CNV 解析を終了しているが、まだ親子間での差異は判明していない。今後、平成 28 年 3 月までの予定で、試料収集と解析を継続していく。

G. 文献

1) 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

- 2) Kuroda S, Houkin K: Moyamoya disease: current concepts and future perspectives. Lancet Neurol 7:1056-1066, 2008
- 3) Houkin K, Ito M, Sugiyama T, et al: Review of past research and current concepts on the etiology of moyamoya disease. Neurol Med Chir (Tokyo)52:267-277, 2012
- 4) Kamada F, Aoki Y, Narisawa A et al: A genome-wide association study identifies RNF213 as the first Moyamoya disease gene. J. Hum. Genet 56: 34-40, 2011
- 5) Liu W, Morito D, Takashima S, et al: Identification of RNF213 as a susceptibility gene for moyamoya disease and its possible role in vascular development. PLoS One 6: e22542, 2011
- 6) Sonobe S, Fujimura M, Niizuma K, et al: Temporal profile of the vascular anatomy evaluated by 9.4-T magnetic resonance angiography and histopathological analysis in mice lacking RNF213: A susceptibility gene for moyamoya disease. Brain research, in press
- 7) Hitomi T, Habu T, Kobayashi H, et al: Downregulation of securing by the variant RNF213 R4810K (rs112735431, G>A) reduces angiogenic activity of induced pluripotent stem cell-derived vascular endothelial cells from moyamoya patients. BBRC 438:13-19, 2013
- 8) MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, et al: The database of genomic variants: a curated collection of structural variation in the human genome. Nucleic Acids Res 42:D986-992, 2014
- 9) Perry GH, Dominy NJ, Claw KG, et al: Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. Nat Genet 39(10):1256-1260, 2007.
- 10) 佐藤秀則, 江見充．ゲノムコピー数多型解析(CNV)と疾患研究．ホルモンと臨床 59:17-22, 2011

- 11) Joo SP, Kim TS, Lee IK, et al: A genome-wide study of moyamoya-type cerebrovascular disease in the Korean population. J Korean Neurosurg Soc 50(6):486-491, 2011
- 12) Cirulli ET, Goldstein DB: Uncovering the roles of rare variants in common disease through whole-genome sequencing. Nature Rev Genet, 11:415-425, 2010
- 13) Nanba R, Kuroda S, Tada M, et al. Clinical features of familial moyamoya disease. Childs Nerv Syst 22:258-262, 2006
- 14) Miyatake S, Miyake N, Touho H, et al: Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease. Neurology 78:803-810, 2012
- 15) McInnis MG. Anticipation: an old idea in new genes. Am J Hum Genet 59(5):973-979, 1996
- 16) 池田栄二、加藤真吾 . ウィリス動脈輪閉塞症剖検例を用いたトリプレットリピート病候補遺伝子異常の検索 . 1997 年度総括・分担研究報告書 35-37, 1998
- 17) 池田秀敏、吉本高志、近藤健男ら . 家族性モヤモヤ病に於ける clinical anticipation の検討-RED method に適する家系の選択- 2000 年度総括・分担研究報告書:63-68, 2001
- 18) 近藤健男、池田秀敏、吉本高志 . モヤモヤ病患者遺伝子における CAG リピート伸長の検討 . 2001 年度総括・分担研究報告書 69-70, 2002
- 19) 池田秀敏、近藤健男、吉本高志 . 家族性モヤモヤ病遺伝子 CAG リピート伸長のローカス同定 : 3 番染色体短腕における検討 . 2002 年度総括・分担研究報告書:43-46, 2003
- 20) 難波理奈、黒田敏、宝金清博ら . もやもや病家系における 17q25 の triplet repeat の伸長に関する研究 . 2003 年度総括・分担研究報告書:47-50, 2004
- 21) Mineharu Y, Takenaka K, Yamakawa H, et al: Inheritance pattern of familial moyamoya disease: autosomal dominant mode and genomic imprinting. J Neurol Neurosurg Psychiatry 77:1025-1029, 2006

知的財産権の出願・登録状況

なし

60 歳以上の高齢発症もやもや病に関する多施設共同調査： MODEST (multicenter survey of moyamoya disease over the age of sixty)

東北大学 大学院 神経外科学分野
富永悌二 藤村幹

研究要旨

脳虚血症状を有するもやもや病患者に対する血行再建術の有効性は確立しており、患者年齢に関係なく本患者群への血行再建は推奨されている。一方、高齢患者に対しても若年者と同等に血行再建術が有効であるかは不明な点も多い。本研究では、多施設における 60 歳以上のもやもや病患者に対する血行再建術の治療成績を検証し、60 歳未満の患者と周術期合併症を含めた治療成績について比較検討した。

A. 研究目的

多くのもやもや病患者は小児例と若年成人例に大別されるが、近年においては 60 歳以上で初めてもやもや病と診断される患者も稀ではない。脳虚血症状を有するもやもや病患者に対する血行再建術の有効性は確立しており、患者年齢に関係なく本患者群への血行再建はガイドラインにおいて推奨されているが、高齢もやもや病患者に対しても若年成人同様にバイパス手術が有効な否かは不明である。実際、手術時の患者年齢が高いほどバイパス術後の症候性過灌流のリスクが高いことが報告されているため、小児例や若年成人例同様の血再建術の benefit が期待できない可能性も推測された。本報告では多施設における 60 歳以上の高齢もやもや病患者手術例について、特に周術期合併症の頻度を中心に後方視的に検討した。

B. 研究方法

2013 年 1 月に、本研究班参加施設を対象に

60 歳以上のもやもや病患者の診療状況について一次調査を行った。5 施設より回答が得られ、該当診療患者数は 82 症例、手術患者数は 20 症例（23 半球側）であった。血行再建術症例 20 例につき、以下の項目についての二次調査を行った。(1) 発症年齢、性別、(2) 発症形式、(3) 術前日常生活自立度(ADL) : (Modified Rankin Scale: mRS)、(4) 手術側・手術術式、(5) 周術期合併症、(6) 術後慢性期の ADL (mRS)。

C. 研究結果

20 例の 60 歳以上のもやもや病患者の発症年齢は 61~75 歳（平均 64.9 歳）であった。男女比は 5:15 と女性に多かった。発症形式は 10 例が脳梗塞、7 例が一過性脳虚血発作、3 例が脳出血であった。血行再建術・術前の ADL は mRS=0~4（平均 0.83）、術後慢性期の ADL は 0~4（平均 0.57）であり、血行再建術後に ADL の低下をきたした症例はなかった。23 手術における術式は、直接間接複合血行再建術が 19 例

(82.6%)、直接血行再建術が4例(17.4%)、間接血行再建術単独が1例(4.3%)に対して施行されていた。周術期合併症の頻度は、脳梗塞を4.3%(1/23)に認めた。症候性過灌流は17.4%(4/23)と高頻度であったが過灌流による永久的神経脱落症状をきたしたものはなかった。周術期の症候性の頭蓋内出血を8.7%(2/23)に認めた。硬膜下血腫が4.3%(1/23)、髄液漏が4.3%(1/23)で認められた。

D. 考察

脳虚血症状を呈するもやもや病に対する血行再建術の有効性は確立されており、長期的な脳卒中予防効果が期待できる。一方、高齢もやもや病患者に対しても若年成人例と同等に血行再建術が有効であるかは不明な点も多い。本研究では、最終的予後については高齢群においても術後、日常生活自立度の低下を来した症例はなく、術後慢性期のADLも平均mRS=0.57と比較的良好な結果であった。一方、60歳以上の高齢もやもや病患者においては周術期過灌流による症候性出血の頻度が17.4%と比較的高頻度であった。さらに周術期の頭蓋内出血も8.7%で認めており、周術期の出血性合併症には十分な留意が必要と考えられた。

以上、多施設における20例23半球側手術の後方視的な検討結果からは、高齢もやもや病患者に対する血行再建術の治療成績は概ね良好であった。一方、本患者群では血行再建術後の過灌流、頭蓋内出血のリスクが高い可能性も示唆されたため、血行再建術に当たっては慎重な手術適応の決定・厳格な周術期管理が必要と考えられた。今後は多施設から前向きに症例の集積を行うことにより、高齢もやもや病患者の周術期病態、血行再建術の治療効果をより明らかにできることが期待される。

結論

60歳以上の高齢もやもや病患者に対する血

行再建術(23半球側)の治療成績はおおむね良好であり、ADLの低下をきたした症例はなかった。一方、高齢患者においては血行再建術後の過灌流症候群、頭蓋内出血の頻度は若年者と比較して高い可能性もあり、より慎重な手術適応の決定・厳格な周術期管理が必要なものと考えられた。

E. 文献

2013年度発表論文

1. Sonobe S, Fujimura M, Niizuma K, Nishijima Y, Ito A, Shimizu H, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Kure S, Tominaga T: Temporal profile of the vascular anatomy evaluated by 9.4-tesla magnetic resonance angiography and histopathological analysis in mice lacking RNF213; a susceptibility gene for moyamoya disease. **Brain Res** 1552: 64-71, 2014. (査読あり)
2. Fujimura M, Niizuma K, Inoue T, Sato K, Endo H, Shimizu H, Tominaga T: Minocycline prevents focal neurologic deterioration due to cerebral hyperperfusion after extracranial-intracranial bypass for moyamoya disease. **Neurosurgery** 74: 163-170, 2014. (査読あり)
3. Fujimura M, Kimura N, Ezura M, Niizuma K, Uenohara H, Tominaga T. Development of de novo arteriovenous malformation after bilateral revascularization surgery in a child with moyamoya disease -Case report-. **J Neurosurg Pediatr** 2014 [Epub ahead of print] (査読あり)
4. Fujimura M, Akagi K, Uenohara H, Tominaga T: Moyamoya Disease in Pregnancy: A Single Institute Experience. **Neurol Med Chir (Tokyo)** 53: 561-564, 2013 (査読あり)
5. 藤村幹、清水宏明、井上敬、新妻邦泰、富永悌二: 60歳以上の高齢もやもや病患者に

対する血行再建術：周術期過灌流に注目して. 脳卒中の外科 42:37-41, 2014 (査読あり)

6. 藤村幹、上之原広司、富永悌二: もやもや病に対する頭蓋外内血行再建術における生体吸収性プレート/チタンプレートのハイブリッド使用による頭蓋骨形成. 脳神経外科ジャーナル 23: 418-422, 2014 (査読あり)
7. 藤村幹、富永悌二: もやもや病の研究課題. 脳神経外科ジャーナル 22: 695-698, 2013 (査読あり)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2013年度 もやもや病（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 大木宏一，伊
藤義彰，山田哲，鈴木則宏

研究要旨

2003年度から2013年度までのもやもや病データベースを集計し，解析を行った．2013年度に新規登録された症例は77例であり，2003年度から2013年度までの総計では，計30施設より1348症例が登録された．また既存登録症例で今年度調査期間内に診察があり経過観察が行われている症例は，379例（既存登録症例中30%）であった．

今年度も昨年度に引き続き，従来までのデータベースで得られた情報を経時的なデータとして再統合し，バイパス手術施行の有無及び抗血小板剤投与の有無による脳梗塞・脳出血再発率の比較を行った．観察研究であるため結果の解釈には注意を要するが，もやもや病における数少ない貴重な経時的データであり，今後の臨床や研究における基礎データとして非常に重要な知見が得られたと考えられる．

A. 研究目的

録とフォローアップ調査を依頼した．この結

本研究班ではもやもや病の疫学，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．本年度も従来と同様に，各施設に症例の調査を依頼しデータベースを更新するとともに，経時的なデータの解析によって，もやもや病における外科的・内科的治療と予後との関連を検討した．

B. 研究方法

班員ならびに協力施設に対して，今年度調査期間（2012年10月1日から2013年9月30日まで）におけるもやもや病症例の新規登

ページ数は不要

果を当施設で集計し、2003 年度から 2012 年度までのデータベースと統合し、全登録症例を用いて本年度における横断的な疫学的解析を行った。また昨年度に集計を行った 2003

年度から 2011 年度までの経時的な統合データベースを用いて、さらに詳細な検討を行った。

c. 研究結果

1. 2013 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 施設より返答が得られた。この結果、2003 年から 2013 年度までの総登録症例数は 1348 例となり、そのうち男性は 447 例、女性は 894 例で男女比は 1 : 2.00 であった。今年度調査期間中に、新規登録された症例は 77 例であった。

た．また既存登録症例のなかで同期間中に診察があり，現在も経過観察が行われている症例は 379 例で，既存登録症例の 30%（全症例の 28%）であった（図 1）．

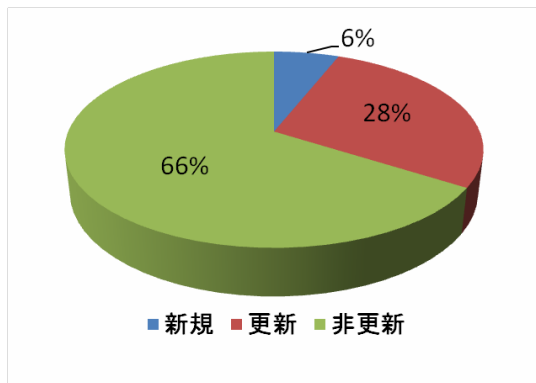


図1 全登録例のデータ更新・追跡状況

総登録症例 1348 例の初発年齢を図 2 に示す．従来の報告と同様に，5 - 9 歳頃を中心とする高いピークと，30 - 40 歳代を中心とする低いピークを認める二峰性を示した．

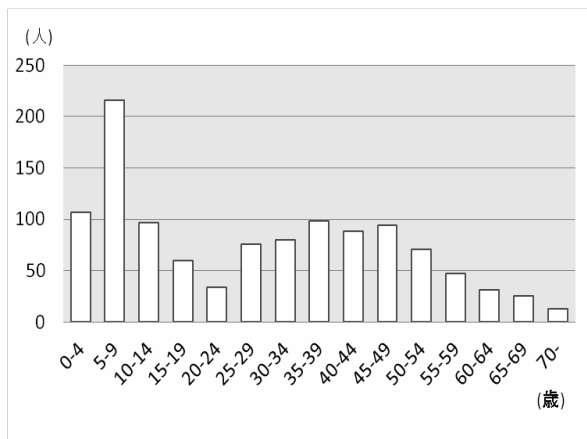


図2 全登録症例における初発年齢分布

総登録症例 1348 例の男女別初発年齢を図 3 に示す．男性に関しては 5-9 歳頃及び 35 - 39 歳頃にピークのある二峰性であった．女性に関しては 5 - 9 歳頃に高いピークを認めるのは同様であるが，成人期に関しては男性よりやや年齢の高い 45-49 歳頃にピークを認めた．

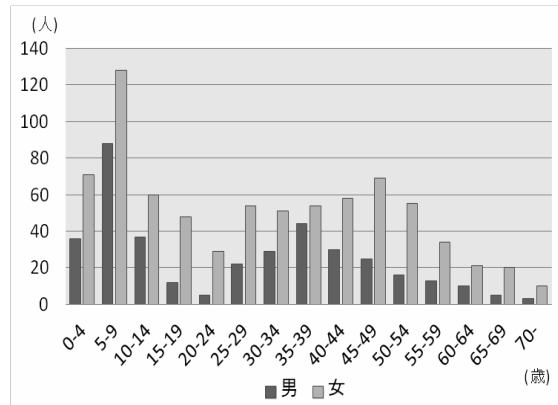


図3 全登録症例の男女別初発年齢分布

図 4 に男女別の初発症病型を示す．男女間に有意な差は認められなかった．

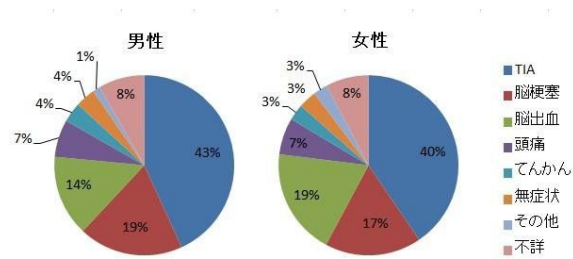


図4 男女別の初発時病型分類

2. 2003 年度から 2011 年度までの統合データの解析

昨年度も報告したように，従来のデータベースの最大の問題点は，経時的なデータ解析が非常に困難ということであった．そこで昨年度は，データベースを各記入項目の変更は行わないまま，「経時的なデータ統合が容易に行える形式」に変更した．今年度はこの新形式のデータベースを用いて各施設に調査依頼を行い，前述のデータベースの集計を行った．一方昨年度より，2003 年度から 2011 年度までに蓄積された症例のデータを統合して経時的な解析を開始していたが，本年度はそれに関する更なる詳細な検討を行ったため，併せて報告する．

登録までの罹病期間に対する検討

図5 に発症・診断がなされてからデータベースに登録するまでの罹病期間を示す。罹病期間が短い症例の方が多く登録されているが、一方で登録までの罹病期間が10年以上の症例が半数以上存在した。発症・診断から登録までの期間が10年未満のRecent onset 群は541例、登録までの期間が10年以上のRemote onset 群は605例であった。

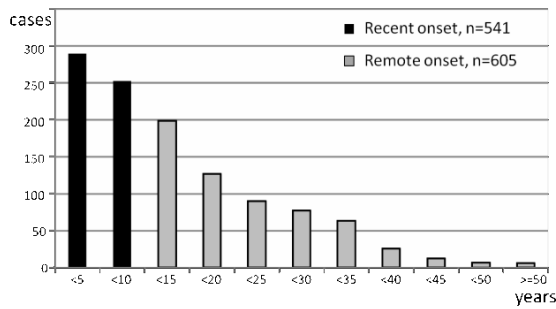


図5 登録症例の罹病期間

図6 に罹病期間別の初発年齢を示す。

Recent onset 群, Remote onset 群双方とも二峰性の発症年齢のピークを認めるが, 1990年代半ば以降の発症例が大部分を占めると考えられるRecent onset 群では, 小児期発症数が減少し, 成人期発症数が増加する傾向を認められた。

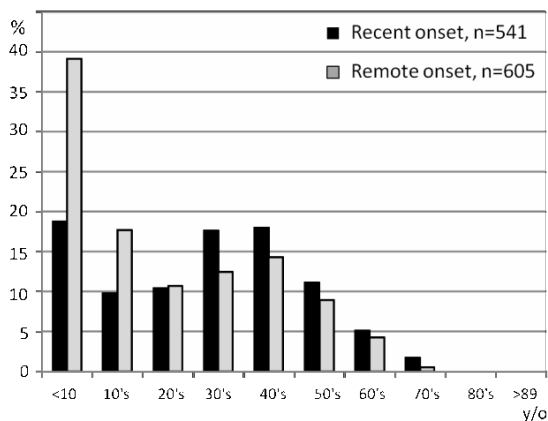


図6 罹病期間別初発年齢

脳卒中再発率の検討 次に初発病型が虚血型

(TIA+脳梗塞)と出

梗塞再発率（図8）を検討した。（最近発症した症例の方がより再発率が高いため，recent onset 群のみを対象とした。）

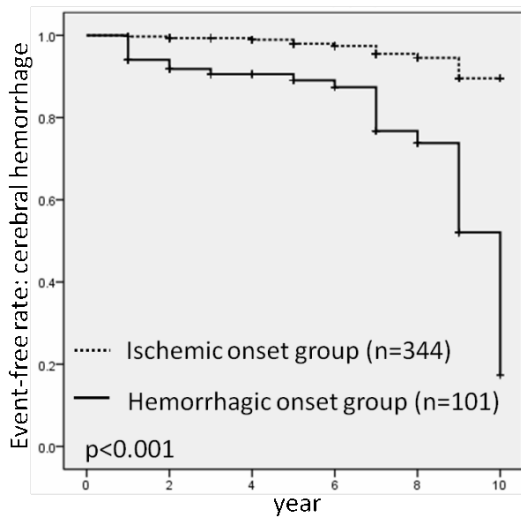


図7 虚血・出血発症群における脳出血再発

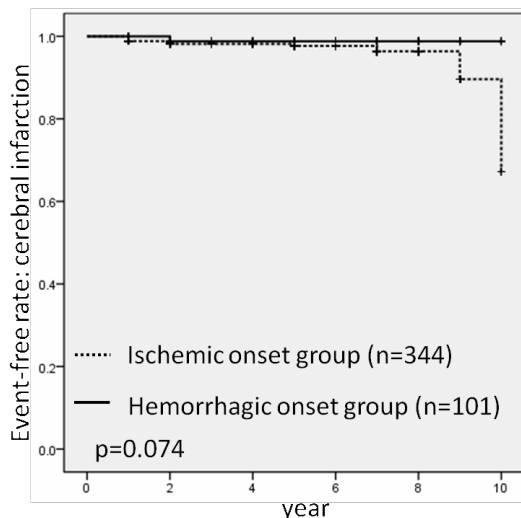


図8 虚血・出血発症群における脳梗塞再発

初発病型が虚血発症の群においても脳出血の再発を認めるが($0.6 \pm 0.5\%$ / 3 年 , $2.0 \pm 0.9\%$ / 5 年) , 初発が出血発症の群の方が有意に ($p < 0.001$) 脳出血の再発が多かった($9.4 \pm 3.0\%$ / 3 年 , $10.9 \pm 3.3\%$ / 5 年). また両群間における差異は時間が経過するほど大きくなる傾向が認められ , 出血発症群での脳出血再発に対する治療法の確立が非常に重要であると考えられた .

一方 , 脳梗塞再発率はどちらの群でも脳出

血再発に比し少なく（虚血発症群： $2.3 \pm 0.9\%/5$ 年 出血発症群： $1.2 \pm 1.2\%/5$ 年），また虚血発症群の脳梗塞再発率の方が，出血発症群に比して多い傾向があるが，統計学的有意差は認めなかった（ $p = 0.074$ ）。

バイパス手術と脳卒中再発率の検討 次にバ

イパス手術の有無による脳卒中再発率の検討を行った。バイパス手術群には直接手術・間接手術の双方を含み，また本検討はデータベースを用いた観察研究であるため，手術施行の有無は各施設の主治医が症例毎に判断したものである。

虚血発症群における脳梗塞の再発は，手術施行群において有意に少なく，無作為割り付けがなされた2群間ではないものの，脳梗塞再発予防に対するバイパス手術の一定の有用性が示されたと考えられる（図9）。

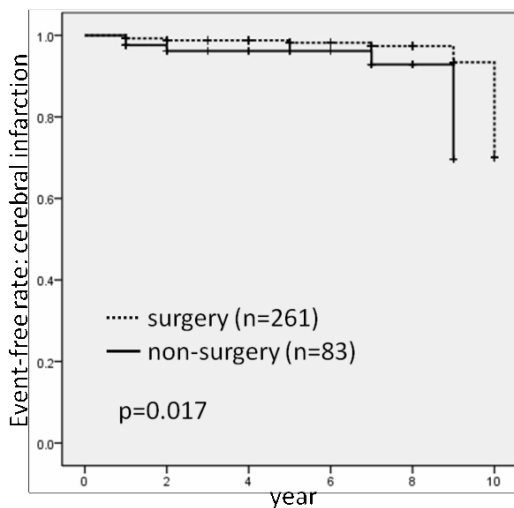


図9 手術の有無による虚血発症群の脳梗塞再発

一方出血発症群における脳出血の再発率については，手術施行群・未施行群間で統計学的に有意差は認めなかった（図10）。また時間経過とともに，手術群において脳出血再発が多くなる傾向が認められた。各群での脳出血再発率は，手術群： $13.0 \pm 5.5\%/5$ 年，未施行群： $9.2 \pm 4.0\%/5$ 年であった。