

氏 名 やまもと しゅうすけ
山本 修輔

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富生命博甲第 151 号

学位授与年月日 令和 5 年 3 月 23 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院生命融合科学教育部 博士課程
認知・情動脳科学専攻

学位論文題目
もやもや病における特異的側副血行路形成の臨床的特徴および発生機序の解明
(The Elucidation of Clinical Characteristics and the Underlying Mechanism
of Specific Angiogenesis in Moyamoya Disease)

論文審査委員

(主査) 教授 野口 京

(副査) 教授 中辻 裕司

(副査) 教授 一條 裕之

(副査) 教授 田村 了以

(指導教員) 教授 黒田 敏

論 文 要 旨

論 文 題 目

**The Elucidation of Clinical Characteristics
and the Underlying Mechanism of
Specific Angiogenesis in Moyamoya Disease**

もやもや病における特異的側副血行路形成の
臨床的特徴および発生機序の解明

氏 名 山本 修輔

- 備考 ① 論文要旨は、2,000字程度とする。
② A4判とする。

【目的】もやもや病では、経硬膜吻合および間接血行再建術後の血管新生といった、特異的な側副血行路の形成がみられる。これらは他の閉塞性脳血管障害ではみられない、もやもや病に特有の現象である。これらの発達は内頸動脈終末部を中心とした脳主幹動脈狭窄による脳虚血を代償するが、その臨床的意義および発生メカニズムはいまだ完全には明らかとなっていない。今回、これらの側副血行路形成の臨床的意義、発生メカニズムを解明することを目的として、3つの臨床研究を実施した。

【方法】成人および小児もやもや病に対し、浅側頭動脈-中大脳動脈吻合術（STA-MCAバイパス術）およびencephalo-duro-mylo-arterio-pericranial synangiosis（EDMAPS）を実施し、もやもや病における頭蓋内出血の原因となるもやもや血管の術前後の変化を評価した。もやもや血管は、lenticulostriate、thalamic、およびchoroidal channelの3つに分類し、それぞれについてGrade 0～2の3段階で評価した。また、術後の側副血行路の発達度ともやもや血管の消退との関連性を解析した。次に、成人もやもや病患者を小児期の脳虚血エピソードを有する「小児期発症群」と有さない「成人期発症群」に分類し、その臨床的・放射線学的特徴を比較した。両群におけるもやもや血管の発達度、経硬膜吻合や間接血行再建術後の側副血行路の発達度を比較した。最後に、もやもや病患者に対する手術中にくも膜組織を採取し、くも膜細胞の生物学的特徴を明らかにするため免疫組織染色を実施した。その所見を動脈硬化性頭蓋内動脈狭窄患者（対照群）と比較した。免疫組織染色にはplatelet-derived growth factor receptor- α （PDGFR α ）、PDGFR β 、 α -smooth muscle actin（ α SMA）に対する一次抗体を使用した。また、くも膜のコラーゲン密度を測定するためにSirius red染色を実施した。さらに、術中に採取した脳脊髄液中のサイトカイン濃度をenzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）にて測定した。Basic fibroblast growth factor（bFGF）、hepatocyte growth factor（HGF）、transforming growth factor β -1（TGF- β 1）の濃度を測定し、両群間で比較した。


【結果】STA-MCAバイパス術およびEDMAPSを実施した小児17人29半球において、lenticulostriateおよびchoroidal channelが術後に有意に退縮した（それぞれ $P<0.001$ 、 $P=0.034$ ）。成人44人63半球では、lenticulostriate、thalamic、choroidal channelの全てが術後に有意に退縮した（それぞれ $P<0.001$ 、 $P=0.012$ 、 $P=0.004$ ）。また、複合血行再建術後の側副血行路の発達度は、頭蓋内出血のリスク因子であるchoroidal channelの消退と有意に関連していた。次に、69人116半球の成人もやもや病患者を、小児期の虚血エピソードの有無にて小児期発症群と成人期発症群に分類したところ、14人26半球が小児期発症群、55人90半球が成人期発症群に分類された。小児期発症群では平均年齢が有意に若く（ 34.0 ± 6.2 歳 vs. 43.3 ± 11.1 歳、 $P<0.001$ ）頭蓋内出血での発症が多かった（ 57.1% vs. 14.5% 、 $P=0.009$ ）。Lenticulostriateおよびchoroidal channelは小児期発症群でより発達度が高く（それぞれ $P=0.044$ 、 $P<0.001$ ）、vault moyamoyaは小児期発症群でより保有率が高かった（ 88.5% vs 27.8% 、 $P<0.001$ ）。また、間接血行再建術を介した側副血行路は、小児期発症群でより高度に発達していた（ $P=0.002$ ）。小児期発症（OR 4.31 [95% CI 1.21-15.4]、 $P=0.025$ ）およびG

Grade-2 choroidal channel (OR 6.78 [95% CI 1.78-25.8], P=0.005) は、成人もやもや病における頭蓋内出血の独立した危険因子であった。最後に、26人のもやもや病患者および6人の動脈硬化性頭蓋内動脈狭窄患者（対照群）のくも膜を採取し、免疫組織学的検討を行った。くも膜内層において、PDGFR α 、PDGFR β 、および α SMA陽性細胞数は、対照群と比較してもやもや病群で有意に多かった（それぞれP=0.02、P=0.01、P<0.01）。さらに、PDGFR α と α SMAの蛍光二重染色では、もやもや病群で共陽性細胞が多くみられた（80.5 \pm 15.6% vs. 14.6 \pm 7.2%、P<0.01）。このことから、もやもや病患者のくも膜細胞の多くは筋線維芽細胞であると考えられた。また、くも膜のコラーゲン密度はもやもや病群で有意に高かった（60.3 \pm 15.0% vs. 40.1 \pm 15.3%、P<0.01）。脳脊髄液中のbFGF、HGF、TGF- β 1はいずれも対照群と比較してもやもや病群で有意に高濃度であった（いずれもP<0.01）。

【結語】STA-MCAバイパス術およびEDMAPSが、もやもや病における頭蓋内出血の原因となり得るもやもや血管を有意に退縮させることを示した。初発および再発頭蓋内出血の有力な予測因子であるGrade-2 choroidal channelの退縮は、脳血行再建術後の側副血行路発達と有意に相関していた。もやもや病に特異的である間接血行再建を介した側副血行路の発達が、もやもや病患者の転帰改善に非常に重要であることが判明した。小児期発症成人もやもや病患者では、choroidal channelをはじめとするもやもや血管がより高度に発達しており、その結果として頭蓋内出血が発生する危険性が高いことが初めて明らかとなった。また、この患者群では経硬膜吻合がより発達しており、これは小児期の脳血流需要の高さのためであると考えられた。成人もやもや病における「小児期発症」という概念は臨床的に重要なものであると考えられる。もやもや病患者のくも膜では、対照群と比較してPDGFR α 陽性である線維芽細胞が増加し、その多くが筋線維芽細胞へ分化していることが初めて明らかとなった。もやもや病の脳脊髄液におけるbFGF、HGF、TGF- β 1などの血管新生因子濃度の上昇が、この特異な現象に寄与している可能性がある。筋線維芽細胞は、くも膜におけるコラーゲン産生を促進し、経硬膜吻合や間接血行再建術後の側副血行路形成など、もやもや病における特異的な血管新生を促進している可能性がある。今後、もやもや病くも膜における α SMA陽性筋線維芽細胞の役割についてさらなる研究が必要である。

様式 8

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

報 告 番 号	富生命博甲第 号 富生命博乙第 号	氏 名	山本 修輔
論文審査委員	職 名 (主査) 教授 (副査) 教授 (副査) 教授 (副査) 教授	氏 名 野口 京 中辻 裕司 一條 裕之 田村 了以	
指導（紹介）教員	教 授	黒田 敏	
(論文題目) もやもや病における特異的側副血行路形成の臨床的特徴および発生機序の解明 (The Elucidation of Clinical Characteristics and the Underlying Mechanism of Specific Angiogenesis in Moyamoya Disease)			(判定) 合格
(論文審査の要旨) 【目的】 もやもや病では、外頸動脈の浅側頭動脈や中硬膜動脈が硬膜を介して中大脳動脈や前大脳動脈の皮質枝との吻合が自然に形成されるvault moyamoyaなどの経硬膜吻合および間接血行再建術後の血管新生といった特異的な側副血行路の形成がみられる。これらの発達は内頸動脈終末部を中心とした脳主幹動脈狭窄による脳虚血を代償するが、その臨床的意義および発生メカニズムはいまだ完全には明らかとなっていない。山本氏はこれらの側副血行路形成の臨床的意義、発生メカニズムを解明することを目的として、3つの臨床研究を実施した。 【方法】 小児および成人のもやもや病に対して、浅側頭動脈-中大脳動脈吻合術(STA-MCAバイパス術)およびEDMAPS(encephalo-duro-myo-arterio-pericranial synangiosis)を実施し、術前後のもやもや血管の変化を評価した。もやもや血管はlenticulostriate、thalamic、choroidal channelの3つに分類し、Grade 0~2の3段階で評価した。さらに、術後の側副血行路の発達度ともやもや血管の消退との関連性を解析した。次に、成人もやもや病患者を、小児期の脳虚血エピソードを有する「小児期発症群」と有さない「成人期発症群」に分類し、その臨床的・放射線学的特徴を比較した。両群におけるもやもや血管の発達度、経硬膜吻合や間接血行再建術後の側副血行路の発達度を比較した。最後に、もやもや病患者の術中にくも膜組織を採取し、くも膜細胞の生物学的特徴を明らかにするため免疫組織染色を実施した。その所見を動脈硬化性頭蓋内動脈狭窄患者と比較した。免疫組織染色には、PDGFR α 、PDGFR β 、 α SMAに対する一次抗体を使用した。			

くも膜のコラーゲン密度を測定するためにSirius red染色を実施した。術中に採取した脳脊髄液中のサイトカイン (bFGF、HGF、TGF- β 1) 濃度をELISAにて測定し、両群間で比較した。

【結果】 STA-MCAバイパス術およびEDMAPSを実施した61人92半球のうち、小児17人ではlenticulostriateおよびchoroidal channelが術後に有意に退縮した。成人44人では、全てが術後に有意に退縮した。複合血行再建術後の側副血行路の発達度は、頭蓋内出血のリスク因子であるchoroidal channelの消退と有意に関連していた。69人116半球の成人もやもや病患者を小児期の虚血エピソードの有無にて分類したところ、14人26半球が小児期発症群、55人90半球成人期発症群と診断された。小児期発症群では平均年齢が有意に若く頭蓋内出血での発症が多かった。lenticulostriateおよびchoroidal channelは小児期発症群でより発達度が高く、vault moyamoyaは小児期発症群でより保有率が高かった。また、間接血行再建術を介した側副血行路は、小児期発症群でより高度に発達していた。小児期発症およびGrade-2 choroidal channelは、成人もやもや病における頭蓋内出血の独立した危険因子であった。もやもや病患者と動脈硬化性頭蓋内動脈狭窄患者のくも膜の免疫組織学的検討では、もやもや病にて、PDGFR α 、PDGFR β 、 α SMA陽性細胞が有意に高発現していた。PDGFR α と α SMAの蛍光二重染色では、もやもや病群で共陽性細胞数が有意に多くみられた。くも膜のコラーゲン密度は、もやもや病群で有意に高かった。脳脊髄液中のbFGF、HGF、TGF- β 1はいずれも対照群と比較して、もやもや病群で有意に高濃度であった。

【総括】 山本氏は本研究において、もやもや血管を lenticulostriate、thalamic、choroidal channel の3つに分類し、脳血管撮影にて術前後の変化を詳細に評価し、STA-MCA バイパス術とEDMAPS を実施することが、虚血性脳卒中の予防のみならず、出血のリスク要因である choroidal channel の消退が得られることを明らかにした点で、臨床的な発展性が期待される。また、成人もやもや病に対して「小児期発症群」という新しい概念を取り入れ、小児期発症の成人もやもや病では choroidal channel がより高度に発達しており、頭蓋内出血が発生する可能性が高いことをはじめて明らかにした点で、新規性がある。さらに、もやもや病患者のくも膜では、動脈硬化性頭蓋内動脈狭窄患者のくも膜と比較して、線維芽細胞が増殖し筋線維芽細胞へ分化していることを明らかにし、筋線維芽細胞はくも膜にてコラーゲンの産生をすることで、もやもや病における特異的な血管新生である経硬膜吻合や間接血行再建術後の側副血行路形成を促進しており、この現象に、もやもや病の脳脊髄液中の血管新生因子の上昇が関与している可能性が示されたことは、医学における学術的重要性が高いと考えられる。以上より、本審査会は本論文を博士 (医学) の学位に十分値すると判断した。