

平成 29 年 9 月 29 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2016

課題番号：26305031

研究課題名(和文) 遺伝子変異と脳循環因子の解析による日中巨大もやもや病データベースの共有化

研究課題名(英文) Japan-China collaboration on the investigation of gene mutation and non-invasive perfusion study on patients with moyamoya disease

研究代表者

成相 直(Nariai, Tadashi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：00228090

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,400,000円

研究成果の概要(和文)：世界最多数のもやもや病患者の治療を行っている北京人民解放軍脳血管センターの段煉教授と患者データベースの共同解析を行うため定期的交流を行なった。病因と病態に密接に関連する新規関連遺伝子変異の探索を目指した。既知のもやもや病関連遺伝子であるRNF213領域p.R4859K変異陽性者が中国患者では15%と低いことが判明し、同変異陰性者の全エクソーム解析によりCCER2遺伝子を同定することができた。中国でも複数の新規関連遺伝子が発見され論文投稿段階となっている。今後の相互の遺伝子情報交換による解析体制確立に近づいた。新たに開発したDSCおよびASL-MRIを用いた非侵襲的脳循環計測法の共有も達成できた。

研究成果の概要(英文)：We established a system to communicate with Dr. Duan Lian, Professor and Chief, Center for CVD in 302 PLA Hospital, Beijing, China, who are now treating world most number of patients with moyamoya disease. Although gene mutation, RNF213 (p.R4859K), exist in more than 80 % of Japanese patients, our analysis revealed that it was detected only in 15% of Chinese patients. Our whole exon sequence analysis could lead to the finding of CCER2 gene as a novel susceptible one for moyamoya disease. We could get information on the detection of the other several novel susceptible gene mutation that were detected in Chinese patients, although it has not been published yet.

We also could achieve another purpose of the present grant by establishing the system to use the same non-invasive cerebral perfusion measurement method by DSC-MRI and ASL-MRI.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：moyamoya disease RNF213 CCER2 DSC-MRI ASL-MRI indirect bypass surgery

## 1. 研究開始当初の背景

もやもや病は日本で約一万人程度の患者数と推定される限られた数の疾患であるが、小児や若年者に脳梗塞を発症し若年者の知能発達障害や高次脳機能障害の原因となる。それを外科的な血行再建術で防止できる可能性もある疾患である。一方で、もやもや病と診断されながら無症候で脳循環上も何の異常も認めない患者も多数診断されるようになっており、その病態理解と治療効果に関するデータを蓄積し、至適な治療指針を確定していくには多数の患者のデータ解析が必要である。

本疾患においては、近年の日本から発信された研究の成果により有力な疾患関連遺伝子として RNF213 領域の p.R4859K 変異が注目されており罹患者で高い陽性発現を示していることが確認されたが、本遺伝子変異の病因や病態との関連ははまだ明らかでない。

もやもや病は日本以外の極東地域でも多発するため、中国と韓国では多くの患者治療がおこなわれている。そのうち中国では、現在は北京市の人民軍脳血管病センターがもやもや病診療の中心となっており、一施設で新規患者として年間 350 人が来院し、年間 700 件の手術治療を行なっている。人民軍脳血管病センターの責任者である段煉主任教授は東京医科歯科大学脳神経外科に留学にて学位を取得し、同じ治療方針をとり、親密な交流を維持している日本と中国の 2 施設の患者情報を交換するために本研究を組織した。

## 2. 研究の目的

二国間のもやもや病患者データを共有するために、把握しておくべきデータは、遺伝子変異と脳循環異常の程度であるとの考えのもとに、両者でこれらの共同解析を行う。遺伝子変異としては、解析対象を

日本の患者で広く陽性が認められている RNF 213 上の変位 (p.R4859K) と、我々の研究で新たに認められた RNF 213 上の変異 (R4062Q) であるが、両国で新規の関連遺伝子の探索を進めその情報を相互交換することも目指した。脳循環計測では、医科歯科大学で確立している MRI による脳循環計測 (DSC-MRI と ASL-MRI) を、中国の患者で解析できるように指導を行うこととした。

## 3. 研究の方法

相互の訪問による情報交換を行い患者情報の共有を目指した。RNF 213 上の p.R4859K 変異に関しては日本からプローブを提供し中国患者サンプルでの悉皆調査を開始した。この変異陰性者の全エクソーム解析を開始した。双方とも遺伝子解析は他機関の共同研究であるため解析中は情報交換できなかった。それぞれの国で解析を進め論文受理の段階で相手に遺伝子情報を開示し自国のサンプルでのサーベイを開始する方針で研究を開始した。

脳循環画像計測では研究年度内にも新たな画像解析法を開発報告した。同情報を中国での公演、研究会で紹介し同等の解析ができるように指導した。

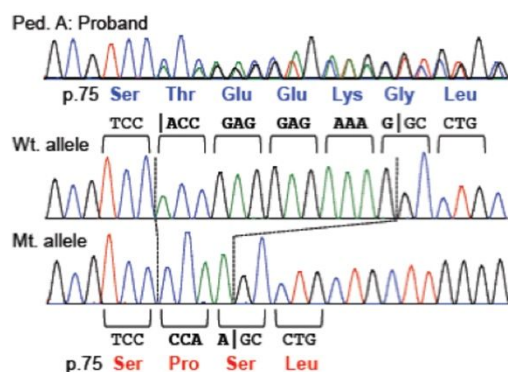
## 4. 研究成果

もやもや病遺伝子変異解析に関しては、RNF 213 上の p.R4859K 変異陰性患者の解析を進めた。そして RNF213 領域内の他の変異 (R4062Q) が複数のもやもや病家系やコーカサス系人種でも発現している事をまず報告した。

そして RNF 213 の全領域に稀少変異の無い濃厚家系の多数親族の是音区ソーム解析を行う事により新規関連遺伝子である CCER2 を発見し論文発表した。CCER2 遺伝子は胎児脳に特異的な発現が認められる分泌蛋白をコードしており、脳脊髄液を介した脳血管への

作用が考えられ、もやもや病の有望な脳脊髄液バイオマーカーと期待される。今後の研究課題としての重要遺伝子マーカーとなりうるものである。

図 1 ) もやもや病における CCER2 遺伝子変異



一方で中国でのもやもや病患者の RNF 2 1 3 上の p.R4859K 変異の陽性率はわずか 1 5 % であることが判明した。多数の本変異陰性患者の全エクソーム解析により複数の稀少変異が既に発見されており一流雑誌に投稿済みである事は確認している。しかし、本研究年度内に論文採択に至らなかったため中国で発見された新規変異を日本の患者サンプルで検証すると当初の目標に至らなかった。一方、新規に報告した CCER2 遺伝子に関してはプローブ情報を早期に与え中国の多数の患者サンプル中での発現率を検証中である。画像解析法に関しては DSC-MRI、ASL-MRI 法の意義を検証する臨床研究を継続した。特に ASL-MRI 法でパルスから撮像までの待ち時間 (post labelling delay; PLD) を複数用いて撮影することでもやもや病患者の循環時間遅延を画像化できるとの論文発表は発表後大きな注目を集めている。

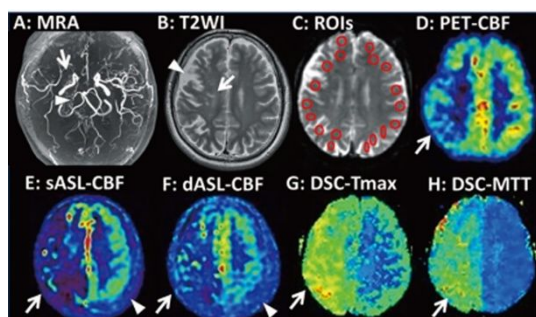


図 2 ) ASL-MRI の意義に関する論文図  
論文採択後に同手法を中国側に指導し中国の患者での同手法での計測に関する論文も先日出版された。

(参考論文) Qiao PG, Han C, Zuo ZW, Wang YT, Pfeuffer J, Duan L, Qian T, Li GJ. Clinical assessment of cerebral hemodynamics in Moyamoya disease via multiple inversion time arterial spin labeling and dynamic susceptibility contrast-magnetic resonance imaging: A comparative study. J Neuroradiol. 2017 Feb 3

5 . 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件) 全て査読有り

Aoyama J, Nariai T, Muawa M, Inaji M, Tanaka Y, Maehara T. A case of Familial moyamoya disease presenting 10 years after the initial negative MR screening in childhood. World Neurosurgery in press

Hara S, Tanaka Y, Ueda Y, Hayashi S, Inaji M, Ishiwata K, Ishii K, Maehara T, Nariai T. Noninvasive Evaluation of CBF and Perfusion Delay of Moyamoya Disease Using Arterial Spin-Labeling MRI with Multiple Postlabeling Delays: Comparison with 150-Gas PET and DSC-MRI. AJNR Am J Neuroradiol. 38:696-702. 2017

Mukawa M, Nariai T, Onda H, Yoneyama T, Aihara Y, Hirota K, Kudo T, Sumita K, Maehara T, Kawamata T, Kasuya H, Akagawa H. Exome Sequencing Identified CCER2 as a Novel Candidate Gene for Moyamoya Disease. J Stroke Cerebrovasc Dis. 26:150-61. 2017

Mukawa M, Nariai T, Inaji M, Tamada N, Maehara T, Matsushima Y, Ohno K, Negi M, Kobayashi D. First autopsy analysis of a neovascularized arterial network induced by indirect bypass surgery for moyamoya disease: case report. J Neurosurg. 124:1211-4. 2016

Moteki Y, Onda H, Kasuya H, Yoneyama T, Okada Y, Hirota K, Mukawa M, Nariai T, Mitani S, Akagawa H. Systematic Validation of RNF213 Coding Variants in Japanese Patients With Moyamoya Disease. Journal of the American Heart Association. 4. 2015

Ishii Y, Nariai T, Tanaka Y, Mukawa M, Inaji M, Maehara T, Ohno K. Practical clinical use of dynamic susceptibility contrast magnetic resonance imaging for the surgical treatment of moyamoya disease. Neurosurgery. 74:302-9. 2014

〔学会発表〕(計23件)

Hara S, Hori M, Murata S, Ueda R, Nakazawa M, Tanaka Y, Maehara T, Aoki S, Nariai T. Neuriteorientation dispersion and density imaging revealed the brain microstructural ischemic damage in patients with moyamoya disease. Society for Neuroscience 2016. San Diego, USA. Nov 12-16, 2016.

成相直。シンポジウム。もやもや病の治療と長期予後。長期フォロー結果から見る小児および成人もやもや病治療の進歩と課題。日本脳神経学会第75回学術総会。福岡国際会議場、福岡市、福岡県。2016年9月29日-10月1日。

Nariai T. Invited Lecture. Progress and remaining question on surgical treatment of juvenile patients with moyamoya disease. 8<sup>th</sup> European-Japanese Cerebrovascular Congress. Zurich, Switzerland. June 22-24, 2016.

Nariai T. (Educational Lecture) Novel imaging technique for CBF and cerebrovascular autoregulation in patients with moyamoya disease. 8<sup>th</sup> European-Japanese Cerebrovascular Congress. Zurich, Switzerland. June 22-24, 2016.

Ishii Y, Nariai T, et al. Chronological evaluation of cerebral hemodynamics by dynamic susceptibility contrast magnetic resonance imaging after indirect bypass surgery for moyamoya disease. ISMRM 2015. Singapore, Singapore. May 7-13, 2016.

Nariai T. Educational Course. Neuroimaging with PET/MRI. Brain. Perfusion & Permeability Imaging. ISMRM 2015. Singapore, Singapore. May 7-13, 2016.

成相直。シンポジウム。小児の脳血管障害の現状。小児もやもや病の長期フォローから見た進歩と課題-脳機能、新規血管病変、遺伝子変異を中心に-。Stroke 2016。ロイトン札幌、札幌市、北海道。2016年4月14-16日

Hara S, Tanaka Y, Ueda Y, Hayashi S, Inaji M, Ishiwata K, Ishii K, Maehara T, Nariai T. Non-invasive evaluation of cerebral blood flow and perfusion delay of moyamoya disease using ASL-MRI with multiple post-labeling delay-comparison with O-15 PET and

with DSC-MRI. 10<sup>th</sup> Asian Oceanian Congress of Neuroradiology. Fukuoka, Japan. Nov 5-7, 2015.

Hiari S, Nariai T, et al. Correlation between clinical presentation of patients with moyamoya disease and hemodynamic parameters measured with dynamic susceptibility magnetic resonance imaging. 10<sup>th</sup> Asian Oceanian Congress of Neuroradiology. Fukuoka, Japan. Nov 5-7, 2015.

Nariai T, et al. Amelioration of brain metabolism and higher brain function by surgical re-vascularization against adult moyamoya disease-A positron emission tomography study-. 15<sup>th</sup> Interim Meeting of the World Federation of Neurosurgical Society. Rome, Italy. Sept 8-12, 2015.

Nariai T, et al. Analysis of genetic variant RNF213 (c14576G>A) in 5 pairs of Japanese identical twin with moyamoya disease of juvenile onset. 15<sup>th</sup> Interim Meeting of the World Federation of Neurosurgical Society. Rome, Italy. Sept 8-12, 2015.

Sato A, Kudo T, Inaji M, Ishiwata K, Ishii K, Maehara T, Nariai T. Progressive occlusion of intracranial arteries and worsening of ischemic event among patients with adult moyamoya disease. 4<sup>th</sup> International Conference on Moyamoya Disease. Berlin, Germany. July 2-4, 2015.

Mukawa M, Nariai T, et al. Analysis

of genetic variant RNF213 (c14576G>A) in 5 pairs of Japanese identical twin with moyamoya disease of juvenile onset. 4<sup>th</sup> International Conference on Moyamoya Disease. Berlin, Germany. July 2-4, 2015.

Kudo T, Nariai T, et al. Amelioration of brain metabolism and higher brain function by surgical re-vascularization against adult moyamoya disease-A positron emission tomography study-. 4<sup>th</sup> International Conference on Moyamoya Disease. Berlin, Germany. July 2-4, 2015.

Taira N, Tanaka Y, Inaji M, Kudo T, Maehara T, Nariai T. Serial measurement of cerebral hemodynamics with ASL-MRI after indirect bypass surgery for patients with moyamoya disease. 4<sup>th</sup> International Conference on Moyamoya Disease. Berlin, Germany. July 2-4, 2015.

Ohnaka K, Nariai T, et al. Time course of FLAIR ivy sign of moyamoya disease before and after indirect bypass surgery. 4<sup>th</sup> International Conference on Moyamoya Disease. Berlin, Germany. July 2-4, 2015.

Nariai T. (Lecture) PET H<sub>2</sub><sup>15</sup>O study in moyamoya disease and the other chronic occlusive CVD. Neuroradiological Seminar at Stanford University. Palo Alto, USA. June 12, 2015.

成相直. (招待講演) 間接的血行再建術を主としたもやもや病に対する外科治療. Stroke 2015. リーガロイヤルホテル広島、広島市、広島県。2015年3月26日。

Nariai T, et al. Treatment of adult

patients with moyamoya disease based on hemodynamic measurement with perfusion MRI and PET and indirect bypass surgery. 9<sup>th</sup> World Stroke Congress. Istanbul, Turkey. Oct 22-25, 2014.

Nariai T, et al. Treatment of juvenile patients with moyamoya disease based on non-invasive measurement of cerebral perfusion with MRI. 9<sup>th</sup> World Stroke Congress. Istanbul, Turkey. Oct 22-25, 2014.

- ⑳ 成相直. (招待講演) PET 脳循環定量計測による閉塞性脳血管障害患者の血管反応性の検討-血管拡張不全と収縮不全の解離. 第 33 回 The Mt. Fuji Workshop on CVD. ホテルメトロポリタン盛岡、盛岡市、岩手県。2014 年 8 月 30 日

- ㉑ Nariai T. (Invited Lecture) Clinical use of various technique to measure cerebral hemodynamics for surgical treatment of moyamoya disease. The fourth international conference on moyamoya disease. Beijing, China. June 28, 2014

- ㉒ 成相直. (招待講演) 慢性脳虚血に対しての新生動脈増生術としての間接的血行再建術. 第 23 回脳神経外科手術と機器学会。シーホークヒルトン、福岡市、福岡県。2014 年 4 月 18-19 日。

〔図書〕(計 7 件)

成相直. もやもや病(ウィリス動脈輪閉塞症). In: 福井次矢, 高木誠, 小室一成, editors. 今日の治療指針 2016 年版. 東京: 医学書院; 2016. p. 935-6

成相直. 20 年の友好から始まった日中共同もやもや病研究-段煉先生との交流を中心に-. 日中医学. 30:61. 2015

成相直. 脳神経外科の研究と臨床のための PET 分子イメージング. Labcab. 12:23-4. 2015

成相直. PET 脳循環定量計測による閉塞性脳血管障害患者の血管反応性の検討-血管拡張不全と収縮不全の解離-. In: 小笠原邦昭, editor. 脳卒中における脳医循環代謝画像のすべて. 東京: ニューロン社; 2015. p. 19-24.

成相直. PET の基本. In: 三國信啓, 深谷親, editors. 脳神経外科診療プラクティス 6 脳神経外科医が知っておくべきニューロサイエンスの知識. 東京: 文光堂; 2015. p. 161-3.

成相直. PET でわかる脳機能. In: 三國信啓, 深谷親, editors. 脳神経外科診療プラクティス 6 脳神経外科医が知っておくべきニューロサイエンスの知識. 東京: 文光堂; 2015. p. 164-6.

田中洋次, 成相直, 前原健寿. 脳神経外科領域における 3D ASL 撮影の有用性. GE today. 45:12-5. 2014

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

成相直 (NARIAI, Tadashi)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・准教授

研究者番号: 00228090

### (2) 研究協力者

Duan Lian

Professor and Chief. CErevascular Center. 307 PLA Hospital, Beijing, China