髄液中 NO 代謝物はやもや病側副血行発達の指標となりうるか

鈴木 善男, 野田 篤, 渡辺 和彦
高木 輝秀, 高安 正和, 吉田 純

Do Nitric Oxide Metabolites in CSF Reflect the Development of Abnormal Collateral Circulation in Moyamoya Disease?

Yoshio SUZUKI, M.D., Atsushi NODA, M.D., Kazuhiko WATANABE, M.D.,
Teruhide TAKAGI, M.D., Masakazu TAKAYASU, M.D., and Jun YOSHIDA, M.D.

Departments of Neurosurgery, Nagoya University School of Medicine, Nagoya, Japan

Summary: Moyamoya disease is a unique disease of unknown etiology typically characterized by progressive occlusion of both internal carotid arteries accompanied by an abnormal collateral circulation referred to as moyamoya vessels. To compensate for lack of blood flow in the frontal region, the collateral circulation develops from delicate basal networks and the vertebrobasilar system, and often is demonstrated by angiography, MRI or MRA. To investigate whether nitric oxide (NO) contributes to formation of abnormal collateral circulation in patients with moyamoya disease, we measured concentrations of NO metabolites in cerebrospinal fluid (CSF) obtained during treatment of this disease with bypass surgery.

CSF samples were obtained from the subarachnoid space of the sylvian fissure during combined bypass surgery for moyamoya disease and kept frozen until NO metabolites, nitrate and nitrite were measured using a Griess method.

Compared with control specimens of CSF obtained from 16 patients with hemifacial spasm (n=8), trigeminal neuralgia (n=2), nonruptured aneurysm (n=5), or tremor (n=1), concentrations of NO metabolites in the CSF of 23 patients with moyamoya disease were significantly higher (18.6 ± 1.1 vs. $11.0 \pm 1.0 \mu\text{M}$). NO metabolite concentrations ($21.6 \pm 2.3 \mu\text{M}$) in CSF obtained during initial surgery in 7 resampled patients decreased to $16.9 \pm 1.5 \mu\text{M}$ in CSF obtained during a second, contralateral procedure. Angiographically early moyamoya disease tended to show lower concentrations of NO metabolites than cases of with greater development of moyamoya vessels.

NO concentrations in CSF were chronically elevated in moyamoya disease, probably reflecting development of collateral circulation. Vascular bypass surgery can reduce NO metabolites together with abnormal collateral circulation.

Key words:

- collateral circulation
- intracranial-extracranial bypass surgery
- moyamoya disease
- nitric oxide

Surg Cereb Stroke
(Jpn) 27: 291-295, 1999

はじめに

もやもや病は一部家族内発生のみられる原因不明の脳虚血疾患である。頭蓋内の両側内頸動脈が徐々に閉塞し、前頭葉を中心に絶対的な虚血状態になり、それを補う目的で脳底部に異常毛細血管網が発達し、血管撮影上、もやもや血管としてみえる特殊な病態である²⁾⁵⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。小児例は主にTIAや脳梗塞などの虚血症状で発症するが、成人例の半数では異常血管からの出血が認められる⁸⁾。

一酸化窒素(NO)はガス状のフリーラジカル分子で、神経細胞や血管内皮細胞に多量に含まれており¹⁾、神経機能および脳循環調節のシグナル伝達に重要な役割をしている³⁾。多彩な機能が報告されており、神経細胞間の伝達、血管張力の維持、血小板凝集の抑制、白血球の接着阻害、平滑筋細胞の増殖抑制などが明らかにされている¹⁾⁹⁾¹²⁾¹⁴⁾。

NOの強力な血流増加作用が、もやもや病などの慢性虚血状態で代償的に亢進している可能性は高い。もやもや血管などの側副血行の発達や脳血流維持にNOが関与していること十分考慮されるものであるが、今まで明らかにした報告はない。

今回、NO代謝がもやもや病の側副血行発達の指標となるかどうか、手術時に採取した髄液中のNO代謝物濃度を測定し検討した。血管吻合術などでバイパスを介した血流が増加すると、異常血管網が減少するとともに、NO代謝物濃度も影響されるかどうか併せて検討した。

対象と方法

1. 髄液採取

最近3年間に手術を行った23例のもやもや病患者から髄液を採取し、NO代謝物濃度を測定した。すべて虚血症状で発症した患者で、そのうち7例で2回目の手術でも髄液を採取でき、手術による影響を比較できた。

髄液は血管吻合時に顕微鏡下でシルビウス裂のくも膜を剝離し、採取した。髄液はNO代謝物濃度測定まで-40℃に冷凍保存した。コントロールとして顔面痙攣(n=8)、三叉神経痛(n=2)、未破裂動脈瘤(n=5)、振戦に対する定位脳手術(n=1)などで採取した髄液を用いた。

NO₂/NO₃濃度の測定はNOx測定器(ENO-10 system, Eicom, Kyoto)を用い、Griss法により行った。NO₂とNO₃は逆層カラムで分離し、NO₃はNO₂に還元させ比色計で濃度を測定した。

2. 手術

手術はわれわれが工夫したcombined surgeryを行っている¹⁸⁾。簡単に述べると、浅側頭動脈(STA)の頭頂枝を血管吻合(STA-MCA)に使い、前頭枝の近位部はEDAS

Table 1 Concentration of nitric oxide metabolites in cerebrospinal fluid

	Control (n=16)	Moyamoya (n=23)
Nitrite+nitrate (μmol/L)	11.0±1.0	18.6±1.1**

Control: facial spasm (n=8), trigeminal neuralgia (n=2), nonruptured aneurysm (n=5), tremor (n=1)

**p<0.01

のように脳表面を這わせ、末梢を切断せず生かしておく。前頭部に穿頭孔を置き、皮下組織を弁状に穿頭孔の中に挿入し、STAの前頭枝から前大脳動脈領域への間接吻合を期待する。側頭筋は内外層と分け、内層をEMSに使用し、外層は骨弁の上に戻した。また必要に応じて後頭葉の血流が低下している症例では、後頭部にも穿頭孔を置き、後頭動脈から後大脳動脈領域に吻合を期待する。5歳以下の患者ではSTA-MCAが困難なことが多く、STAの頭頂枝もEDASとした。

1回目の手術は血管撮影上より進行し、症状の進んだ側を選んだ。左右差のあまりはっきりしない例では、左側を優先した。対側手術までの間隔は3ヵ月以上とした。

血管撮影は1回目と2回目の手術前に行い、2回目以降の術後検査はMRI, MRA, SPECTなどでフォローしている。

結 果

コントロール症例(顔面痙攣、三叉神経痛、未破裂動脈瘤、振戦)のNO代謝物濃度(11.0±1.0 μM, n=16)と比較し、もやもや病患者(n=23)の髄液中NO代謝物濃度(18.6±1.1 μM)は有意に高い値を示し、もやもや病ではNO代謝が亢進しているものと推測された(**Table 1**)。コントロール症例およびもやもや病症例で年齢とNO代謝物濃度との相関を検討したが、有意な関係は得られなかった。もやもや病の血管撮影上のステージ分類で比較すると、まだ側副血行路の発達していないステージ1-2(n=3)、はステージ3-4(n=15)よりNO代謝物の濃度は低かった(**Fig. 1**)。ステージ5-6(n=5)では3-4よりもやや低下した。

7例で1回目(21.6±2.3 μM)と2回目(16.9±1.5 μM)の手術時に髄液が採取できNO代謝物濃度の測定ができた(**Fig. 2**)。バイパス手術後、血管撮影上異常血管は減少し、髄液中NO代謝物濃度も減少した(**Fig. 3**)。7例の平均手術間隔は188.3±37.5日で約6ヵ月であった。

討 論

もやもや病の原因は先天説、炎症説など種々の仮説が報

Fig. 1 Comparison of CSF concentrations of nitrite and nitrate in patients with moyamoya disease according to angiographic stages. Differences between groups did not attain significance ($p > 0.059$). Each bar represents the mean $\pm$ SEM.

Fig. 2 Effect of bypass surgery on the combined concentrations of nitrite and nitrate in seven patients with moyamoya disease. The mean interval between the first and second operation was approximately 6 months. * $p < 0.05$

Fig. 3 Pre (left side) and postoperative (right side) angiography revealed well-developed collateral circulation through operative sites.

告されているが、これといった確実な説はない。両側内頸動脈が進行性に閉塞し、前頭葉を中心に重篤な虚血状態になるのが特徴である。慢性虚血に対してもやもや血管などの異常血管網が発達し、少しでも血流を増やすのは理にかなった生体反応である。側副血行路の発達や血流維持に、血管内皮などに存在し血管拡張に重要な働きをしている

NOが関与していると推測するのは無理のないことと思われる (Fig. 4)。事実、もやもや病の患者で髄液中のNO代謝物が上昇していることは血管系のNO代謝の亢進を反映したものであろう。もやもや病の血管撮影上のステージ分類で比較すると、狭窄だけでまだ側副血行路の発達していないステージ1-2は、ステージ3以降よりNO代謝物の濃

Fig. 4 Schematic drawing of the suggested relationship between NO and abnormal collateral circulation.

度は低かった。この事実からももやもや病の側副血行路の発達に伴う血流維持にNO代謝の亢進が関与しているものと推測された。

NOはL-アルギニンからL-シトルリンに変換されるときに酵素的に合成される。半減期10秒以内といわれ、すみやかに酸化され安定な代謝産物 NO_2/NO_3 になり、活性を失う。特に赤血球内のヘモグロビンには吸着されやすくニトロシルヘモグロビンとなりその後 NO_3 に酸化される。血管内皮細胞でNOは恒常的に産生され、シェアーストレスなどに反応しながら血管径維持に働いているものと思われる。われわれのイヌやラットを用いた実験結果によると、脳底部の血管径の20%、細動脈の10%前後がNOにより維持されていることが証明された。もやもや病で認められるさまざまな異常血管網などでも血管径をできるだけ拡張させ血流を送り込むため、NOの合成酵素が発現し、活発に活動しているのであろう。

NOの合成酵素(NOS)には神経性NOS、内皮性NOS、誘導型NOSの三つのアイソホームが知られている。今回の実験結果からだけではNO代謝の亢進がどのNOSが発現したものか判断できないが、くも膜出血後の血管攣縮や脳梗塞などの実験結果から推測して、神経性NOS、内皮性NOSが発現し、側副血行を増やすようにしているのであらう^{4) 6) 12) 19)}。最近、血中炭酸ガス濃度の変化に脳血流が影響されやすいのはNO代謝の変化により生じることが判明してきた⁷⁾。もやもや病患者の過呼吸時に脳血流が著しく低下するのは、NO代謝が低下し、血管を収縮させている可能性が疑われる。

もやもや病に対する手術方法はいろいろ報告されているが^{10) 11) 13)}、いかに簡単に中大脳動脈の領域だけでなく、前大脳動脈や後大脳動脈領域に血流を増やすようにするか

工夫したのがわれわれの手術方法である¹⁸⁾。中大脳動脈領域はSTAの頭頂枝による吻合と前頭枝の近位部を用いたEDASと側頭筋を用いたEMSで十分血流を供給できるようになるであろう。浅側頭動脈の前頭枝遠位部を前大脳動脈の領域に、後頭動脈を後大脳動脈領域に当て、すべての領域をカバーできるように試みている。一侧の手術後、手術側のもやもや血管は減少し、前大脳動脈や後大脳動脈領域にも血流が供給されるようになることは確認済みである。手術部位を介した血流供給の増加とともに、髄液中のNO代謝物濃度も明らかに減少していた。手術時採取した髄液中のNO代謝物濃度が局所だけを反映しているのか脳全体を反映しているのか今回の結果からだけでは簡単に推測できないが、両側の手術後には異常側副血行路の消失とともにNO代謝物濃度は正常値に近づくものと示唆された。

結 論

もやもや病患者の髄液中NO代謝物濃度は慢性的に上昇しており、NO代謝の亢進が示された。異常血管網の認められる症例で特にNO代謝が亢進しており、側副血行路の発達にNO代謝が関与しているものと思われた。もやもや病に対するバイパス手術は異常血管網の消失とともにNO代謝を正常化することができる。

文 献

- 1) Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH: Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* **347**: 768-770, 1990
- 2) Brown WD, Graves VB, Chun RW, *et al*: Moyamoya disease: MR findings. *J Comput Assist Tomogr* **13**: 720-723, 1989
- 3) Garthwaite J: Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system. *Trends Neurosci* **14**: 60-67, 1991
- 4) Hino A, Tokuyama Y, Weir B, *et al*: Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery* **39**: 562-568, 1996
- 5) Houkin K, Aoki T, Takahashi A, *et al*: Diagnosis of moyamoya disease with magnetic resonance angiography. *Stroke* **25**: 2159-2164, 1994
- 6) Huang Z, Huang PL, Panahian N, *et al*: Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* **265**: 1883-1885, 1994
- 7) Iadecola C, Yang G, Xu S: 7-Nitroindazole attenuates vasodilation from cerebellar parallel fiber stimulation but not acetylcholine. *Am J Physiol* **270**: R914-R919, 1996
- 8) Ikezaki K, Matsushima T, Kuwabara Y, *et al*: Cerebral circulation and oxygen metabolism in childhood moyamoya disease: A perioperative positron emission tomography study. *J Neurosurg* **58**: 425-429, 1983
- 9) Kajita Y, Suzuki Y, Oyama H, *et al*: Combined effect of L-arginine and superoxide dismutase on the spastic basilar artery after subarachnoid hemorrhage in dogs. *J*

- Neurosurg **80**: 476–483, 1994
- 10) Matsushima T, Inoue T, Suzuki SO, *et al*: Surgical treatment of moyamoya disease in pediatric patients: Comparison between the results of indirect and direct revascularization procedures. Neurosurgery **31**: 401–405, 1992
- 11) Matsushima Y, Fukai N, Tanaka K, *et al*: A new surgical treatment of moyamoya disease in children: A preliminary report. Surg Neurol **15**: 313–320, 1981
- 12) Nowicki JP, Duval D, Poignet H, *et al*: Nitric oxide mediates neuronal death after focal cerebral ischemia in the mouse. Eur J Pharmacol **204**: 339–340, 1991
- 13) Olds MV, Griebel RW, Hoffman HJ, *et al*: Surgical treatment of childhood moyamoya disease. J Neurosurg **66**: 675–680, 1987
- 14) Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S: The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. Biochem Biophys Res Commun **148**: 1482–1489, 1996
- 15) Satoh S, Shibuya H, Matsushima Y, *et al*: Analysis of the angiographic findings in cases of childhood moyamoya disease. Neuroradiology **30**: 111–119, 1988
- 16) Suzuki J, Kodama N: Moyamoya disease: A review. Stroke **14**: 104–109, 1983
- 17) Suzuki Y, Satoh S, Oyama H, *et al*: Regional differences in the vasodilator response to vasopressin in canine cerebral arteries in vivo. Stroke **24**: 1049–1054, 1993
- 18) Suzuki Y, Negoro M, Shibuya M, *et al*: Surgical treatment for pediatric moyamoya disease: Use of the superficial temporal artery for both areas supplied by the anterior and middle cerebral arteries. Neurosurgery **40**: 324–330, 1997
- 19) Suzuki Y, Osuka K, Noda A, *et al*: Nitric oxide metabolites in the cisternal cerebral spinal fluid of patients with subarachnoid hemorrhage. Neurosurgery **41**: 807–812, 1997