

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

Pigmented neurofibroma の 2 例，脂腺過形成を伴った neurofibroma  
の病理組織学的検討

研究協力者 占 部 和 敬 九州大学大学院医学研究院皮膚科助教授

**研究要旨**

42 歳女性の多発性神経線維腫のうち、右上腕の結節で、周辺部に比し、腫瘍部では脂腺の増生がみられた。また、19 歳神経線維症の男性の顔面の diffuse neurofibroma の部分切除を行なった所、真皮深層に巣状にメラノサイトの増生がみられた。一方、31 歳神経線維症女性の背部の広範囲の褐色斑の中の神経線維腫では、真皮中層から深層にメラノサイトが散在性にみられた。それぞれ、腫瘍の bFGF、介在する小血管の因子、腫瘍の HGF の関与が推定された。これらの症例は比較的稀で発症の要因についての検討はなされていなかった。

**A. 研究目的**

神経線維症の神経線維腫では正常人の皮膚とは異なる所見がみられる。一般に神経線維腫では、毛包、脂腺系は腫瘍の中央部にみられることはないが、今回、42 歳女性の多発性神経線維腫のうち、右上腕の結節を切除した所、周辺部に比し、腫瘍部では脂腺の増生がみられた。また、19 歳神経線維症の男性の顔面の diffuse neurofibroma の部分切除を行なった所、一部に表皮の基底層のメラニンの増生に加えて、真皮深層に黒色色素を有する細胞の増生がみられた。その増生は巣状に、一部では血管周囲に増生していた。一方、31 歳神経線維症女性の背部の広範囲の褐色斑の中に神経線維腫が存在し、病理組織学的に表皮基底層のメラニンの増生に加えて、真皮深層に黒色色素を有する細胞が散在性にみられた。このような変化がな

ぜ生じるか明らかにするために免疫化学組織学的に検討した。

**B. 方法**

免疫化学組織染色は avidin-biotin complex 法を用いて行なった。使用した抗体はメラニンのマーカーである melan-A、c-kit、tyrosinase 抗体、またメラノサイトの活性因子である SCF、HGF、bFGF 抗体を用いた。発色はニューフクシンで行なった。

**C. 研究結果**

脂腺の増生のみられた周囲の腫瘍細胞の多くは bFGF 抗体に著明に染色されており、一方、HGF 抗体にはあまり染色されていなかった。他の患者の神経線維腫の染色所見も同様であり、構造的に脂

腺が神経線維腫内にみられることは少ないが、存在すると増生が生じる可能性が高いことが推察された。19歳の神経線維腫の真皮深層の黒色色素はFontana-Masson染色によりメラニン色素であることが確認され、またこれらのメラニン色素を有する細胞が、メラノサイトのマーカーである melan-A、c-kit、tyrosinaseの抗体により染色されることよりメラノサイトであることが確認された。メラノサイトが真皮深層で巣状に増生している原因を検討するためにSCF、HGF、bFGFで染色したがそれぞれ陽性の腫瘍細胞は散在したがその周囲でメラノサイトが増生している像はみられず、むしろ介在する小血管の周囲で増生しているものと考えられた。その結果小血管からの因子がメラノサイトの増生に関与しているものと推察された。一方、42歳の女性の神経線維腫では真皮の中層から深層にかけて黒色色素を有する細胞がびまん性にみられたが、こちらも染色結果より、メラニン色素を持つメラノサイトであることが確認された。これらのメラノサイトの周囲の腫瘍細胞ではSCF、bFGFに比べて著明にHGF陽性であり、メラノサイトの増生にはHGFが関与しているものと考えられた。

#### D. 考察、E. 結論

神経線維腫における毛包-脂腺系の増生に関しては今までに1例の報告しかない (del Rio et al. *J Cutan Pathol* 1998. 25:228-232)。上述したように脂腺系が神経線維腫の中央部に存在することは少ないらしく、この症例も神経線維腫内で毛包-脂腺系が増生しているのではなくて、神経線維腫が毛包の下方に存在するために毛包-脂腺系が増生している例であった。特に増生に関して原因については言及されておらず、本症例と同じようにbFGF

の関与が考えられる。

神経線維腫症におけるカフェオーレ斑については皮膚基底層のメラノサイトが活性化してメラニンを多く産生しているために褐色を呈することが知られていたが、最近、その活性因子として真皮の線維芽細胞が放出するHGFとSCF (Okazaki M et al. *Br J Dermatol* 2003. 148:689-697) が、またSCFではなくHGF (古村南夫ほか、本研究班他稿) が関与することが示されている。本症例の真皮にびまん性にメラノサイトがみられた例においては、カフェオーレ斑の場合と同じように、HGFの関与が認められた。しかし、メラノサイトが巣状に増生した例においては、HGF、SCF、bFGFの関与は否定的で近接する小血管からの因子が関わっていることが示唆された。どちらの症例でもどこからメラノサイトが遊走してきたかについては不明である。神経線維腫症の神経線維腫において肥満細胞が多数存在することは知られているが、Yang F-Cらは、神経線維腫症の原因遺伝子のneurofibrominの遺伝子異常のため肥満細胞では正常のそれに比べて遊走能が亢進していることを報告している (*J Clin Invest* 2003. 112:181-1861)。メラノサイトも肥満細胞と同じ遊走機構を持っていることから、本症例のメラノサイトの遊走能も亢進しているのかもしれない。現時点では今回の研究が直接的に治療とは結びつかないが、神経線維腫自体においても個々の病態に違いがあり、それを把握した上での治療が必要となることを示唆する。

#### G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表  
占部和敬ほか、Pigmented neurofibromaの2例、  
日本皮膚科学会鳥取地方会 2005. 2. 11

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

びまん性神経線維腫(diffuse plexiform neurofibroma)手術例の検討

分担研究者 中 川 秀 己 東京慈恵会医科大学皮膚科教授

**研究要旨**

当教室で過去 5 年間に経験した神経線維腫症 1 患者に合併した長径 5cm 以上のびまん性神経線維腫の切除例 39 例を顧み、手術法の留意点を検討した。発生部位では腰背部と四肢に多い傾向がみられた。腰背部、殿部では出血量が多く、自己血保存を含めた輸血を考慮しておく必要があるが、四肢ではタニケットが使用できれば輸血を行う可能性が少なく、自己血保存をする必要性が少ない。最近当科では、まだ大きく下垂しない小児期に褐色局面を筋膜上まで切除する方法をこれまでに 4 例試みているが、いずれも切除範囲も小さく、出血量は少なく輸血も必要としなかったため、早期手術の有用性が確認された。

谷戸克己、太田有史、新村 眞人

東京慈恵会医科大学皮膚科学講座

われた、大きさが 5cm 以上あるびまん性神経線維腫の手術例に関して発生部位、大きさ、出血量などを中心に検討を行った。

なお、倫理面に関しては、後方視的な調査であるため対象者が特定されないよう配慮するとともに、導きだされた結論により対象者が不利益をこうむらないよう公表にあたっては注意するよう努めた。

**A. 研究目的**

出生時からあった大型の色素斑部が、小児期頃に徐々に増大して生ずるびまん性神経線維腫の存在は、神経線維腫症 1 患者において QOL を著しく低下させる。比較的大型のびまん性神経線維腫の切除例を後方視的にまとめ、適応症例、輸血の必要性の有無などを検討する。

**B. 研究方法**

2000 年から 2004 年までの 5 年間に切除術が行

**C. 研究結果**

総数は 39 例で、性別は男 19 例、女 20 例と男女比に差は認められない。家族歴は弧発例が 28 例、家族例が 11 例と弧発例に多い傾向があった。

発生部位は、頭頸部 3 例、胸腹部 2 例、腰背部

15例、殿部3例、上肢7例、下肢9例で、腰背部、四肢に多い傾向がみられた。

最も多い腰背部では、切除線の長径が15cmを越える例が15例中12例と多く、腫瘍の大型化に伴い出血量も500mlを越える例も半数以上認められ、輸血（主に自己血）を行った例も多い。殿部では3例全てが切除線の長径が15cmを越え、出血量は全て500ml以上であった。

四肢に関しては長径15cmを越えた例は上肢では7例中2例、下肢では9例中5例と、下肢の方が上肢より腫瘍が大型である傾向が認められた。また四肢の手術ではタニケットを用いて出血を防止することが多く、500ml以上出血した例はタニケット装着ができなかった上肢・下肢各1例ずつであった。

今回の39症例において、各部位における出血量の平均を計算すると、頭頸部75ml、胸腹部107ml、腰背部462ml、殿部1145ml、上肢209ml、下肢197mlであった。

#### D. 考察

びまん性神経線維腫は非常に血管に富み、血管やその支持組織が脆弱なため、術中、術後に多量の出血を来すことがあり、大量出血への対策が重要である。術前にはMRI、超音波検査などを行い、筋層内浸潤の有無など病変の深達度を確認すること、また予想される出血に対して適当量の自己血の貯血などを準備する必要がある。術中は、腫瘍内の血管や支持組織が脆弱であるため止血に難渋することが多いため、当科では血管を腫瘍ごと結紮したり、切除するのと同時に一部ずつ皮膚を縫縮していき、出血量を少なくするような工夫をしている。また、腫瘍実質を切除する際、豊富

な血管を一緒に切断することは免れないため、多少時間を要するが、切除する部分の両側で腫瘍実質を絹糸などで縫縮し、前もって出血を予防しておくのがよい。また前腕や下腿の病変に対してはタニケットの使用が有効である。術後はエラスコットなどで創部を圧迫固定し、患部挙上、安静を指示し止血をうながすようにしている。

ここで500ml以上と大量出血した12症例に関して詳細に検討すると、男女差は特に認められないが、手術時の年齢は9歳から33歳まで幅広く、学童期ですでに腫瘍が手術にリスクを伴う大きさまで増大することがわかる。部位としては上肢・下肢各1例以外の10例は、全て背部から殿部にかけて発生しており、体幹後面に多い。また術前に行ったMRI、CTにおいて腫瘍の深達度を検討したところ、1000ml以上の大出血をした例では筋層浸潤が多く認められた。

以上の結果から腰背部、殿部では出血量が多く、自己血保存を含めた輸血を考慮しておく必要があるが、四肢ではタニケットが使用できれば輸血を行う可能性が少なく自己血保存をする必要性が少ないと考えられる。

最近当科では、10歳前後の学童でも腫瘍が増大して手術にリスクを伴うことがあることをふまえ、まだ大きく下垂しない小学生のうちに褐色局面を筋膜上まで切除するようにしている。これまで4例の経験があるが、いずれも切除範囲も小さく、出血量は少なく輸血も必要としなかった。今後の患児の成長と術創を長期間観察する必要があるが、年齢を経るに伴い大量出血する危険性を考えると、早期にびまん性神経線維腫を生じうる色素斑を切除することも選択肢の一つであると考えられた。

## E. 結論

びまん性神経線維腫の手術では腰背部、殿部では出血量が多く、自己血保存を含めた輸血を考慮しておく必要があるが、四肢ではタニケットが使用できれば輸血を行う可能性が少なく、すなわち自己血保存をする必要性が少ない。

腫瘍が大きく下垂しないうちに褐色局面を筋膜上まで切除すると、切除範囲も小さく、出血量は少なく輸血も必要としないため、年齢を経るに伴い大量出血する危険性を考えると早期に腫瘍を切除することも試みるべきである。

## F. 研究発表

### 1) 国内

#### 論文発表

1. 五十嵐努、上出良一、新村真人、神経線維腫症の治療方針と取り扱い MB Derma・81 巻・112-8 頁・2003 年
2. 五十嵐努、岩屋聖子、福地修、伊藤寿啓、石地尚興、上出良一、新村真人 びまん性神経線維腫内に巨大な血腫を形成した神経線維腫症 1 の 4 例 臨床皮膚科・57(6) 巻・495-9 頁・2003 年
3. 伊藤寿啓 神経線維腫症 1 にみられるびまん性神経線維腫内のメラニン含有細胞の由来に関する形態学的・免疫組織化学的検討 東京慈恵会

医科大学雑誌・117(4)・277-84 頁・2002 年

#### 学会発表

1. 五十嵐努 神経線維腫症 1 に伴うびまん性神経線維腫の取り扱い 第 16 回虎ノ門皮膚外科フォーラム 東京 2003 年 1 月
2. 伊藤寿啓、早川祐子、石地尚興、上出良一、新村真人、増井文昭（慈恵医大整形外科） 巨大なびまん性神経線維腫を切除しえた神経線維腫症 1 の 1 例 第 16 回日本皮膚外科学会学術大会 広島 2001 年 10 月
3. 五十嵐努 びまん性神経線維腫内に大量の出血を生じた神経線維腫症 1 第 13 回虎ノ門皮膚外科フォーラム 東京 2001 年 7 月

### 2) 海外

#### 学会発表

1. Niimura M: Neurofibromatosis type 1: an update. The 20th World Congress of Dermatology, Paris July 2002

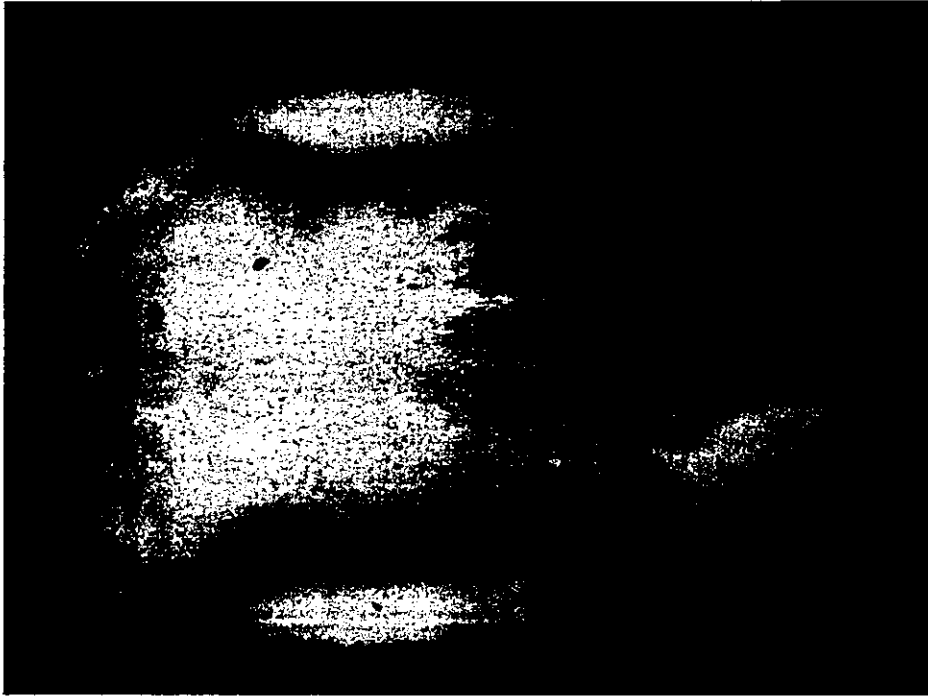
## G. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

表1 びまん性神経線維腫(長径5cm以上)の手術治療自験例(頭頸部、胸腹部、腰背部、殿部)

No.	家族歴	性別	初発年齢	手術時	部位	切除線(cm)	重さ	出血量	輸血量	タニケット
1	S	F	3歳	2001年・44歳	頭頸部(左眼窩)	5.5×3.5	未測定	少量	なし	未使用
2	F(母)	F	不明	2001年・45歳	頭頸部(右眼窩)	5cm以上	未測定	少量	なし	未使用
3	S	F	5歳	2003年・26歳	頭頸部(左顔面)	5cm以上	未測定	75ml	なし	未使用
4	F(父)	M	4歳	2000年・20歳	胸腹部 (右手首、右胸部)	6.5×3.3, 3.5 ×4	未測定	153ml	なし	記載なし
5	S	F	13歳	2004年・35歳	胸腹部(左乳房)	12×8.5	未測定	60ml	なし	未使用
6a				2000年・30歳		27×13	280g	415ml	400ml自己血	未使用
6b				2002年・33歳		11×23	400g	983ml	400ml自己血	未使用
6c	F(父)	F	13歳	2004年・35歳	腰背部(背部)	16×6.5	未測定	1168ml+術後 800ml以上	術中400ml自己血+ 術後800ml自己血、 MAP4単位	未使用
7	S	M	小学生時	2000年・36歳	腰背部(背部)	13.5×22	190g	533ml	なし	未使用
8	S	M	13歳	2001年・18歳	腰背部(背部)	10cm以上	未測定	470ml	なし	未使用
9a	S	M	3歳	2002年・11歳	腰背部(背部)	20×10	未測定	636ml	400ml自己血	未使用
9b				2004年・13歳		40×10	未測定	1507ml	1200ml自己血	未使用
10	S	M	15歳	2003年・37歳	腰背部(背部)	23×7	未測定	517ml	なし	未使用
11	S	M	3歳	2004年・14歳	腰背部(背部)	7.5×17	未測定	45ml	なし	未使用
12	F(父)	F	8歳	2004年・20歳	腰背部(左肩)	9.5×9	75g	260ml	記載なし	未使用
13	S	F	小児期	2000年・51歳	腰背部(左背部)	28×16	380g	672ml	なし	未使用
14	S	M	10歳	2000年・23歳	腰背部(左腰部)	21×10	未測定	171ml	なし	未使用
15	S	M	10歳	2002年・25歳	腰背部(左腰部)	15×9.6×4	520g	224ml	なし	未使用
16	S	M	8歳	2001年・29歳	腰背部(右背部)	32×26	2340g	450ml	なし	未使用
17a	S	M	5歳	2002年・8歳	腰背部(右腰部)	24×12	未測定	318ml	なし	未使用
17b				2004年・9歳		38×12	未測定	633ml	750ml自己血	未使用
18	S	F	9歳	2004年・34歳	腰背部(右腰部)	35×16	未測定	1560ml	1600ml自己血	未使用
19	F(父)	M	不明	2004年・55歳	腰背部(腰部)	7.5×25	未測定	186ml	なし	未使用
20	S	F	1歳	2002年・6歳	腰背部 (腰部、殿部)	13×4、 10cm以上	未測定	443ml	なし	未使用
21	S	F	15歳	2000年・29歳	殿部(左殿部)	8×18	未測定	568ml	なし	未使用
22	F(母)	M	12歳	2001年・28歳	殿部(右殿部)	12×32	506g	1371ml	400ml自己血	未使用
23	S	F	小児期	2002年・35歳	殿部(右殿部)	9×18	300g	1142ml	なし	未使用

家族歴：S＝孤発例、F＝家族例



a.

b.

図1：びまん性神経線維腫切除例（症例16、29歳男性。）

a.術前（26×32cm大の右背部腫瘍を2001年2月に切除。腫瘍重量2340g，450ml出血したが，輸血は行わず、皮膚欠損部には全層植皮術。）

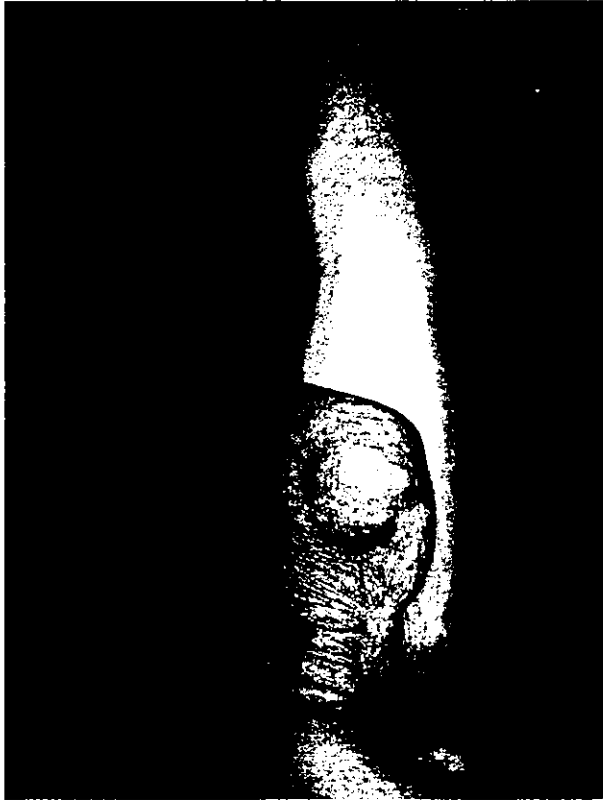
b.術後（術後3年4ヶ月、経過良好）

表2 びまん性神経線維腫(長径5cm以上)の手術治療自験例(上肢、下肢)

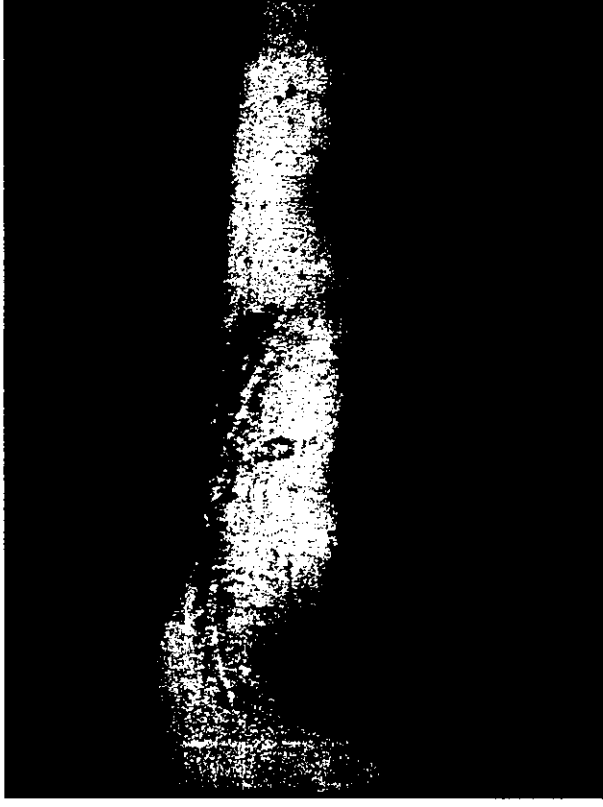
No.	家族歴	性別	初発年齢	手術時	部位	切除線(cm)	重さ	出血量	輸血量	タニケツト
24	S	M	不明	2001年・47歳	上肢(左前腕)	9.5×6	未測定	51ml	なし	使用
25	S	F	15歳	2003年・41歳	上肢(左前腕)	22×7	未測定	130ml	なし	使用
26	F(母)	F	5歳	2003年・21歳	上肢(左上腕)	14×10.6	未測定	615ml	400ml自己血	未使用
27	S	M	8歳	2004年・10歳	上肢(右前腕)	8×4、8×3	未測定	59ml	なし	記載なし
28	S	F	4歳	2004年・34歳	上肢(右前腕)	11×4、12×6	未測定	200ml	なし	使用
29	F(母)	M	10歳	2004年・13歳	上肢(右前腕)	27×10	未測定	90ml	なし	記載なし
30	F(母)	F	15歳	2004年・25歳	上肢(左手部)	10cm以上	187g	315ml	400ml自己血	使用
31	S	F	16歳	2000年・20歳	下肢(右内果)	14×4	未測定	20ml	なし	使用
32	S	M	3歳	2000年・25歳	下肢(左内果)	12×3	未測定	45ml	なし	記載なし
33	S	F	不明	2001年・57歳	下肢(左膝部)	15×10	未測定	少量	なし	記載なし
34	S	M	8歳	2001年・35歳	下肢(左下腿)	4×15	160g	少量	なし	使用
35	F(母)	F	15歳	2001年・34歳	下肢(右下腿)	12×4、10×3	未測定	461ml	なし	使用
36	S	M	6歳	2002年・29歳	下肢(左下腿)	28×10	未測定	170ml	なし	使用
37	S	M	5歳	2003年・28歳	下肢(左足首)	12×23	未測定	576ml	なし	記載なし
38	S	F	5歳	2004年・33歳	下肢(左大腿)	14×7	未測定	25ml	なし	記載なし
39	F(母)	F	4歳	2004年・26歳	下肢(右大腿)	30×9	165g	80ml	なし	記載なし

家族歴:S=孤発例、F=家族例





a.



b.

図2：びまん性神経線維腫切除例（症例26、21歳女性。）

a.術前（15×15cm大の左上腕部腫瘍を2003年7月に切除。  
タニケットが使用できず615ml出血したため、自己血輸血を400ml施行  
した。）

b.術後（術後1年4ヶ月、経過良好）

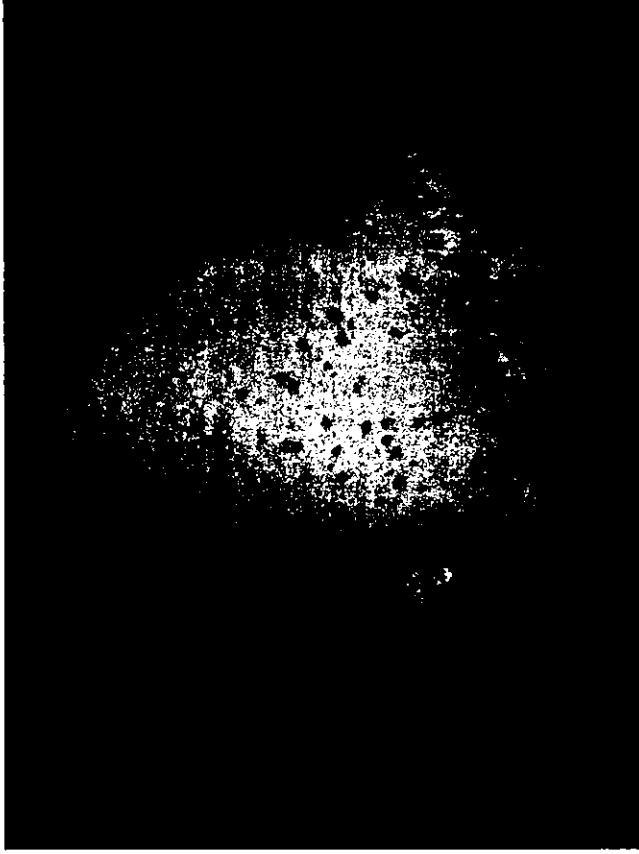
表3 巨大な色素斑(長径5cm以上)の早期手術治療自験例

No.	家族歴	性別	初発年齢	手術時	部位	切除線(cm)	出血量	輸血量
C1	S	M	4歳	2000年・5歳	左側腹部	7.3×10cm	108ml	なし
C2a	S	F	8歳	2002年・9歳	上肢(右前腕、右腋窩、右上腕)	記載なし	158ml	なし
2003年・10歳				上肢(右上腕外側)	12×6.5cm、16×4cm	110ml	なし	
2004年・11歳				上肢(右上腕内側)	10×7cm	90ml	なし	
C3	F(母)	F	6歳	2002年・6歳	腰背部(背部)	7×11cm	30ml	なし
C4a	S	F	7歳	2002年・11歳	腰背部(右背部)	7.5×5.5cm	30ml	なし
C4b				2003年・12歳	腰背部(右背部)	11×3.3cm	少量	なし

家族歴: S=弧発例、F=家族例



a.



b.

図3：大型の色素斑小児切除例（症例C1、5歳男児。）

a.術前（4歳から隆起してきた右側腹部の色素斑を2000年5月、5歳時に切除）

b.術後（術後3年、経過良好）

## 厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

## 分担研究報告書

## イリザロフ法による先天性下腿偽関節症の治療成績

分担研究者 中村 耕三 東京大学大学院医学研究科整形外科教授

**研究要旨**

神経線維腫症に合併する難治性の疾患である先天性脛骨偽関節症に対してイリザロフ法による治療法が有用であることが臨床調査により示された。

**A. 研究目的**

神経線維腫症に合併する先天性脛骨偽関節症は整形外科の中で極めて難治性の疾患であり多数回の手術を要し治療に難渋する。近年、創外固定器の一つであるイリザロフ法はこの先天性脛骨偽関節症に対し良好な治療成績を挙げている。我々はこのイリザロフ法に着目し、手術法の検討を通じ先天性脛骨偽関節症の治療法を確立することを目的とした。

**B. 研究方法**

手術法の検討として先天性脛骨偽関節症に対しイリザロフ法を用いて治療を行った7例7肢を対象とし、手術法・術後経過について検討し適切な治療法について考察を行った。Boyd分類では、偽関節部が砂時計状の骨幅の狭小化が認められる2型が6肢、骨硬化と骨髄空閉鎖を伴う4型が1肢で、NF1の合併は7例中4例に見られた。術前短縮は4～17cmで平均7cmであった。手術時年齢は平均6歳9ヶ月、平均経過観察期間は5年

5ヶ月であった。手術適応年齢については、幼児では骨吸収が盛んで骨癒合が得にくいことと患者の創外固定器の受け入れを考慮し5歳以上とした。偽関節部の処置は、レントゲンと術中の所見にて正常骨組織と考えられる部分まで骨切除を行いまた、偽関節部周囲の肥厚した骨膜も切除した。切除断端は可及的に短縮・圧迫を行った。この際一期的短縮が行えない場合はボートランスポートにて術後に段階的に圧迫を加えていった。また偽関節部への骨移植については、初回手術時は行わなかった。イリザロフにて固定後、骨切り部位は近位骨端線近傍で延長はランスポートまたは単純延長を行った。全例において治療終了後1年以上の経過観察を行い、治療成績を評価し、その結果から治療法につき検討を加えた。

本調査で行われたイリザロフ法は術式としてはすでに確立されており倫理的問題は無い。手術は通常の手術同様に対象者および対象者家族に口頭および文書を用いて十分な説明の後同意を得た上で行われた。また、本研究に関わる対象者個人情報 は公開されない。

## C. 研究結果 D. 考察

手術成績は7例全例で骨癒合が得られた。創外固定の装着期間は11ヶ月から2年1ヶ月の平均1年4ヶ月であった。創外固定器抜去後は平均7.3ヶ月のギプスと平均6.7ヶ月の短下肢装具による後療法を行った。残存変形は外反が平均14.1度、前方凸変形が14度であった。脚長差は平均1.4cm残存していた。合併症は遷延治癒が2例でいずれも追加切除・骨移植を加えた。また1例でワイヤー折損をみとめ。創外固定器抜去後の再骨折は1例で2回みとめた。転倒を契機とした偽関節部の骨折でイリザロフによる再固定を行い骨癒合を得ることができた。Pin siteの感染は5例で見られたがいずれも抗生剤の投与にて治療可能であった。

先天性脛骨偽関節症は骨接合部の骨癒合が極めて困難なことはもちろんであるがこれに伴う合併症として足部も含めた重度の変形・短縮や、十分な歩行荷重が行われないことに起因する骨萎縮や骨幅の狭小化また、病巣が広範であること、多数回の手術を含めた長期にわたる治療と問題点は多い。今回7症例についてイリザロフ法を用い治療を行いその検討を行ったが、7症例すべてで骨癒合が得られ脚長差も術前と比較し大きく改善された。今後の課題として足部変形の残存や治療期間の短縮などが残されているが先天性脛骨偽関節症に対してイリザロフ法による治療が有用であることが示された。先天性脛骨偽関節症が稀な疾患であることから今まで手術報告自体が少なく手術法の検討を詳細に行うことが困難であった。海外の文献を渉猟してもその多くは多施設調査であり同一手術法により一施設において7症例以上を報告しているものはわずかであり、本研究は今後の治療法の確立に有用であった。

## E. 結論

神経線維腫症に合併する難治性の疾患である先天性脛骨偽関節症に対し、治療法の一つであるイリザロフ法を用い、臨床調査を行った。足部変形の残存や治療期間の短縮など課題が残されたが脚長差の改善と全症例における骨癒合が得られ先天性脛骨偽関節症に対してイリザロフ法による治療が有用であることが示され、本研究は今後の治療法の確立に有用であった。

## F. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表 13件

1. Pseudoachondroplasia に対する脛骨矯正骨切り術後の下肢アライメント変化. 松山順太郎, 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 東日本整形災害外科学会雑誌(1342-7784) 15 巻 3号 Page483(2003.08)
2. アモルファス合金髓内釘による骨接合術 ラット大腿骨骨折モデルでの骨癒合の評価. 今井一博, 大西五三男, 廣本祥子, 埴隆夫, 中村耕三, 日本整形外科学会雑誌(0021-5325)77 巻 8号 PageS1112(2003.08)
3. ビーグル犬脛骨横方向延長モデル 骨形成・骨髄血管形成の定量的評価. 松山順太郎, 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 日本整形外科学会雑誌(0021-5325)77 巻 8号 PageS1097(2003.08)
4. ビーグル脛骨横方向牽引モデルにおける血管形成の形態. 陰山敏昭, 押田英之, 諏訪部智子, 武藤眞, 鈴木立雄, 今井一博, 大西五三男, 中村耕三, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)14 巻 Page193(2003.03)

5. ビーグル脛骨延長モデルにおける下腿筋内の血管形成の組織学的定量評価. 今井一博, 大西五三男, 佐藤和強, 中村耕三, 陰山敏昭, 福田真平, 土谷亜希, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)14巻 Page192(2003.03)
  6. 変形矯正における HIFIXATOR の適応と有用性. 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)14巻 Page162(2003.03)
  7. 変形矯正における HIFIXATOR の適応と有用性. 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)14巻 Page162(2003.03)
  8. ビーグル脛骨延長モデルにおける下腿筋内の血管形成の組織学的定量評価. 今井一博, 大西五三男, 佐藤和強, 中村耕三, 陰山敏昭, 福田真平, 土谷亜希, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)14巻 Page192(2003.03)
  9. ビーグル脛骨横方向牽引モデルにおける血管形成の形態. 陰山敏昭, 押田英之, 諏訪部智子, 武藤眞, 鈴木立雄, 今井一博, 大西五三男, 中村耕三, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)14巻 Page193(2003.03)
  10. ビーグル犬脛骨横方向延長モデル: 骨形成・骨髄血管形成の定量的評価. 松山順太郎, 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 日本整形外科学会雑誌(0021-5325)77巻8号 PageS1097(2003.08)
  11. Pseudoachondroplasia に対する脛骨矯正骨切り術後の下肢アライメント変化. 松山順太郎, 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 東日本整形災害外科学会雑誌(1342-7784)15巻3号 Page483(2003.08)
  12. 骨延長の最前線 脛骨横延長モデルにおける骨形成・血管形成. 大西五三男, 陰山敏昭, 松山順太郎, 押田英之, 諏訪部智子, 中村耕三, 日本整形外科学会雑誌(0021-5325)78巻8号 PageS987(2004.08)
  13. Pseudoachondroplasia に対する脛骨矯正骨切り術後の下肢アライメント変化. 松山順太郎, 大西五三男, 岡崎裕司, 佐藤和強, 中村耕三, 日本創外固定・骨延長学会雑誌(1342-3495)15巻 Page115(2004.03)
- それ以外(レビュー等)9件
1. 組織形成術としての脚延長法. 岡崎裕司, 大西五三男, 佐藤和強, 中村耕三, リウマチ科(0915-227X)28巻4号 Page401-406(2002.10)
  2. 実験モデルとしての骨・肢延長 血流増加治療の可能性と臨床:【最近の創外固定の展開】 大西五三男, 関節外科(0286-5394)21巻4増刊 Page116-122(2002.04)
  3. 組織形成術としての脚延長法. 岡崎裕司, 中村耕三, 大西五三男, 佐藤和強, リウマチ科(0915-227X)28巻4号 Page401-406(2002.10)
  4. 創外固定器を利用した皮膚延長の現状:【軟部組織再建に対する最小侵襲手術】岡崎裕司, 大西五三男, 星川慎弥, 佐藤和強, 中村耕三, 整形外科最小侵襲手術ジャーナル(1342-3991)26号 Page30-39(2003.02)
  5. 創外固定器を利用した皮膚延長の現状. 岡崎裕司, 大西五三男, 星川慎弥, 佐藤和強, 中村耕三, 整形外科最小侵襲手術ジャーナル(1342-3991)26号 Page30-39(2003.02)
  6. Hifixator 使用のコツ. 大西五三男 Orthopaedics (0914-8124)17巻8号 Page63-69(2004.08)
  7. レックリングハウゼン病患者にみられる下腿骨

の彎曲. 大西五三男, Visual Dermatology 3 巻  
7号 Page720-721 (2004.06)

8. 下肢の変形矯正における HIFIXATOR の適応と有用性. 大西五三男, 骨・関節・靭帯 (0915-1125) 17 巻 6 号 Page695-702 (2004.06)
9. 再生医療・組織形成術としての最小侵襲手術イリザロフ法. 大西五三男, 現代医療 (0533-7259) 36 巻 1 号 Page251-257 (2004.01)

## 2) 海外

口頭発表 2 件

1. K. Imai, I. Ohnishi, T. Kageyama, S. Fukuda, A. Tsuchiya, K. Nakamura: Quantification of Angiogenesis During Experimental Tibial Lengthening in Beagles. 48th Meeting of Orthopaedic Research Society 2002
2. Sato, I. Ohnishi, H. Okazaki, K. Nakamura: Changes in the Mechanical Properties of the Lengthened Bone with Time- Analyses Using the CT Based Finite Element Method. 6th Congress of the European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology. 2003

原著論文による発表 7 件

1. Ohnishi I, Nakamura K, Okazaki H, Sato W, Kurokawa T: Evaluation of the fracture site mechanical properties in vivo by monitoring the motion of a dynamic pin clamp during simulated walking. Clinical Biomechanics. Nov-Dec; 17(9-10): 687-97, 2002
2. Sato W, Ohnishi I, Nishimura N, Nakase T, Tsuchiya H, Hirose M, Matsushita T, Hirasawa Y, Nakamura K: Correction of tibial deformity

in adults. Journal of Orthopaedic Science. 8(3): 306-12, 2003

3. Ohnishi I, Sato W, Matsuyama J, Yajima H, Haga N, Kamegaya M, Minami A, Sato M, Yoshino S, Oki T, Nakamura K: Treatment of Congenital Pseudoarthrosis of the Tibia-A Multi-Center Study in Japan- Journal of Pediatric Orthopaedics. 25(1) February/March 2005 (in press)
4. Matsuyama J, Ohnishi I, Kageyama T, Oshida H, Suwabe T, Nakamura K: Osteogenesis and Angiogenesis in the Regenerating Bone during Transverse Distraction-Quantitative Evaluation Using a Canine Model. Clinical Orthopaedics and Related Research, (in press).
5. Ohnishi I, Kurokawa T, Sato W, Okazaki H, Nakamura K, Measurement of the tensile forces during bone lengthening. Clinical Biomechanics, (in press).
6. Ohnishi I, Nakamura K, Kurokawa T: Dynamic performance of the sliding pin-clamp of the external fixator with a linear bearing under multi-directional loading conditions: In vitro mechanical testing using elastic bone models. Medical Engineering & Physics, (in press)
7. Satoru Ohashi, Isao Ohnishi, T. Kageyama, S. Fukuda, A. Tsuchiya, Kazuhiro Imai, Juntarou. Matsuyama, Kozo Nakamura: The Effect of Vascularity on the Canine Distracted Tibial Callus Consolidation. Clinical Orthopaedics and Related Research, (in press).

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

神経皮膚症候群の術後損傷神経に対する遺伝子導入を用いた  
神経再生への可能性

分担研究者 吉田 純 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科教授

**研究要旨**

Neurofibromatosis type I や type II に発生する神経線維腫や、特に type II に発生する前庭神経鞘腫の摘出時の神経機能温存は大きな課題である。神経機能温存のためには、(1) 神経の耐久性を高める、(2) 損傷を軽減する、(3) 損傷後の再生を促すという3つの方法が考えられる。そこで、われわれは単純ヘルペスウイルス(HSV)ベクターを用いた遺伝子導入により神経系の神経保護と神経再生を試みている。HSVベクターには、神経細胞に親和性がある、大きな遺伝子を発現できるなどの利点がある。さらに、野生型ウイルスのもつ潜伏感染(latency)を起こす機構を利用すれば、長期発現できるベクターを構築できるという利点もある。今回は、神経栄養因子やアポトーシス抑制因子を発現するベクターのラット脊髄運動神経損傷モデルに対する軸索再生の効果を報告し、神経皮膚症候群の術後の神経機能再生への展望を考察する。

齋藤 清

名古屋大学大学院医学系研究科・助教授

夏目敦至

名古屋大学医学部附属病院・助手

**A. 研究目的**

Neurofibromatosis type I や type II に発生する神経線維腫や、特に type II に発生する前庭神経鞘腫の摘出時の神経機能温存は大きな課題である。神経機能温存のためには、(1) 神経の耐久性を高める、(2) 損傷を軽減する、(3) 損傷

後の再生を促すという3つの方法が考えられる。そこで、われわれは単純ヘルペスウイルス(HSV)ベクターを用いた遺伝子導入により神経系の神経保護と神経再生を試みている。HSVベクターには、神経細胞に親和性がある、大きな遺伝子を発現できるなどの利点がある。さらに、野生型ウイルスのもつ潜伏感染(latency)を起こす機構を利用すれば、長期発現できるベクターを構築できるという利点もある。今回は、神経栄養因子やアポトーシス抑制因子を発現するベクターのラット脊髄運動神経損傷モデルに対する軸索再生の効果を報告する。



## B. 研究方法

### 1. HSV ベクターによる神経細胞への遺伝子導入の検討

レポーター遺伝子である lacZ 遺伝子を発現する HSV ベクター (DHZ) を成人ラットの中脳黒質ドーパミン細胞または成人ラットの脊髄運動ニューロンへ定位的に注入し、7日後に Xgal 染色にて遺伝子導入効率を検討した。

### 2. ラット脊髄運動ニューロン損傷モデルに対する遺伝子導入による神経再生の検討

ラット腰椎の椎弓を顕微鏡下に切除し、右側の腰椎 L4-6 レベルの神経根を牽引した。この方法により、脊髄運動神経は髄鞘が保存されたままであるが、ニューロンは変性するモデルが作成される。損傷後ただちに、神経栄養因子である Glial-cell derived neurotrophic factor (GDNF) と apoptosis を抑制するペプチド bcl-2 を発現するヘルペスウイルスベクター (それぞれ GDNF ベクター、Bcl2 ベクター) を脊髄前角に定位的に注入し、3, 4, 5ヵ月後に蛍光物質である Fluorogold を健側、損傷側の坐骨神経に注入し、神経軸索の再生の程度を組織学的に検討した。また、同時に運動神経の神経伝導速度の測定、下肢運動の機能的評価を行った。

## C. 研究結果

### 1. HSV ベクターによる神経細胞への遺伝子導入の検討

DHZ ベクターをラット黒質ドーパミン細胞または成人ラットの脊髄運動ニューロンへ定位的に注入した場合、いずれも神経細胞特異的にしかも効率的に遺伝子導入された (図1)。

### 2. ラット脊髄運動ニューロン損傷モデルに対す

### る遺伝子導入による神経再生の検討

軸索損傷後に蛍光色素である Fluorogold を注入すると、逆行性に輸送され、健常側 (左側) は L4-6 の前角細胞 (運動神経) が標識される。一方、損傷側 (右側) は再生された軸索が注入点まで到達していれば、その量に比例し運動神経が標識されるので、軸索再生の程度が定量できる。コントロール (LacZ ベクター) では、損傷3ヶ月後、4ヶ月後、5ヶ月後に Fluorogold で標識されるニューロンは健常側のそれぞれ 10%、30%、60% 程度であるが、Bcl2 ベクター、GDNF ベクター、またはその両方で治療したラットでは損傷3ヶ月後に既にそれぞれ 45%、60%、70% が再生していることがわかった (図2)。次に神経機能を評価した結果、損傷後5ヶ月目に GDNF ベクター、またはそれと Bcl2 ベクターとの併用の場合、神経機能の有意な改善が認められた (図3)。さらに神経伝導速度においても、Bcl2 ベクター、GDNF ベクター、またはその両方で治療したラットでは神経伝導速度の有意な改善が見られた (図4)。

## D. 結論

今回の研究で用いた近位の神経根の損傷モデルでは軸索の断裂とともに末梢からの神経栄養因子の供給が断たれ、所属のニューロンが細胞死を起こす。しかし、今回ヘルペスウイルスベクターを用いてアポトーシス抑制遺伝子である bcl2 遺伝子または強力な神経栄養因子である GDNF 遺伝子をニューロンに遺伝子導入することにより、ニューロンの細胞死を抑制し、さらに軸索再生を促進することが可能であった。蛍光色素の注入で定量的に組織学的に軸索再生を評価しただけでなく、神経機能や電気生理学的にも顕著な改善が認めら

れたことが非常に興味深い。また、われわれのヘルペスウイルスベクターは、ウイルスの複製に必要な Immediate Early (IE) 遺伝子を2つないしは3つ欠失させた毒性の少ないベクターであり、神経細胞にも効率的に遺伝子導入されることから神経系疾患に対する遺伝子導入法として応用が期待される。

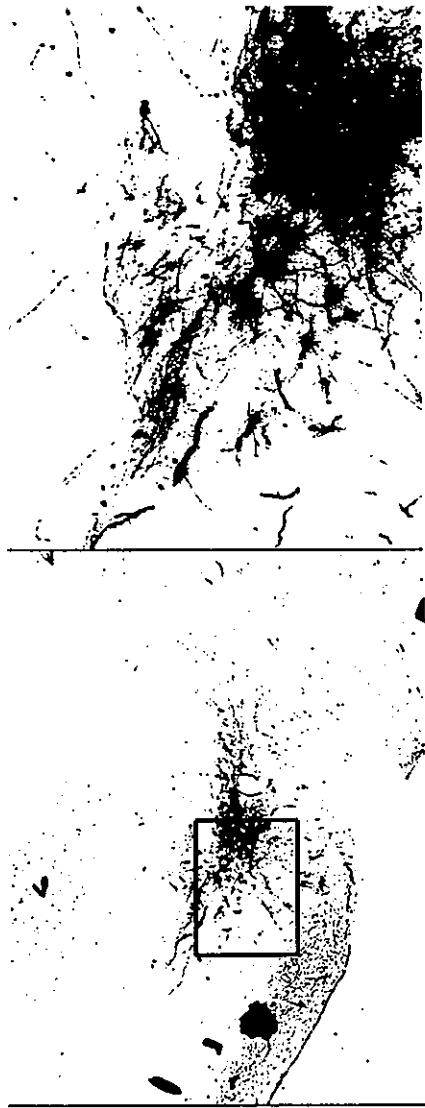
## E. 結論

今回は、ヘルペスウイルスベクターを用いて Bcl2 または GDNF の遺伝子を損傷された運動神経細胞に遺伝子導入すると、軸索再生が促進され、運動機能や神経伝導速度の改善が認められた。以上より、神経皮膚症候群の術後に問題となる神経損傷に対し有効な治療法となりうる可能性がある。

## F. 研究発表

1. Natsume A, Wolfe D, Hu J, Huang S, Puskovic V, Glorioso JC, Fink DJ, Mata M. Enhanced functional recovery after proximal nerve root injury by vector-mediated gene transfer. *Exp Neurol*. 184:878-86, 2003.
2. Goss JR, Natsume A, Wolfe D, Mata M, Glorioso JC, Fink DJ: Delivery of herpes simplex virus-based vectors to the nervous system. *Methods Mol Biol*. 2004;246:309-22.

# 図1 HSVを用いた中枢神経への遺伝子導入



**Substantia Nigra**



**Spinal Cord**

図2 HSVを用いたBcl2とGDNF遺伝子の導入により損傷された脊髄運動神経の軸索再生が促進される

