

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

神経線維腫症 1 型のモザイクに関する研究

分担研究者 中川 秀己 東京慈恵会医科大学皮膚科学講座教授

研究要旨

当教室で 2004 年 4 月から 2006 年 10 月までの 3 年 7 ヶ月の間に、“神経線維腫症 1 型のモザイク” (Mosaic NF1) 37 例を経験したので、そのまとめを報告する。内訳は限局性カフェオレ斑 20 例、限局性多発性神経線維腫 1 例、分節型神経線維腫症 8 例、限局性びまん性神経線維腫 8 例であった。このうち限局性カフェオレ斑、分節型神経線維腫症の男性患者各 1 例より NF1 の児が生まれた 2 家系を経験し、遺伝相談において Mosaic NF1 では低い確率ではあるが NF1 の子供が生まれることを伝える必要性があると考えられた。

谷戸 克己、堀 和彦、太田 有史、新村 真人
東京慈恵会医科大学皮膚科学講座

て、皮疹の分布、性状、年齢、合併症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

Riccardi¹⁾は神経線維腫症 (NF) を臨床的に 8 型に分類し、V 型を Segmental NF (分節型神経線維腫症) と定義したが、NF の原因遺伝子が明らかにされた現在、これらは限局性カフェオレ斑、限局性多発性神経線維腫、限局性びまん性神経線維腫などの関連疾患も含め、“神経線維腫症 1 型のモザイク (Mosaic NF1)” と考えられるようになった。当科で最近経験した Mosaic NF1 と考えられる症例を後方視的にまとめ、臨床的に検討した。

B. 研究方法

2004 年 4 月から 2006 年 10 月までの 3 年 7 ヶ月間に来院した Mosaic NF1 と考えられる症例に関し

C. 研究結果

総数は 37 例で、平均年齢は 21.1 歳。性別は男 11 例、女 26 例で、皮疹が片側に分布するものが 21 例、両側に分布するものが 16 例であった。

病型を 4 つに分類して検討する (表 1)。各病型は限局性カフェオレ斑が 21 例、限局性多発性神経線維腫が 1 例、分節型神経線維腫が 7 例、限局性びまん性神経線維腫が 8 例であった。

平均年齢は限局性カフェオレ斑が一番低く、限局性びまん性神経線維腫、分節型神経線維腫症、

限局性多発性神経線維腫の順に高かった。

皮疹の分布は、限局性カフェオレ斑では片側性と両側に分布する群に差を認めなかったが、分節型神経線維腫症では両側性が 7 例中 5 例、限局性びまん性神経線維腫では片側性が 8 例中 7 例と偏りがみられた。

虹彩小結節は症例の半数は未検査であるが、調べた 18 例中 1 例のみにしか認められなかった。

合併症は限局性カフェオレ斑で心血管病変を 2 例、限局性びまん性神経線維腫で骨病変を 3 例認めた。

また限局性カフェオレ斑、分節型神経線維腫症の男性患者各 1 例より NF1 の児が生まれた 2 家系を経験した。

D. 考察

1982 年に Riccardi は多彩な臨床像をとる NF を 8 型に分類し、V 型を Segmental NF として“NF の家族歴がなく、片側の一分節に限局してカフェオレ斑と神経線維腫が皮膚のみに生じたもの”と定義した。その後、子供に遺伝する例、両側に出現する例、深部に及ぶびまん性神経線維腫を生じる例など、定義に一致しないため診断に苦慮する症例がしばしば報告された。NF の原因遺伝子が明らかにされた現在、これらは限局性カフェオレ斑、限局性多発性神経線維腫、限局性びまん性神経線維腫も含め、NF1 のモザイク (Mosaic NF1) と考えられるようになった。

2001 年、Ruggieri & Huson²⁾ は、“Mosaic NF1 は、1) 接合後突然変異が極めて早期に生じたため、優性遺伝による NF1 患者と臨床的に区別がつかない Mosaic generalized NF1 と、2) 後期に生じたため一部にしか病変がみられない Mosaic localized

NF1 に分けられる。”とし、Mosaic localized NF1 124 例についてのまとめを示した (表 2)。

それによると Mosaic localized NF1 患者の平均年齢は 17.4 歳、男性 66 例、女性 58 例で性差はない。合併症として学習障害 (4 例)、視神経膠腫 (1 例)、偽関節 (1 例) などがみられたが、その頻度は NF1 に比べて低いと報告している。

また病型を①色素病変のみを生じる型 (86 例、平均 13 歳)、②神経線維腫のみを生じる型 (20 例、平均 40 歳)、③色素病変と神経線維腫を合併する型 (10 例、平均 34 歳)、④びまん性神経線維腫のみを生じる型 (8 例、平均 24 歳) の 4 型に分類しているが、①は限局性カフェオレ斑、②は限局性多発性神経線維腫、③は分節型神経線維腫症、④は限局性びまん性神経線維腫に相当する。NF1 と同様に、色素病変やびまん性神経線維腫は幼児期に、神経線維腫は成人期に出現するため、各病型の平均年齢は①が一番低く、④、③、②の順に高くなるのは自験例と同様であった。新村はその 30 年間の経験で、限局性カフェオレ斑と考えていた症例が、中年期以降、色素斑部に一致して遅発性に神経線維腫が発生することを観察しており、①は平均年齢が低いことから、さらに経過を追えば遅発性に神経線維腫を生じる可能性がある。ただし①と③の患者数に差があることから、NF1 と異なり色素斑のある症例のほとんどに神経線維腫が出現するわけではないことが推測される。

皮疹の特徴として、片側に分布することが多いが、細い縞状のみならず全身の 1/4 から 1/2 を占めたり、対称、非対称を問わず両側、複数の分節に病変を生じたりと、非常に多彩であるとしているが、自験例も同様であった。

皮膚以外の NF1 の症候としてよくみられる虹彩小結節は Mosaic localized NF1 124 例中わずか

2 例にしか認められなかったと報告しているが、これも自験例と共通しており、虹彩小結節の有無は Mosaic localized NF1 患者と generalized NF1 患者と区別するのに有用な可能性がある。

限局性びまん性神経線維腫の症例では 3 例に骨病変を合併し、治療した 6 例全例に全身麻酔下の切除術を要したが、自験例では Ruggieri & Huson の報告に比べて、女性患者が多い傾向や、限局性多発性神経線維腫が極端に少ない傾向がみられたが、母集団が少ないために偏りが生じたこと、女性の方が容姿を気にして多く受診したこと、神経線維腫が遅発性に生じるためあまり気にならず受診しないこと、などの理由が考えられた。

Mosaic localized NF1 の親から generalized NF1 の子が生じた例は、Ruggieri & Huson らの 7 例を含め、世界でも 10 数例が報告されるのみであるが、我々は今回報告した他に 2 例経験している。自験例では 4 例全て親の下腹部に色素斑を認めたが、虹彩小結節³⁾のみ、または上半身^{4,5,6)}にのみ色素斑を認めたという報告もあり、必ずしも精巣や卵巣をおおう下腹部に病変がある場合にのみ遺伝するわけではない。

一般に Mosaic localized NF1 の患者は、generalized NF1 に比べて軽症で合併症も少なく、症状が現れても遅発性のことが多いので、びまん性神経線維腫が生じた場合以外は特別な治療を必要としない。しかしモザイクの発生機序を考慮すると、低い確率ではあるが generalized NF1 の子供が生まれることがあることを考える必要がある。

E. 参考文献

- 1) Riccardi VM: Curr Probl Cancer, 7:1-34, 1982
- 2) Ruggieri M, Huson SM: Neurology, 56:1433-1443, 2001
- 3) Riccardi VM, Lewis RA: Am J Hum Genet, 42:284-289, 1988
- 4) Boltshauser et al: Neurofibromatosis, 2:244-245, 1989
- 5) Moss C, Green SH: Br J Dermatol, 130:106-110, 1994
- 6) Consoli C, et al: J Invest Dermatol, 125:463-6, 2005

F. 研究発表

学会発表

1. 谷戸克己、太田有史、本田まりこ、上出良一、中川秀己、新村真人 神経線維腫症 1 型のモザイクが疑われる父親より生まれた神経線維腫症 1 型の 2 例 第 30 回日本小児皮膚科学会学術大会 名古屋 2006 年 6 月

G. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

表1: 慈恵医大皮膚科におけるMosaic localized NF1 37例のまとめ

平均年齢: 21.1歳(1-64歳)
 性別: 男性11例、女性26例
 皮疹分布: 片側性21例、両側性16例

	限局性 カフエオシ斑	限局性多発性 神経線維腫	分節型 神経線維腫症	限局性びまん性 神経線維腫
症例数	21例	1例	7例	8例
平均年齢	9.2歳 (1-39歳)	64歳	41.3歳 (20-60歳)	29.4歳 (6-54歳)
皮疹分布	片側性 11例 両側性 10例	片側性	片側性 2例 両側性 5例	片側性 7例 巨大斑型 1例
虹彩 小結節	なし 11例 未検査 10例	なし	あり 1例 未検査 6例	なし 5例 未検査 3例
合併症	心房中隔欠損 1例 上室性期外収縮 1例	なし	なし	四肢骨変形 2例 眼窩骨欠損 1例
遺伝	1例	なし	1例	なし

表2: Ruggieri & HusonによるMosaic localized NF1 124例のまとめ

平均年齢: 17.4歳(4-60歳)
 性別: 男性66例、女性58例
 皮疹分布: 片側性82例、両側性39例(記載なし9例)

	Pigmentary changes only	Neurofibromas only	Pigmentary changes and neurofibromas	Solitary plexiform neurofibromas
症例数	86例	20例	10例	8例
平均年齢	13歳 (4-67歳)	40歳 (19-70歳)	34歳 (24-39歳)	24.3歳 (8-61歳)
皮疹分布	片側性 60例 両側性 26例	片側性 12例 両側性 8例	片側性 4例 両側性 5例	記載なし
虹彩小結節	2例	なし	なし	なし
合併症	学習障害 4例 他 3例	なし	なし	なし
遺伝	7例	なし	なし	なし

Ruggieri M, Huson SM: Neurology, 56:1433-1443, 2001より引用、改変

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

神経線維腫症 I 型の頭部 MRI 画像のフォローについて

分担研究者 大野 耕 策 鳥取大学医学部脳神経小児科教授

研究要旨

神経線維腫症 I 型 (NF1) は乳児期に多発性のカフェ・オーレ斑を指摘され小児科を受診することが多いが、乳児期には NIH の診断基準 7 項目の中では家族歴以外の所見を認めることは少なく、家族歴がなければ NF1 と診断できないことが多い。NF1 には視神経腫瘍の合併のリスクもあり、より早期の段階で診断できれば、その後のフォローに有用である。我々は 2000-2006 年に鳥取大学医学部付属病院脳神経小児科を多発性カフェ・オーレ斑で受診した 15 名に対し MRI で検査し、NF1 に特徴的な頭部 MRI 所見である UBO (unidentified bright objects) を診断基準に加えた場合の NF1 の診断率の変化について検討した。結果として、UBO は診断率を増加させていたが、UBO の 1 歳未満での出現率は低く、1 歳以上で NF1 の診断率をより増加させていた。

小野 陽一 鳥取大学医学部脳神経小児科

A. 研究目的

神経線維腫症 I 型 (NF1) は乳児期に多発性のカフェ・オーレ斑を指摘され、医療機関へ受診することが多い。しかし乳児期には NIH の診断基準 7 項目の中では家族歴以外の所見を認めることは少なく、家族歴がなければ NF1 と診断できないことが多い。2 歳の NF1 児の 40%以上が NIH の診断基準では診断できないともされる (Debella K, et al. 2000)。NF1 には視神経腫瘍をはじめとする種々の合併症のリスクがあり、NF1 の可能性が高ければ、その後には眼科的フォローなども必要となる。よって、より早期の段階で NF1 の診断が下せること

が望ましい。NF1 に特徴的な頭部 MRI 所見として、T2 強調画像で淡い高信号を呈する UBO (unidentified bright objects) があり、以前から UBO を診断基準に加えることを推奨する報告がなされている。

今回は 2000-2006 年に多発性のカフェ・オーレ斑を主訴に、鳥取大学医学部付属病院脳神経小児科を受診した症例に対し頭部 MRI を用いた検査を行った。そして、UBO を NIH の診断基準に加えた場合の NF1 の診断率の変化について検討した。

B. 研究方法および結果

対象は 2000-2006 年に多発性のカフェ・オーレ斑を主訴に、鳥取大学医学部付属病院脳神経小児科を受診した 15 例（男 7 人、女 8 人、7 か月-18 歳、平均 4 歳 1 ヶ月）。なお、1 歳未満の受診例では、1 歳前後になってから MRI を行った。

MRI は 2003 年度から 3.0TMRI になっており、7 例が 3.0TMRI で検査され、残りの 8 例は 1.5TMRI で検査された。画像の判読においては神経放射線科医と、小児神経科医が独立して所見をつけた。

結果 1 UBO の出現率

UBO は 15 例のうち 11 例と 73%に認めていたが、1 歳未満の 2 例では認めず、2 歳未満の 8 例でも 4 例と 50%にすぎなかったが、2 歳以上では 100%に認めていた（表 1）。

表 1 年齢別 UBO の頻度と NIH 診断基準で診断できる例の頻度

年齢	人数	UBO(%)	NIH(%)
0-0.9 歳	2	0 (0%)	0 (0%)
1-1.9 歳	6	4 (66%)	4 (66%)
2-2.9 歳	2	2 (100%)	2 (100%)
3-3.9 歳	0		
4-4.9 歳	0		
5-5.9 歳	1	1 (100%)	0
6-6.9 歳	0		
7-7.9 歳	1	1 (100%)	0
8-8.9 歳	0		
9-9.9 歳	1	1 (100%)	1 (100%)
10-20 歳	2	2 (100%)	1 (100%)
全体	15	11(73%)	9 (60%)

結果 2 UBO の診断率への影響

NIH の診断基準においては家族歴を認めるものが 6 例、神経線維腫が 2 例、視神経腫瘍 1 例で、それぞれ重複例もあり、全体として NIH の診断基準を満たすものは 15 人中 9 人で 60%であった（表 1）。

NIH の診断基準に加えて、UBO を診断基準とすると、NF1 と診断が可能なのは 15 人中 12 人となり 80%に診断率は 20%増加した。さらに 1 歳未満では UBO を認めていないため、年齢を 1 歳以上にすると診断率は 23%、2 歳以上にすると診断率は 29%増加した（表 2）。

表 2 NIH による診断率と UBO を基準にした診断率の変化

年齢	NIH	UBO	診断率の上昇
0-19.9 歳	9/15(60%)	12/15(80%)	20%
1-19.9 歳	9/13(69%)	12/13(92%)	23%
2-19.9 歳	5/7(71%)	7/7(100%)	29%

年齢分布が 3 歳以上はまばらであり、3 歳以上では UBO による診断率の変化は算出していない。

C. 考察

1) NF1 の診断について

頭部 MRI の UBO を診断基準に加える場合に、2 歳以上で診断率の増加は最も大きかった。以前に UBO を診断基準に加えることを推奨した報告 (Debella K, et al. 2000) では、髄鞘化との関係から 2 歳以上という年齢制限を推奨していたが、それを裏付ける結果となった。

2) UBO について

本研究で UBO を診断基準に追加することを挙げたのは、他の診断基準よりも感度が高く、また特異度も高いと考えたからであるが、実際の UBO の感度と特異度について考察する。

まず UBO の感度は 43-97% とばらつきがある (Debella K, et al. 2000) が、この研究では 73% であった。さらに細かく言えば 1 歳以上では 84%、2 歳以上では 100% であった。

NIH の診断基準の感度は、多発性のカフェ・オーレ斑は 95-97% と圧倒的に高い (Nimura M, 1999; Obringer AC 1989) が、本研究の 1 歳以上での UBO の感度はそれに次ぐ。また UBO の特異度は 79% という報告があるが、部位を好発部位 (小脳、脳幹、基底核) に限定すれば、感度はやや下がるものの 84% になるとされる (Debella K, et al. 2000)。さらに UBO が多発していればさらに特異度は上がる (Richard G, et al. 1998)。なお、多発性のカフェ・オーレ斑の特異度は 92% とされている (Korf B, et al. 1992)。UBO、多発性のカフェ・オーレ斑の 2 つの項目を組み合わせることによりさらに特異度は増加すると思われる。

3) 本研究の問題点

まず症例数が 15 例と少なく、2 歳以上での UBO が 100% であったことは症例の偏りがあったものと考えられる。この点に関しては、今後症例数を増やしてさらに検討していく必要がある。また診断であるが、神経線維腫の中には多発性のカフェ・オーレ斑のみを所見とする NF6 という概念がある。NF6 に関する研究例は極めて少なく、NF6 に UBO が出現するか否かについては分かっていない。よって、多発性のカフェ・オーレ斑と UBO のみという症例では、NF6 を含めている可能性は否定でき

ない。しかし現時点では NF6 という概念が確立されたものとはいいがたく、NF1 の可能性があれば NF1 として対応した方が得策と思われる。また、UBO の感度はばらつきが大きく、放射線科医間での診断一致率は 84% であったが (Debella K, et al. 2000)、淡い病変であり慣れなければ診断に迷うこともあり、診断基準の 1 つとして加えるには読影を複数の人間で行うなどの工夫をして、より精度を上げる必要があると考えられた。

D. 結論

NF1 において UBO は感度、特異度ともに高く、従来の NIH の診断基準における診断率を増加させたが、1 歳未満では感度が低いために MRI の施行は 1 歳以上が望ましいと思われた。診断率の増加は、髄鞘化の完了する 2 歳以上でより大きく認められた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Florin F, Higaki K, Maki H, Nanba E, Ninomiya H, Ohno K: Antisense suppression of TSC1 gene product, hamartin, enhances neurite outgrowth in NGF-treated PC12h cells. *Brain Dev* 2007 (in press)
- 2) Yasui S, Tsuzaki K, Ninomiya H, Floricel F, Asano Y, Maki H, Takamura A, Nanba E, Higaki K, Ohno K: The TSC1 gene product hamartin

interacts with NADE. Mol Cell Neurosci 2007
(in press)

- 3) Kamimura T, Tohyama J, Oishi M, Akasaka N, Kanazawa O, Sasagawa M, Kato M, Ohno K, Masuda H, Kameyama S, Uchiyama M. Magnetoencephalography in patients with tuberous sclerosis and localization-related epilepsy. Epilepsia 47:99-997, 2006

2. 学会発表

- 1) 大野耕策 「発達障害と分子遺伝学」 シンポジウム 自閉症スペクトラムを理解し分子解明をめざそう 第 28 回日本生物学精神医学会・第 36 回日本神経精神薬理学会・第 49 回日本神経化学会大会 合同年会 名古屋 平成 18 年 9 月 14 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

小児神経線維腫症 1 の脳の apparent diffusion coefficient の変化に関する研究

分担研究者 土田 哲也 埼玉医科大学皮膚科教授

研究要旨

神経線維腫症 1 (NF1) 18 例の拡散強調画像を撮像し、apparent diffusion coefficient (以下 ADC) を測定し、コントロール群の値と比較した。橋、両側中小脳脚、大脳脚、淡蒼球、視床、前頭葉白質の ADC を測定したところ、中小脳脚、淡蒼球、視床では NF1 群がコントロール群に比し有意に高値を示したが、橋、大脳脚、前頭葉白質では両群間に有意差はなかった。NF 1 症例では、T2 強調画像や T1 強調画像では異常所見を示さない症例でも ADC 値が上昇している例があった。ADC 値上昇の理由は組織学的に証明されていないが、NF 1 症例の脳組織学的変化の指標の一つになりうることが示唆された。

水越和歌、小澤栄人、木村文子

埼玉医科大学放射線科

倉持 朗

同、皮膚科

となく、組織内の水分子の拡散抑制の程度を表すことができる。今回我々は、小児 NF1 症例の脳の ADC 値を測定し、コントロール群の ADC 値と比較し、有意差の有無を検討した。

A. 研究目的

NF1 症例において、しばしば MRI の T2 強調画像で高信号域が見られることがあり、この高信号域は経過中に拡大することや縮小、消退することがある。高信号の原因となる組織学的変化は証明されておらず、また、高信号を示さない部位には組織学的に変化が無いとも証明されていない。MRI の拡散強調画像から計測できる ADC 値は T2 強調画像での信号変化の要因となる組織の t_2 値の変化に影響されるこ

B. 研究方法

対象 NF1 18 例、月齢 7~192 ヶ月（平均 88.3 ヶ月）、およびコントロール（健常児）18 例、月齢 8~200 ヶ月（平均 90.2 ヶ月）である。NF1 症例は皮膚所見により NF1 と診断され、頭蓋内病変検索を目的として脳 MRI を施行したものである。コントロール例は、頭痛や嘔吐などの症状で頭蓋内病変検索を目的として脳 MRI を施行したものである。

MRI 装置はシーメンス社製 Symphony1.5T、T1 強調画像、T2 強調画像、FLAIR 画像の横断像に加えて、拡散強調画像を撮像した。拡散強調画像は Single shot EPI 法を用い、傾斜磁場は xyz 方向を使用し、b factor は 0, 1000s/mm² の 2 種類を使用した。得られた拡散強調画像から付属のソフトウェアにより ADC map を作成した。ADC map 上で橋、両側中小脳脚、大脳脚、淡蒼球、視床、前頭葉白質の ADC 測定を行った (図 1)。測定部位の選択は、T2 強調画像で異常信号を示している部位を避けて行った。NF1 症例およびコントロール例に対して、student T test による有意差検定を用い、1% の危険率で両群間の有意差の有無を評価検討した。

C. 研究結果

NF1 群の ADC 値の平均値は橋が 0.85 ± 0.05 、中小脳脚が 0.81 ± 0.08 、大脳脚が 0.88 ± 0.05 、淡蒼球が 0.83 ± 0.05 、視床が 0.84 ± 0.04 、前頭葉白質が 0.90 ± 0.08 であった。コントロール群の ADC 値の平均値は橋が 0.82 ± 0.06 、中小脳脚が 0.72 ± 0.05 、大脳脚が 0.83 ± 0.08 、淡蒼球が 0.76 ± 0.05 、視床が 0.76 ± 0.07 、前頭葉白質が 0.85 ± 0.08 であった。中小脳脚、淡蒼球、視床では NF1 群の ADC 値はコントロール群に比較し有意に高かった ($P < 0.01$) (図 2)。橋、大脳脚、前頭葉白質では有意差は認められなかった (図 3)。

D. 考察

NF1 症例の脳 MRI の所見として、T2 強調画像で認められる高信号域が良く知られている (図 4)。頻度は 40-90% と報告によって差はあるが、高頻度に認められる¹⁾。好発部位は、淡蒼球、視床、

脳幹、小脳や皮質下白質で、幼少期には増加し、思春期以降では消退し、30 歳以降はほとんど認められないとされている¹⁾²⁾。

高信号を来たす組織学的変化として、様々な推測がされている。剖検例で画像と組織を対比した報告では、T2 強調画像で高信号を示していた領域の脳組織は myelin 内に空胞、グリア細胞の異常増殖が認められたと報告されている³⁾。

今回、我々が測定した ADC 値は、組織内の水分子の拡散のしやすさを反映している。細胞密度の上昇や構築の乱れが起きると、水分子の拡散は抑制され、ADC が低下する。一方、細胞外液腔が拡大するような状況では ADC は上昇する。具体例としては、早期脳梗塞では細胞浮腫により細胞外液腔が狭小化し ADC 値は低下する。腫瘍、特に悪性腫瘍の場合は細胞密度が上昇し、外液腔は狭小化し、ADC 値は低下する。良性腫瘍は悪性腫瘍に比し、ADC 値の値が高いので、ADC 値による腫瘍の良悪性の鑑別を試みている報告もある⁴⁾。多発性硬化症をはじめとする脱髄性疾患では、髄鞘破壊により細胞外液腔は拡大し、ADC 値は上昇するとされている⁵⁾。

NF1 の ADC 値の変化として、これまでにいくつかの報告がされている。T2 強調画像で高信号を示す部位は正常部位と比較し有意に ADC が上昇していたという報告⁶⁾、高信号域が縮小しても ADC 値は高値であったという報告⁷⁾、T2 強調画像で高信号を示さなくても ADC は高値であったという報告などがある⁸⁾。これらの ADC 上昇の組織学的変化として、myelin 障害による myelin 容積の低下、軸索数減少による細胞外液腔拡大によると推測している。今回の我々の検討では、NF1 症例の中小脳脚、視床、淡蒼球の T2 強調画像で異常信号を示さない部位の ADC 値は、コントロール群と比し有

意に高い値を示しており、T2 強調画像では描出できない微細な変化を ADC 値の変化として捉えられている可能性が示唆された。しかし、橋、大脳脚、前頭葉白質の NF1 例の ADC 値は有意に高い値を示さなかったことの原因は不明であり、今後の検討課題としたい。

NF1 における脳 ADC 測定について今後、期待できる点として、T2 強調画像で異常所見が無い場合や、高信号が消失した後でも、画像評価の指標として使える可能性が挙げられる。また、NF1 症例に合併するとされている星細胞腫などの腫瘍性病変と非腫瘍性病変の鑑別ができる可能性も挙げられる。また、ADC 値と臨床症状の関係の有無についても検討していくべき点である。

文献

- 1) Deepak SG, et al. Age-related findings on MRI in neurofibromatosis type 1. *Pediatric radiology* 36, 1048-56. 2006.
- 2) Francisco M, et al. NF1 in children: MR imaging and followup studies of central nervous system findings. *EJR* 26, 121-31 1998
- 3) Depaolo, et al. Neurofibromatosis Type 1: Pathologic Substrate of High-Signal Intensity Foci in the Brain. *Radiology* 195, 721-24. 1995
- 4) Kuroki Y, et al. Diffusion-weighted imaging of breast cancer with the sensitivity encoding technique: analysis of the apparent diffusion coefficient value *MRMS* 15: 79-85, 2004
- 5) Roychowdhury S, et al. Multiple sclerosis: comparison of trace apparent diffusion coefficients with MR enhancement pattern of

lesions. *AJNR* 21, 869-74, 2000.

- 6) Eastwood JD, et al. Increased brain apparent diffusion coefficient in children with neurofibromatosis type 1. *Radiology* 219:354-58, 2001
- 7) Mori, et al. Diffusion property in a hamartomatous lesion of neurofibromatosis type 1. *JCAT* 25:537-39, 2001
- 8) Alkan, et al. Neurofibromatosis type 1: diffusion weighted imaging findings of brain. *EJR* 56:229-34, 2005

E. 結論

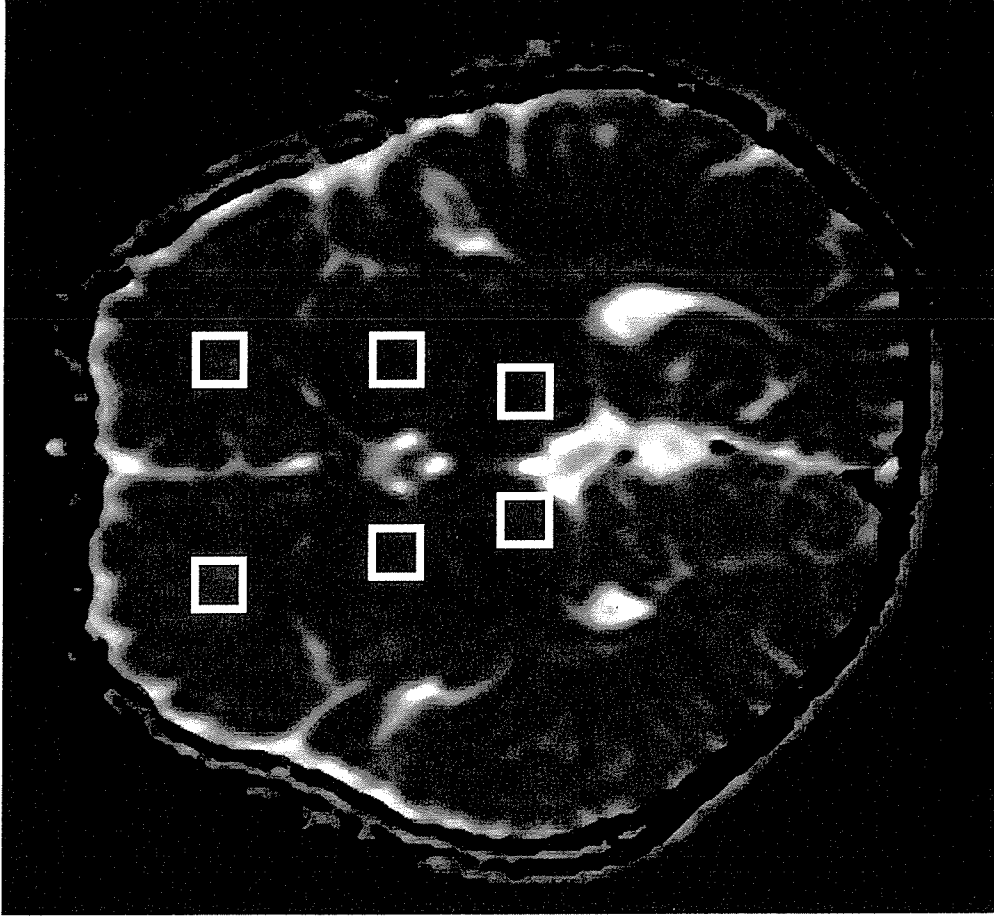
NF1 症例ではコントロール群と比較し、中小脳脚、淡蒼球、視床で ADC の有意な上昇を示した。ADC 上昇の理由は組織学的に証明されていないが、NF1 症例の脳組織学的変化の指標の一つになりうることを示唆された。

F. 研究発表

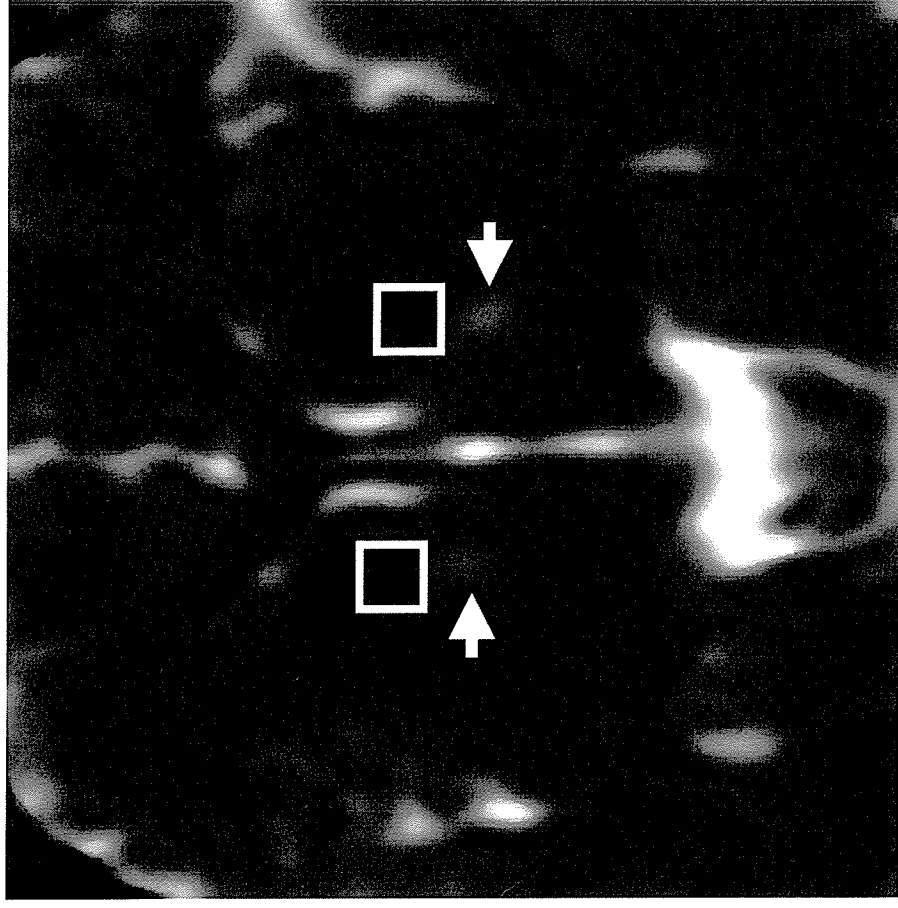
1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし



A



B

図1. A: ADC map上で関心領域を決定し、ADCの測定を行った。B: 周囲に異常信号域 (→) がある場合は避けて測定した。

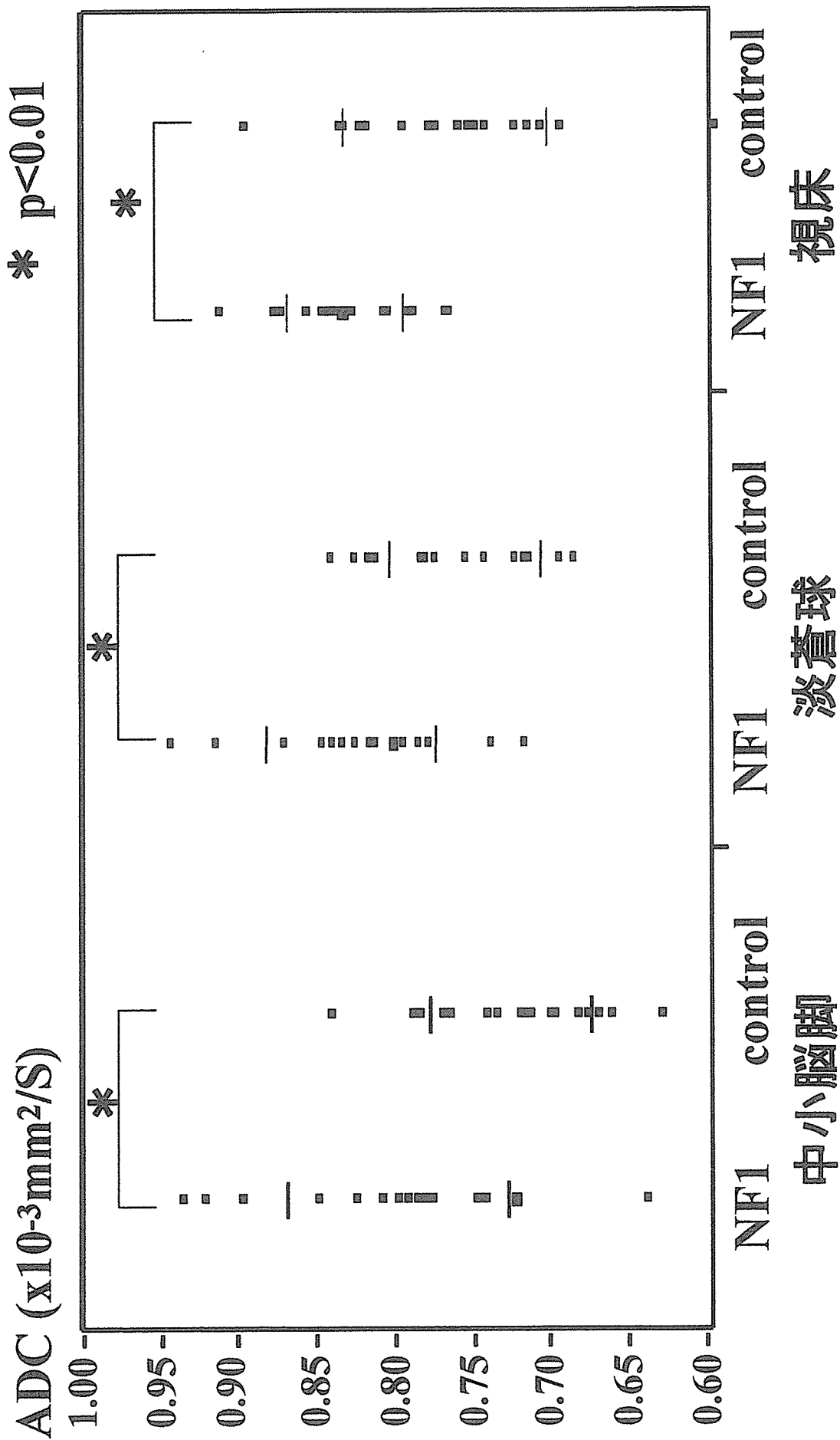
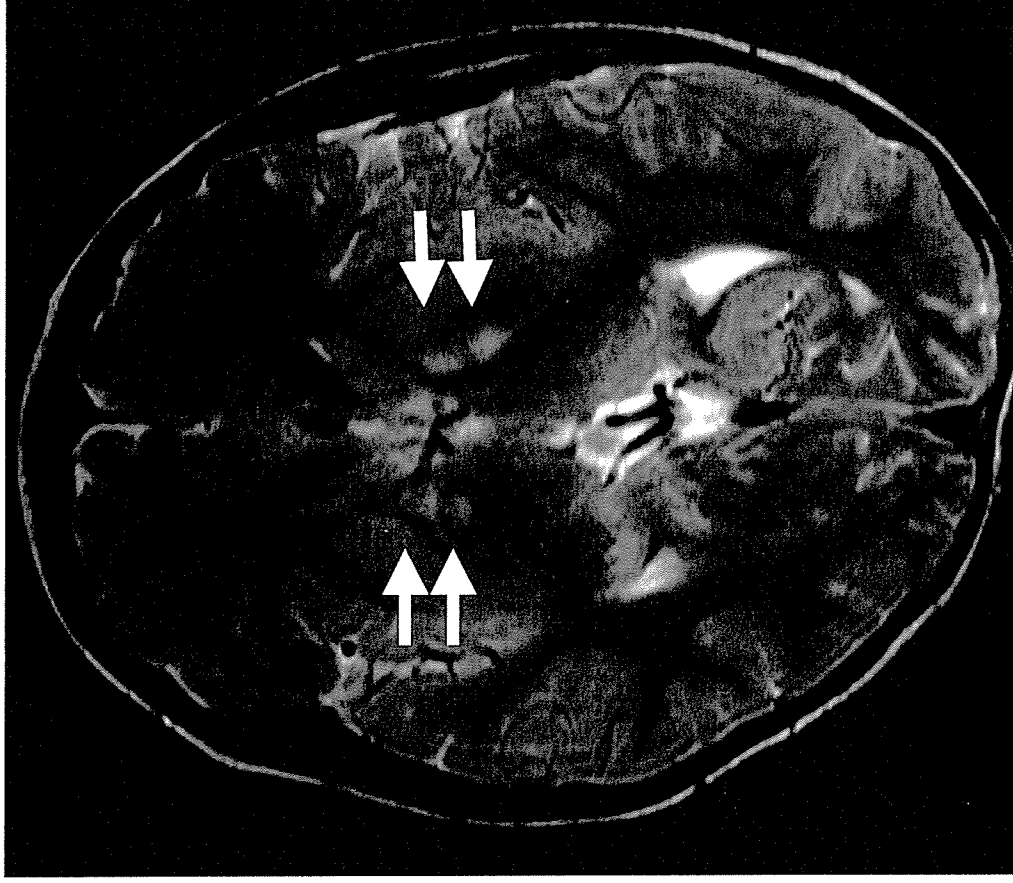
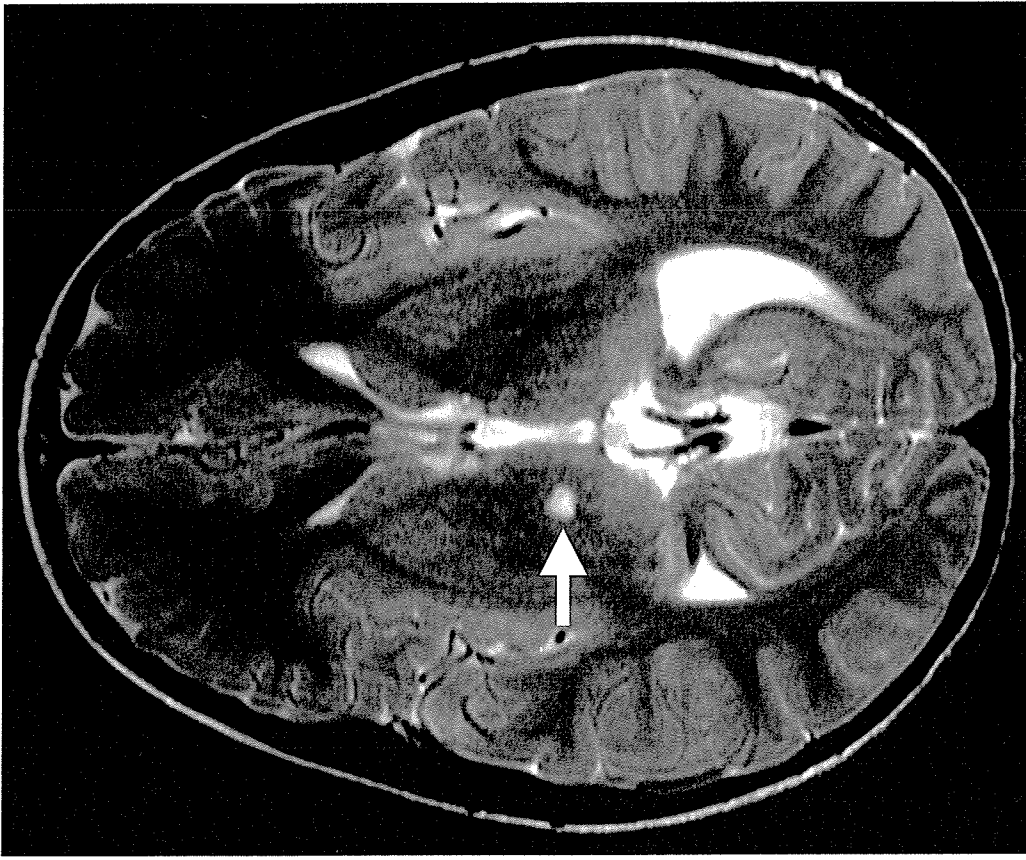


図2. 両群間のADC値に有意差があった部位



A 8歳女児のNF1例。T2強調画像にて右視床に高信号域 (→) を認める。
B 8歳男児のNF1例。T2強調画像にて両側淡蒼球に複数の高信号域 (→) を認める。

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

中枢神経損傷に対するグリア瘢痕抑制による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および損傷後の機能再生は大きな課題である。これまでの報告では神経再生のためには、(1) 神経や神経幹細胞などの移植、(2) GDNF などの神経栄養因子の投与や遺伝子導入などのアプローチが基礎研究レベルで試みられている。一方、損傷後に形成されるグリア瘢痕による物理・化学的バリアによる神経再生の抑制は大きな課題である。そこで、われわれはマウス脊髄損傷後の反応性グリア形成を経時的に評価し、laser captured microdissection によって得られた組織のシグナルを 30K 遺伝子発現マイクロアレイにて解析した。その結果をもとに、グリア特異的に脂質ナノ粒子を用いて、サイトカインの一種であるインターフェロン β 遺伝子を導入した。その結果、グリア形成の顕著な抑制とともに、神経機能および電気生理学的な改善を認めた。今回の班会議では、神経再生の課題のひとつの側面であるグリア瘢痕に焦点を当て、神経機能再生に対する展望を考察する。

夏目敦至 名古屋大学医学部附属病院
遺伝子・再生医療センター
齋藤 清、伊藤 元一、水野 正明
名古屋大学大学院医学研究科系

機能再生は大きな課題である。これまでの報告では神経再生のためには、(1) 神経や神経幹細胞などの移植、(2) GDNF などの神経栄養因子の投与や遺伝子導入などのアプローチが基礎研究レベルで試みられている。一方、損傷後に形成されるグリア瘢痕による物理・化学的バリアによる神経再生の抑制は大きな課題である。そこでグリア瘢痕の形成の分子メカニズムをマイクロアレイにて解析し、そのシグナルを抑制するための方法を模索することが本研究の目的である。

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および損傷後の

B. 研究方法

1. C57Bl/6 マウス（雌、6 週齢）の 9-10 レベルの胸髄背側に深さ 1mm の切開を加え脊髄損傷モデルを作成し、グリア瘢痕形成を経時に評価した。
2. 脊髄損傷後 10 日目のグリア瘢痕の部位から laser-captured microdissection によって、RNA を抽出し、マウス 30K マイクロアレイにて網羅的発現解析を行った。
3. マウス胎児の脳皮質よりアストロサイトを培養し、リポソーム法にてマウスインターフェロン β 遺伝子を導入した。
4. マウス脊髄損傷部位にリポソーム法にて、レポーター遺伝子を導入し、生体内での導入効率を評価した。

（倫理的な配慮）

ハロセン吸入麻酔により手術を行い、組織の摘出の場合は、炭酸ガスの吸入により安楽死させた。

C. 研究結果

1. 脊髄損傷のグリア瘢痕形成を GFAP 染色により経時的に評価した結果、損傷後 14 日目に最も染色性が高く、小胞の形成も観察できた。
2. 脊髄損傷後 10 日目のグリア瘢痕の部位から laser-captured microdissection によって（図 1）、RNA を抽出し、マウス 30K マイクロアレイにて網羅的発現解析を行った結果、Ras-MAPK 経路などの細胞増殖シグナルが有意に増加していることがわかった。
3. マウス胎児の脳皮質よりアストロサイトを培養し、リポソーム法にてマウスインターフェロン β 遺伝子を導入したところ、アストロ

サイトの増殖を有意に抑制した。

4. マウス脊髄損傷部位にリポソーム法にて、レポーター遺伝子である lacZ 遺伝子を導入し、X-gal 染色した結果、損傷部位に一致した青く染色される細胞群を認めた（図 2）。

D. 考察

損傷した中枢神経系における神経機能の回復は究極の課題である。神経皮膚症候群は中枢神経を巻き込むことあり、術後の神経機能損傷は大きな問題になっている。本研究では、神経機能回復の障壁であるグリア瘢痕に注目し、その形成メカニズムと治療法を模索した。モデルは背側切断による比較的単純な脊髄損傷であるが、神経皮膚症候群への応用に関して示唆すべき点は多い。

まず、脊髄損傷部位におけるグリア瘢痕から組織を切り出し、網羅的に遺伝子発現を解析した結果、細胞増殖のシグナル系が顕著に関与していることがわかった。そのシグナルは炎症性サイトカインの一種であるインターフェロン β によって抑制される経路である。また、インターフェロン β は悪性アストロサイトーマ、腎細胞癌、悪性黒色腫に増殖抑制効果あると知られ、遺伝子治療の臨床研究が実施されている。したがって、中枢神経系の損傷後に反応性に増殖するアストロサイトの抑制する戦略に、インターフェロン β を用いることは理にかなう。

本研究では培養されたアストロサイトにインターフェロン β タンパクを培養上清に加えたが、明らかな増殖抑制効果を認めなかった。そこで強力にインターフェロン関連シグナルを誘導するため、リポソーム法により遺伝子導入すると顕著な増殖抑制効果を認めた。次に生体内での遺伝子導入効

率を調べた結果、十分な遺伝子発現を認め、実際の治療実験に応用できることを確認できた。今後は、生体内で脊髄損傷後の反応性グリアの抑制の有無、神経機能の改善、神経軸索の保存などを評価する予定である（図3）。

E. 結語

インターフェロン β 遺伝子導入により中枢神経の損傷後のグリア瘢痕を抑制できる可能性を本研究で模索した。それによって、神経皮膚症候群の術後の課題である神経損傷に応用できる可能性がある。

F. 研究発表

論文発表

1. Shimato S, Mitsudomi T, Kosaka T, Yatabe Y, Wakabayashi T, Mizuno M, Nakahara N, Hatano H, Natsume A, Ishii D, Yoshida J. EGFR mutations in patients with brain metastases from lung cancer: association with the efficacy of gefitinib. *Neuro-oncol.* 2006 Apr;8(2):137-44.
2. Shimato S, Wakabayashi T, Mizuno M, Nakahara N, Hatano H, Natsume A, Ishii D, Hasegawa Y, Hyodo I, Nagasaka T, Yoshida J. Brain metastases from apocrine carcinoma of the scalp: case report. *J Neurooncol.* 2006 May;77(3):285-9. Epub 2005 Nov 29.
3. Nakane Y, Natsume A, Wakabayashi T, Oi S, Ito M, Inao S, Saito K, Yoshida J. Malignant transformation-related genes in meningiomas: Allelic loss on 1p36 and

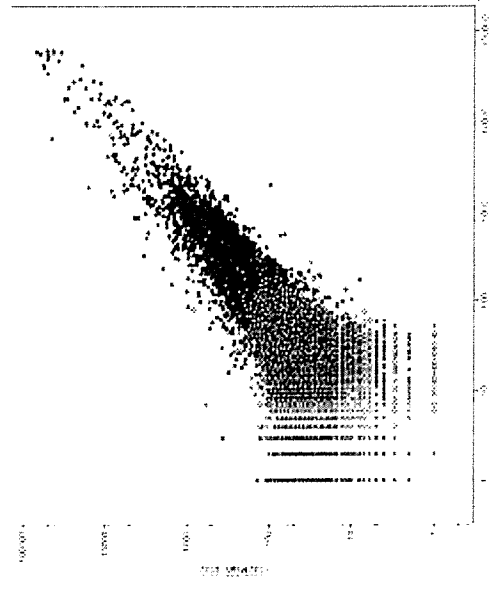
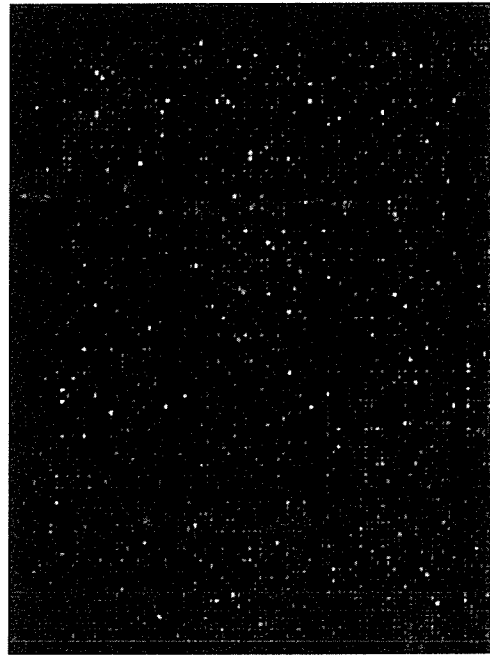
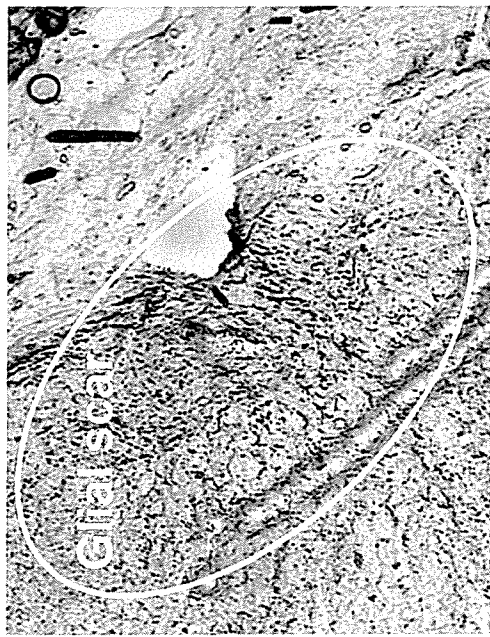
methylation status of p73 and RASSF1A. *J. Neurosurg.* In press

学会発表

1. Ito M, Natsume A, Wakabayashi T, Mizuno M, Yoshida J. Liposome-mediated Interferon-beta gene delivery promotes functional recovery after spinal cord injury. Society for Neuroscience, Atlanta, Oct 17, 2006
2. 伊藤元一、夏目敦至、若林俊彦、水野正明、吉田 純 日本遺伝子治療学会、東京
3. 伊藤元一、夏目敦至、若林俊彦、水野正明、吉田 純 日本分子脳神経外科学会、東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



**Laser-captured
microdissection**

Up-regulated genes

1,089 / 30,000 genes

Down-regulated genes

89 / 30,000 genes

图1 夏目