

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

神経皮膚症候群に関する調査研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 中山樹一郎

平成20（2008）年3月

目 次

I. 総括研究報告

神経皮膚症候群に関する調査研究

中山 樹 一 郎-----1

II. 分担研究報告

1. 神経線維腫症1公費患者約10年の動向

縣 俊 彦-----10

2. 神経線維腫症2公費患者約10年の動向

縣 俊 彦-----17

3. ヒト結節性硬化症に関わるアミノ酸置換型Tsc2変異の解析

樋 野 興 夫-----24

4. 結節性硬化症の脳・腎病変におけるインスリン情報伝達系の変動

水 口 雅-----28

5. 結節性硬化症原因遺伝子産物ハマルチンの細胞周期制御に関する機能について

大 野 耕 策-----32

6. 結節性硬化症におけるp40とtuberin, hamartin

片 山 一 朗-----34

7. 色素性乾皮症の現状把握：患者把握とその解析の調査研究

錦 織 千 佳 子-----42

8. A群色素性乾皮症における末梢神経障害の経時的変化

荻 田 典 生-----46

9. 色素性乾皮症の神経障害に関する臨床神経病理学的研究

林 雅 晴-----48

10.	色素性乾皮症やコケイン症候群におけるヌクレオチド除去修復、転写の異常 田中亀代次-----	50
11.	ヌクレオチド除去修復における色素性乾皮症遺伝子産物の機能と診断への 応用 菅澤薫-----	57
12.	宿主細胞回復能を指標とした色素性乾皮症患者由来細胞の酸化的DNA 損傷修復能の検討 森脇真一-----	62
13.	NF-1ノックダウンメラノサイトを用いたカフエオレ斑発症に関連する 細胞内シグナルの検討 古村南夫-----	66
14.	神経線維腫細胞に対する tumor necrosis factor alpha の増殖能への影響に 関する研究 大塚藤男-----	71
15.	神経線維腫および悪性末梢神経鞘腫における抗CD10抗体免疫組織染色に 関する研究 師井洋一-----	77
16.	神経線維腫内のmast cellに関する検討 吉田雄一-----	79
17.	神経線維腫症1型患者に生じた悪性腫瘍の早期発見におけるFDG-PETの 有用性 中川秀己-----	81
18.	神経線維腫症1型(NF1)に合併した原発性乳癌症例からのセンチネルリンパ 管内皮細胞の分離培養 倉持朗-----	84

19.	神経線維腫症I型における腫瘍形成メカニズムに関する研究 佐谷 秀行-----	91
20.	キャリアー細胞を用いたNF1に対する遺伝子治療 濱田 雄行-----	96
21.	先天性脛偽骨関節症の偽関節部骨癒合判定装置の開発 中村 耕三-----	101
22.	神経線維腫症に合併した脊椎及び脊髄病変に関する研究 内藤 正俊-----	105
23.	神経線維腫症II型に対する聴性脳幹インプラントによる聴覚再建 吉田 純-----	108
24.	中枢神経損傷に対する神経幹細胞移植による神経再生への可能性 吉田 純-----	112
III.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	119

総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

神経皮膚症候群に関する調査研究

主任研究者	中山 樹一郎	福岡大学医学部皮膚科	教授
分担研究者			
	大塚 藤 男	筑波大学臨床医学系皮膚科	教授
	大野 耕 策	鳥取大学医学部脳幹性疾患研究施設脳神経小児科部門	教授
	片山 一 朗	大阪大学大学院医学研究科分子病態医学皮膚科	教授
	佐谷 秀 行	慶應義塾大学医学部先端医科学研究所遺伝子制御研究部門腫瘍生物学	教授
	倉持 朗	埼玉医科大学皮膚科	教授
	中川 秀 己	東京慈恵会医科大学皮膚科	教授
	中村 耕 三	東京大学大学院医学研究科整形外科	教授
	樋野 興 夫	順天堂大学医学部病理学第二	教授
	水口 雅	東京大学大学院医学系研究科発達医科学	教授
	吉田 純	名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科	教授
	古村 南 夫	島根大学医学部皮膚科	准教授
	縣 俊 彦	東京慈恵会医科大学環境保健医学	准教授
	吉田 雄 一	鳥取大学医学部感覚運動医学講座皮膚病態学	准教授
	錦 織 千 佳 子	神戸大学大学院医学研究科皮膚科	教授
	森 脇 真 一	大阪医科大学応用医学講座皮膚科学	准教授
	林 雅 晴	東京都神経科学総合研究所臨床神経病理	副参事研究員
	蒔 田 典 生	神戸大学大学院医学系研究科神経内科	准教授
	田 中 亀 代 次	大阪大学大学院生命機能研究科分子遺伝学	教授
	菅 澤 薫	神戸大学バイオシグナル研究センター細胞生理学	教授

研究要旨

神経皮膚症候群は神経と皮膚にまたがって各種病変を生ずる疾患を総称する。本研究は、神経皮膚症候群であり、かつ母斑症に属する疾患、特に神経線維腫症 1 型 (NF1)、2 型 (NF2) および結節性硬化症 (TS) を対象疾患としている。また今年度から日本人に多い高発癌性遺伝疾患である色素性乾皮症 (XP) も加わった。これらの疾患の病態を解明するために、分子レベルでの病態把握による将来的な根治的分子治療法の開発 (基礎研究)、新しい診断法や治療法の開発による各疾患への臨床応用 (臨床研究)、大規模疫学調査による患者の実態把握 (疫学調査研究)、それぞれに目標を設定し、各研究者が基礎情報を共有しつつ、研究をすすめた。当該年度はこれらの調査研究により、神経皮膚症候群の多彩な症候の分子病態の機序が徐々に明らかとなり、将来的な分子治療に向けた準備が着実に進行した。

A. 研究目的

1990 年に神経線維腫症 1 型 (NF1)、1993 年に神経線維腫症 2 型 (NF2)、Tsc2、1997 年に Tsc1 の原因遺伝子が明らかにされ、NF1、NF2 および結節性硬化症 (TS) の遺伝子機能についての研究が飛躍的に進んでいる。しかしながら、これらの疾患は多臓器に多種の腫瘍性病変をきたす遺伝性の難病であり、現時点では根治的治療法はなく、対症療法のみである。患者ならびに家族の新治療法の開発に対する要望や社会的要請も強い。本研究の目的は、多様な症候を示す各疾患の病態を分子レベルで解明すると共に新治療法の開発を行い、実際的な臨床応用を目指すことにある。

また、今年度より難治性遺伝疾患である色素性乾皮症 (XP) の研究も新規に加わった。XP の日本での現状を把握する事を第一の目的とし、そのための診断の確立とそのシステム作りを行う。そして、患者登録システムを立ち上げ、病態の解析を行い、遺伝子治療を視野に入れた治療を検討する。

B. 研究方法

<NF1、NF2、TS>

1. 基礎研究 (新しい治療法の開発に関連する病態研究)

カフェオレ斑の分子レベルでの発症機序解明を目的として、siRNA やレンチウイルス miR RNAi と培養ヒトメラノサイトを用いて、安定的な NF-1 ノックダウン細胞モデルを作製し、細胞内シグナルの修飾について解析し、neurofibromin の機能低下からカフェオレ斑発症に至る発症機序に関連した細胞内シグナルの解明を試みた。また、NF1 の色素斑についてはメラニン産生を抑制する物質 (アルトカルピンなど) を用いた実験を行った。

NF-1 における、多発する神経線維腫や神経堤腫瘍の発生および増殖には何らかのホルモンや増殖因子が関与していると考えられる。一般に細胞増殖を抑制する蛋白と考えられている tumor necrosis factor alpha (TNF- α) にて、神経線維腫培養細胞が刺激濃度依存性、刺激時間依存性に増殖することより TNF- α 刺激時の細胞増殖のシグナル伝達経路および TNF- α の局在部位に焦点を当てて、TNF- α の NF 細胞増殖能への影響について解析した。

神経線維腫形成機構に関しては、動物モデルとヒト臨床サンプルを用いた解析から、1) NF1^{-/-}シュワン細胞の存在、2) 誘発要因として働く NF1^{+/-}肥満細胞の浸潤、そして3) 反応細胞として働く NF1^{+/-}の線維芽細胞、シュワン細胞、血管上皮細胞の増生、4) 細胞外マトリクスの集積、などのイベントが重要であると考えられている。近年、上皮細胞が炎症・機械的刺激・特定の因子などによって間葉系細胞の様に形態が変化し、同時に細胞の運動性とマトリクス産生能が増加する現象（上皮間葉転換：EMT）が観察され、創傷治癒の一形態であると同時に、線維症などの病態の原因となることが明らかになってきた。神経線維腫の形成の過程には EMT に特徴的な分子機構が関与していると推察し、それを実証するための実験を行った。

2007年に英国から NF1 が乳癌発症の中等度危険因子になるという報告がなされ、さらには NF1 と BRCA1(ヒト乳癌 suppressor gene)が同じ17番染色体の長腕に存在することや乳癌合併 NF1 患者の乳腺腫瘍で NF1 遺伝子の LOH (loss of heterozygosity)が示されたという報告から、近年、両者の因果関係も示唆されるようになってきている。NF1 に合併した原発性乳癌症例から、センチネルリンパ節 (SLN) への輸入リンパ管内皮細胞 (SLEC) を分離・培養し、リンパ管としての生物学的特性の確認を試みた。

TS の原因遺伝子産物である tuberin (Tsc2 産物) は、ラパマイシン感受性 mTOR 経路を抑制する機能を持つ。この経路の遮断を TS やヒトの癌治療に利用しようと臨床治験が試みられているが、これまでのところ著効を示す結果は得られていない。in vitro の実験系と共に、独自に開発したトランスジェニック・Eker ラット (Tsc2 変異ラット) の腎癌抑制系を in vivo の実験系として利用し、それらの変

異体の機能解析を進めた。

Eker ラットは Tsc2 機能喪失変異に起因する TSC モデル動物である。Eker ラットの腎（腎細胞癌と健常部）、脳（皮質結節と健常部）における insulin 情報伝達系の活性亢進・低下の状況を、各因子のリン酸化特異的抗体を用いた免疫染色と Western ブロッキングにより検討した。

TS 原因遺伝子産物 hamartin、tuberin は複合体を形成し、mTOR を介した細胞増殖の制御に関わっている。患者皮膚病変部細胞では S 期の増加、G1 および G2/M 期の減少という細胞周期の異常を示す。私たちは hamartin と相互作用する蛋白質を検索した結果、MAT1 を同定し解析した。

TS では患者の p40 の治療薬としての可能性を検討するため、p40 と tuberin、hamartin の関係を調べた。

2. 臨床研究(既存の治療法の改良による各疾患への応用等の研究)

NF1 は時に強いかゆみ・痛みを伴うことがあるが、その原因として神経線維腫内に多く存在する mast cell の関与が指摘されている。孤発性神経線維腫、神経線維腫症 1 型に合併した皮膚の神経線維腫、神経の神経線維腫における組織内の mast cell に関する免疫組織化学的検討を行った。

乳癌では間質の CD10 (90-110kDa の II 型膜貫通蛋白) 陽性所見が悪性度、予後の悪さと相関すると報告されているが、NF1 において、良性の神経線維腫と悪性の悪性末梢神経鞘腫について、抗 CD10 抗体を用いて免疫組織学的に検討した。

NF1 患者において悪性末梢神経鞘腫瘍 (MPNST) を早期発見することは極めて重要である。神経線維腫の悪性転化の早期診断における FDG-PET の有用性を検討した。

NF1 に合併する先天性脛骨偽関節症において、偽関節部の骨癒合判定を可能とする診断装置の開発を行った。

NF1 に対する *IAI. 3B* (卵巣癌胸腔転移細胞蛋白高分子量領域に対する monoclonal 抗体を用いて卵巣癌の cDNA ライブラリーよりクローニングされた遺伝子) プロモーター活性、オンコリティックアデノウイルス AdE3-*IAI. 3B* の抗腫瘍効果を検討し、キャリアー細胞を用いることにより、ヌードマウスにおける抗腫瘍効果の改善、syngeneic mouse model における抗アデノウイルス抗体による感染抑制すなわち免疫原性の克服について検討を行い、NF1 に対する遺伝子治療の可能性について検討を行った。

3.疫学調査研究

NF1、NF2 公費患者の約 10 年の動向を 1998 年と 2006 年の資料で比較した。

<XP>

XP は紫外線によって DNA に生じた傷を修復する酵素を欠損するために露光部に皮膚癌を生じる高発癌性遺伝疾患で、日本では除去修復能が低く、神経症状を伴う A 群が多い。まず正確な患者数把握のため、皮膚科研修指定病院 609 施設つき一次調査を行った。またバリエーション群の診断につき免疫沈降法の有用性を確認した。XPC 群細胞につき、直接シーケンス法で変異の同定を行い、XPE 群についてはユビキチン化を指標とした簡便法を検討した。XP やコケイン症候群 (CS) の遺伝子産物の生化学的、分子生物学的機能解析を行った。XPA の 60% に出現する神経症状に対する治療法開発のために酸化的 DNA 損傷の修復能を検出する鋭便なシステムを確立し、MRI 画像を用い神経合併症の病態を検討し、また、剖検脳を用いモノアミン、GABA 神経の障害

を明らかにし、患者尿、髄液の酸化ストレス、神経障害マーカーを ELISA 法で定量した。

(倫理面への配慮)

疫学調査、患者および家族の DNA の分析、腫瘍の遺伝子発現スクリーニング、既に他の疾患で使用されている薬剤の適応外投与や遺伝子治療などを行うに際して、その実施要綱や個人調査票、対象患者への説明文書や同意書などを作成し、事前に当該施設の倫理委員会において審査および承認を受け、疫学研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針や各施設の倫理規定などを遵守して調査研究を行った。動物実験は各施設の実験動物取扱規約を遵守して行った。

C&D. 研究結果及び結論

<NF1、NF2、TS>

1. 基礎研究(分子レベルでの病因・病態の解明を目指して、研究をすすめた)

①NF-1 ノックダウンメラノサイトを用いたカフェオレ斑発症に関連する細胞内シグナルの検討

培養ヒト皮膚メラノサイトの NF-1 をノックダウンし細胞内シグナルの変化を検討した結果、カフェオレ斑形成機序として、真皮からの sSCF や HGF の過剰分泌に加えて、cAMP シグナルの反応性が変化し表皮内でメラノサイトの増殖が起こり、カフェオレ斑を形成する機序が示唆された。これらの結果は、NF1 患者由来培養細胞から得られた従来の知見とも合致し、NF-1 ノックダウン細胞を用いた研究がカフェオレ斑発症機序解析の為のモデルとして有用であると考えられた。(古村)

②アルトカルピンのNF1皮膚病変(カフェオレ斑および神経線維腫を含む)治療剤(外用剤または経口剤)としての有用性の研究

アルトカルピンはマウスの悪性腫瘍細胞株を用いて抗悪性腫瘍剤としての可能性が報告されている。*In vitro*の実験でアルトカルピンがメラノサイト増殖を特異的に強力に抑制し、神経線維腫細胞の増殖抑制率もヒト線維芽細胞に対する効果とほぼ同等と考えられた。また、*in vivo*の実験でアルトカルピン軟膏は濃度依存性に、また外用期間依存性に、動物の真皮網状層下方に位置する毛包までも色素の減弱あるいは消失が観察された。以上よりアルトカルピンはNF1の色素斑および真皮の色素異常症の治療薬になる可能性があると考えられた。(中山)

③神経線維腫細胞に対するTNF- α の増殖能への影響に関する研究

Western blottingにて神経線維腫細胞はTNF- α の刺激時に、MEK/ARKシグナル伝達経路を介して増殖することが明らかとなった。また、TNF- α レセプターは神経線維腫細胞に発現しているものの、細胞内にTNF- α はみられず、免疫組織染色にて組織内に散在性に認められる肥満細胞にのみ認められた。この結果より、神経線維腫組織内の肥満細胞から分泌されるTNF- α が腫瘍増殖に関与する可能性が示唆された。(大塚)

④神経線維腫形成機構に対するEMTの関与

多発性神経線維腫の形成はNF1の主症状であり、皮膚の形状変化による美容上の問題、発生部位による機能上の問題のみならず、悪性の母地となり得ることから、その治療法及び予防法の開発は、きわめて重要である。とりわけフィブロネクチンやヒア

ルロン酸などの細胞外マトリクスは、各種成長因子・サイトカインなどの保持、細胞移動のための足場として機能するため、神経線維腫形成のカギとなるイベントである。EMTに特徴的な形態変化、運動能上昇、マトリクス産生増加というイベントは、NF1変異によって誘導されるMAPキナーゼの活性化を必要とすることが明らかになった。(佐谷)

⑤NF1に合併した原発性乳癌症例からのセンチネルリンパ管内皮細胞の分離培養

分離された輸入リンパ管内皮細胞(SLEC)は、蛍光抗体染色にてリンパ管内皮細胞に特異的な表面マーカーであるVEGFR-3、Prox1、Podoplaninを発現していた。また、RT-PCRによるSLECの細胞内蛋白質の検討ではVEGF-A, B, C, DとVEGFR-1, 2, 3をすべて発現していた。ウェスタンブロット法を用いたVEGF-C刺激によるシグナル伝達路の*in vitro*解析では、MAPK、Akt、JNKそれぞれの経路のリン酸化が確認された。腫瘍組織が増殖の過程で誘導した新生リンパ管が既存リンパ管と交通し、これに沿って癌細胞がリンパ管内に流入、転移を形成すると考えられる。今後このSLECの生物学的特性の解析をさらにすすめることで、リンパ節転移メカニズムの解明に大きく寄与する可能性が示唆される。(倉持)

⑥トランスジェニックEkerラットを用いたヒトTSに関わるアミノ酸置換型Tsc2変異の解析

TSの二つの原因遺伝子産物(Tsc1:hamartin、Tsc2:tuberin)は複合体を形成し、Rheb/mTOR/S6Kの経路(mTOR経路)を抑制する。遺伝性腎癌モデルであるEker(Tsc2変異)ラット、Tsc2ノックアウトマウスや、TSC患者の病変部では、mTOR経路の恒常的な活性化が生じている。このmTOR経路の遮断が

TS の治療の方策と期待されているが、長期的な mTOR の機能抑制が個体に及ぼす影響は少なくないと予想される。したがって mTOR に関連しない経路の解明が目下の急務である。(樋野)

⑦TS の脳・腎病変におけるインスリン情報伝達系の変動

大脳の皮質結節で tuberin 上流の Akt 活性は亢進しておらず、tuberin 下流の S6 活性化は mTOR と p70S6K の活性化を伴っていなかった。Eker ラットがヒト TS 患者と異なり、てんかんや知的障害などの神経症状を呈さない理由として、このことが関与しているかも知れない。腎細胞癌で上流の Akt 活性は低下しており、下流の mTOR、S6 活性は亢進していたが、p70S6K の活性化はなかった。下流から上流への feedback および mTOR、p70S6K を介さないシグナル伝達の可能性が示唆された。(水口)

⑧TS 原因遺伝子産物 hamartin の細胞周期制御に関する機能について

hamartin は MAT1 と細胞質で複合体を形成し、Cdk7、サイクリン H とは相互作用を示さなかった。また、hamartin を強制発現させた細胞では MAT1 のユビキチン化が促進し、S 期の細胞が減少した。一方、hamartin をノックダウンさせた細胞では MAT1 と Cdk7 の結合が促進し、G1/S 期の移行が促進した。これらの結果は hamartin と MAT1 の複合体が G1/S 期の制御に関わる可能性を示した。(大野)

⑨TS における p40 と tuberin, hamartin

共沈実験では、p40 と hamartin は蛋白レベルで結合しており、p40 をノックダウンすることにより、tuberin、hamartin が減少すること、逆に、Tsc1 遺伝子をノックダウンすることにより、tuberin は

減少するが、p40 タンパクは変化しないことがわかった。以上より、p40 は hamartin と蛋白レベルで結合することにより、tuberin と hamartin の複合体の安定化に関与しているものと考えられた。(片山)

2. 臨床研究(早期診断・新治療の開発を目指して、研究をすすめた)

①神経線維腫内の mast cell に関する検討

孤発性神経線維腫と NF1 の神経線維腫においては mast cell の数は同じでもそのヒスタミン含有量に違いがあること、また神経の神経線維腫では mast cell の数が少ないことが明らかとなった。これらの所見が腫瘍の増生や臨床症状(かゆみ)、あるいは悪性末梢神経鞘腫瘍の発生に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。(吉田)

②神経線維腫および悪性末梢神経鞘腫における抗 CD10 抗体の免疫組織学的検討

良性の神経線維腫では、ほぼ全例で CD10 陽性所見を得た。しかし、悪性末梢神経鞘腫と低悪性度の腫瘍である atypical peripheral nerve tumor では CD10 は陰性であった。一方、腫瘍の増殖マーカーである Ki-67 染色では、神経線維腫で陰性、悪性末梢神経鞘腫で一部陽性であった。NF-1 と関連のない孤発性の神経鞘腫では、CD10 陽性所見を 7 例中 1 例にのみ認め、腫瘍周囲の間質は陽性であった。以上の結果より、CD10 染色は神経線維腫内に生じた悪性変化を明瞭に鑑別することが可能であり、診断や治療(切除範囲の確認)に、極めて有用な方法であることが示唆された。(師井)

③NF-1 患者に生じた悪性腫瘍の早期発見における FDG-PET の有用性

MPNST の合併が疑われるが MRI と Ga シンチでは悪性所見を確認し得なかった NF1 患者 2 例に FDG-PET 検査を施行し、1 例に MPNST を早期発見し完全切除した。FDG-PET は MPNST を早期発見するのに有効な補助診断技術と考えられた。(中川)

④NF1 に合併する先天性脛骨偽関節症の診断装置の開発と脊椎、脊髄病変の手術的治療

先天性脛骨偽関節測定用に新たなプローブと下肢固定治具の開発を行い、これらが偽関節部の剛性測定における要求を満たしていることを明らかにした。(中村)

NF1 に合併する脊髄腫瘍は硬膜内髄外腫瘍が最も多く、5-29%が悪性化し予後不良とされている。QOL を考え、術前評価で責任病巣を決定し、必要最小限の手術を行うことを提示した。(内藤)

⑤キャリアー細胞を用いた NF1 に対する遺伝子治療

IAI. 3B プロモーター活性および *AdE3-IAI. 3B* は、NF1 細胞に対して高い特異性を示した。*In vivo* 腫瘍モデルにおいて、ヌードマウス腫瘍に対するキャリアー細胞治療では完全腫瘍退縮となった。一方、syngeneic mouse model においては、抗アデノウイルス抗体による感染抑制を断片化されたキャリアー細胞が直接的に標的細胞に取り込まれることにより感染が成立し、抗アデノウイルス CTL により著明な抗腫瘍効果を示した。以上より、*IAI. 3B* プロモーター導入オンコリティックアデノウイルス感染キャリアー細胞による遺伝子治療は、NF1 に対して有力な治療法となることが示唆された。(濱田)

⑥聴性脳幹インプラント (ABI) による聴力再建

電極を直接脳幹に設置し、人工内耳と同様に電気信号に変換した音刺激を直接脳幹に伝える ABI 手術を NF2 で両側聴力損失した 35 歳女性に行い QOL が向上した。

3. 疫学調査研究 (NF 1、NF2 公費患者約 10 年の動向)

NF1 は 1998 年調査に比べ 2006 年調査では対象数が約 1.6 倍に増加し、特に「男性」の増加が顕著であった。10 歳以下で受診する例が増え、最近の経過では、「徐々に悪化」が 46.4%から 55.3%に増加しており、患者は重症化していると思われた。

NF2 患者は 98-99 年調査で男 49 名、女 54 名、2006 年調査で男 70 名、女 80 名で、発病、初診年齢、神経症状 score、臨床症状でも年次間の差はなかった。脳神経鞘腫や皮膚の神経鞘腫 (有無) は「有り」が増加し、患者は重症化していると思われた。
(縣)

<XP>

① XP の全国調査とバリエーション群の確定診断の手法の確立

皮膚科研修指定病院 609 施設を対象に一次調査を行い、回答 (433 施設、71.1%) があつた施設のうち、XP 患者を有する施設は 66 施設 (15.2%)、全患者数は 222 名、男女比は男性 115 名、女性 107 名で、ほぼ 1 であつた。西日本に患者が多くみられたが、ほとんどの施設で患者数は 5 名以下であつた。また、相補性群を確定出来ていなかったバリエーション群疑いの 16 名について *POLH* の塩基配列を決定し、それら *POLH* 遺伝子異常によりポリメラーゼ H の蛋白が作られなくなることを免疫沈降法にて確認し

た。(錦織)

② XPC 群と XPE 群について日本国内に分布する変異アリの実態の把握と簡便な診断法の開発

国内の XP-C 群細胞について新しいタイプの変異アリ (フレームシフト変異) を同定した。XPE 群の細胞に紫外線を照射した際に XPC タンパク質がユビキチン化を受けること、このユビキチン化が XP-E 群細胞で特異的に欠損していることを見出した。このユビキチン化を指標とした E 群の簡便な診断法について、検討を進めた。(菅澤)

③ 高発ガン性遺伝疾患である XP、遺伝的早老症コケイン症候群(CS)、その類縁疾患の分子病態の解明

CS の原因遺伝子産物である CSA、CSB の機能解析を行い、転写を阻害し細胞死を誘発する転写鎖上の DNA 損傷を特異的に修復する「転写と共役した修復」(TCR) 機構を解明した。また、XPG 遺伝子に突然変異をもち XP と CS を合併する患者では、TFIIH の安定性に異常を示すこと、その結果、ホルモン受容体の転写活性化に異常を示すことを明らかにした。(田中)

④ 酸化的 DNA 損傷の修復能を細胞レベルで解析するシステムの確立

XP において、本邦患者では高頻度 (約 60%) に出現する原因不明、進行性の神経学的異常に関する詳細な臨床所見をまとめ、酸化的 DNA 損傷の修復能を細胞レベルで解析する鋭敏なシステムを確立した。(森脇)

⑤ XPA 患者の神経合併症の病態の解明と治療法の探索

XPA の 1 症例につき、6 歳から 18 歳までの臨床症状と末梢神経伝導検査結果を、後方視的に検討し、神経症状の軽い早期より末梢神経伝導検査では異常を認め、経過とともに進行し、下肢優位、感覚神経優位の軸索障害を主体とする末梢神経障害が示唆された。(荻田)

⑥ XPA のモノアミン神経障害と酸化ストレスに関する臨床神経病理学的研究

XPA 剖検脳のマイネルト核と脚橋被蓋核での acetylcholine esterase (AChE) 表出低下を見出した。AChE 阻害剤の塩酸ドネペジルが有効である可能性が示唆された。また、XPA の喉頭ジストニアに対する少量レボドパ療法の有効性を確認できた。(林)

E. 結論

基礎研究では RNA 干渉によるノックダウン細胞の細胞内シグナル解析や融合プロテオミクスによる関連蛋白質の機能解析、Eker ラットを用いた研究などにより、神経皮膚症候群 (NF1、NF2、TS) の多彩な症候の分子病態の機序がさらに明らかとなった。また、NF-1 ノックダウン細胞を用いた研究がカフェオレ斑形成機序解析のモデルになる可能性、*IAI. 3B* 遺伝子を用いた将来的な NF1 の遺伝子治療の可能性、NF1 の抗 TNF α 抗体による治療の可能性など新治療法開発に向けた準備が着実に進化した。NF2 の脊髄損傷に対するヒト神経幹細胞の経静脈的投与による神経再生の可能性についても新たな知見が得られた。一方、臨床研究では NF1 のかゆみの原因と思われる mast cell の profile や悪性腫瘍の早期発見のための検査法や染色法が紹介され、リンパ行性転移のメカニズムの研究も着手し

た。NF1の先天性脛骨偽関節症の骨癒合判定装置の開発も順調にすすんでおり、脊髄腫瘍のQOLを考慮した縮小手術についての報告もなされた。TSにおいても将来的なp40を用いた治療の可能性など実地的な臨床応用が可能と考えられる診断法や新治療法の開発に大きな進展が見られた。また、疫学調査研究においては前年度、患者特性を把握するため大規模全国調査を実施しており、NF1、NF2公費患者の約10年の動向を検討したところ、重症化傾向が伺えた。今後患者のQOLを重視した治療を行う上での活用が期待できる。さらに、前年度、NF1、NF2の臨床調査個人票の一部改正を行っており、今後の患者認定や行政上の貢献が期待できる。また今年度はNF1とTSの診断・治療ガイドラインも作製した。

神経皮膚症候群の原因遺伝子はいずれも関連蛋白とともに腫瘍発生抑制の細胞内シグナルの制御に深く関わっており、本研究を継続することにより、各疾患の病態解明のみならず本症候群にしばしば合併する悪性腫瘍発生の分子病態解明も成果として期待され、腫瘍発生の抑制や癌進展防止などの予防的治療なども将来的に可能になると思われる。

また、今年度より日本人に多い高発癌性遺伝性疾患であるXPが加わり、早速患者数把握のための一次調査が行われた。皮膚科研修指定病院の15.2%に222名のXP患者が登録され、次年度、二次調査が行われる予定である。また、免疫沈降法によりXPバリエーション群の診断率が上がり、日光曝露による皮膚癌等の発生前に診断を確定することが可能となった。また、日本人には少ないが、XPC群とE群について簡便な診断法が開発されつつあり、コケイン症候群などその類縁疾患の分子病態解明にも大きな進展が見られている。また、XPの神経合併症の病態の解明と治療法も詳細な臨床病理所見などにより研究が進められている。

F. 健康危険情報

なし

分担研究報告

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 公費患者約 10 年の動向

分担研究者 縣 俊彦 東京慈恵会医科大学環境保健医学准教授

研究要旨

神経線維腫症 1 : Neurofibromatosis type 1 : NF1 について、今回、約 10 年の間隔をおいて実施された 2 つの調査結果を比較することにより、難病認定された後の公費負担の対象患者の 10 年の動向を検討した。調査項目は、性別・生年月日などの個人属性の他、発病年月日、初診年月日、保険種別、家族歴、受診状況、最近の経過、診断根拠、臨床症状の程度（皮膚症状、中枢神経症状、骨症状、生活機能と社会的活動度）である。対象数は、1998 年調査が 334 名、2006 年調査では 552 名であった。

1998 年調査に比べ 2006 年調査では対象数が約 1.6 倍に増加しているが、特に「男性」の増加が顕著であった。発病時の年齢では、「10 歳以下の発病」が 1998 年調査では 57.3%であったのに対し、2006 年調査では 61.8%と低年齢化の傾向が伺える。受診状況では、「主に通院」が 65.9%から 81.1%に増加している。保険の種別では「組合保険」が 22.1%から 16.6%に減少し、「国民健康保険」が 41.6%から 50.4%に増加していた。最近の経過では、「軽快」が 4.7%から 3.0%、「不変」が 42.9%から 38.9%に減少しているのに対し、「徐々に悪化」が 46.4%から 55.3%に増加しており、患者は重症化していると思われた。

柳澤裕之	東京慈恵会医科大学教授
新村真人	東京慈恵会医科大学名誉教授
大塚藤男	筑波大学教授
稲葉 裕	順天堂大学教授
黒沢美智子	順天堂大学准教授
金城芳秀	沖縄県立看護大学大学院教授
柳 修平	東京女子医大学、大学院教授
河 正子	東京大学、客員教授
佐伯圭一郎	大分看護情報大学、大学院教授
島田三恵子	大阪大学大学院医学系研究科教授

西川浩昭	日本赤十字豊田看護大学教授
太田晶子	埼玉医科大学
柴崎智美	埼玉医科大学
永井正規	埼玉医科大学教授
久保田由美子	福岡大学准教授
中山樹一郎	福岡大学教授

A. 研究目的

神経繊維腫症 1 型 (Neurofibromatosis 1、以下 NF1 と略) は von Recklinghausen 病とも呼ばれる常染色体優性遺伝疾患で、3,000~4,000 人に 1 人の割合で発生する。神経線維腫は、良性の末梢神経腫瘍であり、皮膚神経線維腫、カフェオレ斑と呼ばれる皮膚の色素沈着病変、腋窩など太陽に曝露されない領域の皮膚の染み、Lisch 小結節と呼ばれる虹彩の過誤および脛骨の偽関節などの特徴的な症状を有する。NF1 の原因遺伝子は 17 番染色体上に存在しており、この遺伝子を有する患者は、神経叢の神経繊維腫、視神経膠腫、脳室上衣腫、髄膜腫、星状細胞腫、褐色細胞腫などの神経系腫瘍を生じるリスクが高いとされており、多くの臨床疫学調査が実施されている¹⁾⁻⁴⁰⁾。

NF1 は 1998 年に神経線維腫症 2 型とともに難病 (治療対象疾患) に認定され、神経皮膚症候群に関する調査研究班により、1998 年に医療受給者を対象として調査が実施された。さらに 2006 年に厚生労働省により医療受給者調査が実施された。今回、約 10 年の間隔をおいて実施された 2 つの調査結果を比較することにより、難病認定された後の公費負担の対象患者の 10 年の動向を検討した。

B. 研究方法

神経皮膚症候群に関する調査班により、1998 年から 99 年にかけて実施された医療受給者調査 (以下 1998 年調査と略) の結果と、同一の調査内容で 2006 年に厚生労働省が実施した医療受給者調査 (以下 2006 年調査と略) の結果を比較した。なお、集計処理は 1998、2006 年調査、両方の結果を併せて比較検討した。

調査項目は、性別・生年月日などの個人属性の他、発病年月日、初診年月日、保険種別、家族歴、受診状況、最近の経過、診断根拠、臨床症状の程度 (皮膚症状、中枢神経症状、骨症状、生活機能と社会的活動度) である。

対象数は、1998 年調査が 334 名、2006 年調査では 552 名であった。

分析には SPSS 15.0J を使い、頻度の検定には χ^2 検定を、2 群の連続量の比較には t 検定を用いた。

(倫理面への配慮)

調査票の個人情報に含まれない部分の解析であるので、倫理面の問題は無い。

C. 研究結果

全体的に見た場合、1998 年調査と 2006 年調査の間に顕著な差異は見られなかった。

1998 年調査に比べ 2006 年調査では対象数が約 1.6 倍に増加しているが、特に「男性」の増加が顕著であった (表 1)。発病時の年齢では、「10 歳以下の発病」が 1998 年調査では 57.3% であったのに対し、2006 年調査では 61.8% と低年齢化の傾向が伺える (表 2)。受診状況では、「主に通院」が 65.9% から 81.1% に増加している (表 3)。使用している保険の種類別では「組合保険」が 22.1% から 16.6% に減少し、

「国民健康保険」が41.6%から50.4%に増加していた(表4)。最近の経過では、「軽快」が4.7%から3.0%、「不変」が42.9%から38.9%に減少しているのに対し、「徐々に悪化」が46.4%から55.3%に増加しており、患者は重症化していると思われた(表6)。

神経繊維腫症1の公費患者の社会疫学像の変遷をとらえることを目的として、約10年の間隔をおいた2回の医療受給者調査結果を比較した。全体的には際だった違いは見られなかったが、個々の項目では差異が認められた。

難病特別対策推進事業が進められており、その内容は1. 難病相談・支援センター事業、2. 重症難病患者入院施設確保事業、3. 難病患者地域支援対策推進事業、4. 神経難病患者在宅医療支援事業、5. 難病患者認定適正化事業に大別される。

そして、国家予算緊縮の影響を受け予算も削減気味であり、その影響として、重症患者重視、即ち軽症患者認定除外の流れもみられており今回のような調査結果となっているとも考えられる。

結論的には1988年に神経皮膚症候群に関する調査研究班と厚生労働省により実施された医療受給者調査と2006年に厚生労働省が実施した医療受給者調査の結果を比較し、過去10年にわたる神経線維腫1型の公費患者の動向について検討した。

新たに認定されたことによる患者数の増加、最近の経過での「徐々に悪化」の増加などが見られた。

質問文の微妙な相違(受診状況の「入院と通院」で半々の有無)で結果に差が生じた項目が見られた。

総合的にみると重症患者が増えていると判断される。

文献

1) 橋本修二、中村好一、永井正規、柳川洋、玉腰

暁子、川村孝、大野良之. 難病患者のモニタリングシステムに関する基礎的検討. 厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成5年度研究業績 24-31, 1994

2) 橋本修二、中村好一、永井正規、柳川洋、玉腰暁子、川村孝、大野良之. 難病患者のモニタリングシステムに関する基礎的検討—受療患者のモニター施設割合の年次変化—. 厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成7年度研究業績 94-100, 1996

3) 橋本修二、川村孝、大野良之、縣俊彦、大塚藤男. 神経線維腫症1の定点モニタリング—研究計画—. 厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成8年度研究業績 41-43, 1997

4) Poyhonen M, Kytola S, Leisti J. Epidemiology of neurofibromatosis type 1 (NF1) in northern Finland. *J Med Genet.* 2000 Aug;37(8):632-636.

5) Friedman JM. Epidemiology of neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet.* 1999 Mar 26;89(1):1-6.

6) 新村真人. Recklinghausen 病、日本臨床:50:増刊:168-175, 1992

7) 縣俊彦、西村理明、高木廣文、稲葉裕. レックリングハウゼン病と結節性硬化症の疫学研究の現状. 厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班 平成5年度研究業績 5-12, 1994

8) 縣俊彦、西村理明、門倉真人、新村真人、本田まり子、舟崎裕記、大塚藤男、中内洋一、吉田純、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高木廣文、稲葉裕. 神経皮膚症候群全国疫学調査・第1次調査—中間報告—. 厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班 平成6年度研究業績 5-9, 1995

9) 縣俊彦、西村理明、門倉真人、新村真人、本田まり子、舟崎裕記、大塚藤男、中内洋一、吉田純、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高木廣文、稲葉裕. 神経皮膚症候群の家系内発症に関する研究. 厚生省

特定疾患神経皮膚症候群調査研究班 平成7年度
研究業績 5-10, 1996

10) 縣俊彦、西村理明、浅尾啓子、清水英佑、新村
真人、大塚藤男、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高
木廣文、稲葉裕. 非回答集団を考慮したNF1の有病
率推計. 厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班
平成8年度研究業績 5-9, 1997

11) 縣俊彦、西村理明、浅尾啓子、清水英佑、新村
真人、大塚藤男、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高
木廣文、稲葉裕. NF1患者のQOLと臨床症状に関す
る基礎的研究. 厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査
研究班 平成8年度研究業績 10-14, 1997

12) 縣俊彦、西村理明、浅尾啓子、新村真人、大塚
藤男、高木廣文、稲葉裕、玉腰暁子、川村孝、大野
良之、柳修平. linear logistic regression model
における smoothing 効果の検討. 第16回 SAS ユー
ザー会研究論文集 129-136, 1997

13) 縣俊彦. 神経線維腫症1 (NF1) の遺伝形式・
家族歴に関する研究. 医学と生物
学. 135:1:17-21, 1997

14) 縣俊彦. NF1 (神経線維腫症1、レックリング
ハウゼン病) 患者の疫学特性とQOLに関する研究.
医学と生物学. 135:3:93-97, 1997

15) 新村真人: 神経皮膚症候群、からだの科
学:190:210-211, 1996

16) 川戸美由紀、橋本修二、川村孝、大野良之、縣
俊彦、大塚藤男「神経線維腫症1の定点モニタリン
グ1997・1998調査成績」厚生省特定疾患難病の疫学
研究班 平成10年度研究業績 119-126, 1999

17) 縣俊彦、清水英佑、大塚藤男、大野良之、橋本
修二、高木廣文、稲葉裕「NF1の定点モニタリング
重複把握者の特性」厚生省特定疾患神経皮膚症候群
調査研究班 平成11年度研究業績 5-9, 2000

18) 縣俊彦、清水英佑、橋本修二、柳修平、稲葉裕、

高木廣文、大塚藤男「NF1モニタリング調査の解析」
厚生省特定疾患の疫学に関する研究班 平成11年
度研究業績 149-157, 2000

19) 田中隆、山本博、広田良夫、竹下節子. 「特発
性大腿骨頭壊死症定点モニタリング経過報告」厚生
省特定疾患の疫学に関する研究班 平成11年度研
究業績 218-225, 2000

20) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、早川
東作、稲葉裕、柳修平、大塚藤男. NF1 定点モニタ
リング 1994-2000. 厚生省特定疾患の疫学に関する
研究班 平成12年度研究業績 213-217, 2001

21) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、早川
東作、稲葉裕、柳修平、大塚藤男. NF1 定点モニタ
リングの継続性と問題点. 厚生省特定疾患神経皮膚
症候群調査研究班 平成12年度研究業績 5-7, 2001

22) 田中隆、山本博、広田良夫、竹下節子. 特発性
大腿骨頭壊死症定点モニタリングについて. 厚生省
特定疾患の疫学に関する研究班 平成12年度研究
業績 156-162, 2001

23) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、早川
東作、稲葉裕、柳修平、大塚藤男. NF1 モニタリン
グでの継続把握者の特徴. 厚生労働省特定疾患の疫
学に関する研究班 平成13年度研究業績
213-7, 2002

24) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、稲葉
裕、黒沢美智子、柳修平、西川浩昭、河正子、金城
芳秀、新村真人、大塚藤男. あせび会 NF1 患者の特
性. 厚生労働省特定疾患神経皮膚症候群の新しい治
療法の開発と治療指針作成に関する研究 平成13
年度研究業績 9-14, 2002

25) 縣俊彦、清水英佑、高木廣文、河正子、早川東
作、稲葉裕、黒沢美智子、柳修平、金城芳秀、新村
真人、大塚藤男. NF1 (neurofibromatosis 1) の
1985-2000年での臨床疫学的傾向の研究. 厚生労働

科学研究 研究費補助金 特定疾患対策研究事業
特定疾患の疫学に関する研究班 平成 14 年度研究
業績 103-112, 2003

26) 縣俊彦、清水英佑、中山樹一郎、三宅吉博、稲
葉裕、黒沢美智子、新村真人、大塚藤男. 神経皮膚
症候群調査研究班との NF1(神経線維腫症 1) の定
点モニタリング調査: 進捗状況厚生労働科学研究
研究費補助金 特定疾患対策研究事業 特定疾患
の疫学に関する研究班 平成 14 年度研究業績
113-116, 2003

27) 縣俊彦. 神経線維腫症 1 (NF1) の過去 20 年での
臨床疫学研究の総括 厚生労働科学研究 研究費
補助金 特定疾患対策研究事業 神経皮膚症候群
に関する研究班 平成 14 年度研究業績 5-12, 2003

28) 縣俊彦、中村晃士、西岡真樹子、佐野浩斎、清
水英佑、高木廣文、河正子、早川東作、柳修平、金
城芳秀、稲葉裕、黒沢美智子、大塚藤男、新村真人、
三宅吉博、中山樹一郎. 定点モニタリングのあり方
の検討 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患
克服研究事業特定疾患の疫学に関する研究班 平
成 15 年度研究業績 105-111, 2004

29) 縣俊彦、清水英佑、松平透、佐野浩斎、中村晃士、
西岡真樹子、稲葉裕、黒沢美智子、古村南夫、中山
樹一郎、三宅吉博、高木廣文、金城芳秀、柳修平、
河正子. 神経線維腫症 1 定点モニタリング 2003
厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究
事業 特定疾患の疫学に関する研究班 平成 15 年
度研究業績 99-104, 2004

30) 縣俊彦、清水英佑、松平透、佐野浩斎、中村晃
士、西岡真樹子、稲葉裕、黒沢美智子、古村南夫、
中山樹一郎、三宅吉博、高木廣文、金城芳秀、柳修
平、河正子. 神経線維腫症 1 モニタリング研究 厚
生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事
業 神経皮膚症候群に関する研究班 平成 15 年度

研究業績 9-15, 2004

31) 縣俊彦、清水英佑、松平透、佐野浩斎、中村晃
士、西岡真樹子、稲葉裕、黒沢美智子、古村南夫、
中山樹一郎、三宅吉博、高木廣文、金城芳秀、柳修
平、河正子. 個人情報と定点モニタリングについて
の研究、厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克
服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班 平
成 16 年度研究業績 266-280, 2005

32) 三宅吉博、縣俊彦、横山徹司、佐々木敏、古村
南夫、中山樹一郎、田中景子、牛島佳代、岡本和士、
阪本尚正、小橋元、鷺尾昌一、稲葉裕. 神経線維腫
症 1 の症例対照研究、厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業 特定疾患の疫学に関する
研究班 平成 16 年度研究業績 11-20, 2005

33) 縣俊彦. 個人情報と神経線維腫症 1 定点モニタ
リングに関する研究、厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業 神経皮膚症候群に関する
調査研究班 平成 16 年度研究業績 15-28, 2005

34) 縣俊彦、高木廣文、金城芳秀、稲葉裕、黒沢美
智子. 複数の疫学調査から見た
NF1(neurofibromatosis 1) の臨床疫学的傾向、特性.
第 13 回日本疫学会学術総会. (福岡. 2003. 1)

35) 縣俊彦、高木廣文、金城芳秀、稲葉裕、黒沢美
智子、三宅吉博. 個人情報保護と疫学研究のあり方.
第 14 回日本疫学会学術総会. (山形. 2004. 1)

36) 縣俊彦、高木廣文、金城芳秀、稲葉裕、黒沢美
智子、三宅吉博. 個人情報保護と疫学研究. 第 15
回日本疫学会学術総会. (大津. 2005. 1)

37) Agata Toshihiko, Shimizu Hidesuke, Takagi
Hirofumi, Hayakawa Tosaku, Ryu Shuhei, Saiki
Keiitiro, Kinjo Yoshihide, Inaba Yutaka, Otsuka
Fujio, Niimura Michito. A study of lish
nodules(LN) of NF1(neurofibromatosis 1) in
Japan. Journal of APOO(Asia Pacific Academy of