

福岡大学病院を受診した神経線維腫症1型患者における アレルギー疾患の合併頻度とその治療

研究分担者 中山樹一郎 福岡大学医学部皮膚科教授

研究要旨

神経線維腫症1型において、様々な合併症の報告がみられるが、アレルギー性疾患の報告があまりないため、神経線維腫症1型においてどの程度アレルギー疾患の合併がみられるのか、1999年1月から2009年9月まで当科を受診した神経線維腫症1型患者について後ろ向きに調査を行った。

その結果、アレルギー疾患を合併した患者は、男性：8例、女性：18例であった。平均初診時年齢は20.3歳で、その内訳は、アトピー性皮膚炎が15例で全体の9.7%と高く、気管支喘息が11例で7.1%、アレルギー性鼻炎が2例で1.3%であった。

結論として合併したアレルギー疾患の中でアトピー性皮膚炎が最も多くみられたが、受診のバイアスがかかっている可能性があり、実際の頻度についてはより詳細な調査が必要と思われる。

今福信一、森 竜樹 福岡大学医学部皮膚科学

A. 研究目的

神経線維腫症1型において、様々な合併症の報告がみられるが、アレルギー性疾患の報告があまりないため、神経線維腫症1型においてどの程度アレルギー疾患の合併がみられるのか調査を行った。

B. 研究方法

1999年1月から2009年9月まで当科を受診した神経線維腫症1型患者について後ろ向きに調査を行った。

C. 研究結果

当科を受診した神経線維腫症1型患者は総勢154例であり、男性62例、女性92例であった。

初診時年齢の平均は全体で24.7歳であり、男性は25.5歳、女性は24.2歳であった。診療期間の平均は全体で2.03年であり、男性は1.82年、女性は2.19年であった。

男性患者の初診時年齢の内訳は、10歳までが全

体の32.3%と最も多くみられ、40歳代を除けば、その他の年齢層においてはほぼ均等に受診者がみられた。女性患者の初診時年齢の内訳は、10歳までと20歳代で最も多く、また10歳代、30歳代でも多くみられ、全体の84.7%が40歳未満に受診していた。40歳代を境に受診者数の減少がみられた（図1）。

当科を受診した神経線維腫症1型患者の初診時からの受診期間について検討したところ、初診から3年未満が101例と全体の76.5%を占め、中でも初診のみが30.3%と最も多くみられた（図2）。初診のみの患者の内訳を検討したところ、患者は各年齢に分布していたが、その人数は全体と比較して20、30歳代が少ないことが分かった（図3）。

当科における治療歴で最も多いのが皮膚手術であり、その次にビタミンD3軟膏外用が多かった。最も多かった皮膚手術を施行した52例の内訳は、男性：21例、女性：31例であった。平均診療期間は2.44年と全体の平均診療期間と比較し、やや長い傾向にあった。平均年齢は男性：34.0歳（6.5～65.9歳）、女性：30.3歳（2.2～58.7歳）であった。初診時年齢別の内訳では男性は比較的どの年齢層にも均

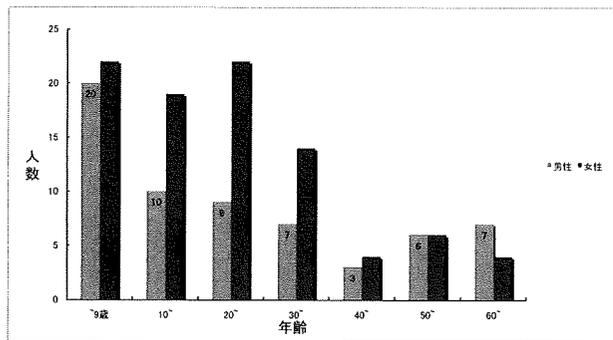


図1 受診患者初診時年齢の内訳

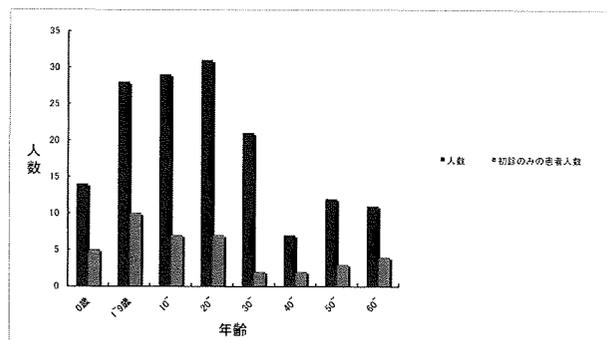


図3 初診のみの患者の初診時年齢の内訳

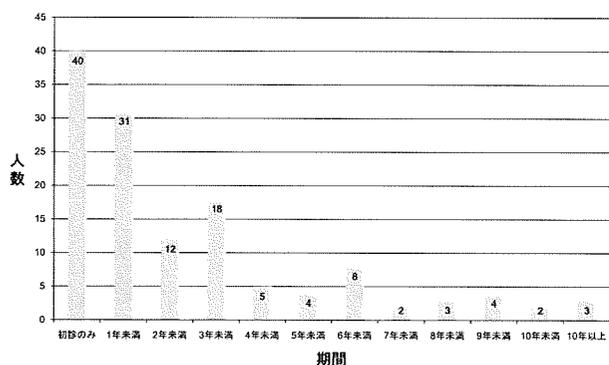


図2 患者全体の受診期間

- | | | | |
|--------|--|-------|---------------------------------|
| 泌尿器疾患 | 膀胱尿管逆流症、尿管結石、前立腺肥大 | 生活習慣病 | 不整脈、高血圧症(3例)、高脂血症(3例)、高尿酸血症、糖尿病 |
| 内分泌疾患 | 甲状腺癌、甲状腺機能異常 | 耳鼻科疾患 | 難聴、副鼻腔炎、鼻中隔彎曲、顔面神経麻痺 |
| 消化器疾患 | 胃炎、憩室炎(2例)、虫垂炎、十二指腸潰瘍、胆のうポリープ、胆石症(2例)、潰瘍性大腸炎、腸回転異常症、 | 眼疾患 | 網膜剥離(3例)、白内障、斜視 |
| 神経疾患 | 頸髄腫瘍、視神経腫、小脳腫瘍、小脳失調症、熱性けいれん、縦隔腫瘍、髄膜炎、 | 婦人科疾患 | 子宮筋腫(4例)、卵巣のう腫 |
| 整形外科疾患 | 黄色靭帯骨化症、変形性股関節症 | 精神疾患 | うつ病(3例)、詳細不明例 |
| 血液疾患 | B細胞性リンパ腫、貧血 | 外科疾患 | 鼠径ヘルニア(3例)、乳管内乳頭腫、乳癌 |
| | | その他 | 多指症 |

図4 当科におけるNF1の合併症少数例

等にみられたが、女性では20、30歳代にピークがみられた。

次に当科外来を受診した神経線維腫症1型患者154例の合併症について検討した。最も多く認められた疾患群として、アレルギー疾患が26例と全体の16.2%に認められた。また、心肺疾患の合併がこれに次ぎ14例に認められ、これは全体の9.1%にあたった。そのほかの合併症として少数例も含め、図4に示すように様々な疾患が認められた。

アレルギー疾患を合併した患者は、男性：8例、女性：18例であった。平均初診時年齢は20.3歳で、中央値は14.9歳であった。平均診療期間は2.52年と全体の平均診療期間と比較し、やや長い傾向にあった。アレルギー疾患の内訳は、アトピー性皮膚炎が15例で全体の9.7%と高く、気管支喘息が11例で7.1%、アレルギー性鼻炎が2例で1.3%であった。アレルギー疾患を合併した患者のIgEの平均値が1212IU/mlで、末梢血好酸球数の平均値は325であった。

さらに当科におけるNF1に合併したアトピー性皮膚炎15例の治療の内訳は、スキンケアのみが1例、ステロイド外用/内服が5例/1例、抗ヒスタミン剤が3例、NB-UVBが7例、不明が3例であった。

D. 考察

神経線維腫症1型の患者の約30%は初診時の診断のみが行われていた。当科での初診時年齢は10歳未満と20歳代にピークがみられ、診断の需要と手術の需要がその中心を成すと考えられた。診断のみの患者は全年齢層においてみられており、この事より10歳代以降でも診断がついていない患者がまだ一定数存在することが考えられた。またアトピー性皮膚炎は9.7%にみられ、これは一般的なアトピー性皮膚炎の合併率である10%前後と比較し、同程度と考えられた。但し、重症例はみられなかった。皮膚科外来において比較的頻度の高い乾癬は1例もみられなかった。報告例からも乾癬と神経線維腫症1型の合併はまれでアトピー性皮膚炎と比較し、合併しにくいと考えられた。

E. 結論

アレルギー疾患の合併は全体の16.2%であり、アトピー性皮膚炎は9.7%と高かったが、重症例はみられなかった。結果的にアトピー性皮膚炎が最も多くみられたが、受診のバイアスがかかっている可能性があり、実際の頻度についてはより詳細な調査が必要と思われた。

頭部びまん性神経線維腫切除時に対する 止血法に関する研究

研究代表者 大塚藤男 筑波大学大学院人間総合科学研究科（医学）
皮膚病態医学教授

研究要旨

神経線維腫症1型（NF-1）はカフェオレ斑、多発する神経線維腫や中枢神経腫瘍が特徴であることは周知であるが、なかでもびまん性神経線維腫は体表において懸垂性腫瘍となり巨大化し、腫瘍内部に幼弱な血管を多数含むことから、その切除においては相当量の出血量を覚悟して臨まねばならず、場合によっては出血多量で生命の危険にさらされることも珍しくない。本腫瘍が頭部に発生した場合、整容の見地から被髪部を温存するために部分切除に留まることが多く、病変にメスが入らざるを得ないことがほとんどであり、頭皮は血行が豊富であるという解剖学的特徴と重なりやはり累積出血量が多くなる。今回頭皮病変において、出血を軽減するための止血の工夫として、①術直前の腫瘍周囲への絹糸結紮による止血（集束結紮法）、②超音波凝固切開装置による止血切除を試み、その出血量につき検討した。結果として、集束結紮法は技術的に出水量に大きな差が生じることがあるが、超音波凝固切開装置による止血能力は良好で手技による差も生じにくいことから、今後びまん性神経線維腫の切除における止血法として非常に有用であると考えられた。

中村泰大、川内康弘 筑波大学大学院人間総合科学研究科病態制御医学専攻皮膚病態医学分野

開装置による止血切除を行った。内訳を示す。

症例1：44歳男性の後頭部に生じた7×6cmのびまん性神経線維腫（図1）。病変周囲に絹糸を結紮固定して腫瘍への血流を遮断後（集束結紮法）に切除。

A. 研究目的

頭部びまん性神経線維腫の外科治療は、整容の見地から被髪部を温存するために部分切除に留まることが多く、内部に幼弱な血管を多数含む病変にメスが入らざるを得ない。そのため、頭皮は血行が豊富であるという解剖学的特徴と重なり累積出血量が多くなる。今回、出血量を軽減するための止血法として、①術直前の腫瘍周囲への絹糸結紮による止血（集束結紮法）、②超音波凝固切開装置による止血切除を行い、その出水量につき検討した。

B. 研究方法

実際に3例の頭部びまん性神経線維腫に対し切除を行い、2例に集束結紮法、1例に超音波凝固切

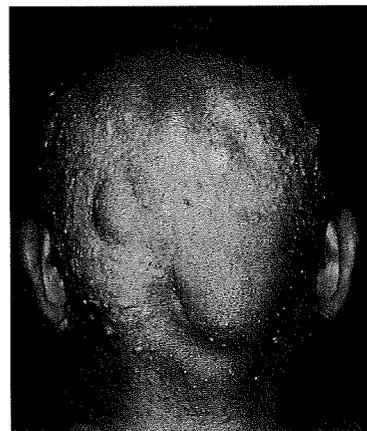


図1 症例1の臨床像

症例2：4歳男性の後頭部に生じた8×8cmのびまん性神経線維腫（図2）。集束結紮法にて切除。

症例3：16歳の側頭部に生じた6×5cmのびまん性神経線維腫（図3）、超音波凝固切開装置を用いて切除（図4）。

なお、コントロールとして25歳女性の側頭部に生じたびまん性神経線維腫に対して、上記の止血操作を行わず切除。

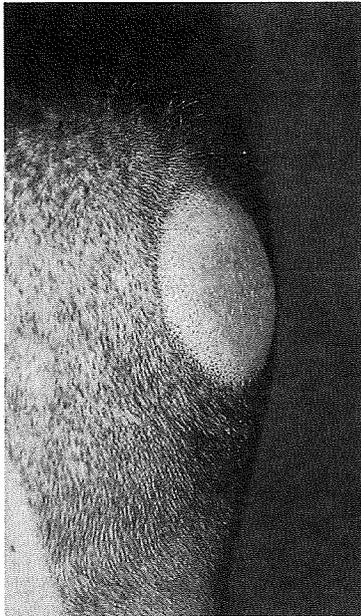


図2 症例2の臨床像



図3 症例3の臨床像

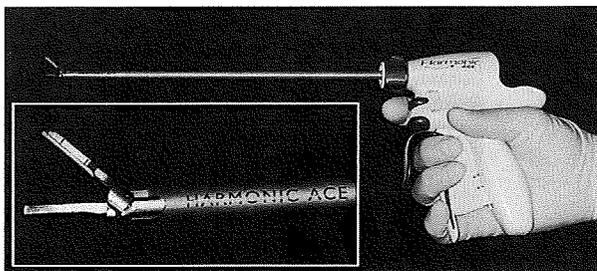


図4 超音波凝固切開装置

C. 研究結果

コントロール症例の出血量は220mlであった。

集束結紮法を用いた症例1、2の累積出血量は70ml、280mlであった。症例2に関してはコントロールより出血量が多く、原因として集束結紮時の駆血圧がやや弱かったことに起因すると考えられた。

一方、超音波切開凝固装置をもちいた症例3では出血量は50mlと最少量であった。

（図5）。

症例	止血法	創長	出血量
当院他症例	頭皮クリップ	12cm	220ml
症例1	集束結紮法	10cm	70ml
症例2	集束結紮法	8cm	280ml
症例3	超音波凝固切開装置	10cm	50ml

図5 各止血法における出血量の比較

D. 考察

頭皮の易出血性病変に対する止血法としては、これまで①頭皮クリップ、②頭皮ターニケット帯、③集束結紮法、④ネラトンカテーテルを用いたターニケット法などが報告されている。①は易出血性病変のみならず、頭皮切開時の止血において、脳神経外科領域を中心に広く行われている止血法である。しかし、びまん性神経線維腫の場合、皮下病変の厚さは正常頭皮よりも厚く、かつ厚さが不均一であるため、頭皮クリップの装着が困難なことが多い。②空気止血帯で頭皮を駆血するものであるが、普及しているとは言い難く、またその装着部位には制限があり、自験症例1のように後頭部に病変がある場合は耳介が障害となり装着が難しい。③は頭皮病変の周囲に全周性に絹糸をかけて術中止血をはかる方法であるが、欠点として術中の絹糸の結紮および抜糸に時間を要し、またその駆血圧も結紮後は調節できない。そのため、結紮が弱い時は十分な止血効果が得られず、逆に強すぎると神経血管を含む皮膚皮下組織損傷を起こす可能性がある。症例2での出血コ

ントロール不良はこの結紮時の駆血圧が弱かったためと思われた。④は③の駆血圧調節の欠点を改良したもので、病変周囲の絹糸を結紮せずネラトンカテーテル内に通してカテーテルを頭皮側に押し込み固定することでその駆血圧を調節する方法である。欠点としてはやはり絹糸の固定およびカテーテルの挿入に時間を要することが挙げられる。

一方、超音波凝固切開装置（Harmonic Scalpel II、Autosnix、Sono-surgi-G2）は47,000～55,000Hzで先端が10～200 μ mの振幅で振動し、血管などの硬い組織に対しても器械的な切開と蛋白変性による凝固作用を起こして止血作用を発揮する。既に外科領域では肝切除や筋切開など出血が多い臓器の切開に広く用いられている。今回自験症例3でびまん性神経線維腫の切除時に試みたが、腫瘍切除時も出血はほとんどなくその止血効果は良好であった。今後びまん性神経線維腫切除の際の止血の新たな一法になると考えられた。

E. 結論

本研究の結果、頭部のびまん性神経線維腫切除時の止血としては、超音波凝固切開装置がその止血

能力の高さ、準備および手技の簡便さから、今後止血法の新たな一方として広く普及する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

頭部びまん性神経線維腫切除時の止血の工夫：中村泰大、石塚洋典、里見久恵、石井良征、川内康弘、大塚藤男（日本Recklinghausen病学会雑誌投稿中）

2. 学会発表

頭部びまん性神経線維腫切除時の止血の工夫：中村泰大、石塚洋典、里見久恵、石井良征、川内康弘、大塚藤男

第1回日本Recklinghausen病学会（2009）

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

神経線維腫症に伴う悪性末梢神経腫瘍に関する研究

研究協力者 坂根正孝 筑波大学大学院人間総合科学研究科准教授

研究要旨

神経皮膚線維腫症にともなう悪性末梢神経腫瘍の症例3例を検討した。2例は後腹膜発生の巨大腫瘍で、部分切除にとどまった1例は局所再発、遠隔転移を呈した。また、頸部腕神経叢部に発生した症例は、脊髄内に急速に進展し死亡に至った。早期発見と集学的治療が必要である。

A. 研究目的

神経皮膚線維腫症に伴う末梢神経由来悪性腫瘍の症例を Retrospective に調査する

B. 研究方法

2002年4月より2009年8月までに、筑波大学整形外科に入院、手術を施行した神経皮膚線維腫症を調査した。

C. 研究結果

末梢神経由来悪性腫瘍を合併した症例は、3例であった。後腹膜に巨大腫瘍を呈した2例では、椎体に浸潤し部分切除となった症例では、短期で局所再発、遠隔転移を生じ、化学療法、放射線療法に抵抗した。全切除可能であった症例は、術後2年で再発は起こっていない。

頸椎、脊柱管内、腕神経叢に発生した症例では、急速浸潤し、化学療法、放射線療法に抵抗し、発症後3週で呼吸不全12週で死亡となった。病理では、MPNSTとPNET、Triton腫瘍の混在した像が認められた。

D. 後腹膜に発生する腫瘍は、悪性化の可能性が高

いといわれているが、当院でも悪性化した3例中2例は、短期間に増大する後腹膜腫瘍であった。

E. 結論

神経皮膚線維腫症に伴う後腹膜腫瘍は悪性化を疑わせる所見である。

F.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Neurofibromatosis1（NF1）にみられる Unidentified Bright Objects（UBOs）

研究分担者 倉持 朗 埼玉医科大学皮膚科教授

研究要旨

他国に住んでいる NF1 の児が頭痛・嘔吐のため MRI 検査を受け、多発する UBOs が脳腫瘍と診断されたことを契機に、UBOs の自験例を見直した。NF1 で UBOs は 2 歳以降で高率にみられ、淡蒼球・内包・大脳脚・小脳・脳幹に好発する傾向がみられた。浮腫や、周囲への mass effect は無く、通常の占拠性病変で生じるような神経学的所見はみられなかった。長期の経過で消退に至ることが予測されたが、実際に観察しえた期間の間には、不変のもの、明瞭化するもの、消失するもの、それぞれの症例があった。T2 強調画像で高信号を呈する領域は、組織学的に、髄鞘の空胞変性・海綿状変化、グリア細胞の異常増殖が観察されるとされるが、1 剖検例において、UBOs 部位に、Holzer・GFAP 両染色で染色される巣状病変と、強拡大で線維性グリアの増生を認めた。但し UBOs の本態が、(グリオーシス、Waller 変性、白質異形成など) 他のものである可能性があるし、UBOs が heterogeneous なものである可能性もある。UBOs と呼称されるものは、MRI 画像上、ヴァリエーションがあるものの、T2 強調画像や FLAIR で高信号、造影剤による造影効果を欠き、また拡散強調画像で高信号、ADC 値は高値を呈するもの、と、一応要約することが出来る。われわれは以前より non-NF1 のコントロール群と比べ、NF1 では ADC 値が中小脳脚・視床・淡蒼球で (T2 で異常信号を呈さなくとも) 有意に高い値であることをみだし、ADC 測定が、NF1 の脳組織学的変化の指標のひとつになりうることを報告してきた。しかし ADC 値は、NF1 の UBOs の初期の病変の検出にも、また UBOs がどのような経過 (運命) を辿るかという予測にも、有効であった。また、ADC 値は、それ以外にも、Astrocytoma など腫瘍性病変と非腫瘍性病変の鑑別に (ときに MRS のような他の modality を併用して-) 役立ったり、神経学的な臨床症状との相関を示しうる、何らかのヒントを提供する可能性があるのではないかと考えている。

西川 亮 埼玉医科大学国際医療センター脳神経外科教授
水越和歌 埼玉医科大学国際医療センター画像診断科講師
田中淳司 埼玉医科大学放射線科教授
林 雅晴 東京都神経科学総合研究所神経発達・再生研究分野

やその他の画像診断は、重要なものであるが、NF1 においても、臨床症状に応じ、妥当な画像診断が選択・施行され、診断・治療に寄与している。NF1 に生じる有名な中枢神経病変には、(本邦の患者での発生頻度は低い) 欧米では NF1 診断基準の 1 項目となっている、Optic Pathway Glioma (組織学的には Pilocytic Astrocytoma である一自験例として、図 1 に、2 歳 NF1 女児症例を示す) や、Pilocytic Astrocytoma (一図 2 に、12 歳 NF1 女児の症例、一視神経・松果体部に多発性に生じた Pilocytic Astrocytoma 症例の MRI 所見を示し、図 3 に、図 2

A. 研究目的

さまざまな神経皮膚症候群の中中枢神経病変の描出、またその性状そのものの理解のために、MRI

症例の病理組織所見を示す一)、Glioblastoma、さらに Moya-Moya disease (図4に30歳NF1女性症例を示す)が、まず挙げられる。

しかしNF1の臨床に従事するものにとって、もうひとつ忘れてはならない中枢神経病変に、

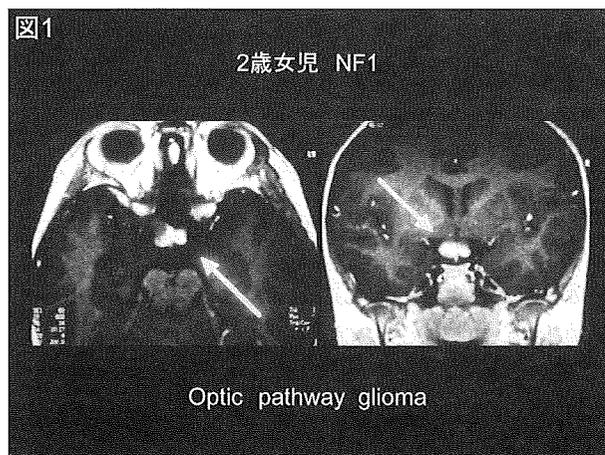


図1

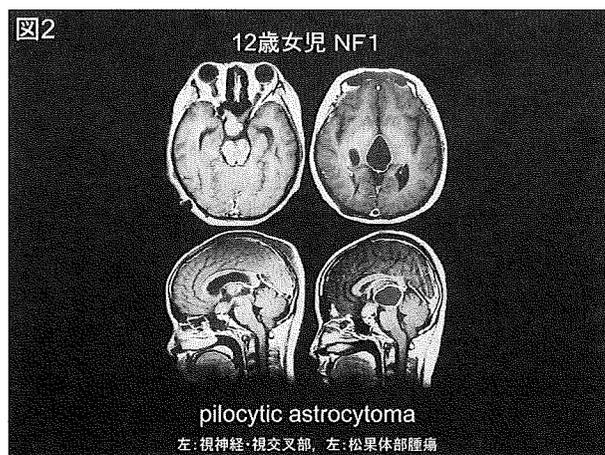


図2

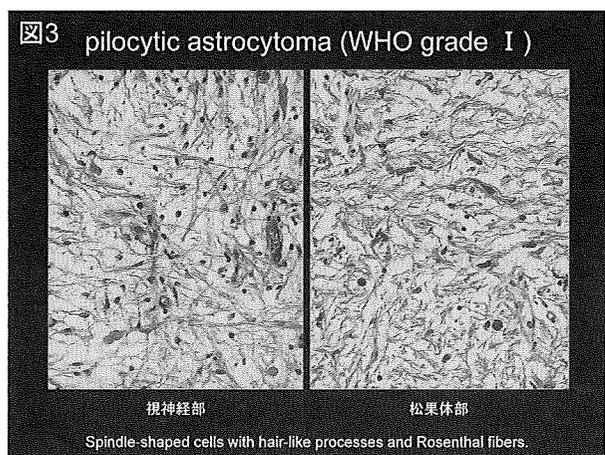


図3

Unidentified Bright Objects (UBOs)がある。今回、次に示す症例を経験し、再度その重要性を痛感した。従来われわれは、この研究班に於いて、自験例に基づき、(部位、みつかった時期、患者の性などの)UBOsの統計や、NF1に生じるUBOsの画像診断法などを報告してきたが、今回は、前述の理由から、“NF1のUBOsの代表的な症例そのもの”を提示し、常時認識しておかなくてはならない形態のヴァリエーションや、性状、また、さまざまな経時的変化をまとめる。

症例提示：12歳男児 NF1

ヨーロッパの或る国から、児の両親から、緊急の連絡が入った。児が前日より、頭痛を生じ、その日の朝から、繰り返し嘔吐がみられた。この国の脳神経クリニックを受診、MRIを撮ったが、その結果、可及的早く、開頭手術をしなくてはならないといわれた。

この児は、日本人で、1歳7ヶ月時より、埼玉医大皮膚科でフォローしている。以前より、特に症状があるわけではないが、MRI上、T2-high intensityの領域を認めていたために、それらを振り返り、確認した。われわれの診断は、脳腫瘍ではなく、“UBOs”であった。図5、6、7に、4歳時から7歳5ヶ月時に至る経時的変化を示す。橋、小脳脚、小脳歯状核、両側海馬傍回にT2-high intensityの領域をみる。当初、橋の腫大があるようにみられた所見も、後に目立たなくなっている。全資料を、児が現在滞在する地に送ったが、この国で施行されたMRI所見も、ほぼ同様の所見であった。児は、その後、数日で完治し、手術は行われなかった。児に生じた頭痛・嘔吐は、かぜ症候群、ウイルス性腸炎

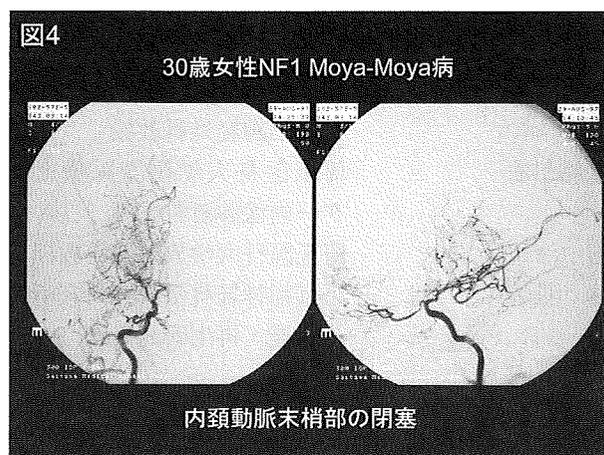


図4

に起因するものと、推察された。頭痛・嘔吐で訪れたため、MRIで描出されたUBOsが、多発性の脳腫瘍と考えられたのであろう。以後、現在に至るまで、児は無症状のまま経過している。

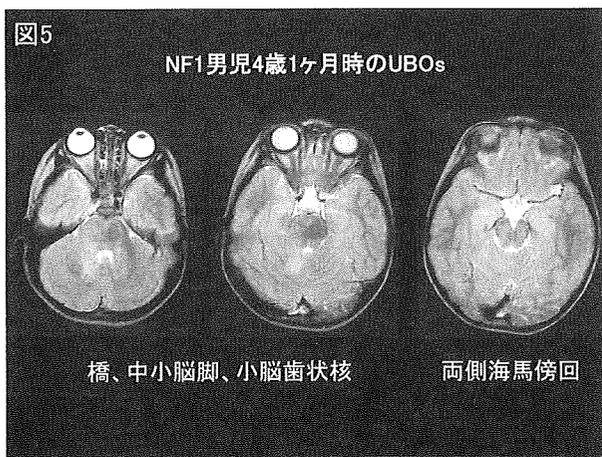


図5

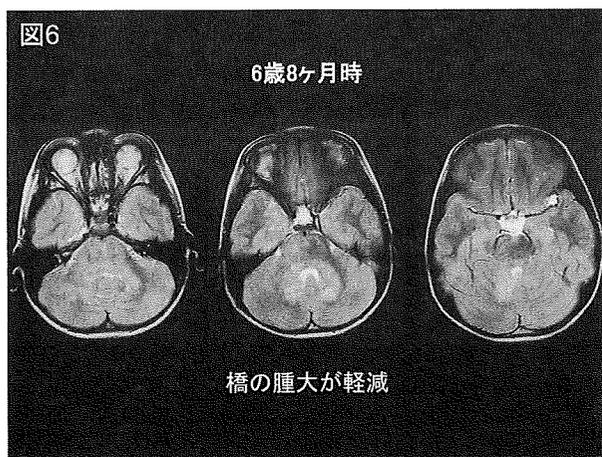


図6

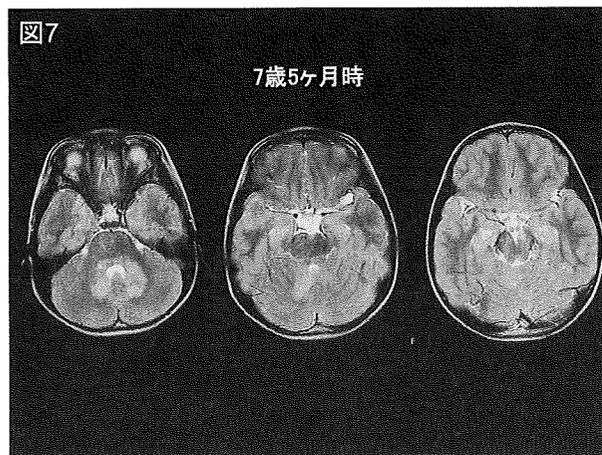


図7

B. 研究方法

MRI装置は、シーメンス社製Symphony1,5 Teslaを使用した。通常のT1、T2強調画像、FLAIR画像に加えて、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、b factorは 0.1000s/mm^2 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、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。この場合、測定部位は、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。

倫理面の配慮;MRI検査に於ける危険性を充分説明、同意を得た。得られた結果についても検査後、患者家族に正確に説明することを、前もって話し、そのようにした。

C. 結果

NF1自験症例での頭部MRI所見をまとめてみると、UBOsと呼称される病変について、まず、以下の特徴が挙げられた。

- ①UBOは、頭部MRIで、NF1の児に観察されるT2強調画像で高信号を呈する病変である。T1強調画像では多くが等信号で、Gd造影剤による造影効果を欠いた。FLAIR画像では高信号を呈した。また拡散強調画像では高信号、ADC (apparent diffusion coefficient) 値は高値を示した。
- ②淡蒼球、内包、大脳脚、小脳、脳幹部などによくみられた。
- ③浮腫や、周囲へのmass effectは認められず、通常の占拠性病変で生じるような神経学的所見はみられなかった。
- ④UBOsは、2歳以上の児で、より高率にみられるようになった。
- ⑤10歳ころからは縮小していくものが多く、消失に至るものも多くみられた。

症例の呈示

実際の症例中、UBOsの臨床的性格を示す、代表的と考えられる症例を次に示す。

- 1) UBOsは症例ごとに、種々の部位でみられる。図8に、7歳女兒、5歳男児、6歳女兒にみられた種々の部位のUBOs (T2強調画像で観察されたもの)を示す。図9には、10歳2ヶ月男児にみられたUBOsのT1、T2、FLAIR画像所見を示す。ここではFLAIR画像の方がT2より明

瞭であるが（水の中に隠れていたり、水に接する部位にある病変の検出では、FLAIRの方がT2での描出より勝る）、図10（図9と、同一症例）に示す中脳UBOs、などの検出には、T2の方がより分りやすかった。

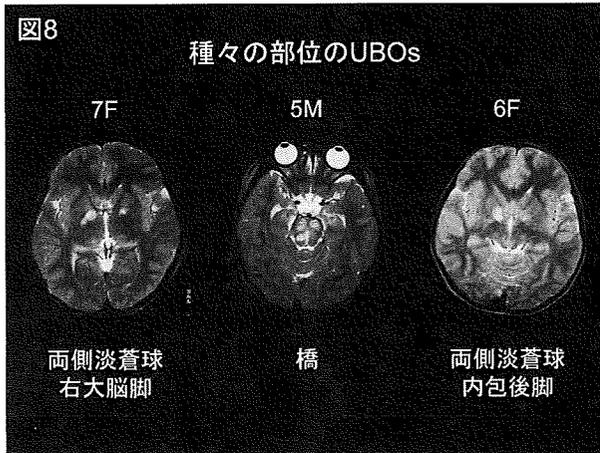


図 8

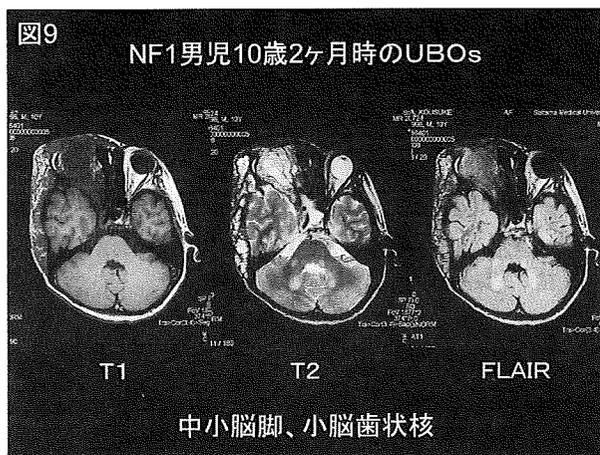


図 9

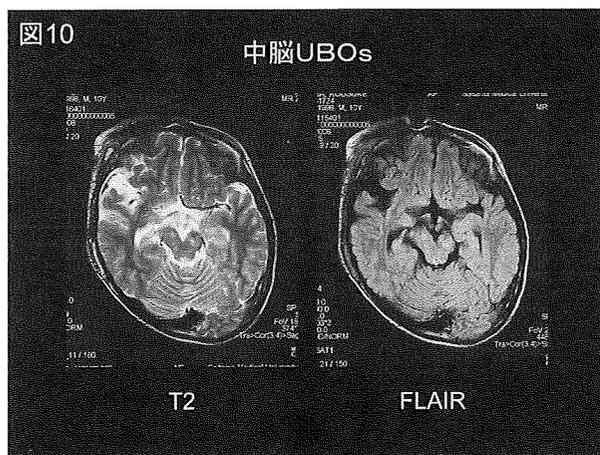


図 10

2] UBOsの経時的変化—当然のことながら、長期間の観察がなされれば、その多くが消失するに至る可能性があるが、NF1症例での、われわれが実際に追った、“数年の間での観察”では、UBOsに変化のみられぬもの、明瞭化するもの、消退するものの、いずれもがあった。図11は、このうち14歳から15歳に至る1年1ヶ月の間に明瞭化した、左視床外側UBOであり、図12は14歳7ヶ月時には消失が確認された左淡蒼球内側のUBOの所見である。

3] ADC値の検討

- a) NF1症例では non-NF1の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。橋、大脳脚、前頭葉白質ではコントロール群との間に、有意差は認められなかった（平成18年度に報告済み）。
- b) NF1の児では、T2強調画像では異常所見が無いような場合でも、ADC値が高い値を示す部位がしばしばみいだされた。T2高信号に先立

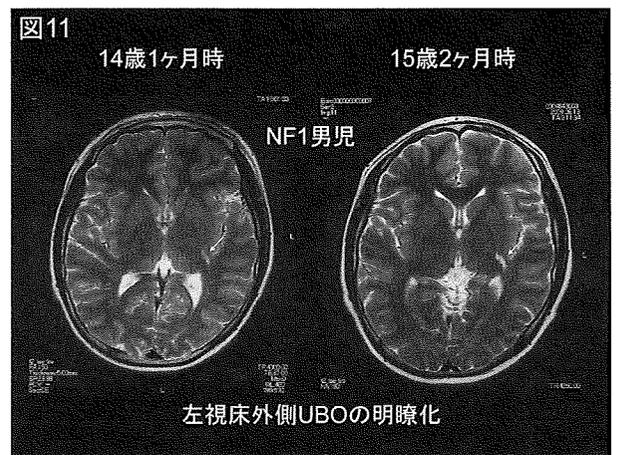


図 11

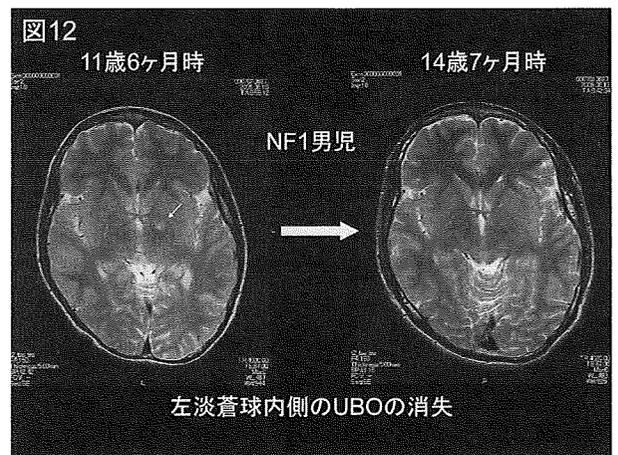


図 12

つ、ADC 値の上昇は、鋭敏に病巣を検出する、具体性のある一指標として、今後使用できる可能性がある」と推察した。

○図 13 の症例；7ヶ月の NF1 女児である。T2 強調画像では異常を示さないが (a)、ADC 値が軽度高値を示している左小脳半球 (b) において、1年6ヵ月後、T2 強調画像で高信号を示す、UBO といってよい病変が出現 (c) した。またその部位での ADC 値に、明らかな上昇 (d) が認められた。

○図 14 の症例；7歳の NF1 女児である。両側淡蒼球に T2-high の領域がみられ (a)、これらの部位では ADC 値の有意な上昇があった (b)。3年の後、右淡蒼球病変はほぼ判別できなくなり、左側病変も縮小した (c) が、ADC map では、これら両者の ADC 値の低下が認められた (d)。

4) UBOs の組織学的検討

林、岩崎の症例一、剖検例での検討を示す。今

回のわれわれの報告中、UBO での組織学的検討がなされた症例はこれのみである。従って、UBO の本態が、その他のものである可能性や、heterogeneous な病変である可能性も、もちろんあるわけであるが、今回の報告では、それらについては言及できない。

UBOs は、グリア細胞・線維の軽度増加と、有線線維の軽度減少を反映していると考えられた。UBOs は一種の過誤腫的な、加齢により目立たなくなるグリア細胞病変ともいえる。

○図 15、16 の症例；4歳時に NF1 と診断された児で、5歳時に急性リンパ性白血病を発症、心室性期外収縮、好酸球増加症に伴う肺病変、呼吸不全を来し、永眠された。MRI、T2 強調画像で多数の UBOs が認められていたが、剖検時の検討で、視床、海馬 CA3・CA4 領域、小脳白質、橋底部、延髄背外側部に、Holzer 染色で濃染し、GFAP 染色で陽性を示す巣状病変が、多数認められ、強拡大では線維性グリアの増

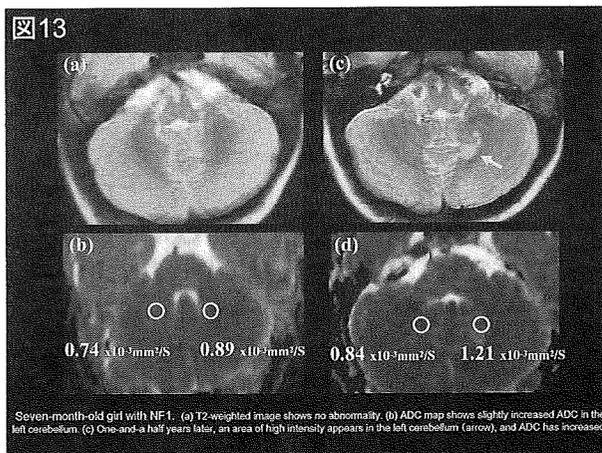


図 13

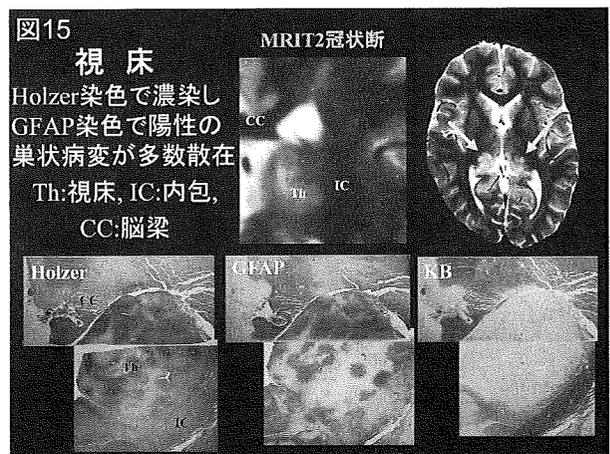


図 15

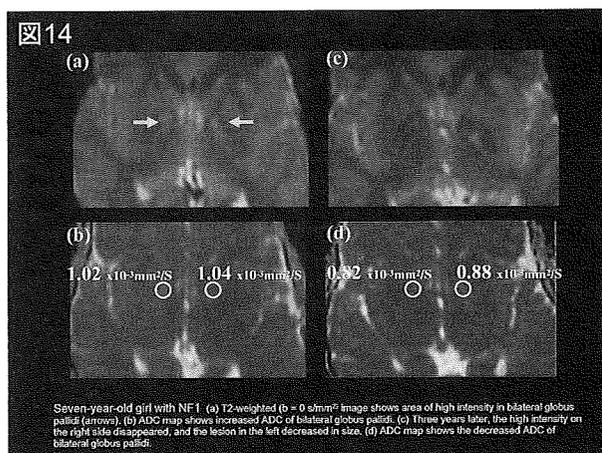


図 14

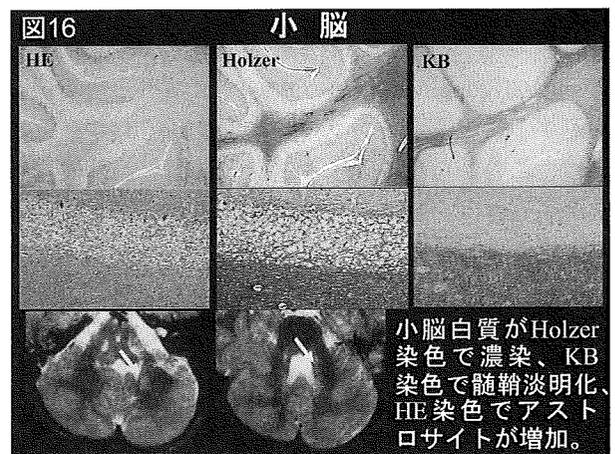


図 16

生が認められた。図 15、図 16 に、これら MRI と、組織学的所見を示す。

D. 考案

今回われわれが実際に経験した NF1 の UBOs について、その所見として、代表的といえる症例を、整理して、示した。NF1 にみられる UBOs は、NF1 のみに観察されるのではないのだとしても、NF1 の病態に関わり、NF1 で重要視されるべき病変であると、考えられる。他の RASopathy、RAS/MAPK syndrome に属する、ほかの症候群 (Noonan 症候群や、LEOPARD 症候群、CFC 症候群など) に、UBOs がみられるのかどうか、は、もちろん検討しておくべきであろう。また、以前から、UBOs を NF1 の (とりわけ小児の NF1 での) 診断基準にいれるべきである、という意見がある。

UBOs の本態はいまだに不明である。われわれが平成 18 年度に報告した事柄の基礎的な考えは、NF1 における ADC 値の上昇は、myelin 障害による myelin 容積の低下や、軸索数減少に基づく細胞外液腔の拡大として、解釈できるのではないかと、いうことである。DiPaolo らにより報告された剖検例での検討と、この考えは近い。すなわち UBOs が、組織学的に、神経軸索を取り巻く髄鞘にみられる海綿状の空胞形成、を本態とするならば、空胞に貯留した液体が、T2 高信号として、画像上描出されることになろう。この浮腫性の変化—そして、myelin 組織の中の水、と考えられる vacuole、という説明は、その後、消失すること (—1 種の修復機序であろうか?—) からも納得しやすい。今回示した林、岩崎症例での組織学的な検討も、この考えかたをサポートしうるものといえる。

UBOs が NF1 に specific にみられるのだとするのなら、(部分的な髄鞘化の異常が、NF1 で生じる背景として、) NF1 遺伝子では Oligodendrocyte—Myelin Glycoprotein gene (OMGP) という、髄鞘化に関連する遺伝子がイントロンに含まれており、そのため、この髄鞘化に関する遺伝子に何らかの機能異常が生じれば、部分的な髄鞘化を来す、という考え方は成立しうる。

UBOs の発生機序は未知であるが、様々な機序が推測されており、それぞれに魅力的な考え方も用意されている。UBOs が種々の病態を含んだ heterogeneous なものである可能性も (以前からしばしば言われているように) ある。現実的な問題としては、まず ADC 値測定が、NF1 の脳組織学的変

化の一指標となろう。腫瘍性病変・非腫瘍性病変との鑑別のための有効なストラテジー、また臨床症状との相関をしめす、簡便な画像的マーカーになる可能性も、あるのではないかと考えている。

他の画像診断との組み合わせも、有効かもしれない。たとえば、臨床的なセンスとして、(われわれの多くは) UBOs が後に脳腫瘍に発展することは無い、と信じ込んでいるが、このこと真偽についても実は決着がついているわけではない。このときに有用で、MRI に併用すべきと考えられているのが MRS (脳 spectroscopy) で、通常観察される UBOs では各代謝物質が低下しているのに対し、腫瘍化 (および悪性化) したものでは細胞質代謝の破壊や亢進と相関すると考えられている Cho (コリン) が増加する、というものである。

腫瘍が、T2 強調画像で高信号、拡散強調画像で高信号、ADC 値は低値、造影効果を有し、mass effect を有するのに引き換え、UBOs とよばれる病変の画像上の所見、—その或る一定の所見—は、T2 強調画像で高信号、拡散強調画像で高信号、ADC 値は高値、また、造影効果を伴わず、mass effect が無いもの、と一応まとめることが出来る。

Optic Pathway Glioma や Pilocytic Astrocytoma、Glioblastoma、また Moya-Moya disease など、他の NF1 との合併が著名なものとともに、UBOs は、NF1 における存在を、認識しておくべき病態であろう。

E. 研究発表

倉持 朗 Neurofibromatosis1 (NF1) にみられる Unidentified Bright Objects (UBOs)

第 1 回 日本レックリングハウゼン病学会; 2009 年 11 月 15 日; 東京

F. 知的所有権の出願・登録状況

特になし

実際に UBOs をみておられる次の諸先生から、重要な助言を頂きました。深謝いたします。

岡 明先生、水口 雅先生、大野耕策先生、小野陽一先生、林 雅晴先生 (共同発表者)。

参考図書

1. Glia 細胞 生田房弘ほか クバプロ 1999
2. 神経病理を学ぶ人のために (4 版) 平野朝雄ほか 医学書院 2003

3. 神経 機能と病態 金澤一郎ほか 中外医学社 1988
4. 小児神経学 有馬正高ほか 診断と治療社 2008
5. 脳腫瘍臨床病理カラーアトラス 日本脳腫瘍病理学会 医学書院 2009
6. 脳MRI (2)高橋昭喜ほか 秀潤社 2008
7. 脳神経科学 伊藤正男ほか 三輪書店 2003
8. Fundamental Neuroscience (Third Ed.) Squire LR et al (Eds) Academic Press, Burlington 2008
9. 脳科学のコスモロジー 藤田哲也ほか 医学書院 2009
10. 診療実践小児診療科 大野耕作ほか 診断と治療社 2008
3. DeBella K et al, Neurology 54; 1646-1651, 2000
4. Lopes Ferraz Filho JR et al, Pediatr Radiol 38; 305-310, 2008
5. Habib AA et al, Oncogene 16; 1525-1531, 1998
6. Dipaolo DP et al, Radiology 195; 721-724, 1995
7. Szudek J et al, Pediatr Neurol 27; 123-127, 2002
8. Alkan A et al, Eur J Radiol 56; 229-234, 2005
9. Zamboni SL et al, AJNR 28; 773-776, 2007
10. Eastwood JD et al, Radiology 219; 354-358, 2001
11. Mori H et al. J Comput Assist Tomogr, 25; 537-539, 2001
12. Kraut MA et al. Am J Med Genet 129A; 113-119, 2004
13. Tognini G et al. J Comput Assist Tomogr, 29; 298-304, 2005
14. 西川 亮ほか Neuro-Oncology 9; 50-53, 1999
15. Ogura T et al, Pediatr Neurosurg 40; 301-305, 2004

参考文献

1. Yokota O et al, Acta Neuropathol 116; 57-66, 2008
2. Johnson M et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry 68; 683-646, 2000

融合プロテオミクスによる神経系細胞分化に関わる NF1 腫瘍抑制遺伝子関連タンパク質の解析

研究協力者 荒木令江 熊本大学大学院生命科学研究部腫瘍医学分野准教授

研究要旨

神経線維腫症 1 型 (NF1) は、多発性神経線維腫を始め多彩な病態を示す遺伝性疾患である。NF1 の原因遺伝子産物 Neurofibromin は Ras-GAP 相同領域を有し、その機能の欠損による Ras を介した細胞内シグナル伝達異常は、神経系細胞の増殖と分化異常を誘発し、NF1 の病態に関わるとされる。Neurofibromin の神経系細胞内機能とその欠損による細胞増殖分化異常の機構を明らかにするため、RNA 干渉 (siRNA) 法を用いた NF1 発現抑制によって、神経系細胞 PC12 に及ぼす NGF による分化誘導への影響を解析し、生じた表現形の細胞内責任シグナル分子群を、融合プロテオミクスを用いて詳細に検討した。siRNA により NF1 発現を抑制した PC12 は、神経突起伸長が経時的に阻害され、細胞骨格系の制御異常、運動能の亢進が観察された。NF1 発現抑制細胞およびコントロール細胞より蛋白質を抽出し、高感度プロテオミクス iTRAQ 法を用いて、LC-MALDI-TOF-TOF および LC-ESI-QqTOF による定量的発現変動解析を行った。現在までに約 1600 種の PC12 細胞内発現蛋白質を同定し、その内、NGF 刺激によって特異的な発現差異を示す 72 種の蛋白質を同定した。これらには既知の NGF 誘導分子のみならず、神経系細胞分化と細胞死抑制に関わる新規機能分子群が含まれることが判明した (Kobayashi et al. Mol. Cell. Proteomics 2009)。さらに NF1 発現抑制により、NGF 刺激 PC12 内で特異的に発現が変動する 38 種の蛋白質を確認した。これらには Rho、Rac、Cdc42、Rab、ERK、PAK、PI3K に加えて、新規の腫瘍関連分子である mTOR 経路調節因子 Translationally controlled tumor protein (TCTP) 等が含まれており、これらが総合的に神経系細胞分化異常と腫瘍形成に関連すると考えられた。NF1 発現に連動する新規分子 TCTP を中心とした分子ネットワークに注目し、その詳細な機能について検証した。

小林大樹 熊本大学大学院生命科学研究部腫瘍医学分野研究員
平山未央 熊本大学大学院生命科学研究部腫瘍医学分野院生
尹 浩信 熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学分野教授

A. 研究目的

神経線維腫症 1 型は、多発性神経線維腫を始め多彩な病態を示す遺伝性疾患で、原因遺伝子産物ニューロフィブロミンは、Ras-GAP 相同領域を有

し、細胞内シグナル伝達の重要な調節因子と考えられている。近年のマウスを用いた研究により、多発性神経線維腫は、細胞-細胞間および細胞-マトリックス間の相互的なシグナルの異常が形成の誘引と考えられている。特に、これまでに、ニューロフィブロミンの発現低下に伴い活性化された Ras-MAPK pathway を介した異常な細胞増殖や神経系分化異常が関与することが想定されているが、この事象のみでは多発性神経線維腫のみならず、NF1 の多彩な病態形成メカニズムを詳細に説明することはできない。また、ニューロフィブロミンの発現低下に起因すると思われる様々な所見が多々報告されてい

ることからも、ニューロフィブロミンには、更なる未知の機能が存在するのではないかと推測される。本研究では、ニューロフィブロミンの細胞内機能とNF1の病態（多発性神経線維腫形成、神経系細胞分化異常）との関連性を明らかにするために、RNA干渉（siRNA）法を用いたNF1発現抑制によって、神経系細胞に及ぼす分化誘導への影響を解析し、生じた表現形の細胞内責任シグナル分子群を、融合プロテオミクスを用いて詳細に検討した。

B. 研究方法

NF1発現抑制細胞およびコントロール細胞より蛋白質を抽出し、トリプシン分解により得られたペプチドをiTRAQ試薬で修飾し、LC-MALDI-TOF-TOFおよびLC-ESI-QqTOFを用いてiTRAQ修飾ペプチドの同定と定量解析を行った。さらに発現変動した蛋白質の機能を、siRNAを用い、細胞生物学および生化学的解析により行った。また、NF1患者の腫瘍部位よりprimary培養細胞を単離し、それら細胞内におけるNF1病態関連分子の役割について、細胞生物学および生化学的解析により検証した。（倫理面への配慮）

NF1患者の腫瘍組織は、熊本大学病院皮膚病態治療再建学の尹浩信教授より、熊本大学倫理則に従って御供与いただいた。

C. 研究結果

1. プロテオミクス手法を用いたNF1病態関連分子群の同定

現在までに約1600種のPC12細胞内発現蛋白質を同定し、その内、NGF刺激によって特異的な発現差異を示す72種の蛋白質を同定した。これらには既知のNGF誘導分子のみならず、新規の機能分子群が含まれており、これらの機能解析と細胞生物学の検証を行うことによって、神経系細胞分化と細胞死抑制に関わる新規機能分子群であることが判明した（Kobayashi et al. Mol. Cell. Proteomics 2009）。さらにNF1の発現抑制により、NGFで刺激したPC12内で特異的に発現が変動する38種の蛋白質を確認した。発現上昇を示した蛋白質には、mTOR経路の調節因子であるTranslationally controlled tumor protein (TCTP)が含まれており、NF1抑制細胞内でのTCTPの発現上昇をWestern Blottingにより確認した（図1）。次にNF1 siRNAで処理し、NGFで刺激したPC12細胞を、さらにTCTP siRNAで処理し、その表現形を観察した。Cy3でラベルされた

NF1 siRNAを処理したCy3-positive細胞において、神経突起伸長が顕著に阻害されていることが確認さ

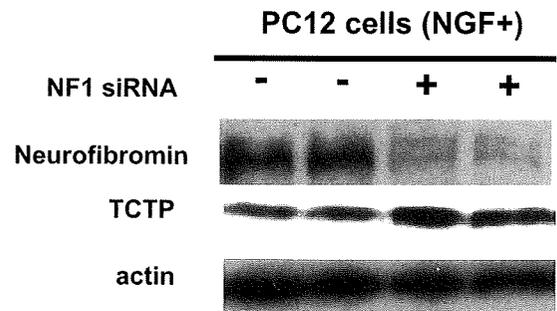


図1 NF1 siRNAによって発現抑制（Knock Down: KD）されたPC12細胞内のNeurofibrominと、NF1 KD細胞内で上昇する分子として同定されたTCTPのWestern Blottingによる発現の確認

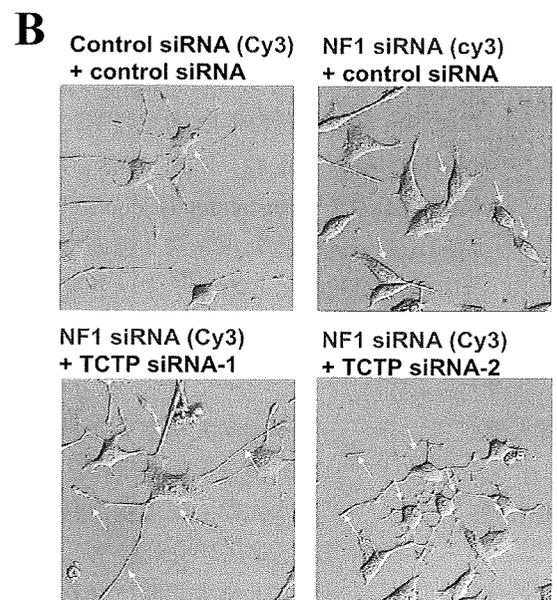
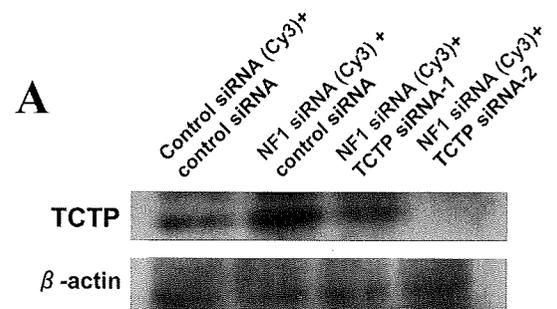


図2 NGF刺激後のNF1 KD PC12細胞内でのTCTP発現抑制による細胞形態の変化

A: Cy3標識NF1 siRNA及びcontrol siRNA処理PC12細胞内でのTCTP siRNA-1/-2によるTCTPの発現抑制の確認（Western Blotting解析による）

B: Cy3標識NF1 siRNA及びcontrol siRNA処理PC12細胞（黄色矢印）の神経様突起発現抑制と同細胞内でのTCTP発現抑制による神経様突起発現と伸長の回復（白色矢印）

れたが、おもしろいことに、さらにその細胞に TCTP siRNA 処理すると、神経突起を特異的に伸長回復した NF1 欠損細胞が観察された (図 2)。この結果から、NF1 の knockdown (KD) により阻害されていた神経突起伸長および進展維持機構が、NF1 発現抑制によって増加する TCTP をさらに抑制することによって正常化 (回復) したのではないかと考えられた。

2. NF1 患者の neurofibroma 腫瘍部位由来 primary culture cell 内における NF1 病態関連分子の発現と機能

NF1 患者より切除された neurofibroma 腫瘍部位を提供して頂き、その組織より細胞の単離を行った。腫瘍組織の周囲の部分より fibroblast 様の細胞 (NF fibroblasts)、腫瘍部位より肥大化している紡錘形の細胞 (NF PT cell) を単離した。Western Blotting の結果、両細胞は正常の fibroblast と比べて neurofibromin の発現が顕著に抑制されており、特に PT cell においては neurofibromin の発現が欠失していることを確認した (図 3)。

この NF fibroblasts および PT cell の NF1 の機能を Erk の活性化により検討した。無血清条件下で培 1 日養した両細胞を低濃度の血清添加 (1% FBS) によって刺激し、変動するリン酸化 ERK を経時的に Western Blot により検出した。無血清培養条件下においても、PT cell は fibroblasts よりも ERK が高レベルで活性化しており、さらに血清刺激による ERK の活性化が、PT cell はより長時間に渡って高く持続していた (図 4)。PT cell 内で、NF1 の機能欠失に

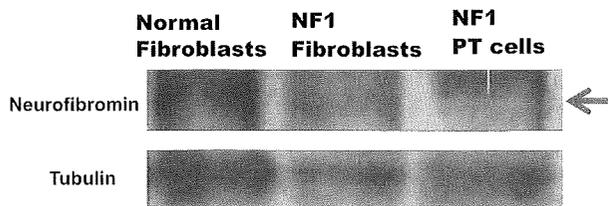


図 3 正常、および NF1 患者皮膚及び腫瘍組織由来培養細胞内 Neurofibromin 発現量の Western Blotting 解析

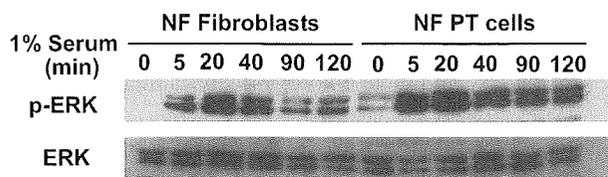


図 4 NF1 患者皮膚および neurofibroma 組織由来培養細胞における、血清刺激による MAP kinase/ERK 活性の経時変化の比較

よる RAS の活性化が起こっていると考えられた。

NF fibroblasts、NF PT cell 両細胞の TCTP の発現を Western Blotting および免疫染色により検討したところ、PT cell は fibroblasts に比べて TCTP を高発現していることが判明した (図 5)。そこで、両細胞に TCTP siRNA を処理し、TCTP 発現抑制による細胞の表現型を観察した。Western Blotting 解析の結果、2 種の siRNA の内、TCTP siRNA-2 で顕著な発現抑制効果が見られ、TCTP siRNA-2 を処理した PT cell は、処理前の特異的な肥大化した紡錘状細胞形態から、正常 Schwann 細胞様へと形態変化することが観察された。この結果から PT cell 内において、NF1 機能欠失による TCTP の発現亢進に伴って腫瘍化した細胞が、TCTP を特異的に抑制することによって、正常 Schwann 細胞様に形態を回復 (正常化) したのではないかと考えられた (図 6)。

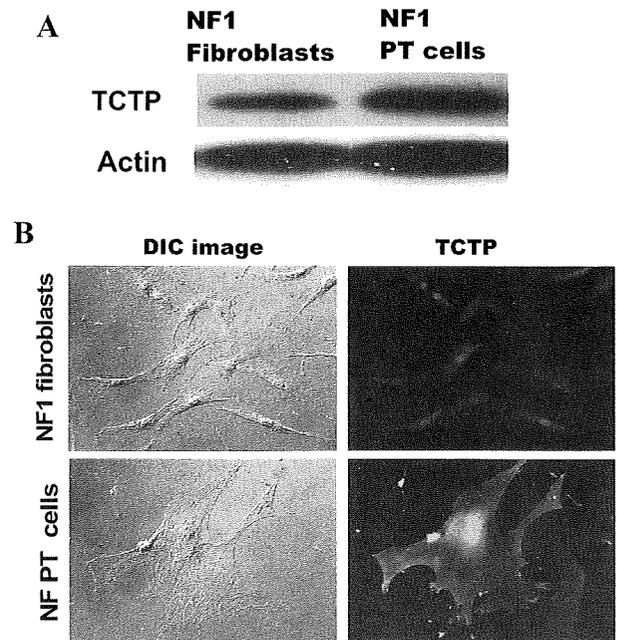


図 5 NF fibroblasts および NF PT cell 内の TCTP の発現様式の解析: Western Blotting (A) および免疫染色 (B) (TCTP: green) による解析

D. 考察

今回、NGF で刺激した PC12 内で NF1 発現抑制により、特異的に発現上昇する蛋白質を 34 種同定した。その中で mTOR 経路の調節因子である Translationally controlled tumor protein (TCTP) に注目した。NF1 siRNA 処理による PC12 内 neurofibromin の抑制に伴って神経様突起伸長が抑制されるとともに、顕著な TCTP の発現上昇を Western Blotting と免疫染色により確認した。又、NF1 患者腫瘍

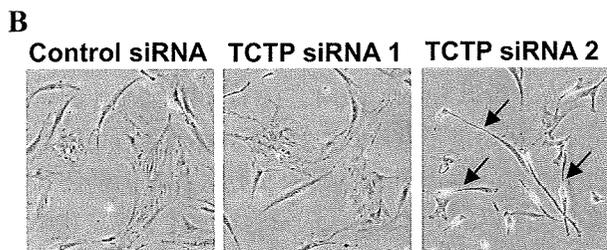
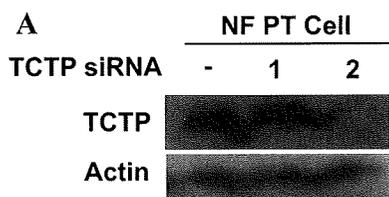


図6 NF1 PT cell の TCTP 発現抑制による表現形の変化 (矢印: 細胞の顕著な spindle 様形態変化、TCTP siRNA1 は TCTP 抑制効果が非常に弱い、TCTP siRNA2 は顕著である)

由来の NF1 欠失細胞においても TCTP が顕著に発現上昇していることが判明した。NF1 の機能欠損が TCTP の発現を上昇させる要因は、Ras-MAPK シグナル経路の活性化が引き金になっていると考えられ、以下のような仮説を提唱した。すなわち、NF1 の欠損を伴う RAS-GAP 機能の抑制によって RAS の活性化と MAPK カスケード活性化 が亢進し、その下流において、TCTP をコードする遺伝子 TPT1 の転写因子である CREB が活性化が上昇していると考えた。

これまでに NF1 の病態における mTOR 経路の関与が報告されているが、どのようにして NF1 病態において mTOR 経路が活性化するのかという詳細な機構は明らかにされていない。今回の実験により、NF1 患者より切除された腫瘍部位より単離された PT cell では、ERK の活性化が顕著に見られ、TCTP が高発現していることが明らかになったことから、TCTP の発現上昇は NF1 の病態における mTOR 経路の活性化に関与することが考えられた。また NF1 siRNA 処理した PC12 細胞の神経突起抑制が、TCTP の発現抑制によって伸長回復したこと、および、TCTP siRNA によって PT cell が正常 Schwann 細胞様へと形態変化したことは、NF1 機能欠失によって異常な未分化腫瘍状態にある細胞を、TCTP 抑制によって正常な分化型に回復させることができる可能性を示唆している。又、TCTP 活性化の下流にある mTOR pathway の活性化が NF1 に関連する腫瘍発現に重要であることを示唆するものである。実際にラパマイシンなどの mTOR 阻害剤が、NF1 の治療薬として試験されているように、TCTP

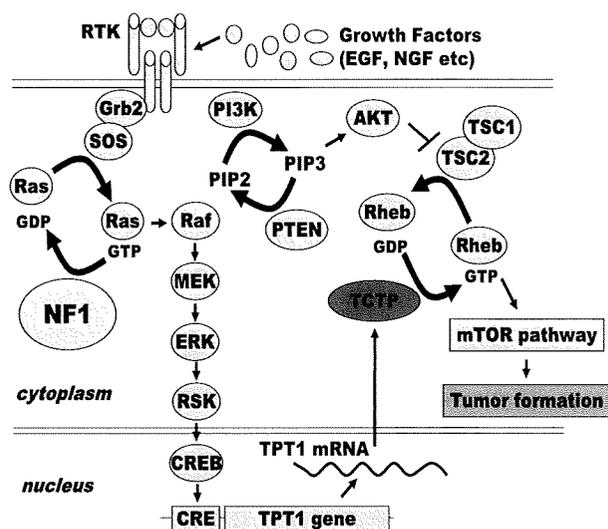


図7 ニューロフィブロミン欠失/欠損による TCTP 活性化を介した NF1 腫瘍形成のモデル

の機能やそのシグナルの上流および下流の分子を標的とした治療法の確立が期待できる (図7)。

E. 結論

プロテオミクス手法を用いた解析により、NF1 siRNA 処理した PC12 細胞に NGF を刺激させると、TCTP の発現が上昇することを見出した。又、neurofibroma 腫瘍部位より単離した培養細胞 NF PT cells では、Erk の発現が有意に活性化すると同時に、TCTP の発現が有意に上昇していることを明らかにした。さらに NF1 抑制 PC12 細胞及び NF PT 細胞ともに、TCTP の発現抑制によって、細胞の未分化様形態が、正常分化型細胞様に形態変化することを明らかにした。これらの結果より、NF1 の機能破綻により活性化した Ras-MAPK シグナル TCTP の発現上昇、および TCTP の発現上昇が引き金となる mTOR 経路の異常な活性化が、NF1 の腫瘍化を引き起こす要因の一つと考えられ (図7)、TCTP の機能やそのシグナルの上流および下流の分子を標的とした治療戦略が有効であることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) An integrated approach of differential Mass Spectrometry and gene ontology analysis identified novel proteins regulating neuronal differentiation and survival.

Kobayashi D, Kumagai J, Morikawa T, Wilson-M M, Wilson A, Irie A, and Araki N*
Molecular & Cellular Proteomics, 8 (10): 2350-67,

2009

- 2) The Contribution of BCR-ABL-independent Activation of ERK1/2 to Acquired Imatinib Resistance in K562 Chronic Myeloid Leukemia Cells.
Nambu T, Araki N*, Nakagawa A, Kuniyasu A, Kawaguchi T, Hamada A, Saito H
Cancer Science, 2009, in press.
- 3) Suppression of galectin-3 expression enhances apoptosis and chemosensitivity in liver fluke associated cholangiocarcinoma.
Wongkham, S., Junking, M., Wongkham, C., Sripa, B., Chur-in, S., Araki, N*
Cancer Science, 100 (11): 2077-84, 2009
- 4) Silver ion unusually stabilizes the structure of a parallel-motif DNA triplex.
Ihara T, Ishii T, Araki N*, Wilson A, Jyo A.J. Am. Chem. Soc. 131 (11): 3826-3827, 2009
- 5) Involvement of PI3K-Akt-Bad pathway in apoptosis induced by 2,6-di-O-methyl-beta-cyclodextrin, not 2,6-di-O-methyl-alpha-cyclodextrin, through cholesterol depletion from lipid rafts on plasma membranes in cells.
Motoyama K, Kameyama K, Onodera R, Araki N, Hirayama F, Uekama K, Arima H.
European Journal Of Pharmaceutical Sciences 8; 38 (3): 249-61, 2009

2. 学会発表

- 1) 抗体カクテルと natural protein chip を用いた簡便な病態関連分子群解析法の開発
荒木令江*, 森川 崇, 坪田誠之, 緑川宇一, 水口惣平, 小林大樹, 新堀晶子, 中村英夫, 倉津純一
第 82 回日本生化学会 (神戸) 2009 年 10 月 21 日~24 日
- 2) プロテオミクス手法による神経系細胞分化に関わる NF1 腫瘍抑制遺伝子関連タンパク質の同定とその役割
小林大樹*, 平山未央, ウィルソン森藤政代, 水口惣平, 長山 慈, 森川 崇, 新堀晶子, 坪田誠之, 緑川宇一, 荒木令江
第 82 回日本生化学会 (神戸) 2009 年 10 月 21 日~24 日
- 3) 統合プロテオミクスとバイオインフォマティクスの手法を用いた脳腫瘍の化学治療感受性に関する Vimentin を介したネットワークの解析
水口惣平*, 森川 崇, 坪田誠之, 緑川宇一, 長山 慈, 小林大樹, ウィルソンアンソニー, ウィルソン森藤政代, 中村英夫, 倉津純一, 荒木令江
第 82 回日本生化学会 (神戸) 2009 年 10 月 21 日~24 日
- 4) A BCR-ABL-independent activation of ERK1/2 contributes to imatinib-resistance in K562 Cells (口頭発表)
南部 健*, 濱田哲暢, 荒木令江, 齋藤秀之
第 82 回日本生化学会 (神戸) 2009 年 10 月 21 日~24 日
- 5) A study of molecular mechanisms in heterogeneous cancer development using combined transcriptomic and proteomic analysis.
トランスクリプトームとプロテオーム解析を用いた癌細胞ヘテロ集団の発育機構の解明
ウィルソン政代*, ウィルソンアンソニー, 田代康介, 小林大樹, 新堀晶子, 森川 崇, 荒木令江
第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜) 2009 10 月 1 日~3 日
- 6) An integrated proteomics for studying mechanism of chemo-resistance in gliomas
融合プロテオミクスによるグリオーマの化学治療抵抗性メカニズムの解析
Takashi Morikawa, Nobuyuki Tsubota, Uiti Midorikawa, Daiki Kobayashi, Sohei Muzuguchi, Hideo Nakamura, Junichi Kuratsu, Norie Araki
第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜) 2009 10 月 1 日~3 日
- 7) 融合プロテオミクスによる疾患関連タンパク質群の解析 (招待講演)
荒木令江
日本生化学会近畿支部第 15 回支部シンポジウム (大阪) 2009 年 9 月 16 日
- 8) プロテオミクス手法による神経系細胞分化に関わる NF1 腫瘍抑制遺伝子関連タンパク質の同定とその役割
小林大樹, 荒木令江
第 33 回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム (唐津市) 2009 年 9 月 10 日~12 日
- 9) 全自動 2 次元電気泳動装置を用いた臨床サンプルの 2D-Western 解析
緑川宇一, 荒木令江
第 33 回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九

- 州シンポジウム（唐津市）2009年9月10日～12日
- 10) 融合プロテオミクスによるがん研究の最前線とその応用（招待講演）
荒木令江
同仁化学研究所特別講演会（熊本市）2009年9月1日
- 11) 翻訳後修飾を指標にしたマウス神経幹細胞の分化の運命づけを司る核内分子の探索
新森加納子、鹿川哲史、森川 崇、小林大樹、坪田誠之、緑川宇一、柏木太一、中尾光善、荒木令江、田賀哲也
日本ヒトプロテオーム学会/日本ヒトプロテオーム機構第7回大会（JHUP）（東京白金北里大学）2009年7月27～28日
- 12) 全自動2次元電気泳動-プロッティングシステムの開発
田中 毅、木下英樹、緑川宇一、菅野三奈子、楠本晃司、松永貴輝、後藤真一、大木 博、丸尾祐二、鷗沼 豊、中村 眞、荒木令江
日本ヒトプロテオーム学会/日本ヒトプロテオーム機構第7回大会（JHUP）（東京白金北里大学）2009年7月27～28日
- 13) 全自動2次元電気泳動装置を用いた臨床サンプルの2D-Western解析
緑川宇一、坪田誠之、森川 崇、木下英樹、丸尾祐二、鷗沼 豊、中村 眞、荒木令江
日本ヒトプロテオーム学会/日本ヒトプロテオーム機構第7回大会（JHUP）（東京白金北里大学）2009年7月27～28日
- 14) 融合プロテオミクスによる悪性腫瘍の化学療法耐性メカニズムの解析
An integrated proteomics for studying mechanism of tumor cellular chemo-resistances（シンポジウム）
荒木令江
日本ヒトプロテオーム学会/日本ヒトプロテオーム機構第7回大会（JHUP）（東京白金北里大学）2009年7月27～28日
- 15) 「生命のナゾ解きで病気を治す！」（女性研究者による講演会 招待講演）
荒木令江
文部科学省女子中高生の理系進路選択支援事業 2009「サイエンス・プロジェクト for 九州ガールズ！」（熊本市熊本大学）2009年6月26日
- 16) 神経線維腫症1の分子病態
Molecular mechanisms related to cellular abnormality in Neurofibromatosis 1（ワークショップ「神経皮膚症候群研究の進歩」招待講演）
荒木令江
第51回日本小児神経学会総会（米子市）2009年5月28～30日
- 17) 退形成性乏突起膠腫（AOG）における化学療法感受性に関連する蛋白質群の機能プロテオーム解析
森川 崇*、坪田誠之、緑川宇一、長山 慈、小林大樹、Wilson Anthony、Wilson 森藤政代、中村英夫、倉津純一、森安眞津子、荒木令江
第9回日本蛋白質科学会年会（熊本市）2009年5月20～22日
- 18) 融合プロテオミクスによる細胞内疾患関連シグナルの解析（招待講演）
荒木令江
第9回日本蛋白質科学会年会（熊本市）2009年5月20～22日
- 19) A standard framework of sequential proteomics for cancer research (Keynote Lecture)
Norie Araki
The 2nd BMB Conference: Biochemistry and Molecular Biology for Regional Sustainable Development (Khon Kaen, Thailand) May 7-8th, 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

なし

NF1 遺伝子産物の細胞内シグナル解析と腫瘍形成機序の研究

研究分担者 佐谷秀行 慶應義塾大学医学部先端医科学研究所教授

研究要旨

NF1 の主症状である神経線維腫の形成は、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、悪性化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重要である。私達は神経線維腫の病理像の洗い直し、更には動物モデルの文献的考察から、その形成機構に関する新たな考察を行った。そして、神経線維腫に見られる、1) 肥満細胞の浸潤、2) 線維芽細胞、シュワン細胞、血管上皮細胞の増生、3) フィブロネクチンやヒアルロン酸などを中心とした細胞外マトリクスの集積、などの特徴的な病理像は上皮間葉転換（epithelial mesenchymal transition: EMT）シグナルの亢進によって引き起こされる線維性疾患に類似した所見であることを見出した。細胞運動能の亢進と集塊形成には間葉系細胞としての性質が関与していることが判明し、間葉系細胞としての性質を抑制することが NF1 患者の多発性神経線維腫の治療戦略となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

神経線維腫症 1 型は、多発性神経線維腫を始め多彩な病態を示す遺伝性疾患で、原因遺伝子産物ニューロフィブロミンは、Ras-GAP 相同領域を有し、細胞内シグナル伝達の重要な調節因子と考えられている。近年のマウスを用いた研究により、多発性神経線維腫は、細胞—細胞間および細胞—マトリックス間の相互的なシグナルの異常が形成の誘引と考えられている。特に、これまでに、ニューロフィブロミンの発現低下に伴い活性化された Ras-MAPK pathway を介した異常な細胞増殖が大きく関与していることが知られているが、この事象のみでは多発性神経線維腫形成メカニズムを説明することはできない。本研究は、多発性神経線維腫の形成に関する新たな考え方にに基づき、従来のパラダイムとは異なった治療戦略を考案することを目的として行った。

B. 研究方法

神経線維腫の病理組織を上皮間葉転換（epithelial mesenchymal transition: EMT）誘導転写因子について染色することにより、神経線維腫と上皮間葉転換

（EMT）の関連について検討を行った。さらにニューロフィブロミンの発現を抑制することが細胞の間葉系性質を増強させるか否かについて検討を行った。

C. 研究結果

1. 神経線維腫を構成する細胞における EMT 誘導転写因子群の発現

神経線維腫の組織における EMT 誘導転写因子 Zeb1 の発現を調べたところ、腫瘍構成細胞の大半が Zeb1 陽性であり、神経線維腫が間葉系性質を持った細胞によって構築されていることが分かった（図 1）。

2. NF1 欠損シュワン細胞における EMT 誘導転写因子の発現

神経線維腫患者より確立された NF1 欠損シュワン細胞 sNF96.2 cell における Snail、Zeb1 の発現を免疫細胞染色によって調べたところ、核内に Snail タンパク質と Zeb1 タンパク質の高い発現を認めた（図 2）。

次に sNF96.2 cell における EMT 誘導転写因子群 Slug、Snail、Twist、Zeb1、Zeb2 の発現を mRNA レ