

201120187A

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23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大塚 藤 男

平成24（2012）年3月

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23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大 塚 藤 男

平成24（2012）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

大塚藤男..... 1

## II. 分担研究報告

1. 神経線維腫症 1 公費患者の最近の変化

縣 俊彦..... 7

2. 神経線維腫における basic FGF の発現増強

川内康弘..... 13

3. 悪性末梢神経鞘腫瘍におけるがん精巢抗原遺伝子の脱メチル化

中川秀己..... 17

4. メラノサイトの細胞内シグナル解析によるカフェオレ斑発症機序の解明

古村南夫..... 19

5. 神経線維腫症 1 型における melanoma inhibitory activity (MIA) の  
検討 (第 2 報)

吉田雄一..... 23

6. 神経線維腫症 1 型における注意欠陥 / 多動性障害、学習障害に関する研究

岩崎信明..... 27

7. 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

佐谷秀行..... 29

8. 神経皮膚症候群に関する研究

大西五三男..... 33

9. 神経線維腫症 1 型の結節状蔓状神経線維腫に対する対応

倉持 朗..... 43

10. Neurofibromatosis type 1 (NF1) 診療ネットワークの構築

倉持 朗..... 51

11. ナローバンド UVB 照射レックリングハウゼン患者の 血中ビタミン D <sub>3</sub> 濃度と臨床評価に関する研究 中山樹一郎・今福信一・森 竜樹・佐藤千江美……………	55
12. 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 大塚藤男……………	59
13. 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細胞内タンパク質ネットワークの解析 荒木令江……………	61
14. 神経線維腫症 1 型に生じた悪性末梢神経鞘腫瘍における 各種腫瘍マーカーの発現時期に関する研究 師井洋一……………	67
15. 神経線維腫症に伴う dystrophic type の 脊柱変形の長期術後成績に関する研究 舟崎裕記……………	71
16. 神経線維腫症 2 型の患者像の 2004 年と 2008 年の相違 縣 俊彦……………	73
17. 特定疾患臨床個人調査票からみた 神経線維腫症 II 型の実態と個人調査票の問題点 松尾宗明……………	79
18. 髄膜腫の網羅的遺伝子発現解析：invasive meningioma は新しい entity か 齋藤 清……………	83
19. 悪性髄膜腫における DNA メチル化標的遺伝子 hypoxia inducible factor の機能解析 齋藤 清・安藤 等・夏目敦至・若林俊彦・千賀 威……………	85
20. 神経線維腫症 II 型症例において、 一側の聴神経腫瘍治療が対側に与える影響に関する研究 原 晃……………	89
21. 結節硬化症の遺伝子機能解明と治療法の開発 樋野興夫……………	91

22. 結節性硬化症とその分子機構に関する研究 水口 雅	93
23. 結節性硬化症における神経系分化異常の細胞学的解析 大野耕策	97
24. 結節性硬化症の白斑に対するラパマイシン外用治療の有効性 片山一朗	99
25. 色素性乾皮症の診断に向けた分子細胞生物学的検討 菅澤 薫	103
26. 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、転写の異常に関する研究 田中亀代次	107
27. 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	113
28. 神経皮膚症候群に関する研究 森脇真一	115
29. 1. 色素性乾皮症の診療ガイドライン作成に向けた患者調査の解析 2. 色素性乾皮症 A 群細胞における遊走異常と神経症状発症との関連について 錦織千佳子	119
30. A 群色素性乾皮症における頭部 MR 画像の経時的変化に関する研究 苅田典生	125

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	127
-------------------	-----

## 神経皮膚症候群に関する調査研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
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皮膚病態医学分野	教 授
研究分担者	中山樹一郎 佐谷 秀行 倉持 朗 中川 秀己 川内 康弘 大西五三男 齋藤 清 古村 南夫 吉田 雄一 片山 一朗 大野 耕策 水口 雅 縣 俊彦 松尾 宗明 舟崎 裕記 錦織千佳子 森脇 真一 林 雅晴 苅田 典生 田中亀代次 菅澤 薫	福岡大学医学部皮膚科 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 埼玉医科大学医学部皮膚科 東京慈恵会医科大学皮膚科 筑波大学大学院人間総合科学研究科皮膚病態医学分野 国際医療福祉大学保健医療学部整形外科 福島県立医科大学医学部脳神経外科 久留米大学医学部皮膚科 鳥取大学医学部皮膚科 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 鳥取大学医学部脳神経小児科 東京大学大学院医学系研究科発達医科学 東京慈恵会医科大学環境保健医学 佐賀大学医学部医学科小児科 東京慈恵会医科大学整形外科 神戸大学大学院医学研究科皮膚科 大阪医科大学医学部皮膚科 東京都医学総合研究所脳発達・神経再生研究分野 神戸大学大学院医学研究科神経内科 大阪大学大学院生命機能研究科ヒト細胞生物学グループ 神戸大学バイオシグナル研究センター	教 授 教 授 教 授 教 授 准 教 授 教 授 准 教 授 准 教 授 教 授 教 授 教 授 准 教 授 准 教 授 講 師 教 授 教 授 副参事研究員 特 命 教 授 教 授 教 授
研究協力者	原 晃 大原 國章 樋野 興夫 師井 洋一 夏目 敦至 荒木 令江 岩崎 信明	筑波大学大学院人間総合科学研究科聴覚平衡機能制御医学分野 虎の門病院皮膚科 順天堂大学医学部病理・腫瘍学 九州大学大学院医学研究院皮膚科 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科 熊本大学大学院医学薬学研究部腫瘍医学 茨城県立医療大学小児科	教 授 副 院 長 教 授 准 教 授 准 教 授 准 教 授 准 教 授
事務局	中村 泰大	筑波大学大学院人間総合科学研究科皮膚病態医学分野 〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1 TEL 029-853-3128 FAX 029-853-3217 e-mail ynakamura3@md.tsukuba.ac.jp	講 師
経理事務担当者	菅谷 哲宏	筑波大学医学系支援室外部資金会計係 TEL 029-853-3033 FAX 029-853-6309 e-mail sugaya.tetsuhiro.ge@un.tsukuba.ac.jp	係 長

# I. 總括研究報告

## 神経皮膚症候群に関する調査研究

主任研究者 大塚藤男 筑波大学医学医療系皮膚科学教授

### 研究要旨

神経皮膚症候群は皮膚と神経系に腫瘍性病変を生じる遺伝性症候群であり、神経線維腫症1 (NF1)、神経線維腫症2 (NF2) および結節性硬化症 (TS) を主な対象疾患としている。本研究班では、さらに高発癌性遺伝性疾患である色素性乾皮症 (XP) を加えた4疾患を主要対象疾患として調査研究を行った。臨床研究として、これらの疾患の病態の解明、新規診断法、治療法の開発を行い、基礎研究として分子レベルでの病態解明、根治的分子治療法の開発、大規模疫学調査を行い全国レベルでの4疾患の実態把握を行った。本年度は、神経皮膚症候群の多彩な病態の分子レベルでの解明が進捗し、対象疾患に対する将来の病態解明、診断法、治療法がさらに進歩した。

### A. 研究目的

1990年代に神経線維腫症1 (NF1)、神経線維腫症2 (NF2)、結節性硬化症 (TS)、色素性乾皮症 (XP) 各亜群の原因遺伝子がクローニングされ、それぞれの遺伝子の生化学的機能に関する研究は飛躍的に進み、各疾患の病態に対する理解も格段に進歩している。しかしながら、まだ各疾患の病態が明らかにされたとは言い難く、特に治療は対症療法のレベルにとどまっており、根本的治療法の開発にはほど遠い状況で、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。本調査研究の目的は、各対象疾患の疫学、病態を明らかにし、新しい疾患診断法、治療法を開発することを目的とする。

### B. 研究方法

*In vitro* でEMTを誘導できる方法を用いてアッセイ系を構築し、EMT阻害剤のスクリーニングを行った。EMT阻害効果および間葉系性質を阻害できる化合物を選択し、その生物学的効果について調べた。

NF1細胞を150 mJと300 mJのNB-UVB (308 nm) 照射し、48-72時間後に細胞数をコールターカウンターで計測した。さらにVD<sub>3</sub>及びそのアナログを

10<sup>-9</sup>~10<sup>-7</sup>M濃度で単独あるいはNB-UVB照射後に48-72時間添加し、細胞数を計測した。また培養液中のVD<sub>3</sub>濃度はSRLに委託して計測した。

神経線維腫症1型患者に発生した悪性末梢神経鞘腫瘍7検体と正常コントロールとしての正常リンパ節において、がん精巢抗原遺伝子9個 (*MAGEA1*, *MAGEA2*, *MAGEA3*, *MAGEA6*, *MAGEB2*, *MAGEC1*, *MAGEC2*, *CTAG1B*, *SSX4*) の5'上流に存在するCpGアイランドのメチル化状態をmethylation-specific PCRにより解析した。さらに、その結果をbisulfite sequencingで確認した。

神経線維腫組織片から定法により腫瘍組織からRNAを抽出した。抽出したRNAをテンプレートとし、bFGF特異的なDNAプローブを用いてreal time RT-PCRを行い、bFGFの発現をRNAレベルで比較検討した。

2009年1月~2010年12月までの2年間に当科で摘出術を施行し、組織学的確定診断が得られた髄膜腫33例を対象とした。腫瘍の全部もしくは一部を摘出後、直ちに液体窒素で凍結して解析センターに搬送し、RNAを抽出してマイクロアレイ解析を行った。

NF1に特異的なノックダウン配列を作成し、Block-it Lentiviral Pol II miR RNAi Expression System

kitを用いてレンチウイルスによるNF1ノックダウンを行った。その後、抗MIA抗体を用いたウエスタンブロット法にて蛋白レベルでの確認を行った。免疫組織化学染色は抗MIA抗体とRed Map kitを用いて自動免疫染色装置にて施行した。

顔面血管線維腫に0.2% rapamycin外用剤または基剤を1日2回12週間左右塗り分けする臨床試験の際に、血管線維腫の周囲に白斑を有する2名の患者において、周囲の白斑部も含め0.2% rapamycin外用剤を塗布した。培養正常ヒトメラノサイトにrapamycin 1nM, 10nMを添加し、12時間後、24時間後のMITFのmRNA発現をRTPCRで測定した。また、培養正常ヒトメラノサイトにrapamycin 1nM, 10nMを添加し、4日間培養後メラニン定量を行った。

培養HeLaまたはHEK293細胞へのcDNA発現ベクターとsiRNAの導入はLipofectamine2000試薬を用いリポフェクション法により行った。細胞へのクロロキン、U18666A、ラパマイシンの投与は、遺伝子導入後の細胞に18時間作用させた。免疫蛍光染色は、抗mTOR、抗Lapm-2または抗LC3抗体を用いた。蛍光画像の取得は共焦点レーザー顕微鏡により行った。ライソゾーム活性化染色はライソトラッカー染色により、またライソゾームpHの測定はライソセンサーを用い測定した。

*Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスおよびそれぞれの野生型マウスに対して、ラパマイシン投与し、相互交流に相当するactive interaction (AI, anogenital sniffing, allo-grooming, mounting など)の時間および立ち上がり行動 (rearing)の回数を計測した。

レトロウイルスベクターを用いて、悪性髄膜腫細胞株に、GFPタグをつけたHIF-3 $\alpha$ の2種類のスプライシングバリエーション (HIF-3 $\alpha$ 2, HIF-3 $\alpha$ 4)を遺伝子導入して安定発現株を得た。これらの細胞の、正常酸素下および低酸素下、あるいはマウス脳内における増殖能、腫瘍血管増生能を評価した。また、マウスを用いた腫瘍モデルの生存期間も検証した。

これまでの本邦並びに海外における文献のを中心にNF1と認知機能に関する報告をまとめ問題点を抽出した。

XP-A6剖検例の視床下部連続切片でCalbindin-D28K (CD)とTyrosine hydroxylase (TH)に対する免疫組織化学染色を行った。対照25例、XP-A患者8例、疾患対照としてのコケイン症候群 (CS)患者6例から、同意を得て早朝尿を採取した。aMT6s値を測定し、creatinine補正值による評価を行った。

XPA患者3名について、毎年1回の頭部MRI検査を4年間繰り返しておこなった。頭部MRI (3 Tesla)では、3D-T1強調画像から抽出した灰白質、白質の容積を算出 (volumetry)、また拡散テンソル画像解析により白質線維の評価尺度であるFA (fractional anisotropy)値の算出を行った。

XPFの生化学的、分子生物学的機能解析を行った。未知のUV<sup>s</sup>-A原因遺伝子を微小核を用いた染色体導入法やCGH array法を用いクローニングした。

## C. 研究結果

### 1. 基礎研究 (分子レベルでの病院・病態の解明) 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

神経線維腫は上皮間葉転換 (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シグナルが活性化していることを見出し、EMT阻害剤が本疾患に有効である可能性を考え化合物のスクリーニングを行った。その結果、およそ2000種類の既存薬剤の中に、血中濃度より低い濃度でEMTを阻害する候補薬を見出すことができた。(佐谷)

### 悪性末梢神経鞘腫瘍におけるがん精巣抗原遺伝子の脱メチル化

悪性末梢神経鞘腫瘍7検体において、がん精巣抗原遺伝子9個 (*MAGEA1*, *MAGEA2*, *MAGEA3*, *MAGEA6*, *MAGEB2*, *MAGEC1*, *MAGEC2*, *CTAG1B*, *SSX4*)の5'上流に存在するCpGアイランドのメチル化状態を解析した。その結果、脱メチル化が全くみられない症例がある一方で、すべての遺伝子で脱メチル化がみられる症例もあった。悪性末梢神経鞘腫瘍において、がん精巣抗原遺伝子が脱メチル化すること、および、CpGアイランド低メチル化形質が存在することが示唆された。(中川)

### 神経線維腫におけるbasic FGFの発現増強

NF1患者に生じた神経線維腫を用いてreal-time RT-PCRを行ったところ、神経線維腫周囲の健常組織に比べて、神経線維腫では有意にbFGF mRNAを発現していた。また、免疫組織染色によっても神経線維腫ではbFGFが高発現していることが確かめられた。NF1遺伝子発現をノックダウンさせるレンチウイルスをHaCaT細胞に感染させ、GFP選択によりneurofibrominの発現が非感染細胞の約10%にノックダウンされたHaCaT-NF1細胞を作製した。

この HaCaT-NFi 細胞の basic FGF の発現を real-time RCR にて検索したところ、HaCaT-NFi 細胞では、bFGF は非感染 HaCaT 細胞に比較して発現が有意に亢進していた。この結果は、神経線維腫内の bFGF 過剰発現には、NF1 遺伝子のハプロ不全が関わっていることを示していると考えられた。(川内)

#### 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細胞内タンパク質ネットワークの解析

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 100 種の蛋白質を確認し、これら発現変動分子を中心としたネットワーク解析により、細胞膜におけるカルシウムポンプ、カドヘリン、インテグリンやそれらの制御因子、および TCTP、14-3-3、galectin3、dynein-GR-Cox1 シグナルに関わる分子ネットワークが、NF1 ノックダウン細胞内で NGF 刺激後経時的に変動していることが明らかとなった。NF1 に特徴的な病態は、これらの分子ネットワークの異常活性化が関わっている可能性が示唆された。(荒木)

#### 髄膜腫の網羅的遺伝子発現解析：invasive meningioma は新しい entity か

NF2 の組織学的分類とは異なる髄膜腫の特徴をとらえるために、当科で2年間に摘出術を行った 33 例の髄膜腫について遺伝子発現の網羅的解析を行い、組織学的所見や浸潤傾向との相関を検討した。浸潤傾向の強い髄膜腫の発現プロファイルを解析すると、近似性のあるクラスターとして集まる傾向が認められた。(斉藤)

#### 悪性髄膜腫における DNA メチル化標的遺伝子 hypoxia inducible factor の機能解析

悪性髄膜腫細胞株では HIF-1 $\alpha$  の転写量は有意に増加しており、一方 HIF-3 $\alpha$ 2 の転写量は有意に減少していた。これに脱メチル化剤 5-aza-deoxycytidine を作用させたところ、HIF-3 $\alpha$ 2 の転写量は回復傾向を示した。Cell growth assay では、HIF-3 $\alpha$ 2 を導入した株ではむしろ有意に増殖が亢進しており、一方 HIF-3 $\alpha$ 4 を導入した株では著明に増殖が抑制されていた。この株をマウス脳内に移植して作成した腫瘍モデルでは HIF-3 $\alpha$ 4 モデルでは有意に生存期間の延長が認められた。さらに、モデルに tetramethyl rhodamine dextran を静注して血管密度を相対定量したところ、HIF-3 $\alpha$ 4 モデルでは

血管密度が著明に低下していた。(夏目)

#### 神経線維腫症 1 型における melanoma inhibitory activity (MIA) の検討

NF1 の異常によりメラノサイトに潜在的異常が生じ、MIA の発現が亢進しているかどうかを検証するため、正常ヒトメラノサイト培養細胞に対して、レンチウイルス miR RNAi を用いて NF1 ノックダウンを行い、ウエスタンブロットおよび ELISA 法にて MIA の定量を行ったが、MIA の発現はみられなかった。一方、免疫組織化学染色では、興味深いことに神経線維腫内の肥満細胞に MIA の発現がみられた。以上の結果から、NF1 において血清 MIA 値が上昇する要因として、肥満細胞の関与が示唆された。(吉田)

#### NF1 に生じた悪性末梢神経鞘腫瘍における各種腫瘍マーカーの発現時期に関する研究

NF1 に生じる悪性末梢神経鞘腫瘍 (MPNST) について、免疫組織学的にニューロナチン、テネイシン C、カテプシン K の経時的発現を検討した。テネイシン C、カテプシン K の発現は陰性であった。唯一ニューロナチンのみが一部の細胞でわずかに陽性所見を呈していた。(師井)

#### 結節性硬化症における神経系分化異常の細胞学的解析

mTOR 複合体のライソゾーム膜局在に着目し、ライソゾーム機能阻害剤の効果に関し検討を行った。結果、ライソゾーム融合を阻害するクロロキンは mTOR のライソゾーム局在を抑制し、TSC2 欠損細胞の細胞周期を抑制した。また、低濃度のラパマイシンとクロロキンの併用で TSC2 欠損細胞の細胞死を誘導した。以上の結果は、mTOR のライソゾーム局在阻害が mTOR シグナルの抑制に有効である可能性を示唆する。(大野)

#### 結節性硬化症とその分子機構に関する研究

Tsc1<sup>+/-</sup> および Tsc2<sup>+/-</sup> マウス成獣に mTOR 阻害薬 ラパマイシンを投与し、投与前後に行動実験を行って社会的相互交流を観察した。その結果、ラパマイシン投与前に認められた自閉症様行動 (相互交流の減少と立ち上がりの増加) は投与後には改善し、野生型マウスと同程度となった。TSC に合併する自閉症に対し mTOR 阻害薬が有効であり、成人に達してからの治療でも奏功する可能性が示唆された。(水口)

## 結節硬化症の遺伝子機能解明と治療法の開発

*Tsc2* ホモ変異体ES細胞の樹立を進めた。近年確立されたラット多能性幹細胞培養の樹立・培養技術を駆使し、*Tsc2* 欠損病変細胞のiPS細胞化を試みた。さらに、*TSC1* の細胞極性に関連した細胞骨格形成における機能の解析を行った。(樋野)

## 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、転写の異常に関する研究

XPF蛋白質がキネシンEg5と結合し、細胞分裂に関与すること、XP-FやXFE患者では細胞分裂の異常を高頻度に示すことを明らかにした。XP-FやXFE患者の病態に細胞分裂機構の異常が関与していることを示唆した。転写と共役した修復に関与するが、これまで未知であったUV<sup>s</sup>-A群(Kps3患者)の原因遺伝子を、マウス単一染色体移入、CGH array法、BAC transfection法を用いることによりクローニングし、UVSSAと命名した。UV<sup>s</sup>-A群患者におけるUVSSA遺伝子の突然変異を明らかにし、UVSSAの転写と共役した修復機構における役割を解析した。(田中)

## 色素性乾皮症の診断に向けた分子生物学的検討

光線過敏症状を伴う当該患者由来の線維芽細胞は紫外線高感受性を示し、宿主細胞再活性化アッセイによりXP-C群である可能性が示唆された。しかしながらXPC遺伝子のゲノム配列には変異が認められなかった。当該患者由来細胞は、ヌクレオチド除去修復による紫外線損傷の除去は正常であるが、その後のDNA修復合成に異常を示す新奇なDNA修復欠損を伴う可能性が高い。(菅澤)

## 色素性乾皮症A群細胞における遊走異常と神経症状発症との関連について

shRNAiを用いてXPAをノックダウンすることにより、XPAが神経前駆細胞から後分裂細胞への遊走に重要な役割を果たしていることが示唆された。(錦織)

## 2. 臨床研究(病態解明、診断・治療法の開発)

### 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

びまん性神経線維腫切除の際の止血対策として、超音波凝固切開装置を複数例で使用し、その止血効果につき検討した。4例のびまん性神経線維腫に対して超音波凝固切開装置を用いた。びまん性神経線

維腫の長径は5~20cm、発生部位は頭部1例、口唇1例、上肢2例であった。術前血管塞栓術は併用しなかった。上肢2例はターニケットを併用した。出血量は少量~50mlで、術後後出血は1例もなかった。本装置の操作は簡便であるため、術者の技量を問わず切除の際の出血量減少が期待できると考えた。(大塚)

### ナローバンドUVB照射NF1患者の血中ビタミンD<sub>3</sub>濃度と臨床評価に関する研究

NF1患者にナローバンドUVBを全身に照射すると肌質の改善あるいは色素斑の色調改善がみられるメカニズムについてin vitroで検討し、ナローバンドUVB照射による直接的な細胞増殖抑制効果以外に活性型ビタミンD<sub>3</sub>誘導による増殖抑制効果があることを見いだした。実際照射を受けている患者血清中の活性型ビタミンD<sub>3</sub>濃度は受けていない患者より有意なVD<sub>3</sub>濃度上昇が観察された。(中山)

### 先天性脛骨偽関節症の偽関節部分の骨癒合・骨癒合強度評価が可能な装置の開発

4点曲げ試験において、全個体は骨切り部分にて破断した。4から12週における曲げ剛性と破断強度は高い正の相関関係を認めた。経時的に仮骨の増加を認め、12週では7羽中4羽に仮骨の髓腔形成と外仮骨の皮質骨化を認めた。この形態変化は6週群では2羽に、8週群では1羽に観察された。12週において、Stiffness HRは72.74% (SD 24.93)で、Strength HRは29.37% (SD 9.93)の回復率を示した。(大西)

### 神経線維腫症1型における注意欠陥/多動性障害、学習障害に関する研究

NF1の小児では6割に不注意の症状が認められ、約1/3で注意欠陥/多動性障害と診断されたとする報告がある。知能指数は正常範囲であることが多いが一部に低下がみられ、動作性知能が言語性知能に比較して低い。遂行機能の低下や、特異的発達障害に分類される読字障害、算数障害も報告されている。NF1の中樞神経系の病変についてUBOsの存在が報告されている。小児の60-70%で基底核、脳幹、視床、視索、小脳に認められ、認知機能との関係について関連がないとする報告がある一方、UBOsの数や局在部位について、全般性知能低下、言語能力、注意、視空間認知、遂行機能への影響が指摘され、特に視床病変との関連性が指摘されている。(岩崎)

## 結節性硬化症の白斑に対するラパマイシン外用治療の有効性

血管線維腫に対する rapamycin 外用療法の臨床試験の際に、白斑に対しても rapamycin 外用療法が有効である知見を得た。rapamycin の作用機序を調べるため、培養ヒト正常メラノサイトを用い、rapamycin を添加して、RT-PCR で MITF の mRNA 発現及びメラニン量の変化を測定した。結果、MITF の mRNA 発現の増強とメラニン産生増加が認められ、rapamycin によるメラニン生成の亢進が示唆された。(片山)

## 神経線維腫症に伴う dystrophic type の脊柱変形の長期術後成績に関する研究

術後 10 年以上の経過を観察し得た神経線維腫症に伴う dystrophic type の脊柱変形 12 例の術後成績を調査した。脊柱変形は、頸椎から腰椎までの側彎、後彎など多岐にわたっていた。手術は複数回にわたり行われていたものが 5 例あった。最終経過観察時では、偽関節を 1 例に、後彎の進行を 1 例に認めた。また、術後に脊柱管の拡大、dural ectasia の進行を 5 例に認めた。後彎変形を伴うものや椎体の scalloping、dural ectasia を伴うものでは、固定術後もこれらの変化は進行し、移植骨も浸食されていた。(舟崎)

## 新規に確定診断した色素性乾皮症 G 群の解析

非常に稀な病型である XPG 群を新たに 3 例経験した。いずれも相補性師試験にて XPG 群と診断した。XP3HM では ERCC5 (XPG) gene の exon 2 に c.194T > C ホモ変異 (p.L65P) が確認された。他症例は現在検索中である。XPG 群は本邦でもきわめて稀な病型であるがその表現型には人種差があるものと推測される。(森脇)

## XP の神経障害に関する臨床神経病理学的研究

XP-A 剖検例の視床下部で Calbindin-D28K (CD) と Tyrosine hydroxylase (TH) に対する免疫組織化学染色を行い、対照脳と同様に室傍核、視索上核、腹内側核を同定した。また、松果体より分泌され概日リズム形成に関与するメラトニンの尿中代謝物 (aMT6s) を定量し、XP 患者の aMT6s 値は対照より低値を示した。メラトニンには抗酸化作用を有しており、XP-A 患者でのメラトニン、受容体アゴニスト使用が考慮された。(林)

## XPA における頭部 MR 画像の経時的変化の研究

XPA 患者 3 名について、頭部 MRI 画像での変化を 4 年間にわたり経時的に調査した。脳の灰白質容積は正常で見られるような急激な増加がみられず、また白質容積についても乳児期以降の増加が見られなかった。これらの結果は XPA における神経障害が、臨床的に顕在化する就学時以前に発現進行していることを示している。(荊田)

## 3. 疫学調査研究

### 神経線維腫症 1；公費患者の最近の変化

厚生労働省と神経皮膚症候群に関する研究班の協力の下、毎年患者臨床個人票調査を行っているが、そのうち、2003 年 862 名、2009 年 879 名の把握患者について調査を行い比較検討した。6 年間で、保険の種類、日常生活、重症度の分布などに変化がみられた。神経線維腫症 1 の医療費受給患者は原則重症の者と限られる。当初は認定基準が曖昧であった部分もあるが、ここ 6 年で、その概念が診断医にも普及し、重症患者のみ医療費受給対象とするという傾向がより顕著となったことが伺える。(縣)

### 神経線維腫症 2 型の患者像の 2004 年と 2008 年の相違

NF2 が治療対象疾患に認定された 1998 年以降、毎年、患者臨床個人票調査を行っている。そのうち、患者数が 250 名以上となった 2004 年と 2008 年の把握対象患者について比較検討した。臨床調査個人票を用いた神経線維腫症 2 型の調査結果を用い、2004 年と 2008 年の患者像の相違を検討したところ、明らかな差異は見られなかった。比較的早期に発見されているにもかかわらず、その後の経過で悪化する者が増加していたが、日常生活に大きな支障をきたす者は多くはなかった。(縣)

### 特定疾患臨床個人調査票からみた神経線維腫症 II 型の実態と個人調査票の問題点

NF2 特定疾患臨床個人調査票のデータを用いて解析検討を行った。2004 年以降は毎年 30-50 の新規登録と 220-400 の再登録がみられた。家族歴のあるのは記載のあった 185 例中 76 例であった。発症年齢は 2 歳から 76 歳、中央値 25 歳、20 歳未満の発症は全体の 19.8% であった。罹病期間は 0 から 53 年、中央値 10 年。罹病期間と重症度スコアは、症例全体では相関係数  $R = 0.35$  で有意な相関を認めた。20 歳以上発症群では  $R = 0.44$  で有意な相関を

認めたとのに対し、20歳未満発症群では  $R = 0.20$  で有意な相関はなく、罹病期間が短くても重症度スコアの高い症例が多数認められた。(松尾)

色素性乾皮症の診療ガイドライン作成に向けた患者調査の解析

平成 19-22 年に実施した色素性乾皮症 (XP) の調

査票を集計し、XP 各相補性群の特長、診療上の注意点などの観点から解析した結果をもとに、XP の診断指針、診療指針 (案) を策定した。(錦織)

#### **D. 健康危険情報**

なし

## II. 分 担 研 究 報 告

## 神経線維腫症 1 公費患者の最近の変化

研究分担者 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

厚生労働省と神経皮膚症候群に関する研究班の協力の下、毎年患者臨床個人票調査を行っているが、そのうち、2003年862名、2009年879名の把握患者について調査を行い比較検討した。調査項目は、性、生年月日、年齢、居住地などの個人属性の他、推定発症年月日、初診年月日、診断年月日、受療状況、家族歴の有無・種類、日常生活の状況、疾患の経過、臨床症状の有無および程度（カフェ・オ・レ斑、など）、重症度（皮膚、骨、中枢神経症状を複合的に考慮した5段階分類（1：軽症、5：重症）などである。

6年間で、保険の種類、日常生活、重症度の分布などに変化がみられた。神経線維腫症1の医療費受給患者は原則重症の者と限られる。当初は認定基準が曖昧であった部分もあるが、ここ6年で、その概念が診断医にも普及し、重症患者のみ医療費受給対象とするという傾向がより顕著となったことが伺える。

難病対策予算はここ数年急激に増加し、基盤整備も進んでいるが、患者の臨床面での治療のみならず、心理、社会的支援をする組織、体制もさらに整備する必要がある。

柳澤裕之	東京慈恵会医科大学・環境保健医学
稲葉 裕	実践女子大学
黒沢美智子	順天堂大学衛生学
金城芳秀	沖縄県立看護大、大学院
柳 修平	東京女子医大、大学院
河 正子	東京大学、大学院ターミナルケア学
佐伯圭一郎	大分看護情報大学、大学院、保健情報
島田三恵子	大阪大学大学院医学系研究科
西川浩昭	日本赤十字豊田看護大
廣田良夫	大阪市立大学公衆衛生学
上原里程、中村好一	自治医科大学公衆衛生学
太田晶子、永井正規	埼玉医科大学公衆衛生学
中山樹一郎	福岡大・皮膚科
新村真人	東京慈恵会医科大学皮膚科
大塚藤男	筑波大、皮膚科

### A. 研究目的

神経線維腫症は、皮膚、神経を中心に人体の多くの器官に神経線維腫をはじめとする種々の異常を生じる優性遺伝性疾患である。本疾患は2種類あり、神経線維腫症1は神経線維腫と呼ばれる腫瘍や色素斑など皮膚症状が強く、神経線維腫症2は両側聴神経腫瘍を主体としたものである。今回、神経線維腫症1に関し検討を進める。

神経線維腫症1の診断は、(1)主要症状では①カフェ・オ・レ斑（6個以上）、②小レックリングハウゼン斑、③皮膚の神経線維腫、④瀰漫性神経線維腫、(2)その他の症状を基に診断が行われる。

また、本疾患が医療受給対象疾患として認定されたのは1998年5月である。神経皮膚症候群に関する研究班は厚生労働省の協力を得、認定患者の実態を把握し、今後の難病対策に資することを重要と考えた。この度、最近の受給患者の疫学的動向を比較し興味ある知見を得た。

## B. 研究方法

厚生労働省と神経皮膚症候群に関する研究班の協力の下、本症が治療対象疾患に認定された1998年以降、毎年患者臨床個人票調査を行っている。そのうち、患者数が800名以上となった2003年、2009年の把握対象患者（重複チェック後）について調査を行い比較検討した。調査項目は、性、生年月日、年齢、居住地などの個人属性の他、発症年月日、診断年月日、保険種別、生活状況、家族歴の有無・続柄、受診状況、最近の経過、臨床症状の有無および程度（カフェ・オ・レ斑、など）、重症度（皮膚、骨、中枢神経症状を複合的に考慮した5段階分類（1：軽症、5：重症）、治療などである。

## C. 研究結果

患者は2003年、男416名（48.2%）、女446名（51.7%）で、2009年、男413名（47.0%）、女466名（53.0%）で、差は見られない。年齢は03年、36.6歳、09年、38.2歳、発症年齢は03年、10.4歳、

09年12.5歳、と両群に差はないが、初診年齢は03年、24.3歳、09年、31.3歳と両群で差が見られる。また、保険の種類に関しては、最も多いのが国保・船員（03年42%、09年47%）、次が政府管掌（03年30%、09年24%）と両群では分布に差が見られる（表1）。日常生活については、正常が46%から38%に減少、やや不自由声が39%から45%へ増加している（ $p = 0.0155$ ）（表2）。また、重症度分類に関しては5が37%から48%に増加し、1は14%から9%に減少し、患者は重症化している（ $p = 0.0000$ ）（表3）。

## D. 考察

神経線維腫症1の医療費受給患者は原則重症の者と限られる。当初は認定基準が曖昧であった部分もあるが、ここ10年で、その概念が診断医にも普及し、重症患者のみ医療費受給対象とするという傾向がより顕著となったことが伺える。しかし、県によっては曖昧な診断基準で認定する事もあるので、

表1 年次（時期）別保険の種類

	政府 (%)	組合 (%)	共済 (%)	国保 船員 (%)	老人 (%)	合計 (%)
2003	241 (29.7)	171 (21.0)	38 (4.7)	344 (42.4)	18 (2.2)	812 (100)
2009	171 (24.2)	139 (19.6)	38 (5.4)	332 (46.8)	29 (4.1)	743 (100)
合計	412 (27.1)	310 (20.4)	76 (5.0)	676 (44.4)	47 (3.1)	1521 (100)

カイ 2 乗値（自由度） 11.060 ( 4) p 値 0.0259

表2 年次（時期）別日常生活

	正常 (%)	やや不自由 (%)	部分介助 (%)	全面介助 (%)	合計 (%)
2003	361 (46.3)	302 (38.7)	89 (11.4)	28 (3.6)	780 (100)
2009	270 (38.0)	318 (44.8)	92 (13.0)	30 (4.2)	710 (100)
合計	631 (42.4)	620 (41.6)	181 (12.2)	58 (3.9)	1490 (100)

カイ 2 乗値（自由度） 10.390 ( 3) p 値 0.0155

表3 年次（時期）別重症度

	1. (%)	2. (%)	3. (%)	4. (%)	5. (%)	合計 (%)
2003	118 (14.1)	147 (17.5)	104 (12.4)	159 (19.0)	310 (37.0)	838 (100)
2009	64 (8.6)	59 (7.9)	53 (7.1)	208 (28.0)	359 (48.3)	704 (100)
合計	182 (11.5)	206 (13.0)	157 (9.9)	367 (23.2)	669 (42.3)	1581 (100)

カイ 2 乗値（自由度） 74.874 ( 4) p 値 0.00000

さらに注意喚起することが必要であろう。具体的には Stage4,5 < 31%の県として青森、岩手、秋田があげられ、他は皆 50%以上の数値になっている。

難病対策予算はここ数年急激に増加し、基盤整備も進んでいるが、患者の臨床面での治療のみならず、心理、社会的支援をする組織、体制もさらに整備する必要がある。

## E. 結論

神経線維腫症 1 の医療費受給患者は原則重症の者と限られる。当初は認定基準が曖昧であった部分もあるが、ここ 10 年で、その概念が診断医にも普及し、重症患者のみ医療費受給対象とするという傾向(10 年前 60%→最近 74%) がより顕著となったことが伺える。

難病対策予算はここ数年急激に増加し、基盤整備も進んでいるが、患者の臨床面での治療、および、心理、社会的支援をする組織、体制もさらに整備する必要がある。

## 【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 - J. 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 41~3、1997
- 4) Poyhonen M, Kytola S, Leisti J. Epidemiology of neurofibromatosis type 1 (NF1) in northern Finland. J Med Genet. 2000 Aug; 37(8):632-6.
- 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 2000、5-9
- 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 149-57、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 2001：213-7.
- 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。2001：5-7.
- 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 2002：213-7.
- 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。2002：9-14.
- 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 2003：103-112.
- 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 2003：113-116.
- 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 2003：5-12.
- 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 2004：105-111.
- 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 2004：99-104.
- 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 2004：9-15.
- 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 2005：266-80.

- 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 2005:11-20.
- 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 2005:15-28.
- 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, Ryuu Shuhei, Saiki Kei-itiro, Kinjo Yoshihide, Inaba Yutaka, Otsuka Fujio, Niimura Michito. A study of lish nodules (LN) of NF1 (neurofibromatosis 1) in Japan. Journal of AOPO (Asia Pacific Academy of Ophthalmology) 2005:20:261-2
- 38) 縣 俊彦、柳澤裕之、稲葉 裕、黒沢美智子、金城芳秀、柳 修平、河 正子、佐伯圭一郎、島田三恵子、西川浩昭、廣田良夫、上原里程、中村好一、太田晶子、永井正規、中山樹一郎、新村真人、大塚藤男、NF1患者定点モニタリングでの臨床像、予後の把握-対象施設選定-、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20年度研究業績 2009:288-300.
- 39) 縣 俊彦、柳澤裕之、稲葉 裕、黒沢美智子、金城芳秀、柳 修平、河 正子、佐伯圭一郎、島田三恵子、西川浩昭、廣田良夫、上原里程、中村好一、太田晶子、永井正規、中山樹一郎、新村真人、大塚藤男、NF1大規模施設モニタリング研究-モニタリング施設とそれ以外での特性比較-、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21年度研究業績 2010:235-52.
- 40) 縣 俊彦、柳澤裕之、稲葉 裕、黒沢美智子、金城芳秀、柳 修平、河 正子、佐伯圭一郎、島田三恵子、西川浩昭、廣田良夫、上原里程、中村好一、太田晶子、永井正規、中山樹一郎、新村真人、大塚藤男、結節性硬化症 (TSC) 患者の医療費補助を決める要因に関する研究、厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班 平成21年度研究業績 2010:94-100.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

- 1) 西川浩昭、縣 俊彦、稲葉 裕、黒沢美智子. 神経線維腫症2型の患者像の2004年と2008年の相違. 第76回日本民族衛生学会、福岡 (2011.11.23-4) 第77巻付録p70-1
- 2) 縣 俊彦、西川浩昭、稲葉 裕、黒沢美智子. 神経線維腫症1公費患者の最近の変化. 第76回日本民族衛生学会、福岡 (2011.11.23-4) 第77巻付録p76-7
- 3) T Agata H Nishikawa Y Inaba M Kurosawa M Nagai. M Niimura F Ohtsuka. Dermatologic epidemiology of Neurofibromatosis 1 (NF1) patients during these 12 years in Japan and European countries. 20th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology. Lisbon. Portugal 20-24 Oct. 2011

## H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

## 神経線維腫における basic FGF の発現増強

研究分担者 川内康弘 筑波大学医学医療系皮膚科学准教授

### 研究要旨

我々はこれまでに本班研究において、神経線維腫では血管増殖因子 VEGF が過発現しており、神経線維腫における微小血管増生の要因となっていることを報告してきた。今回、我々は、もうひとつの代表的な血管増殖因子である basic fibroblast growth factor (bFGF) の神経線維腫における発現を解析した。NF1 患者に生じた神経線維腫を用いて real-time RT-PCR を行ったところ、神経線維腫周囲の健常組織に比べて、神経線維腫では有意に bFGF mRNA を発現していた。また、免疫組織染色によっても神経線維腫では bFGF が高発現していることが確かめられた。さらに NF1 における neurofibromin の loss of function が、basic FGF などの血管増殖因子の発現を直接増強させるかを調べるために、NF1 遺伝子発現をノックダウンさせるレンチウイルスを HaCaT 細胞に感染させ、GFP 選択により neurofibromin の発現が非感染細胞の約 10% にノックダウンされた HaCaT-NFi 細胞を作製した。この HaCaT-NFi 細胞の basic FGF の発現を real-time PCR にて検索したところ、HaCaT-NFi 細胞では、bFGF は非感染 HaCaT 細胞に比較して発現が有意に亢進していた。この結果は、神経線維腫内の bFGF 過剰発現には、NF1 遺伝子のハプロ不全が関わっていることを示していると考えられた。

田口詩路麻、石塚洋典、中村泰大、大塚藤男  
筑波大学医学医療系皮膚科学  
古村南夫 久留米大学医学部皮膚科

### A. 研究目的

神経線維腫症 1 (NF1) では、神経線維腫内に血管が増生していることが知られ、この腫瘍内血管増生は、ときに腫瘍内大量出血で患者の生命に関わることもある。我々は本研究において、神経線維腫では VEGF が過発現し、神経線維腫における微小血管増生の要因となっていることを報告してきた。今回、我々は、VEGF 以外の主要な血管増殖因子である basic fibroblast growth factor (bFGF) の発現を解析し、bFGF が神経線維腫の血管増生に関与しているかどうかを明らかにするために本研究を行った。

### B. 研究方法

1. 神経線維腫症 1 の患者から手術により切除された神経線維腫およびびまん性神経線維腫を液体

窒素中で凍結・OCT 包埋した。

2. 上記凍結組織をクライオトームを用いてスライド切片とした。一次抗体として血管増殖因子 (VEGF, basic FGF) または S-100 蛋白に対するポリクローナル抗体、二次抗体として抗うさぎ IgG 抗体を用い、また発色法としてアビチン・ビオチン・ペルオキシダーゼ法を用いて組織染色を行い、どの血管増殖因子が神経線維腫において発現しているかを比較検討した。
3. 神経線維腫組織片から定法により腫瘍組織から RNA を抽出した。抽出した RNA をテンプレートとし、bFGF 特異的な DNA プロブを用いて real time RT-PCR を行い、bFGF の発現を RNA レベルでも比較検討した。
4. 鳥根大学医学部皮膚科の古村南夫博士から供与された neurofibromin のノックダウン用 miR RNAi を HaCaT 細胞に transduction し、neurofibromin の発現がコントロール細胞の 10% に抑制された HaCaT-NFi 細胞を得た。(図 1)