

〔Ⅲ〕

分担研究報告

フォンヒッペルリンドウ病に伴う中枢神経系血管芽腫の臨床像に関する研究

研究報告者 菅野 洋 横浜市立大学医学部脳神経外科学

【研究要旨】

中枢神経系血管芽腫は、フォンヒッペルリンドウ病に伴って最も認められる腫瘍であるが、フォンヒッペルリンドウ病における中枢神経系血管芽腫の臨床像に関する大規模な調査はほとんど行われていない。本研究班では、フォンヒッペルリンドウ病のアンケート調査を行い、その調査を元に中枢神経系血管芽腫の臨床像を検討し、その結果、中枢神経系血管芽腫の発症年齢と発症部位、日常生活活動度との間に相関関係が認められた。すなわち、40歳未満に中枢神経系血管芽腫が発症し、脳幹・脊髄に発症した場合は多発性になる可能性が高いこと、また20歳未満で中枢神経系血管芽腫が発症した場合は、高い日常生活活動度が保持されることが明らかとなった。

A. 研究目的

フォンヒッペルリンドウ病の臨床像を、全国アンケート調査を元に明らかにすること、特にフォンヒッペルリンドウ病に最も多く認められる中枢神経系血管芽腫に焦点を絞って、その臨床像を明らかにすることを目的とした。第70回日本脳神経外科学会、2011、横浜。

B. 研究方法

全国の脳神経外科の研修施設にフォンヒッペルリンドウ病のアンケートを送付し、そのアンケートのうちで、中枢神経系血管芽腫の部位や Performance Status などの各項目の記載の整った111例（男性59例、女性52例）を対象とした。

C. 研究結果

アンケート結果は以下に示す。111例のうち、治療を行なった中枢神経系血管芽腫は108例で、未治療は3例であった。中枢神経系血管芽腫の発症年齢は7～73歳（平均29.1歳）であった。ほかの詳細に関しては以下の通りである（表1、表2）。

D. 考察

中枢神経系血管芽腫は、発症年齢により、腫瘍の発生個数、部位、日常生活活動度（performance status）が異なることが明らかとなった。フォンヒッペルリンドウ病で、40歳以上で中枢神経系血管芽腫を初発の場合は、多発しにくいこと、逆に若年から中枢神経系血管芽腫を発症すると多発しやすく、特に脳幹・脊髄にも発生しやすいが、手術回数は多くなるものの performance status は保たれることが明らかとなった。

この結果は、フォンヒッペルリンドウ病に伴う中枢神経系血管芽腫の治療・フォローアップの上で大変参考になるものと考えられた。

E. 結論

フォンヒッペルリンドウ病に伴う中枢神経系血管芽腫の臨床像は、発症年齢により異なることが明らかになった。このことはフォンヒッペルリンドウ病に伴う中枢神経系血管芽腫の治療・フォローアップにおいて考慮すべきであると考えられる。

F. 参考文献

- 1) Ammerman JM, Lonser RR, Dambrosia J, Butman JA, Oldfield EH. Long-term natural history of hemangioblastomas in patients with von Hippel-Lindau disease: implications for treatment. *J Neurosurg*, 2006;105:248-255.
- 2) Conway JE, Chou D, Clatterbuck RE, Brem H, Long DM, Rigamonti D. Hemangioblastomas of the central nervous system in von Hippel-Lindau syndrome and sporadic disease. *Neurosurgery*, 2001;48:55-63.
- 3) Filling-Katz MR, Choyke PL, Oldfield E, Charnas L, Patronas N, Glenn G, Gorin M, Morgan J, Linehan W, Seizinger B, Zbar B. Central nervous system involvement in Von Hippel-Lindau disease. *Neurology*, 1991;41:41-46.
- 4) Kanno H, Kondo K, Ito S, Yamamoto I, Fujii S, Trigo S, Sakai N, Hosaka M, Shuin T, Yao M. Somatic mutations of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in sporadic central nervous system hemangioblastomas. *Cancer Res*, 1994;54:4845-4847.
- 5) Kanno H, Yamamoto I, Nishikawa R, Matsutani M, Wakabayashi T, Yoshida J, Shitara N, Yamasaki I, Shuin T, and Clinical VHL Research Group in Japan. Spinal cord hemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease. *Spinal Cord*, 2009;47:447-452.
- 6) Lonser R, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM, Oldfield EH. von Hippel-Lindau disease. *Lancet*, 2003;361:2059-2067.
- 7) Neumann HP, Eggert HR, Scheremet R, Schumacher M, Mohadjer M, Wakhloo A, Volk B, Hettmannsperger U, P Riegler P, P Schollmeyer P, Wiestler O. Central nervous system lesions in von Hippel-Lindau syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1992;55:898-901.
- 8) Neumann HP, Lips CJ, Hsia YE, Zbar B. von Hippel-Lindau syndrome. *Brain Pathol*, 1995;5:181-193.
- 9) Maher ER, Kaelin WG Jr. von Hippel-Lindau disease. *Medicine (Baltimore)*, 1997;76:381-391.
- 10) Maher ER, Yates JR, Harries R, Benjamin C, Harris R, Moore AT, Ferguson-Smith MA. Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease. *Q J Med*,

1990;77:1151-1163.

- 11) Park DM, Zhuang Z, Chen L, Szerlip N, Maric I, Li J, Sohn T, Kim SH, Lubensky IA, Vortmeyer AO, Rodgers GP, Oldfield EH, Lonser RR. von Hippel-Lindau disease-associated hemangioblastomas are derived from embryologic multipotent cells. PLoS Med, 2007;4:333-341.
- 12) Wanebo JE, Lonser RR, Glenn GM, Oldfield EH. The natural history of hemangioblastomas of the central nervous system in patients with von Hippel-Lindau disease. J Neurosurg, 2003;98:82-94.
- 2) Kanno H, Sato H, Yokoyama TA, Yoshizumi T, Yamada S. The VHL tumor suppressor protein regulates tumorigenicity of U87-derived glioma stem-like cells by inhibiting the JAK/STAT signaling pathway. Int J Oncol, 2013;42:881-886.

日本語論文

G. 研究発表

1. 論文発表

外国語論文

- 1) Kanno H, Kuratsu J, Nishikawa R, Mishima K, Natsume A, Wakabayashi T, Houkin K, Terasaka S, Shuin T. Clinical features of patients bearing central nervous system hemangioblastoma in von Hippel-Lindau disease. Acta Neurochirurgica, 2013;155:1-7.

- 1) 菅野 洋: 家族性脳腫瘍の基礎と臨床. BRAIN and NERVE. 2012;64(5):557-564.

2. 学会発表

- 1) 菅野 洋, 村田英俊, 立石健祐, 日暮雅一, 末永 潤, 川原信隆: von Hippel-Lindau 病に伴う小脳血管芽腫の治療戦略と治療成績. 第 17 回脳腫瘍の外科学会, 2012, 横浜
- 2) 菅野 洋, 村田英俊, 立石健祐, 日暮雅一: von Hippel-Lindau 病に伴う小脳血管芽腫の重症度分類と治療戦略. 第 71 回日本脳神経外科学会, 2012, 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

表 1 CNS hemangioblastoma

Onset age of CNS HB (mean years±sd.)	7 to 73 (29.1±12.6)
VHL patients with a single HB	34.4±15.8
VHL patients with multiple HBs	25.7±9.8
Period of follow-up (mean years±s.d.)	0.6 to 39.2 (12.5±9.3)
ECOG Performance status(PS) (mean score±s.d.)	0.77±1.16
ECOG PS 0	63(56.8%)
ECOG PS 1	29(26.1%)
ECOG PS 2	8(7.2%)
ECOG PS 3	6(5.4%)
ECOG PS 4	3(2.7%)
ECOG PS 5	2(1.8%)
Distribution of all CNS HBs	264
Cerebellum	172(65.2%)
Spinal cord	63(23.9%)
Brainstem	26(9.8%)
Pituitary	3(1.1%)
Distribution of onset CNS HBs in VHL patients	111
Cerebellum	79(71.2%)
Spinal cord	21(18.9%)
Brainstem	10(9.0%)
Pituitary	1(0.9%)
Total number of operation	251
Times of operation per patient(mean times±s.d)	1 to 9 (2.2±1.8)

表 2 Onset age of CNS HB and other clinical features

Onset age of CNS HB (years)	-19 (N=26)	20-29 (N=41)	30-39 (N=24)	40- (N=20)
Male/Female	11/15	26, 15	14/10	9/11
Single/Multiple	7/19	17/24	8/16	15/5
Follow up period	13.54±9.14	13.61±8.92	13.54±10.87	7.5±6.81
Total number of CNS HB	75	103	62	24
Mean number of CNS HB	2.88±1.97	2.51±1.80	2.58±1.86	1.2±0.52
Distribution of all CNS HB	C47/B12/S15/P1	C58/B12/S33/P1	C52/B1/S9	C15/B1/S6/P1
Distribution of onset CNS HB	C19/B2/S4/P1	C28/B6/S7	C18/B1/S5	C14/B1/S5
Total number of operation	67	101	63	20
Mean number of operation	2.58±1.94	2.46±1.83	2.63±1.95	1±0.65
Mean ECOG-PS score	0.29±0.46	0.73±1.11	0.83±1.34	0.89±1.18
ECOG-PS score single	0	0.5±1.03	0.13±0.35	0.77±1.17
ECOG -PS score multiple	0.41±0.51	0.88±1.15	1.19±1.51	1.2±1.3

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

フォン・ヒッペル・リンドウ病の診療指針に基づく診断治療体制確立の研究

研究報告者 倉津 純一 熊本大学大学院医学薬学研究部先端生命医療科学部門
脳・神経科学講座脳神経外科学分野
中村 英夫 熊本大学大学院医学薬学研究部先端生命医療科学部門
脳・神経科学講座脳神経外科学分野

【研究要旨】

フォン・ヒッペル・リンドウ (VHL) 病は、常染色体優性遺伝の疾患で、複数の臓器に腫瘍性あるいは嚢胞性病変を多発する。1993年に原因遺伝子 (VHL 遺伝子) も同定され、その遺伝子産物の分子生物学的機能に関しても解明されてきている。臨床的には、VHL 病は中枢神経系に血管芽腫が多発すると同時に、眼病変、腎病変、膵臓等の内分泌臓器に病変を有するために、複数の診療科で横断的に治療をしていく必要がある。昨年、我々は、VHL 病に携わるすべての診療科に応用できるガイドブックの作製を行った。ガイドブックすでに完成し、実用可能な状態である。更に今年度は、VHL 病に関連する各臓器別の重症度分類の作成を行うべく討議し、ほぼ完成した。VHL 病はあくまで全身性の疾患であり、我々脳神経外科医にとっては、中枢神経系以外の病態も十分に把握して診療すべき疾患である。そこで、複数の診療科より問題となる症例を定期的に検討し、専門の診療科以外の知識を広く共有することを昨年に引き続き、今年度も数回試みた。中枢神経系の VHL 病に関する診断や治療に関しての総説を脳神経外科ジャーナルという雑誌に発表した。

A. 研究目的

VHL 病は常染色体優性遺伝の形式をとる遺伝疾患であり、VHL 家系から発症する場合と、特発的に遺伝子異常が起こり発症する場合がある。脳神経外科領域において中枢神経系の血管芽腫が発見された場合に、VHL 病にともなう血管芽腫かどうかを見極める必要がある。VHL 病に伴う血管芽腫である場合には、他の全身性の病変の検索、診断も行う必要がある。臨床的な VHL 病的確な診断、治療法の確立を研究目的とする。

る。

B. 研究方法

1. 他科の診療科と共同して、VHL 病の重症度分類を作成する。
2. 診療科を越えて、各診療科より VHL 病の症例を持ち寄り、検討を加える。

C. 研究結果

各診療科にて VHL 病に伴う各臓器別の重症度分類が、それぞれにの疾患の病態に基

づいて作成された。VHL 病は複数の診療科で治療することが多く、専門以外の診療科で治療される病変の病態を把握するのに非常に役に立つと思われた。また、今年度も数回症例検討会をおこない、他の診療科の病変を検討することで、VHL 病を全身性の疾患であると認識し、専門以外の病変部の診断法、治療のタイミング等を理解することができた。

D. 考察

VHL 病は、複数の腫瘍性病変や嚢胞性病変が認められる疾患であるが、的確な診断、治療を行えば、長期生存が期待できると思われる。VHL 病を治療するに当たっては、疾患に対する総合的な理解が必要である。

E. 結論

VHL 病を診療するにあたって、我々が作

成した VHL 病の重症度分類が有用と思われる。定期的な症例検討会は専門以外の診療科の疾患を把握するのに有用であった。

F. 参考文献 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表
1) 中村英夫、倉津純一、執印太郎：VHL 病に伴う中枢神経系血管芽腫、脳神経系ジャーナル 2012；22（1）：52-61.
2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

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

フォン・ヒッペル・リンドウ病の診療指針に基づく診断治療体制確立の研究：
WEB 会議での症例検討と重症度分類の作成

研究報告者 宝金 清博 北海道大学大学院医学研究科脳神経外科
寺坂 俊介 北海道大学病院脳神経外科

【研究要旨】

フォン・ヒッペル・リンドウ病は常染色体優生遺伝で複数の臓器に腫瘍性・嚢胞性病変を呈する難治性疾患である。我々は過去に診療ガイドラインを作成し、VHL 病の症例検討を通じて本ガイドラインの有用性や問題点を検証したが、稀少疾患ゆえに WEB 等を利用して行う症例検討には大きな意義があった。重症度分類の作成においては様々な意見が出されたが、今後実際の患者さんを分類し、偏りや本基準が真に重症度を反映しているかを検証することとなった。

A. 研究目的

フォン・ヒッペル・リンドウ病は常染色体優生遺伝で複数の臓器に腫瘍性・嚢胞性病変を呈する難治性疾患である。我々は過去に診療ガイドラインを作成したが、VHL 病の症例検討を通じて本ガイドラインの有用性や問題点を検証する。また重症度分類を作成し、特定疾患治療研究事業対象疾患認定を目指す。

B. 研究方法

- 1) WEB 会議にて症例検討を行う
- 2) 中枢神経系血管芽腫に対する重症度分類を作成する

C. 研究結果

- 1) 15 歳の若年発症の VHL 症例を提示し、A) 遺伝相談をどのようにすすめるか、B) 中枢神経系血管芽腫に対する薬物治療、に

関して検討した。

- 2) 中枢神経系血管芽腫に対しては以下の重症度分類が提案された。

中枢神経系血管芽腫

神経症状

- | | |
|----|---------------------------|
| N0 | 中枢神経系血管芽腫を画像上認めない |
| N1 | 中枢神経系血管芽腫を画像上認めるが神経症状なし |
| N2 | 軽度の神経症状を認めるが、日常・社会生活に問題なし |
| N3 | 神経症状を認め、日常・社会生活に問題あるが軽度 |
| N4 | 神経症状を認め、日常・社会生活に支障が大きい |

D-E. 考察と結論

本疾患は稀少疾患であり個々の医師の経験数は非常に少ない。よって WEB 等を利用

して行う症例検討には大きな意義があった。提示した症例の検討項目に関しては、1) 遺伝相談：VHL 遺伝子検査を行い VHL 病の 1 型か 2 型の予測がつけば、将来、褐色細胞腫が発症する可能性が分かる、2) 薬物治療：アメリカで行われた中枢神経系血管芽腫に対する抗 VEGF 抗体治療は無効であった、との意見が出され有益な情報を得た。重症度分類に関しては様々な意見が出されたが、今後実際の患者さんを分類し、偏りや本基準が真に重症度を反映しているかを検証することとなった。

F. 参考文献 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanno H, Kuratsu J, Nishikawa R, Mishima K, Natsume A, Wakabayashi T, Houkin K, Terasaka S, Shuin T: Clinical features of patients bearing central nervous system hemangioblastoma in von Hippel-Lindau disease Acta Neurochir (wien) 2013;155(1): 1-7.

2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

フォン・ヒッペル・リンドウ病の診療指針に基づく診断治療体制確立の研究

研究報告者 西川 亮 埼玉医科大学国際医療センター脳神経外科

【研究要旨】

本年は昨年までの研究で完成した診療ガイドラインに基づく実際の診断治療体制確立を目的として、（１）重症度分類の作成、（２）ウェブ会議による症例検討会によるガイドラインの検証と評価、を行った。

A. 研究目的

1. フォン・ヒッペル・リンドウ病の重症度分類を作成する。
2. フォン・ヒッペル・リンドウ病診療ガイドラインを実際の症例で検証・評価する。

B. 研究方法

1. 重症度分類のひな形を作成し討議検討を行った。
2. 症例検討会を行い、診療ガイドラインの検証・評価を行った。
3. 以上を可能な限りウェブ会議にて実施した。

C. 研究結果

1. 重症度分類(案)：中枢神経系血管芽腫

重症度	記述
N0	中枢神経系血管芽腫を画像上認めない
N1	中枢神経系血管芽腫を画像上認めるが神経症状なし
N2	軽度の神経症状を認めるが、日常・社会生活に問題なし

N3	神経症状を認め、日常・社会生活に問題あるが軽度
N4	神経症状を認め、日常・社会生活に支障が大きい

N3とN4の判定基準は、自立できるか否かで判断する。

この案を元に実際の患者で調査を行い、重症度別頻度や弁別性、使いやすさなどについて検討を行った。

2. 症例検討会（表1参照）

D. 考察

フォン・ヒッペル・リンドウ病診療ガイドラインは本邦初めてのもので、極めて意義があり、有用である。実際の症例検討においてもこれを確認することができた。また実際の臨床現場においては、もちろんガイドラインでは判断に苦しむ症例は必ず存在すると考えられるから、この班会議を基盤としたネットワークが重要である。ウェブ会議はその意味でも、全国の専門家の意見を聞く場として、重要な役割を果たすと思われる。

E. 結論

1. 重症度分類案を作成し、実際の患者における調査を行った。
2. 症例検討会をウェブ会議で行い有用であった。

F. 参考文献 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

表1 症例検討会

症例	問題点	該当ガイドライン	討論
37歳女性	無症候性多発脾嚢胞の治療方針	脾嚢胞性病変は圧迫症状がなければ経過観察は不要	多発性の場合は経過観察が必要で、特に神経内分泌腫瘍を見逃さないことが重要
15歳女性	頸髄 C3/4 と頭蓋頸髄移行部の血管芽腫の手術次期	脊髄腫瘍では1cm以上で手術が推奨される	ガイドライン通りで、同時手術が可能
15歳女性	小脳、脳幹、脊髄の多発血管芽腫に加え、網膜血管腫と腎癌も認められる	遺伝カウンセリングについて解説あり。	精神的サポートあるいは遺伝相談の体制について。分子標的薬治療の可能性について
70歳女性	小脳の嚢胞性病変の実質部分の急速な拡大	-	嚢胞の急速な拡大の経験はあるが、実質部分がある時点から急速に拡大することは稀である
40歳男性	腎癌切除後のラジオ波治療について	2cmになった時点で腎温存手術、ラジオ波焼灼術を考慮する。	すでに複数回のラジオ波治療を受けているので、今後も腫瘍を小さい内にみつけてラジオ波を繰り返すという方針にならざるを得ない

悪性髄膜腫における低酸素誘導因子 HIF-3 α 4 の血管新生抑制効果

研究報告者 安藤 等 名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科
夏目 敦至 名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科

【研究要旨】

髄膜腫は原発性脳腫瘍の中で最も発生頻度が多く、腫瘍血管が豊富な腫瘍である。多くは良性だが、中には浸潤再発を繰り返す予後不良な症例もある。これまで我々は、髄膜腫の網羅的メチル化解析を行い、ある遺伝子群のメチル化が独立した再発予後因子である可能性を示した。この遺伝子群には VHL 経路である hypoxia inducible factor 3 α (HIF3 α)が含まれる。HIF タンパクは α 、 β サブユニットからなる二量体で、 α サブユニットには HIF-1 α 、2 α 、3 α の 3 つのアイソフォームがある。HIF-1 α 、2 α は、 β サブユニットと結合して核内に移行し、血管新生など腫瘍進展に関連する様々な遺伝子を転写誘導する。一方 HIF-3 α には近年様々なスプライシングバリエントが判明しているが、それぞれの機能は未だ不明な点が多い。我々は本研究で、かねてから HIF-1 α 、2 α の negative regulator と言われてきた HIF-3 α 4に着目した。悪性髄膜腫ではメチル化によって HIF-3 α 4がサイレンシングされているが、これを安定発現させたところ、腫瘍細胞の増殖および遊走能の抑制、抗血管新生、代謝および組織低酸素改善、ひいては動物モデルの生存期間延長を認めた。これらの結果から HIF-3 α 4は悪性髄膜腫の新たな治療戦略に寄与する可能性がある。

A. 研究目的

髄膜腫には、組織学的に良性と診断されたにもかかわらず、強い組織浸潤や早期再発をきたす群が存在し、組織所見による分類と独立したサブグループの存在が示唆される。

髄膜腫は腫瘍血管が豊富で、vascular endothelial growth factor (VEGF)の分泌による腫瘍血管の増生から、VHL-HIF 経路の関与が示唆されている。我々はこれまでの研究で、ある遺伝子群のエピジェネティックな変化（メチル化）が細胞増殖や悪性化など髄膜腫の臨床性格に強く関与する

ことを示した。この遺伝子群の中には hypoxia inducible factor 3 α (HIF-3 α)が含まれていた。

もともと髄膜腫や神経鞘腫では腫瘍形成・進展に強く関与する hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α)が高発現していることは知られていた。一方、最近 HIF-3 α には様々なスプライシングバリエントの存在が判明し、それぞれの機能は未だ不明な点が多い。本研究の目的は、HIF-3 α スプライシングバリエントのなかでも HIF-1 α 、2 α に対して negative regulator として働くと言われてきた HIF-3 α 4の機能を解析し、髄

膜腫に対する革新的な分子標的治療を開発することである。

B. 研究方法

レトロウイルスを用いて、悪性髄膜腫のセルライン (IOMM-Lee) に、GFP タグをつけた HIF-3 α 4 をトランスフェクションして安定発現株を得た。この細胞を *in vitro* で正常酸素下および低酸素下で培養し、増殖能、遊走能を調べた。またこの細胞をマウス脳内に xenograft して増殖能、腫瘍血管造成能、生存期間を評価した。更に PET を用いて糖代謝、腫瘍微細環境の低酸素状態の変化も検証した。

(倫理面への配慮)

各施設における動物実験に関する倫理規定を遵守した。

C. 研究結果

本来有酸素条件下では von Hippel Lindau システムで速やかに分解されるはずの HIF-1 α タンパクは、悪性髄膜腫セルライン (IOMM-Lee) において有酸素条件下でも高度に発現していた (Fig. 1A)。これは悪性髄膜腫が血管豊富な腫瘍であることを考えると妥当である。一方、IOMM-Lee では HIF-3 α 4 の転写が見られないが、これに脱メチル化剤 (5-aza-deoxycytidine) を作用させると転写量は有意に増加していた (Fig. 1B)。これらの結果から、悪性髄膜腫において、HIF-3 α 4 はメチレーションによってサイレンシングされており、HIF-1 α に対するフィードバックシステムが破綻していることが示唆された。

次にレトロウイルスを用いて GFP タグ付き HIF-3 α 4 を安定発現させた細胞株を作

成し、これを IO-HIF3 α 4 とした。これを用いてウエスタンブロッティングを行ったところ、HIF-3 α 4 の発現を確認することができた (Fig 1C)。この株を用いて、HIF-3 α 4 と HIF-1 α のインタラクションを免疫沈降法で確かめたところ、両者のインタラクションが示唆された (Fig. 1D)。この細胞株をもちいて RT-PCR を行ってみると、IO-HIF-3 α 4 ではコントロールと比較して VEGF の転写量が有意に低減していた (Fig. 1E)。細胞増殖能を調べたところ、IO-HIF3 α 4 では著名に増殖が抑制されるとともに、遊走能も有意に低下していた (Fig. 2A, B)。この株をマウス脳内に xenograft して髄膜腫モデルを作成し、血管密度を計測したところ、IO-HIF3 α 4 群で血管密度は著明に低下していた (Fig. 3A-C)。また細胞株をマウス皮下に xenograft し、FDG-PET、FMISO-PET を行った結果ではいずれも核種取り込みが減少しており、糖代謝低下、腫瘍微細環境の低酸素状態改善が示唆された (Fig. 3D, E)。さらにマウス脳内に腫瘍細胞を xenograft した腫瘍モデルの生存期間を調べたところ、IO-HIF3 α 4 群で生存期間が有意に延長していた (Fig. 3F)。

D. 考察

HIF-1 α は VEGF をはじめ、EPO、GLUT1 など 100 を超える様々な遺伝子の転写因子であり、腫瘍形成・進展に重要な役割をもつことはよく知られているが、本来通常酸素条件下では VHL システムによって速やかに分解される。一方、髄膜腫は非常に豊富な血管をもち、HIF-1 α と VEGF の高発現が特徴的で、この理由として VHL タンパク異常などが考えられている。以前我々は、ある遺伝子

群のメチル化が独立した髄膜腫の再発・予後予測因子であることを示したが、この遺伝子群に HIF-1 α の negative regulator と考えられてきた HIF-3 α が含まれていたことは大変に興味深い。

近年 HIF-3 α には様々なスプライシングバリエントが存在するのがわかってきた。中でも von Hippel Lindau 病と関連の深い腎癌などで HIF-3 α 4 の安定を発現させると、VEGF 発現が抑制されて血管密度が低下するのが報告されている。我々はこの研究で、HIF-3 α 4 の安定発現は、悪性髄膜腫において抗血管新生作用をもたらす、糖代謝および腫瘍微細環境における低酸素を改善させ、モデル動物の生存期間を延長させることを示した。特に放射線あるいは化学療法に対する治療抵抗性の大きな要因である腫瘍微細環境の低酸素を改善させる点について、HIF-3 α 4 は、悪性髄膜腫はもとより他の癌腫の治療戦略に寄与する可能性がある。

E. 結論

悪性髄膜腫において、HIF-3 α 4 は HIF-1 α の機能を阻害して細胞増殖や血管密度の抑制、糖代謝や腫瘍微細環境の低酸素を改善し、モデル動物の生存期間を延長させる。HIF-3 α 4 の機能をさらに解析することで、髄膜腫はもとより HIF-1 α が過剰に発現している他の腫瘍性病変に対する革新的分子

標的治療を開発できる可能性がある。

F. 参考文献 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ando H, Natsume A, et al. A hypoxia-inducible factor (HIF)-3 α splicing variant, HIF-3 α 4 impairs angiogenesis in hypervascular malignant meningiomas with epigenetically silenced HIF-3 α 4. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;433(1):139-44.

2. 学会発表

- 1) 第30回日本脳腫瘍学会(2012年11月, 広島)
- 2) Joint Neurosurgical Convention 2013 (2013年1月, ハワイ)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

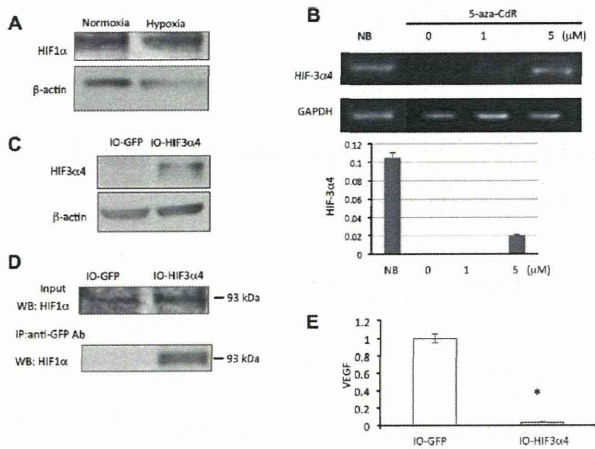


Fig. 1. (A) HIF-1 α is constitutively expressed in IO-MM-1 meningioma cells under normoxic and hypoxic conditions. (B) A DNA-demethylating agent, 5-azadeoxycytidine (5-aza-CdR), induced the expression of HIF-3 α 4. (C) IO-MM-1 meningioma cells stably expressing GFP-tagged HIF-3 α 4 were generated through cloning and puromycin selection. (D) Lysates from IO-MM-1 cells stably expressing GFP or HIF-3 α 4 were immunoprecipitated using anti-HIF-1 α antibody. We detected a band corresponding to 93-kDa HIF-1 α in the immunoprecipitated lysate from IO-HIF-3 α 4, but not in that from the control IO-GFP. (E) The transcription of VEGF was markedly suppressed in IO-HIF-3 α 4 cells compared to IO-GFP cells.

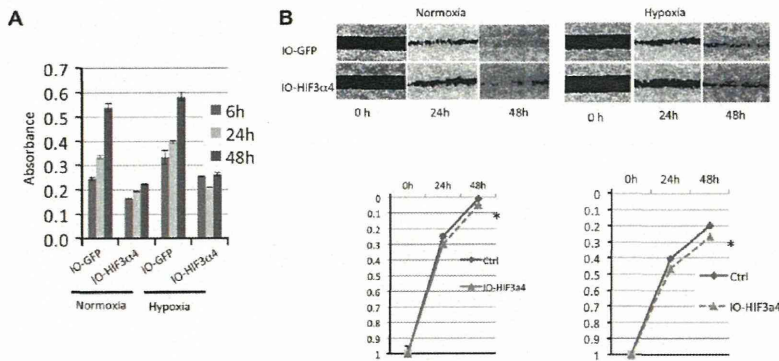


Fig. 2. HIF-3 α 4 directly inhibits the proliferation and invasion of meningioma cells. (A) Overexpression of HIF-3 α 4 significantly retarded cell proliferation under normoxia and hypoxia. (B) In scratch wound healing assay, the healing speed was slower in IO-HIF-3 α 4 cells than in IO-GFP cells ($P < 0.05$).

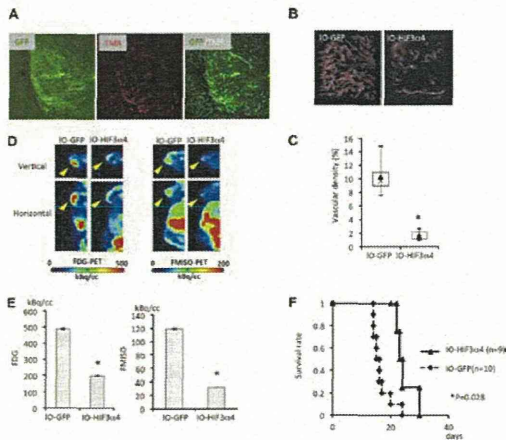


Fig. 3. HIF-3 α 4 reduced neovascularization and glucose metabolism in meningioma. (A) Tetramethylrhodamine (TMR)-stained hyper-dense vessels seen in GFP-expressing tumors. (B) Sequential images along the Z-axis enabled us to create three-dimensional images. (C) The number of vascular voxels per total voxels of the ROI was calculated in IO-HIF-3 α 4 and IO-GFP meningiomas. (D) FDG-PET (left) and FMISO-PET (right). While FDG uptake was extensively high in the control IO-GFP tumors, it was significantly reduced in IO-HIF-3 α 4 tumors. In the control IO-GFP tumors, FMISO uptake was slightly higher than the normal region. By contrast, overexpression of HIF-3 α 4 markedly decreased FMISO uptake. (E) FDG and FMISO uptake were significantly reduced in IO-HIF-3 α 4 tumors. (F) Survival rate was significantly lower in IO-HIF-3 α 4 tumors compared to IO-GFP tumors ($P = 0.028$).

フォン・ヒッペル・リンドウ病の診療指針に基づく診断治療体制確立の研究
腎癌の診断・治療

研究報告者 篠原 信雄 北海道大学大学院医学研究科腎泌尿器外科

【研究要旨】

VHL 病患者に発症する腎癌は、若年発症・多発性・両側性という特性がある。これらの点を考慮し適切な治療方針を決定するための診断治療指針、また一般的な医師や患者さん向けにガイドブックの作製が作成された。今後、これらに対する評価が必要である。また、今年度 VHL 病患者に発症する腎癌症例に対する重症度分類を作成した。これについても今後多くの医師による評価が必要である。一方、昨年度から実施されている VHL 症例検討会議は、1 症例に発症する多彩な疾患に対し、全体会議または Web システムを通して各専門領域のエキスパートの議論が可能という点で非常にすぐれたものである。今後さらに症例の蓄積が必要である。

A. 研究目的

VHL 病は常染色体優性遺伝性で各種の腫瘍が多発する難治性疾患である。主に中枢神経系と網膜血管芽腫、腎細胞癌、副腎褐色細胞腫、膝腫瘍、内耳リンパ嚢腫、精巣上体嚢腫が発症する。本年度の研究では、疾患を広く周知するため作成された VHL 病患者に発症する腎癌の診断治療指針、ガイドブックの有用性を評価する。また、VHL 病患者に発症する腎癌における重症度基準を作成し、それに基づく重症度判定を行う。あわせて、昨年度より実施している VHL 症例検討会議（Web 会議）を実践し、腎癌に対する治療法を検証する。

B. 研究方法

1. VHL 病患者に発症する腎癌における重症度基準を作成し、それに基づく重症度判

定を行う。

2. VHL 症例検討会議を実施し、その有用性を評価する。

C. 研究結果

1. 腎癌の進行度に加え、日常・社会生活にも即した重症度基準を作成し得た。今後多くの医療者に用いてもらい、内容の評価をうける予定である。

2. VHL 症例検討会議：

9/27/2012 に実施された第 4 回症例検討会に参加した。腎癌を有し、治療に難渋した 3 症例について議論に参加した。両側腎癌で腎温存手術後の再発例に対し、腫瘍サイズが 2cm となったことから我々が作成したガイドラインに基づき治療を行う必要を指摘した。その場合、凍結治療が優れていることをコメントした。左腎摘除後で右腎

に発生した腎癌に腎温存手術が施行された例に対し、再発予防としてインターフェロン製剤の有用性について質問があった。これまでの一般的腎癌の経験からインターフェロン製剤による再発予防は期待できないことを指摘した。23歳の女性で腎癌と褐色細胞腫が合併している例が議論された。今後妊娠・出産の可能性を考えると、褐色細胞腫摘除とともに腎温存手術の実施をコメントした。

D. 考察

VHL病のように希少な疾患は、その病態・経過が明確にはなっていない。我々は日本国内での実態調査を実施し、これを明らかにし論文化した。この結果に欧米の報告も加え、診断治療指針が作成すると同時にガイドブックを作成した。ガイドブックは当科で経過観察中の患者・家族に提供し、評価していただいたが、非常にわかりやすいとの意見であった。今後、多くの施設で実際にVHL病患者、家族に評価いただく必要があると考えられた。また、今年度はVHL病患者に発症する腎癌に対する重症度分類を作成した。今後、これが実情に合致したものか評価する必要がある。一方、各症例に関する症例検討会およびWeb会議は、日本各地に存在する専門医の情報共有、コンサルテーションシステムとして非常に有用であると思われた。回数をかさねることで、より洗練された形での症例検討会の実施が必要である。

E. 結論

VHL病患者に発症する腎癌に関し、重症度分類を作成した(表1)。また患者検討会

(Web会議)の実施は有用であると思われた。

表1 腎癌の重症度分類

R0	腎腫瘍を認めない
R1	腎腫瘍を認めるが、即座の治療の必要がなく、日常・社会生活に問題なし。(腎機能障害なし)
R2	腎腫瘍を認め、即座の治療が必要である。日常・社会生活に問題なし。(腎機能障害なし)
R3	腎腫瘍を認め、即座の治療が必要である。日常・社会生活に問題があるが軽度。(腎機能障害軽度)
R4	① 腎腫瘍を認め、即座の治療が必要である。日常・社会生活に支障が大きい。(腎機能障害高度) ② 遠隔転移巣を有する。

[注] 治療後で腫瘍はないが、腎機能障害がある場合もeGFRの基準に準じる。腎機能正常とはeGFRが60ml/min以上の例とする。腎機能障害軽度とはeGFRが30-60ml/min以上の例とする。腎機能障害高度とはeGFRが30ml/min未満の例とする。

F. 参考文献

- 1) 執印太郎、篠原信雄、矢尾正佑、山崎一郎、田村賢司、鎌田雅行：von Hippel-Lindau病全国疫学調査における腎癌の臨床的解析。日泌尿会誌 2012;103(3)：552-556.

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

フォン・ヒッペル・リンドウ病の診療指針に基づく診断治療体制確立の研究

研究報告者 矢尾 正祐 横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器分子遺伝学

【研究要旨】

フォン・ヒッペル・リンドウ（VHL）病の診療指針に基づく診断治療体制確立を目指し、VHL 病患者の重症度を判定するための分類を作成した。その中の、褐色細胞腫に対する重症度基準を以下のごとく作成した。

- Ph0 画像および内分泌生化学検査上、褐色細胞腫を認めない
- Ph1 褐色細胞腫を画像上認めるが、内分泌症状なし
- Ph2 内分泌症状⁽¹⁾を認めるが薬物コントロール⁽²⁾が良好で、日常・社会生活に問題なし
- Ph3 内分泌症状⁽¹⁾を認め、薬物コントロール⁽²⁾が不十分で、日常・社会生活に軽度の問題あり（カルノフスキーPS 90-70）
- Ph4 ①内分泌症状⁽¹⁾を認め、薬物コントロール⁽²⁾が困難で、日常・社会生活に支障が大きい（カルノフスキーPS 60以下）
②悪性褐色細胞腫で、遠隔転移巣を有する。

(1)内分泌症状とは、褐色細胞腫からのカテコラミン過剰分泌状態、あるいは手術後で副腎皮質ホルモンの低下あるいは不全状態を含む

(2)薬物コントロールとは、カテコラミン過剰分泌時の降圧剤（ α β 遮断薬など）、あるいは副腎機能低下時の皮質ホルモン補充を含む

また web base による各領域専門医が参加した VHL 病症例検討会に参加し、最適な診療を目指した総合的な討論を行うとともに、作成した診療指針の検証を試みた。VHL 病は全身性の難治疾患であり、同様な各領域専門医参加型の検討を継続していくことが重要と考えられる。

A. 研究目的

フォン・ヒッペル・リンドウ（VHL）病の診療指針に基づく診断治療体制確立の目的で、VHL 病患者の重症度を判定するための分類を新規に作成する。その中で、特に VHL 病に発症した褐色細胞腫に対する重症度基準を中心に分担作成を行う。

また、各領域専門医参加による VHL 病症例検討会を行い、症例ごとの最適な診療を目指すとともに作成した診療指針の検証を試みる。

B. 研究方法

VHL 病では発症疾患・罹患臓器が多岐に

渡るため、各診療科あるいは代表的な発症疾患別の重症度基準をまず作成し、続いてこれらを全て統合することにより最終的なVHL病重症度分類とすることが班会議で話し合われた。疾患全体での整合性、統一性を持たせるために、褐色細胞腫についても、疾患をまったく認めない状態(0)から、疾患を伴う状態を、(1)から(4)までの段階的重症度で層別化した。これまでの先行研究から褐色細胞腫では、カテコラミンの過剰分泌状態あるいは手術後の副腎不全状態と、これらに対する長期の薬物治療、また2~6%と頻度は稀であるが悪性転移例等で、QOLが大きく損なわれると考えられ、これらの因子を考慮した重症度基準を作成した。さらに患者の全身状態の一般的な評価法として広く用いられているカルノフスキーのperformance status score (PS)を判定に取り入れた。素案作成の後、班員による討議を重ね最終型とした。

また、VHL病症例のweb検討会に参加し、各領域専門医による総合的な討論から最適な診療法を導き出すとともに、以前に作成した診療指針を実際に運用しその有用性を検証した。

C. 研究結果

褐色細胞腫の重症度基準を以下のように作成した。

Ph0: 画像および内分泌生化学検査上、褐色細胞腫を認めない

Ph1: 褐色細胞腫を画像上認めるが、内分泌症状なし

Ph2: 内分泌症状(1)を認めるが薬物コントロール(2)が良好で、日常・社会生活に問題

なし

Ph3: 内分泌症状(1)を認め、薬物コントロール(2)が不十分で、日常・社会生活に軽度の問題あり (カルノフスキーPS 90-70)

Ph4: ① 内分泌症状(1)を認め、薬物コントロール(2)が困難で、日常・社会生活に支障が大きい (カルノフスキーPS 60以下)

② 悪性褐色細胞腫で、遠隔転移巣を有する。

(1)内分泌症状とは、褐色細胞腫からのカテコラミン過剰分泌状態、あるいは手術後で副腎皮質ホルモンの低下あるいは不全状態を含む

(2)薬物コントロールとは、カテコラミン過剰分泌時の降圧剤(α β 遮断薬など)、あるいは副腎機能低下時の皮質ホルモン補充を含む

(参考資料)

カルノフスキー (Karnofsky) 指標

PS 指標	意味
100%	正常、臨床症状なし
90%	軽い臨床症状あるが、正常の活動可能
80%	かなり臨床症状あるが、努力して正常の活動可能
70%	自分自身の世話はできるが、正常の活動・労働することは不可能
60%	自分に必要なことはできるが、ときどき介助が必要
50%	病状を考慮した看護および定期的な医療行為が必要
40%	動けず、適切な医療および看護が必要
30%	全く動けず、入院が必要だが死はさしさまっていない