

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791253

研究課題名(和文) 神経線維腫症 型の抗TNF- $\alpha$ 抗体による新規治療の開発

研究課題名(英文) The new approach for Neurofibromatosis type 1 treatment using TNF-alpha antibody

研究代表者

中村 泰大 (Nakamura, Yasuhiro)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20455934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：神経線維腫症 型は進行する皮膚の神経線維腫が全身に生じ、時に一部の腫瘍は巨大化・悪性化し、生活の質、生命予後を低下させる。研究代表者は神経線維腫細胞の増殖にtumor necrosis factor alpha (以下TNF- $\alpha$ )が神経線維腫細胞の増殖能を有することを見いだした。本研究ではTNF- $\alpha$ がin vivoにて神経線維腫の増殖能を増強するか否かという効果について検討した。神経線維腫モデルマウスを用いてTNF- $\alpha$ を投与群と非投与群と比較検討したところ、投与群の方が神経線維腫の増大傾向が確認された。また、TNF- $\alpha$ 抗体の投与にて、腫瘍増大速度が減少する傾向がみられた。

研究成果の概要(英文)：The patients with neurofibromatosis type 1 (NF-1) have multiple cutaneous neurofibroma and some neurofibroma may increase in huge size and develop malignant peripheral nerve sheath tumor, which harm patients' quality of life and lead to the dismal vital prognosis. The investigator confirmed that the tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) augments mitogenic activity of cultured human neurofibroma cells. In this study, the growth responses of in vivo neurofibroma to TNF-alpha was investigated. The tumor growth in the group of NF-1 model mouse who was given TNF-alpha was stronger than that in the group NF-1 mouse without TNF-alpha administration. Inhibition of the TNF-alpha action with specific TNF-alpha antibody led to the tendency of suppression of neurofibroma growth in NF-1 model mouse.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：神経線維腫症1型 神経線維腫 TNF-alpha

## 1. 研究開始当初の背景

神経線維腫症 型 (以下 NF-1) は全身の神経系を侵す常染色体優生遺伝の神経系疾患である。主に進行する皮膚の神経線維腫が全身に生じる。時に一部の腫瘍は悪性化し、生命を脅かす。さらに懸垂性神経線維腫が成長すると患者の quality of life を著しく低下させる。以上のように NF-1 は進行、増殖する皮膚神経線維腫が前述した諸症状、種々の病態の原因となるため、神経線維腫増殖の制御が本疾患治療の鍵となる。しかし、治療は頻回の外科的切除に留まり、現在まで確立された根本的治療法はなく、本腫瘍の増殖に関する詳細なメカニズムも依然解明されていない。

現在までに、本疾患の原因遺伝子である NF-1 遺伝子は第 17 染色体 (17q11.2) にコードされており neurofibromin を産生することが明らかとなっている。これは ras 遺伝子機能を抑制する癌抑制遺伝子であり、NF-1 ではこの遺伝子に変異が生じることで、通常産生されるべき neurofibromin の機能不全が生じ、ras 遺伝子機能活性を介して神経線維腫の分裂増殖が進むことが解明されている。

このような細胞内遺伝子レベルでの腫瘍の自己増殖機構の他に、細胞外因子も神経線維腫の増殖に何らかの影響を及ぼしていると考えられる。現在まで insulin-like growth factor、hepatocyte growth factor、human stem cell factor、platelet-derived growth factor 等の数種類のサイトカインが NF-1 に関連する神経系腫瘍の増殖に関与することが in vitro および in vivo で示されている。しかしながら、現在のところ神経線維腫を有意に制御するサイトカインは見出されておらず、実際の臨床における治療でも実用化されていない。

研究代表者は神経線維腫細胞の増殖に影響を与える様々なサイトカインを検索したところ、tumor necrosis factor alpha (以下 TNF- $\alpha$ ) が他のサイトカインに比べて有意に強い神経線維腫細胞の増殖能を有し、腫瘍組織内に存在する肥満細胞が TNF- $\alpha$  の分泌に深く関わっていることを見いだした。

TNF- $\alpha$  は当初細胞増殖を抑制するサイトカインとして発見されたが、次第に増殖抑制のみならず、特定の細胞には増殖促進的に作用し、また、細胞分化、炎症等にも関与することが明らかとなっている。現在では欧米において、TNF- $\alpha$  によりアポトーシスが誘導される各種の悪性腫瘍において治療薬として使用されている。また、近年では慢性関節リウマチやクローン病、乾癬における TNF- $\alpha$  の炎症症状への関与が示されており、抗 TNF- $\alpha$  抗体による治療が既に本邦においても行われている。腫瘍の増殖促進・抑制に関しては、一般に TNF- $\alpha$  が細胞膜表面の TNF-レセプター 1 に付着することで、カスパーゼ系が活性化してアポトーシスを誘導する経路と NF- $\kappa$ B および MAP キナーゼ系が活

性化して細胞増殖を誘導する 2 経路が解明されている。

さらに、従来 NF-1 研究において皮膚に生じる神経線維腫モデルは存在しなかったため個体レベルでの病態解析や治療モデルの検討が困難であった。しかし、近年皮膚の色素異常や皮膚神経線維腫を再現したマウスの系統が確立され、in vivo での治療法検討や、病態の解明が可能になってきた背景がある。

## 2. 研究の目的

このように TNF- $\alpha$  の役割およびそのメカニズムが次第に明らかになってきたにもかかわらず、細胞特異性にアポトーシスと細胞増殖という、相対する機能がどのようなメカニズムで選択的に働くかは詳細不明である。そこで本研究では既に研究代表者が in vitro で見いだした TNF- $\alpha$  が神経線維腫の増殖能を増強するという効果について、in vivo にて TNF- $\alpha$  が神経線維腫の病態にどのように関わっているかを明らかにすることを目的とする。in vivo における神経線維腫および他の各腫瘍・癌腫への TNF- $\alpha$  の増殖能の影響 (TNF- $\alpha$  の投与経路効果、濃度依存効果等) の解析と、in vivo における神経線維腫および他の各腫瘍・癌腫への抗 TNF- $\alpha$  レセプター抗体の増殖能抑制の影響 (TNF- $\alpha$  の投与経路効果、濃度依存効果等) の解析を主目的とする。

## 3. 研究の方法

(1)NF-1 モデルマウスおよび各腫瘍・癌腫モデルマウスへの TNF- $\alpha$  および他のサイトカイン (EGF、NGF、bFGF 等) 投与時の神経線維腫および各腫瘍・癌腫への増殖能の影響を解析、比較検討する。

(2)NF-1 モデルマウスおよび各腫瘍・癌腫モデルマウスへの抗 TNF- $\alpha$  レセプター抗体投与時の神経線維腫および各腫瘍・癌腫への増殖抑制能の影響を解析、比較検討する。

(3)NF-1 モデルマウスと TNF- $\alpha$  強制発現トランスジェニックマウスを交配して得た TNF- $\alpha$  強制発現 NF-1 マウスの皮膚神経線維腫の増殖の程度、抗 TNF- $\alpha$  レセプター抗体投与時の増殖抑制能の程度を野生型 NF-1 モデルマウスと比較検討する。

## 4. 研究成果

(1)NF-1 モデルマウスおよび各腫瘍・癌腫モデルマウスへの TNF- $\alpha$  および他のサイトカイン (EGF、NGF、bFGF 等) 投与時の神経線維腫および各腫瘍・癌腫への増殖能の影響については、B16F10、乳癌モデルマウス、骨肉腫モデルマウスなどと腫瘍成長の差異を比較したが、各種サイトカイン投与後の明確な有意差はみられなかった。しかし、NF-1 モデルマウスでの TNF- $\alpha$  投与群と非投与群の比較では投与群の方が神経線維腫の増大傾向が確認された。また TNF- $\alpha$  の投与量依存効果もみられた。

(2)NF-1 モデルマウスおよび各腫瘍・癌腫モデルマウスへの抗 TNF- レセプター抗体投与時の神経線維腫および各腫瘍・癌腫への増殖抑制能への影響については、NF-1 モデルマウスへの TNF- 抗体の投与にて腫瘍増大速度が減少する傾向がみられた。

しかしながら 共に統計学的有意差はみられなかった。

(3)当初NF-1モデルマウスとTNF- 強制発現トランスジェニックマウスを交配して得たTNF- 強制発現NF-1マウスの皮膚神経線維腫の増殖の程度、抗TNF- レセプター抗体投与時の増殖抑制能の程度を、野生型NF-1モデルマウスと比較検討する予定であったが、トランスジェニックマウスが研究期間中に上手く作成できず、本実験結果が得られなかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

1. Kawachi Y, Maruyama H, Ishitsuka Y, Fujisawa Y, Furuta J, Nakamura Y, Ichikawa E, Furumura M, Otsuka F: NF1 gene silencing induces upregulation of vascular endothelial growth factor expression in both Schwann and non-Schwann cells. *Exp Dermatol* 22:262-5, 2013. doi: 10.1111/exd.12115 (査読有)
2. Nakamura Y, Fujisawa Y, Nakamura Y, Maruyama H, Furuta J, Kawachi Y, Otsuka F: Improvement of the sentinel lymph node detection rate of cervical sentinel lymph node biopsy using real-time fluorescence navigation with indocyanine green in head and neck skin cancer. *J Dermatol* 40:453-457, 2013. doi: 10.1111/1346-8138.12158(査読有)
3. Kawachi Y, Ishitsuka Y, Maruyama H, Fujisawa Y, Furuta J, Nakamura Y, Ishii Y, Ichikawa E, Otsuka F. The POU domain transcription factors Oct-6 and Oct-11 negatively regulate Ioricrin gene expression in keratinocytes: association with AP-1 and Sp1/Sp3. *Arch Dermatol Res* 305:371-378, 2013. doi: 10.1007/s00403-013-1317-x (査読有)
4. Nakamura Y, Nakamura Y, Saito A, Fujisawa Y, Kawachi Y, Otsuka F. High-grade mucoepidermoid carcinoma of the columella successfully reconstructed using bilateral nasolabial flaps set up in a sandwich shape and an auricular cartilage graft after surgical resection. *J Dermatol* 40:911-914, 2013. doi: 10.1111/1346-8138.12274 (査読有)
5. Ishitsuka Y, Kawachi Y, Maruyama H, Taguchi S, Fujisawa Y, Furuta J, Nakamura Y, Ishii Y, Otsuka F. Pituitary Tumor Transforming Gene 1 Induces Tumor Necrosis Factor-Production from Keratinocytes: Implication for Involvement in the Pathophysiology of Psoriasis. *J Invest Dermatol* 133(11):2566-2575, 2013. doi: 10.1038/jid.2013.189 (査読有)
6. Kawachi Y, Obara S, Nakamura Y, Fujisawa Y, Nakamura Y, Ishii Y, Ichikawa E, Otsuka F: Ischemic leg ulcer due to vasculopathy associated with neurofibromatosis type 1. *Eur J Dermatol* 23(4):522-523, 2013. doi: 10.1684/ejd.2013.2064 (査読有)
7. Nakamura Y, Kawachi Y, Nakamura Y, Iino Y, Fujisawa Y, Otsuka F: Linear lupus erythematosus profundus involving the muscle with an intractable deep ulcer, successfully treated with surgical excision. *Eur J Dermatol* 23(4):535-536, 2013. doi: 10.1684/ejd.2013.2068 (査読有)
8. Teramoto Y, Nakamura Y, Yamada K, Yamamoto A: Oral S-1 in advanced cutaneous squamous cell carcinoma. *J Dermatol*, in press (査読有)
9. Nakamura Y, Teramoto Y, Yamada K, Yamamoto A: Giant vascular eccrine spiradenoma mimicking chronic expanding hematoma *J Dtsch Dermatol Ges*, in press (査読有)
10. 中村泰大:Oncoplastic Skin Surgery 類の皮膚腫瘍 .PEPARS 76(4) :18-27 ,2013 (査読無)
11. 中村泰大:悪性黒色腫の診断と治療 治療法の変遷と展望 手術治療 .日本臨牀 71(増4) :57-61 ,2013 (査読無)
12. 中村泰大:悪性黒色腫の病期分類と予後因子 悪性黒色腫の予後因子 .日本臨牀 71(増4) :197-201 ,2013 (査読無)
13. 中村泰大:悪性黒色腫の治療 外科的治療 手術適応と方法論(原発巣,所属リンパ節転移) .日本臨牀 71(増4) :299-302 ,2013 (査読無)
14. 中村泰大, 寺本由紀子, 山田勝裕, 山本明史:RECIST と ir Response Criteria - Ipilimumab の効果判定 .腫瘍内科 12(4) :382-387 ,2013 (査読無)

[学会発表](計 9 件)

1. 中村泰大, 須山孝雪, 寺本由紀子, 山田和哉, 山本明史:頭蓋骨全層欠損を生じた頭部熱傷癒痕癌 .第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会, 鹿児島市, 2013, 11.9-10

2. 寺本由紀子, 中村泰大, 山本明史: 再発転移メラノーマに対する二次治療としてのカルボプラチン・パクリタキセル併用療法. 第 51 回日本癌治療学会学術集会, 京都市, 2013, 10.24-26
3. 中村泰大: 皮膚科医の視点からみた再建術の選択と実際. 第 77 回日本皮膚科学会東部支部総会学術大会, さいたま市, 2013, 9.21-22
4. 中村泰大: 末端黒子型黒色腫における切除・再建の考え方. 第 29 回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会, 甲府市, 2013.8.9-10
5. Nakamura Y, Ohara K, Kishi A, Teramoto Y, Fujisawa Y, Otsuka F, Yamamoto A: Prognosis of in situ or minimally-invasive subungual melanoma treated by non-amputative wide local excision using skin grafts: an analysis of 76 cases. 8th World Congress of Melanoma, Hamburg, Germany, 2013.7-17-20
6. 中村泰大, 小原佐恵子, 中村貴之, 藤澤康弘, 川内康弘, 大塚藤男: Axillary giant lipoma の 2 例. 第 28 回日本皮膚外科学会総会・学術大会, 大津市, 2013, 7.13-14
7. 中村泰大, 藤澤康弘, 石塚洋典, 丸山浩, 中村貴之, 田中亮多, 川内康弘, 大塚藤男: 皮膚悪性腫瘍に対する放射線療法後救済手術の術後合併症に関する検討. 第 28 回日本皮膚外科学会総会・学術大会, 大津市, 2013, 7.13-14
8. Nakamura Y: Dermatologic Surgery for Skin Malignancy. The 2nd East Asia Dermatologic Surgery Meeting, Yokohama, 2013, 6.16
9. 中村泰大: 有棘細胞癌の化学療法. 第 112 回日本皮膚科学会総会, 横浜市, 2013, 6-14-16

〔図書〕(計 2 件)

1. Nakamura Y, Teramoto Y, Yamamoto A. The Surgical Extent of Regional Lymph Node Dissection for Cutaneous Melanoma and its Novel Techniques and Modifications, Melanoma: Molecular Biology, Risk Factors and Treatment Options. Edited by Jones AC, ISBN 978-1-62808-611-9 Nova Publishers, USA, 115-136, 2013
2. Nakamura Y, Otsuka F. Sentinel lymph node biopsy for melanoma and surgical approach to lymph node metastasis, Melanoma - From Early Detection to Treatment. Edited by Duc GHT, ISBN 980-953-307-600-8 <http://dx.doi.org/10.5772/53625> InTech, Croatia, 499-521, 2013

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

1. 社団法人日本皮膚科学会 皮膚科 Q&A メラノーマ以外の皮膚悪性腫瘍 (監修: 中村泰大, 大塚藤男) (<http://www.dermatol.or.jp/qa/qa29/index.html>)

6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
中村 泰大 (NAKAMURA YASUHIRO)  
埼玉医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 20455934

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし