

**Figure 1.** Identification of proteins differentially expressed in the synovial sarcoma subtypes. (A) Representative 2-D gel image of proteins detected in synovial sarcoma tissues. The 29 spots identified in this study are circled and numbered. The spot numbers correspond to those in panel C, Table 2, and Supporting Information Table 2. An enlarged image is shown in Supporting Information Fig. 1. (B) Evaluation of reproducibility of 2-D DIGE by scatter grams. Sample 22 (Table 1 and Supporting Information Table 1) was run in triplicate gels independently. The protein expression profiles were generated by averaging the intensity values acquired in the triplicate gels each time, and the similarity of protein expression profiles was examined by scatter plotting the paired intensities for all spots. (C) Hierarchical clustering of the 24 synovial sarcomas examined based on the intensity of the 29 protein spots. The cases are color-coded as red (biphasic synovial sarcoma) or blue (monophasic synovial sarcoma) as indicated in the panel. The spot numbers and the protein names are shown on the right side. (D) PCA of the 24 synovial sarcoma samples based on the intensity of the 29 protein spots discriminated between the biphasic (red) and monophasic (blue) synovial sarcomas.

## 2.6 Molecular analysis

We examined the SYT-SSX1 and SYT-SSX2 fusion gene in the 35 of 48 cases for which RNA samples were available. All 35 cases were analyzed by RT-PCR using the primers SYT 5'CAA CAG CAA GAT GCA TAC CA3', SSX1 5'GGT GCA GTT GTT TCC CAT CG3' and SSX2 5'GGC ACA GCT CTT TCC CAT CA3' followed by direct sequencing (Table 1 and Supporting Information Table 1) [9, 13].

## 2.7 Statistical analysis

Inter-group differences in the age, gender, site, histological subtype, size, depth, MIB-1 index, grade, stage and fusion status between the cases with or without GST-P1 expression were evaluated using the Fisher's exact test or  $\chi^2$  test. Statistical analyses were performed using the SPSS statistical package (SPSS, Chicago, IL).

## 3 Results

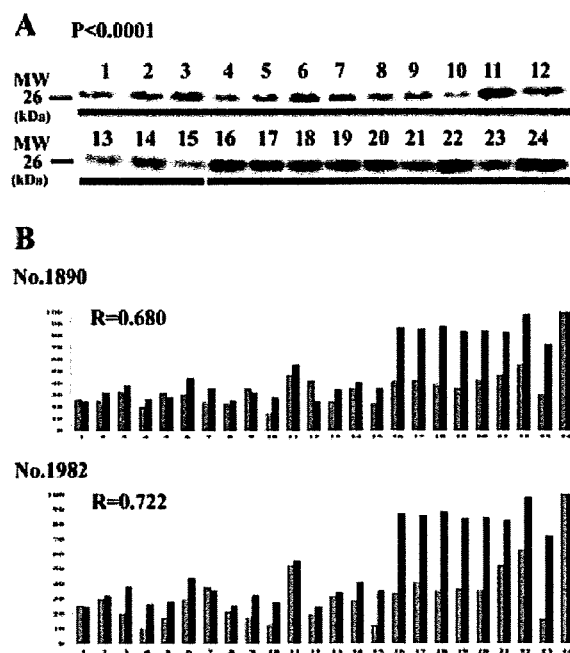
We compared the protein expression profiles of 15 monophasic with 9 biphasic synovial sarcomas using 2-D DIGE. In order to decrease irrelevant expression data, we selected the protein spots (1573 in total) that appeared in at least 75% of the images of the Cy3-labeled internal control sample. Although the monophasic type and biphasic subtype cases were not classified into their respective groups based on their overall protein expression profiles (data not shown), 29 protein spots had significantly different intensity between the two groups ( $p < 0.01$ ). The localization of the 29 spots on the 2-D image is demonstrated in Fig. 1A (an enlarged image is shown in Supporting Information Fig. 1). Hierarchical clustering and PCA correctly grouped most cases into the monophasic or the biphasic type based on the intensity of the 29 selected spots (Figs. 1C and D, Supporting Information Figs. 2 and 3). The MS protein identification revealed that

the 29 protein spots corresponded to 24 distinct gene products (Fig. 1C and Supporting Information Fig. 2; Table 2 and Supporting Information Table 2). The results of the protein identification and functional classification are demonstrated in Table 2.

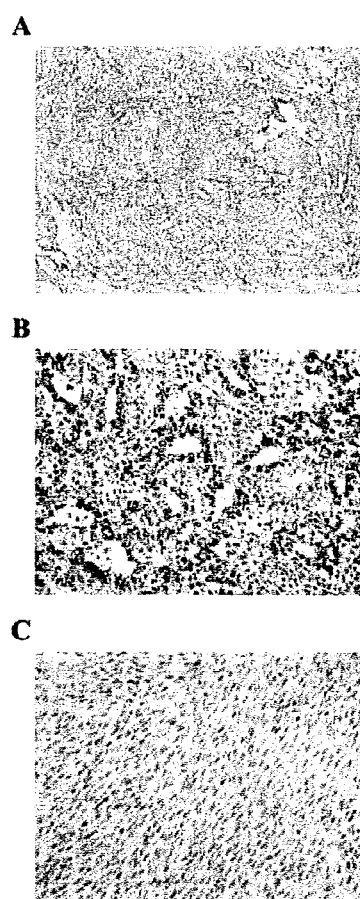
Two of the 29 protein spots were identified as corresponding to GST-P1. We employed SDS-PAGE/Western blotting to further examine the relationship of GST-P1 expression with the histological features of synovial sarcoma and showed that GST-P1 expression was higher in the biphasic compared with the monophasic synovial sarcomas ( $p < 0.0001$ ). The relative protein amounts measured by 2-D DIGE and Western blotting highly correlated with the histological subtype classification for both protein spots ( $r = 0.680$  and  $0.722$ , respectively) (Fig. 2).

The immunohistochemical study of GST-P1 expression in 42 synovial sarcomas revealed a strong correlation between GST-P1 expression and the histological subtype ( $p = 0.0002$ , Table 3). Positive expression of GST-P1 was observed in 10 of 12 biphasic cases (83.3%), in 4 of 27 monophasic cases (14.8%) and in 1 of 3 poorly differentiated cases

(Table 3 and Supporting Information Table 1). GST-P1 expression was almost exclusively observed in the epithelial component of the biphasic cases, in which it was localized in the membrane and cytoplasm, while most monophasic (spindle cell) cases and the spindle component of the biphasic cases were GST-P1 negative (Fig. 3). When the two main subtypes were compared, the sensitivity and specificity of GST-P1 expression in the biphasic synovial sarcoma was 83.3% and 85.2% respectively ( $p < 0.0001$ , Supporting Information Table 3). We observed no significant correlation between GST-P1 expression and other clinicopathological parameters examined, including age, gender, and fusion gene status (Table 3). GST-P1 expression had higher power to discriminate between the histological subtypes than the fusion gene status (Supporting Information Table 3). No significant differences were observed (data not shown) when the 2-D



**Figure 2.** Validation of the differential expression of GST-P1 in the synovial sarcoma subtypes. Biphasic synovial sarcomas (cases 1 to 15) expressed GST-P1 at significantly higher levels than monophasic synovial sarcomas (cases 16 to 24). Case numbers correspond to those in Fig. 1. (A) Western blotting (Mann-Whitney's test  $p < 0.0001$ ). (B) The bar plots demonstrate the GST-P1 expression levels of the two GST-P1 spots (No. 1890 and No. 1982) as detected by 2-D DIGE (grey bars) and Western blotting (black bars) in the 25 synovial sarcoma samples examined. The expression levels detected by 2-D DIGE correlated highly with the ones detected by Western blotting ( $R = 0.680$  for No. 1890 and  $R = 0.722$  for No. 1982).



**Figure 3.** Immunohistochemical expression of GST-P1. (A) GST-P1 was overexpressed in the biphasic synovial sarcoma shown. (B) High-power view of a biphasic synovial sarcoma. GST-P1 expression was almost exclusively observed in the epithelial component, in which it was localized in the membrane and cytoplasm, while the spindle component was GST-P1 negative. (C) GST-P1 was not expressed in the monophasic synovial sarcoma shown.

Table 2. A list of identified proteins

Spot No <sup>a)</sup>	Accession No <sup>b)</sup>	Identified protein <sup>b)</sup>	Wilcoxon test <i>p</i> value	Fold difference ratio of means (small intestine/stomach)	<i>p</i> /(obs) <sup>c)</sup> <i>p</i> <sup>d)</sup>	MW (obs) (kDa) <sup>c)</sup>	MW (kDa) <sup>d)</sup>	Protein score <sup>e)</sup>	Peptide matches	Se-quence coverage (%)	Symbol <sup>b)</sup>	Function <sup>d)</sup>
29	Q14203	Dynactin-1	5.656E-03	1.472	5.46	198.0	141.7	101	2	1.7	DYNA_HUMAN	Protein binding
30	Q14203	Dynactin-1	9.693E-03	1.405	5.50	198.0	141.7	128	3	2.4	DYNA_HUMAN	Protein binding
101	O86UP2	Kinectin	5.485E-04	1.658	5.41	142.7	156.179	419	8	7.5	KTN1_HUMAN	Vesicle motility
138	P02787	Serotransferrin precursor	8.296E-03	1.907	6.61	115.0	77.1	135	3	4.4	TRFE_HUMAN	Iron binding transport proteins
322	P14314	Glucosidase II beta subunit precursor	2.896E-03	3.131	4.63	96.1	59.3	224	5	9.1	GLU2B_HUMAN	Protein kinase cascade
325	P51884	Lumican precursor	7.740E-04	4.177	4.59	96.1	38.4	63	1	3.3	LUM_HUMAN	Collagen binding
521	P31948	Stress-induced-phosphoprotein 1	1.622E-03	2.291	6.45	85.5	62.599	230	6	8.8	STIP1_HUMAN	Association of the molecular chaperones
540	P51884	Lumican precursor	5.424E-03	1.410	4.93	81.8	38.4	68	2	5.9	LUM_HUMAN	Collagen binding
614	P02545	Lamin A/C	4.350E-03	1.556	6.64	79.9	74.1	947	25	25.3	LAMA_HUMAN	Protein binding
966	P13645	Keratin, type I cyto-skeletal 10	7.373E-04	1.434	4.80	55.6	59.5	702	11	19.1	K1C10_HUMAN	Structural constituent of epidermis
1005	P08670	Vimentin	8.125E-03	2.366	5.16	50.0	53.5	274	5	10.5	VIME_HUMAN	Protein binding
1010	P02533	Keratin, type I cyto-skeletal 14	1.666E-03	1.648	5.11	50.9	51.5	233	5	8.9	K1C14_HUMAN	Structural constituent of epidermis
1015	P13645	Keratin, type I cyto-skeletal 10	2.146E-03	3.491	4.70	50.0	59.5	438	6	10.6	K1C10_HUMAN	Structural constituent of epidermis
1023	P06576	ATP synthase beta chain, mitochondrial precursor	6.712E-03	1.764	5.07	50.0	56.6	531	13	21.6	ATPB_HUMAN	Hydrogen ion transporting ATPase activity
1161	P26641	Elongation factor 1-gamma	8.255E-03	2.751	6.64	46.9	50.0	168	3	5	EF1G_HUMAN	Translation elongation factor activity
1162	O00231	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	6.712E-03	1.294	6.30	47.7	47.3	282	5	10	PSD11_HUMAN	Protein binding
1192	P06733	Alpha-enolase	9.696E-03	1.295	6.57	7.01	47.139	274	5	13.8	ENOA_HUMAN	Transcription corepressor activity
1211	O9UNM6	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 13	9.556E-03	1.671	5.70	5.53	42.891	338	7	14.9	PSD13_HUMAN	Protein binding
1351	P35908	Keratin, type II cyto-skeletal 2 epidermal	4.350E-03	1.454	5.09	8.07	65.9	377	6	11.3	K22E_HUMAN	Structural constituent of epidermis
1474	P45880	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	6.712E-03	1.299	6.59	35.7	38.1	251	4	14.7	VDAC2_HUMAN	Voltage-gated anion channel activity
1572	P07355	Annexin A2	2.286E-03	1.551	6.45	7.56	36.5	128	3	9.5	ANXA2_HUMAN	Phospholipase inhibitor activity

Table 2. Continued

Spot No <sup>(a)</sup>	Accession No <sup>(b)</sup>	Identified protein <sup>(b)</sup>	Wilcoxon test <i>p</i> value	Fold difference ratio of means (small intestine/stomach)	<i>p</i> / (obs) <sup>(c)</sup> <i>p</i> <sup>(d)</sup>	MW (obs) (kDa) <sup>(e)</sup>	MW (kDa) <sup>(d)</sup>	Protein score <sup>(e)</sup>	Peptide matches	Se-quence coverage (%)	Symbol <sup>(b)</sup>	Function <sup>(d)</sup>
1688	P04792	Heat shock protein beta-1	2.737E-03	1.757	6.18	32.4	22.768	421	11	46.3	HSPB1_HUMAN	Cytoskeleton
1697	O9UL46	Proteasome activator complex subunit 2	5.424E-03	1.299	4.59	31.2	27.2	268	4	16.4	PSME2_HUMAN	Ubiquitin-protein
1719	O95833	Chloride intracellular channel protein 3	3.465E-03	2.634	6.20	31.8	26.6	82	2	8.9	CLIC3_HUMAN	Chloride channel activity
1795	P67936	Tropomyosin alpha-4 chain	5.424E-03	1.420	6.23	29.5	28.504	594	13	33.1	TPM4_HUMAN	Structural constituent of muscle
1890	P09211	Glutathione S-trans-ferase P	2.146E-03	1.642	5.66	26.2	23.2	136	3	10.5	GSTP1_HUMAN	Protein binding
1895	P02647	Apolipoprotein A-1 precursor	4.054E-04	1.288	5.30	25.7	30.8	717	22	50.9	APOA1_HUMAN	Identical protein binding
1952	P07355	Annexin A2	2.048E-03	1.443	4.96	23.8	38.5	162	3	9.5	ANXA2_HUMAN	Phospholipase inhibitor
1982	P09211	Glutathione S-trans-ferase P	5.424E-03	1.859	6.16	22.9	23.2	178	4	20.1	GSTP1_HUMAN	Protein binding

a) Spot numbers refer to those in Fig. 1A and Supporting Information Fig. 1.

b) Accession numbers of proteins were derived from Swiss-Prot and NCBI nonredundant databases.

c) Observed *p*/ and molecular weight calculated according to location on the 2-D gel.

d) Theoretical *p*/ and molecular weight obtained from Swiss-Prot and the ExPASy database (<http://au.expasy.org>).

e) MASCOT score for the identified proteins based on the peptide ions score ( $p < 0.05$ ) (<http://www.matrixscience.com>).

**Table 3.** The relationship between clinico-pathological parameters and GST-p1 expression

Variable	Number of cases	GST-P1 positive (number of cases)	GST-P1 negative (number of cases)	Correlation (GST-P1) $\chi^2$ ( $p$ value)
<b>Age</b>				
<40	22	6 (27.27%)	16 (72.73%)	0.2311
40<	20	9 (45.00%)	11 (55.00%)	
<b>Sex</b>				
F	23	10 (43.48%)	13 (56.52%)	0.2479
M	19	5 (26.32%)	14 (73.68%)	
<b>Site</b>				
Trunk	10	3 (30.00%)	7 (70.00%)	0.6657
Extremity	32	12 (37.50%)	20 (62.50%)	
<b>Histology subtype</b>				
Monophasic	27	4 (14.81%)	23 (85.19%)	0.0002
Biphasic	12	10 (83.33%)	2 (16.67%)	
Poor	3	1 (33.33%)	2 (66.67%)	
<b>Fusion</b>				
SYT/SSX1	21	7 (33.33%)	14 (66.67%)	0.264
SYT/SSX2	7	4 (57.14%)	3 (42.86%)	
<b>GST-P1</b>				
Positive	15	–	–	–
Negative	27	–	–	–

DIGE data between the monophasic and poorly differentiated synovial sarcomas, biphasic and poorly differentiated sarcomas, or SYT-SSX1 and -SSX2 positive synovial sarcomas were compared.

#### 4 Discussion

The development of a biomarker of histological differentiation of synovial sarcoma has been demanded in order to improve the effectiveness of its management. Global genomic and transcriptomic expression studies conducted to this aim resulted in the identification of EFL3, ERBB2, IGFBP2, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L and hypothetical protein FLJ11273 as such biomarkers [14, 15]. Although these comprehensive studies are expected to further increase our understanding of the biology of synovial sarcoma, they are yet to lead to the development of histological biomarkers that would be of value in a clinical setting. Proteomic studies have a unique advantage over other omics studies, in that the proteome is a functional translation of genome, directly regulating cell phenotypes, and thus is a rich source of potential biomarkers. With this notion, we established a gel-based proteomics system for use in cancer research [17, 18, 20, 35, 36] and applied it to the proteomic study of synovial sarcoma presented here. This is the first report of the use of a prote-

omic approach to develop histological biomarkers of synovial sarcoma.

Synovial sarcoma is characterized by a translocation between the SYT gene and transcriptional factors [1–4]. The SYT/SSX fusion protein has an altered transcriptional activity and modulates the expression of a number of downstream target genes [37]. In a number of studies, the SYT-SSX1 fusion protein has been reported to be frequently observed in the biphasic subtype of synovial sarcoma, unlike the SYT-SSX2 protein [9–11], while, in contrast, Takenaka *et al* [12, 13], reported that the status of these fusion genes did not correlate significantly with classification into histological subtypes. Our findings are in agreement with the latter, in that significant correlation between histological subtype classification (monophasic or biphasic) with SYT-SSX fusion type status (-SSX1 or -SSX2) was not observed ( $p = 0.329$ , Supporting Information Tables 1 and 3).

Employing proteomics tools, we identified 29 protein variants corresponding to 24 distinct gene products that grouped the synovial sarcoma cases examined according to their histological subtypes (Figs. 1C and D). These included proteins involved in cytoskeletal organization, transcription/translation, protein/collagen binding, and ion transport, as well as structural constituents of the epidermis (Table 2). These findings suggest that the 29 selected variants may induce a large number of functional differences between the histological subtypes of synovial sarcoma. The discriminat-

ing power of this set of proteins may also be useful in the development of practical diagnostic tools in a clinical setting.

Keratin isoforms have been previously proposed as histological markers of biphasic synovial sarcoma [38, 39]. Consistent with these reports, in our analysis, the 29 selected proteins also included keratin isoforms and the expression of keratins 2, 10 and 14 was significantly higher in biphasic synovial sarcoma. We examined the expression of keratin isoforms by Western blotting (Supporting Information Fig. 4). The expression level of keratin isoforms tended to be higher in biphasic type than in monophasic type, suggesting that the sample sets used in this study could be considered as a representative sample set of synovial sarcomas. However, as any single keratins could not perfectly distinguish these histological types, biomarkers that are more specific are required for differential diagnosis.

Two variants of GST-P1 were included in the 29 up-regulated proteins. The association of GST-P1 expression with synovial sarcoma has not been previously reported. GST-P1 was originally reported to be a protein highly expressed in the cytoplasm, with a function of protein binding associated with CNS development [23, 30, 31, 40]. GST-P1 has also been reported to be associated with epithelial differentiation [21, 22], drug resistance [23–26], a pre-neoplastic tumor marker [41] and carcinogenesis in breast [29, 31], colon [30, 32], head and neck [42], lung [42], liver cancer [33, 43], and leukemia [28]. It is remarkable that GST-P1 associated with epithelial differentiation [21, 22], and more dominantly observed in the epithelial component of synovial sarcoma, mesenchymal origin, in this study. Activation of GST-P1 contributes to resistance to melphalan [23, 24], doxorubicin [23, 25] and cisplatin [23, 26], suggesting the possibility of GST-P1 in a clinical use. Although the correlation between GST-P1 and histological subtypes was obvious in our study, the functional contribution of GST-P1 to the histological differentiation is not clear. As GST-P1 was correlated with CNS development [23, 30, 31, 40] and histological differentiation [21, 22], it may have multifunctional properties. With further understanding of the differentiation lineage of synovial sarcoma by clinical observations, the functional properties of GST-P1 in histological differentiation may be clarified. GST-P1 was not identified in previous genome and transcriptome studies as being involved in synovial sarcoma pathogenesis [14, 15], suggesting that the study of the proteome is able to reveal unique molecular aspects of synovial sarcoma.

GST-P1 was identified in two protein spots, No. 1890 and No. 1982. These two protein spots had different *pI*s and molecular weights, the degree of which may not be simply attributable to phosphorylation and glycosylation. The other mechanisms to generate protein variants, such as alternative splicing and protein cleavage, may be responsible to the different electrophoretic mobilities of these protein spots. There are many examples of alternative splicing, resulting in the protein variants with different molecular weight [44]. Chignard *et al.* [45] reported the cleaved endo-

plasmic reticulum protein as a novel biomarker candidate in hepatocellular carcinoma. As the protein variants often have unique functionalities and clinical utilities, further investigations on those two protein spots for GST-P1 will be interesting.

The proteins that were observed in two or more spots included keratin 10, dynactin-1, the lumican precursor, and annexin 2. As mentioned earlier, keratin 10 was expressed in biphasic synovial sarcoma cases, while dynactin-1 and the lumican precursor were expressed in monophasic cases, and annexin 2 was expressed in both subtypes. Keratin 10 has been identified as being a structural constituent of the epidermis and as promoting the epidermis differentiation of squamous carcinomas [46–49]. Dynactin-1 facilitates mitosis and nervous system development [50–55]. The lumican precursor is an extracellular matrix structural constituent and its activation contributes to collagen binding [56–60]. Finally, activation of annexin 2 promotes the formation of a calcium-regulated membrane-binding protein whose affinity for calcium is greatly enhanced by anionic phospholipids [61]. The PTM, including phosphorylation, glycosylation and degradation may affect the *pI* and molecular weight of proteins, changing the electrophoretic mobility of proteins. The protein spots from same protein may have different functions in the cells, as they have different physical characters. In addition to examining diagnostic utilities of each protein spot, the functional studies will be of great interest.

Our results suggest that GST-P1 may be a novel histological biomarker for patients with synovial sarcoma. We demonstrated that GST-P1 expression can be examined by SDS-PAGE/Western blotting and immunohistochemistry. Moreover, using a large-scale sample set and immunohistochemistry, we showed that the expression pattern of GST-P1 differs significantly between biphasic and monophasic synovial sarcomas and can therefore be used to differentiate them (Table 3 and Supporting Information Table 3).

There was no significant correlation between GST-P1 expression and the other clinicopathological parameters examined (Table 3), or between GST-P1 expression and fusion gene status (Table 3). These findings establish GST-P1 as a novel histological marker for synovial sarcoma subtypes, and suggest that GST-P1 may play an important role in the epithelial differentiation of synovial sarcoma.

In conclusion, we identified a possible correlation of 29 protein variants corresponding to 24 distinct gene products with differentiation into histological subtypes in synovial sarcoma. Furthermore, we validated GST-P1 expression using a specific antibody and found that GST-P1 distinguished biphasic from monophasic synovial sarcoma, suggesting its utility in the classification of synovial sarcoma into histological subtypes. Assessment of the diagnostic value of the combined use of GST-P1 and the other 23 proteins, as well as a more extensive validation of GST-P1 expression on additional samples are now underway in our laboratory.

This work was supported by a grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare and by the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation of Japan, a grant-in-aid for Young Scientists (start-up) No. 20890218 from the Japan Society for the Promotion of Science and the International Society of Orthopaedic Surgery and Traumatology. The excellent technical support provided by Kano Nishiyama and Yukiko Fujie in electrophoresis is greatly appreciated.

The authors have declared no conflict of interest.

## 5 References

- [1] Fletcher, C., Unni, K., Mertens, F., *Pathology and Genetics Tumours of Soft Tissue and Bone*. IARC Press, Lyon, France 2002, pp. 200–204.
- [2] Lewis, J. J., Antonescu, C. R., Leung, D. H., Blumberg, D. et al., Synovial sarcoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 112 patients with primary localized tumors of the extremity. *J. Clin. Oncol.* 2000, **18**, 2087–2094.
- [3] Spillane, A. J., A'Hern, R., Judson, I. R., Fisher, C., Thomas, J. M., Synovial sarcoma: a clinicopathologic, staging, and prognostic assessment. *J. Clin. Oncol.* 2000, **18**:3794–3803.
- [4] Trassard, M., Le Doussal, V., Hacene, K., Terrier, P et al., Prognostic factors in localized primary synovial sarcoma: a multicenter study of 128 adult patients. *J. Clin. Oncol.* 2001, **19**, 525–534.
- [5] Clark, J., Rocques, P. J., Crew, A. J., Gill, S. et al., Identification of novel genes, SYT and SSX, involved in the t(X;18)(p11.2;q11.2) translocation found in human synovial sarcoma. *Nat. Genet.* 1994, **7**, 502–508.
- [6] Skytting, B., Nilsson, G., Brodin, B., Xie, Y. et al., A novel fusion gene, SYT-SSX4, in synovial sarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 1999, **91**, 974–975.
- [7] Nagai, M., Tanaka, S., Tsuda, M., Endo, S. et al., Analysis of transforming activity of human synovial sarcoma-associated chimeric protein SYT-SSX1 bound to chromatin remodeling factor hBRM/hSNF2 alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, **98**, 3843–3848.
- [8] dos Santos, N. R., de Bruijn, D. R., van Kessel, A. G., Molecular mechanisms underlying human synovial sarcoma development. *Genes Chromosomes Cancer* 2001, **30**, 1–14.
- [9] Kawai, A., Woodruff, J., Healey, J. H., Brennan, M. F. et al., SYT-SSX gene fusion as a determinant of morphology and prognosis in synovial sarcoma. *N. Engl. J. Med.* 1998, **338**, 153–160.
- [10] Antonescu, C. R., Kawai, A., Leung, D. H., Lonardo, F. et al., Strong association of SYT-SSX fusion type and morphologic epithelial differentiation in synovial sarcoma. *Diagn. Mol. Pathol.* 2000, **9**, 1–8.
- [11] Ladanyi, M., Correlates of SYT-SSX fusion type in synovial sarcoma: getting more complex but also more interesting? *J. Clin. Oncol.* 2005, **23**, 3638–3639; author reply 3639–3640.
- [12] Guillou, L., Benhattar, J., Bonichon, F., Gallagher, G. et al., Histologic grade, but not SYT-SSX fusion type, is an important prognostic factor in patients with synovial sarcoma: a multicenter, retrospective analysis. *J. Clin. Oncol.* 2004, **22**, 4040–4050.
- [13] Takenaka, S., Ueda, T., Naka, N., Araki, N. et al., Prognostic implication of SYT-SSX fusion type in synovial sarcoma: a multi-institutional retrospective analysis in Japan. *Oncol. Rep.* 2008, **19**, 467–476.
- [14] Allander, S. V., Illei, P. B., Chen, Y., Antonescu, C. R. et al., Expression profiling of synovial sarcoma by cDNA microarrays: association of ERBB2, IGFBP2, and ELF3 with epithelial differentiation. *Am. J. Pathol.* 2002, **161**, 1587–1595.
- [15] Nagayama, S., Katagiri, T., Tsunoda, T., Hosaka, T. et al., Genome-wide analysis of gene expression in synovial sarcomas using a cDNA microarray. *Cancer Res.* 2002, **62**, 5859–5866.
- [16] Petricoin, E. F., Ardekani, A. M., Hitt, B. A., Levine, P. J. et al., Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002, **359**, 572–577.
- [17] Suehara, Y., Kondo, T., Fujii, K., Hasegawa, T. et al., Proteomic signatures corresponding to histological classification and grading of soft-tissue sarcomas. *Proteomics* 2006, **6**, 4402–4409.
- [18] Suehara, Y., Kondo, T., Seki, K., Shibata, T. et al., Pfetin as a prognostic biomarker of gastrointestinal stromal tumors revealed by proteomics. *Clin. Cancer Res.* 2008, **14**, 1707–1717.
- [19] Chen, G., Gharib, T. G., Wang, H., Huang, C. C. et al., Protein profiles associated with survival in lung adenocarcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, **100**, 13537–13542.
- [20] Okano, T., Kondo, T., Fujii, K., Nishimura, T. et al., Proteomic signature corresponding to the response to gefitinib (Iressa, ZD1839), an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor in lung adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2007, **13**, 799–805.
- [21] Shimizu, K., Toriyama, F., Yoshida, H., The expression of placental-type glutathione S-transferase (GST-pi) in human cutaneous squamous cell carcinoma and normal human skin. *Virchows Arch.* 1995, **425**, 589–592.
- [22] Konohana, A., Konohana, I., Schroeder, W. T., O'Brien, W. R. et al., Placental glutathione S-transferase-pi mRNA is abundantly expressed in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 1990, **95**, 119–126.
- [23] Moscow, J. A., Townsend, A. J., Cowan, K. H., Elevation of pi class glutathione S-transferase activity in human breast cancer cells by transfection of the GST pi gene and its effect on sensitivity to toxins. *Mol. Pharmacol.* 1989, **36**, 22–28.
- [24] Manoharan, T. H., Puchalski, R. B., Burgess, J. A., Pickett, C. B., Fahl, W. E., Promoter-glutathione S-transferase Ya cDNA hybrid genes. Expression and conferred resistance to an alkylating molecule in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 1987, **262**, 3739–3745.
- [25] Morrow, C. S., Cowan, K. H., Goldsmith, M. E., Structure of the human genomic glutathione S-transferase-pi gene. *Gene* 1989, **75**, 3–11.
- [26] Teicher, B. A., Holden, S. A., Kelley, M. J., Shea, T. C. et al., Characterization of a human squamous carcinoma cell line resistant to cis-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res.* 1987, **47**, 388–393.
- [27] Shea, T. C., Kelley, S. L., Henner, W. D., Identification of an anionic form of glutathione transferase present in many hu-

- man tumors and human tumor cell lines. *Cancer Res.* 1988, **48**, 527–533.
- [28] Allan, J. M., Wild, C. P., Rollinson, S., Willett, E. V. *et al.*, Polymorphism in glutathione S-transferase P1 is associated with susceptibility to chemotherapy-induced leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, **98**, 11592–11597.
- [29] Arai, T., Miyoshi, Y., Kim, S. J., Taguchi, T. *et al.*, Association of GSTP1 CpG islands hypermethylation with poor prognosis in human breast cancers. *Breast Cancer Res. Treat.* 2006 **100**, 169–176.
- [30] Kano, T., Sakai, M., Muramatsu, M., Structure and expression of a human class pi glutathione S-transferase messenger RNA. *Cancer Res.* 1987 **47**, 5626–5630.
- [31] Moscow, J. A., Townsend, A. J., Goldsmith, M. E., Whang-Peng, J. *et al.*, Isolation of the human anionic glutathione S-transferase cDNA and the relation of its gene expression to estrogen-receptor content in primary breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988, **85**, 6518–6522.
- [32] Kodate, C., Fukushi, A., Narita, T., Kudo, H. *et al.*, Human placental form of glutathione S-transferase (GST-pi) as a new immunohistochemical marker for human colonic carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.* 1986, **77**, 226–229.
- [33] Li, Y. C., Seyama, T., Godwin, A. K., Winokur, T. S. *et al.*, MTrasT24, a metallothionein-ras fusion gene, modulates expression in cultured rat liver cells of two genes associated with *in vivo* liver cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988, **85**, 344–348.
- [34] Buller, A. L., Clapper, M. L., Tew, K. D., Glutathione S-transferases in nitrogen mustard-resistant and -sensitive cell lines. *Mol. Pharmacol.* 1987, **31**, 575–578.
- [35] Kondo, T., Hirohashi, S., Application of highly sensitive fluorescent dyes (CyDye DIGE Fluor saturation dyes) to laser microdissection and two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE) for cancer proteomics. *Nat. Protoc.* 2006, **1**, 2940–2956.
- [36] Klose, J., Nock, C., Herrmann, M., Stuhler, K. *et al.*, Genetic analysis of the mouse brain proteome. *Nat. Genet.* 2002, **30**, 385–393.
- [37] Xie, Y., Tornkvist, M., Aalto, Y., Nilsson, G. *et al.*, Gene expression profile by blocking the SYT-SSX fusion gene in synovial sarcoma cells. Identification of XRCC4 as a putative SYT-SSX target gene. *Oncogene* 2003, **22**, 7628–7631.
- [38] Miettinen, M., Keratin subsets in spindle cell sarcomas. Keratins are widespread but synovial sarcoma contains a distinctive keratin polypeptide pattern and desmoplakins. *Am. J. Pathol.* 1991, **138**, 505–513.
- [39] Miettinen, M., Limon, J., Niezabitowski, A., Lasota, J., Patterns of keratin polypeptides in 110 biphasic, monophasic, and poorly differentiated synovial sarcomas. *Virchows Arch.* 2000, **437**, 275–283.
- [40] Wanibuchi, H., Wei, M., Karim, M. R., Morimura, K. *et al.*, Existence of no hepatocarcinogenic effect levels of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline with or without coadministration with ethanol. *Toxicol. Pathol.* 2006, **34**, 232–236.
- [41] Sato, K., Glutathione transferases as markers of preneoplasia and neoplasia. *Adv. Cancer Res.* 1989, **52**, 205–255.
- [42] Moscow, J. A., Fairchild, C. R., Madden, M. J., Ransom, D. T. *et al.*, Expression of anionic glutathione-S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors. *Cancer Res.* 1989, **49**, 1422–1428.
- [43] Satoh, K., Kitahara, A., Soma, Y., Inaba, Y. *et al.*, Purification, induction, and distribution of placental glutathione transferase: a new marker enzyme for preneoplastic cells in the rat chemical hepatocarcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985, **82**, 3964–3968.
- [44] Blencowe, B. J., Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell* 2006, **126**, 37–47.
- [45] Chignard, N., Shang, S., Wang, H., Marrero, J. *et al.*, Cleavage of endoplasmic reticulum proteins in hepatocellular carcinoma: Detection of generated fragments in patient sera. *Gastroenterology* 2006, **130**, 2010–2022.
- [46] Santos, M., Ballestin, C., Garcia-Martin, R., Jorcano, J. L., Delays in malignant tumor development in transgenic mice by forced epidermal keratin 10 expression in mouse skin carcinomas. *Mol. Carcinog.* 1997, **20**, 3–9.
- [47] Ivanyi, D., Ansink, A., Mooi, W. J., de Kraker, N. W., Heintz, A. P., Absence of differentiation-related expression of keratin 10 in early stages of vulvar squamous carcinoma. *Differentiation* 1989, **42**, 124–129.
- [48] Ivanyi, D., Ansink, A., Groeneveld, E., Hageman, P. C. *et al.*, New monoclonal antibodies recognizing epidermal differentiation-associated keratins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Keratin 10 expression in carcinoma of the vulva. *J. Pathol.* 1989, **159**, 7–12.
- [49] Darmon, M. Y., Semat, A., Darmon, M. C., Vasseur, M., Sequence of a cDNA encoding human keratin No 10 selected according to structural homologies of keratins and their tissue-specific expression. *Mol. Biol. Rep.* 1987, **12**, 277–283.
- [50] Melloni, R. H., Jr., Tokito, M. K., Holzbaur, E. L., Expression of the p150Glued component of the dynactin complex in developing and adult rat brain. *J. Comp. Neurol.* 1995, **357**, 15–24.
- [51] Murphey, R. K., Caruccio, P. C., Getzinger, M., Westgate, P. J., Phillis, R. W., Dynein-dynactin function and sensory axon growth during *Drosophila* metamorphosis: A role for retrograde motors. *Dev. Biol.* 1999, **209**, 86–97.
- [52] Eaton, B. A., Fetter, R. D., Davis, G. W., Dynactin is necessary for synapse stabilization. *Neuron* 2002, **34**, 729–741.
- [53] Levy, J. R., Sumner, C. J., Caviston, J. P., Tokito, M. K. *et al.*, A motor neuron disease-associated mutation in p150Glued perturbs dynactin function and induces protein aggregation. *J. Cell. Biol.* 2006, **172**, 733–745.
- [54] Mikenberg, I., Widera, D., Kaus, A., Kaltschmidt, B., Kaltschmidt, C., Transcription factor NF-kappaB is transported to the nucleus via cytoplasmic dynein/dynactin motor complex in hippocampal neurons. *PLoS ONE* 2007, **2**, e589.
- [55] Ateh, D. D., Hussain, I. K., Mustafa, A. H., Price, K. M. *et al.*, Dynein-dynactin complex subunits are differentially localized in brain and spinal cord, with selective involvement in pathological features of neurodegenerative disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2008, **34**, 88–94.
- [56] Sifaki, M., Assouti, M., Nikitovic, D., Krasagakis, K. *et al.*, Lumican, a small leucine-rich proteoglycan substituted with keratan sulfate chains is expressed and secreted by human



- melanoma cells and not normal melanocytes. *IUBMB Life* 2006, 58, 606–610.
- [57] Matheson, S., Larjava, H., Hakkinen, L., Distinctive localization and function for lumican, fibromodulin and decorin to regulate collagen fibril organization in periodontal tissues. *J. Periodontal Res.* 2005, 40, 312–324.
- [58] Chakravarti, S., Paul, J., Roberts, L., Chervoneva, I. *et al.*, Ocular and scleral alterations in gene-targeted lumican-fibromodulin double-null mice. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003, 44, 2422–2432.
- [59] Ezura, Y., Chakravarti, S., Oldberg, A., Chervoneva, I., Birk, D. E., Differential expression of lumican and fibromodulin regulate collagen fibrillogenesis in developing mouse tendons. *J. Cell. Biol.* 2000, 151, 779–788.
- [60] Sztrolovics, R., Alini, M., Mort, J. S., Roughley, P. J., Age-related changes in fibromodulin and lumican in human intervertebral discs. *Spine* 1999, 24, 1765–1771.
- [61] Chasserot-Golaz, S., Vitale, N., Umbrecht-Jenck, E., Knight, D. *et al.*, Annexin 2 promotes the formation of lipid microdomains required for calcium-regulated exocytosis of dense-core vesicles. *Mol. Biol. Cell* 2005, 16, 1108–1119.

## VI. 腫瘍

# 全国骨・軟部腫瘍登録について

川井 章\*

**Abstract** 骨・軟部腫瘍は稀な疾患であるうえに、発生部位・組織型なども多彩であり、単一施設で十分な数の症例を経験し、知識を蓄積することは困難である。この骨・軟部腫瘍に関する各施設の限られた経験・情報を、広く日本全体で共有することを目的として、日本整形外科学会骨・軟部腫瘍委員会と国立がんセンターが中心となって、全国骨腫瘍登録および全国悪性軟部腫瘍登録が行われてきた。この全国骨・軟部腫瘍登録は、平成18年(2006年)、それまでの手書きによる登録からコンピュータによる電子入力に大きく改訂された。現在、予後調査項目、入力法などについてさらに改訂を行っているところであり、近い将来、より多くの医師・研究者にとって、より使いやすく、より有用な情報源となることが期待される。本稿では、この全国骨・軟部腫瘍登録の歴史、登録方法、目的などについて概説する。

**Key words** 骨軟部腫瘍 (bone and soft tissue tumor), がん登録 (cancer registry), 悉皆性 (thoroughness), 粒度 (detail), 電子化 (electronic)

骨・軟部腫瘍は頻度が少なく組織型も多岐にわたるため、その診療にはある程度の専門的知識が要求されることが多い。しかし、臨床の現場では、骨・軟部腫瘍患者の大多数は腫瘍を専門としていない医師(主に整形外科医)を初診し、診断・治療あるいは専門病院への紹介が行われている。第一線の整形外科医に求められているのは、発生頻度が少ないにもかかわらず、多様な臨床的特徴を有する骨腫瘍をいかにして迅速に誤りなく診断し、必要な治療を受けられるようにするかという実際の難しい判断である。

この骨・軟部腫瘍に関する各施設の限られた経験・知見を多施設で共有し、広くこれらの疾患に

関する知識を向上させることを目的として、我が国では、日本整形外科学会骨・軟部腫瘍委員会と国立がんセンターが中心となって、全国骨腫瘍登録および全国悪性軟部腫瘍登録が行われている。この全国骨・軟部腫瘍登録は、平成18年(2006年)、それまでの手書きによる登録からコンピュータによる電子入力に大きく改訂された。現在、予後調査項目、入力法などについてさらに改訂を行っているところであり、近い将来、より多くの医師・研究者にとって、より使いやすく、より有用な情報源となることが期待される。本稿では、この全国骨・軟部腫瘍登録の歴史、登録方法、目指すところなどについて概説する。

### 全国骨・軟部腫瘍登録の歴史

骨・軟部腫瘍は稀な腫瘍であるうえに、発生部位・組織型なども多彩であり、単一施設で十分な

\* Akira KAWAI, 〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1 国立がんセンター中央病院整形外科, 医長

数の症例を経験し、知識を蓄積することは困難である。これは国内の各大学病院、基幹施設、また Mayo Clinic, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center など欧米の代表的施設においても同様である。この状況を克服し、これらの疾患に関する知見・治療成績を国レベルで向上させるためには、限られた治療経験を多施設で共有し、最新の知識の速やかな普及を図ることが最も効果的と考えられる。この目的のために、我が国では全国骨腫瘍患者登録が昭和 30 年(1955 年)代より、全国悪性軟部腫瘍患者登録が昭和 60 年(1985 年)より、日本整形外科学会骨・軟部腫瘍委員会および国立がんセンターの協力事業として実施されてきた。これは、毎年 1 回、全国の骨・軟部腫瘍診療施設(整形外科)に登録用紙を送付し、前年度に各施設で診断・治療した骨・軟部腫瘍症例に関する情報を記入した後、返送された登録用紙を国立がんセンターで集計、公表してきたものである。昭和 47 年(1972 年)～平成 15 年(2003 年)までの全骨腫瘍累積登録数は 49,768 例に達する。その中には代表的悪性骨腫瘍でありながら各大学病院、がんセンターでも年に数例しか経験することのない骨肉腫が 3,256 例含まれているのをはじめ、軟骨肉腫 1,218 例、ユーイング肉腫 473 例など、稀な腫瘍である骨・軟部腫瘍が極めて多数登録されており、世界的にも類をみない骨・軟部腫瘍に関する貴重な疫学資料となっている<sup>1)</sup>。

しかし、この全国骨・軟部腫瘍患者登録も開始以来 30 余年を経過し、その登録システムや情報管理の方法などの課題も漸く目立つようになってきた。図 1 は悪性骨腫瘍の登録用紙であるが、各施設の入力者はこの複雑な記入用紙にカルテからの情報をすべて記載し、事務局に郵送しなければならない<sup>1)</sup>。一方、事務局では全国から送られてくる大量の登録用紙の中身を解読し、誤りなく集計するという困難な作業が必要である。診療情報、情報管理も次々に電子化されるデジタル化の時代に、この膨大な手作業は、登録する側にとっても事務局にとっても、時代錯誤に近い苦行で

あった。また、記入用紙には、患者氏名・住所など、現在の個人情報保護の観点からみると驚くような内容も記入するようになっており、そのままの形では登録事業の継続すら難しい状況であった<sup>2)</sup>(表 1)。

そこで、日本整形外科学会骨・軟部腫瘍委員会では、登録対象者の尊厳と人権を守りながら、より質の高い疫学研究を継承・発展させていくことを目的として、本登録の全面的な改訂を計画した。2004 年 8 月、ワーキンググループを組織し、「個人情報保護法」(平成 17 年(2005 年)4 月 1 日施行)および「疫学研究に関する倫理指針」(文部科学省・厚生労働省平成 16 年(2004 年)12 月 28 日改正)に則って、Java 環境上で動作する新しい電子登録システムを完成させた。2006 年 1 月、国立がんセンター倫理審査承認、2006 年 6 月、日整会の倫理審査承認を受け、各診療施設における倫理審査・承認の後、2007 年 1 月より新システムによる登録を開始した。2007 年 5 月までに、前年度(2006 年)に新たに診断された骨腫瘍 2,283 例、悪性軟部腫瘍 949 例が全国 77 施設より登録され、2007 年 9 月に新たな全国骨腫瘍登録一覧表(表 2)、全国悪性軟部腫瘍登録一覧表(表 3)として発刊された<sup>3,4)</sup>。

## 全国骨・軟部腫瘍登録の実際

### 1. 情報の流れ

新たな全国骨・軟部腫瘍登録における情報の流れを図 2 に示す。本登録では、あらかじめ全国の病院・大学・地方がんセンターに本登録への参加の意思を確認し、参加の意思を表明した施設(2008 年現在、全国 215 施設)に登録用アプリケーションなど必要書類一式を送付、年 1 回このアプリケーションを用いて各診療施設より登録を行う仕組みになっている。この登録用アプリケーションは、高度な暗号化機能を有し、Windows でも Machintosh でも動作可能な Java 実行環境で動作するよう設計されており、あらかじめ設定された施設パスワード、事務局用パスワードがない限り、



整理番号	地区登録番号	姓名	性別	初診年令	登録診断名	発生部位	登録病院名
30150	1773	森 ○治	男	25	軟骨腫	肋骨	国立がんセンター
30151	1783	豊○亀○	男	13	〃	脛骨	〃
30152	1680	房○恵○	男	20	多発性内軟骨腫	全身的	〃
30153	1786	高○政○	女	27	単発性内軟骨腫	指骨	〃
30154	1694	新○よ○	女	55	軟骨肉腫	上腕骨	〃

表 1.  
全国骨腫瘍患者登録一覧表(昭和 44 年(1969 年))

	総数	上肢	下肢	体幹
	総数	総数	総数	総数
総数	2,283	380	931	496
類骨骨腫	38	4	30	4
内軟骨腫	219	140	59	8
骨軟骨腫	240	25	129	27
軟骨芽細胞腫	22	5	14	3
骨巨細胞腫	118	25	73	20
血管腫	20	4	5	11
脂肪腫	30	7	13	9
骨肉腫	162	17	110	26
軟骨肉腫	83	14	33	32
ESFT	27		9	17
脊索腫	28			26
単発性骨嚢腫	150	43	93	13
動脈瘤様骨嚢腫	36	3	22	11
非骨化性線維腫	112	8	89	1
好酸球性肉芽腫	26	1	4	16
線維性骨異形成	105	12	54	28
骨線維性異形成	27	2	22	2

表 2.  
骨腫瘍 登録診断名・発生部位  
(2006 年度)

(文献 3 より)

	総数	上腕	前腕	手	大腿	下腿	足	後腹膜
総数	949	51	38	15	353	71	26	39
デスモイド型線維腫症	37	2			3	1	1	
線維肉腫	16	3			5	1		
粘液線維肉腫	39	4	2		14	9		2
隆起性皮膚線維肉腫	18	2	1	1				
悪性線維性組織球腫	191	12	15	1	83	16	1	2
脂肪肉腫	289	14	2		160	19	3	15
平滑筋肉腫	51	1			22	7		4
横紋筋肉腫	14		1	1	6	1	1	
血管肉腫	10	1	1		2	1		
悪性末梢神経鞘腫瘍	48	2	3		19	2	1	6
明細胞肉腫	7						5	
ESFT	22	1	1	1	3	2		3
骨外性軟骨肉腫	11				3			1
骨外性骨肉腫	9				4			2
胞巣状軟部肉腫	14	2			7	1		
類上皮肉腫	16		4	3		2	1	
滑膜肉腫	55		5	3	9	2	6	1

表 3.  
悪性軟部腫瘍 登録  
診断名・発生部位  
(2006 年度)

(文献 4 より)

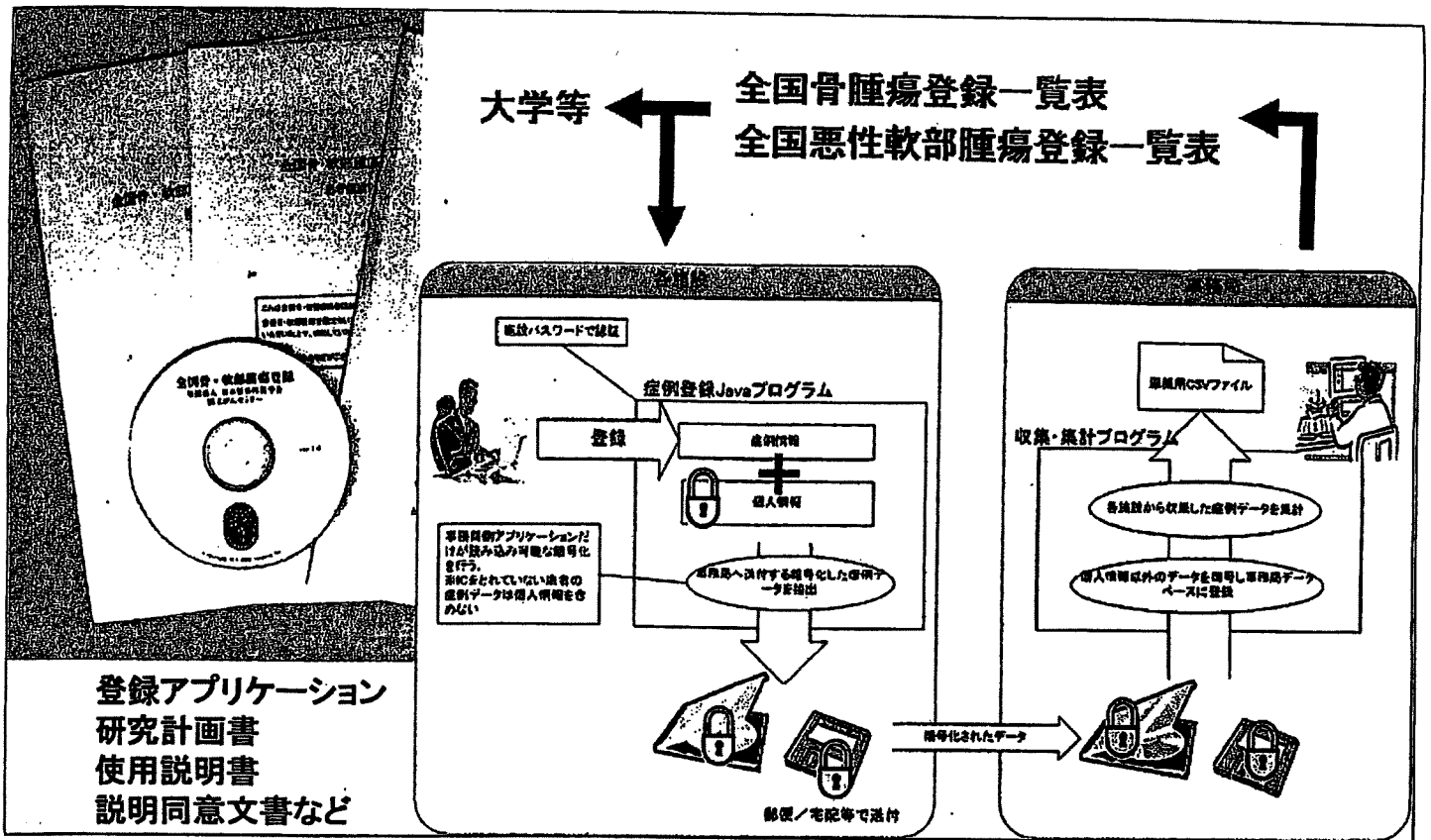


図 2. 新たな全国骨・軟部腫瘍登録用アプリケーションと情報の流れ

第三者がその内容を解読することは不可能である (図 3)。

各施設で診療した骨・軟部腫瘍に関する情報は、本アプリケーションを用いて各々の施設でコンピュータ入力する。その際、患者 ID など個人を識別可能な情報は、本登録に関するインフォームドコンセントのうえ、同意の得られた症例に関してのみ暗号化を施したうえで登録される (連結可能匿名化)。後日、治療経過などの調査を行う際には、この暗号化された患者 ID をもって各登録施設に照会、暗号化 ID を復号し調査する。インフォームドコンセントにて登録への同意が得られなかった症例は、本登録からは除外される。種々の理由からインフォームドコンセントが得られていない症例については、個人識別可能な情報を除く疾病情報のみが登録される。これらの暗号化・登録症例の選択は、当該患者の本登録に関するインフォームドコンセントの有無・同意の有無に従い、本アプリケーションによって自動的に行われる。一方、各施設で入力された情報は、インフォームドコンセントの状況にかかわらず、各々の施設

のコンピュータに保存されるため、それぞれの施設における症例情報・情報管理のためのツールとして活用することが可能である。

各施設の登録情報は、CD などの情報メディアの形で郵送にて本登録事務局 (国立がんセンター中央病院) へ送付、集計される。解析結果は、年度ごとに全国骨腫瘍登録一覧表、全国悪性軟部腫瘍登録一覧表としてまとめられ、全国の大学整形外科教室、全国がん (成人病) センター協議会加盟施設、地域拠点病院、国会図書館ならびに各登録施設に寄贈、公表される。

## 2. 登録情報

登録情報は、患者 ID、年齢、性別などの“基本データ”項目 (図 4)、組織診断、発生部位、大きさなどの“腫瘍”項目 (図 5)、術式、再建法、追加手術などの“手術”項目 (図 6)、化学療法、放射線治療、温熱療法などの“その他治療”項目 (図 7)、の 4 大入力項目よりなる (注: 2008 年末現在、新たに“予後”に関する項目が入力できるよう改訂作業を行っており、2009 年度からは“予後”を加えた 5 大入力項目となる予定である)。



図 3. 全国骨・軟部腫瘍登録アプリケーション (2006年版)の初期画面

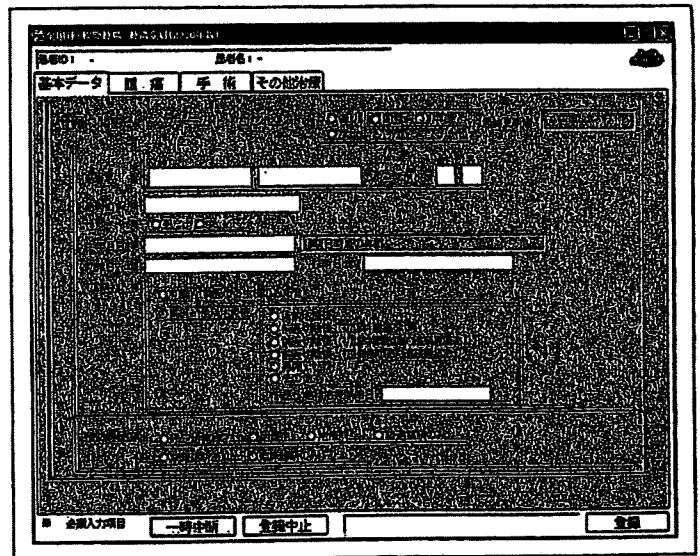


図 4. 「基本データ」入力画面

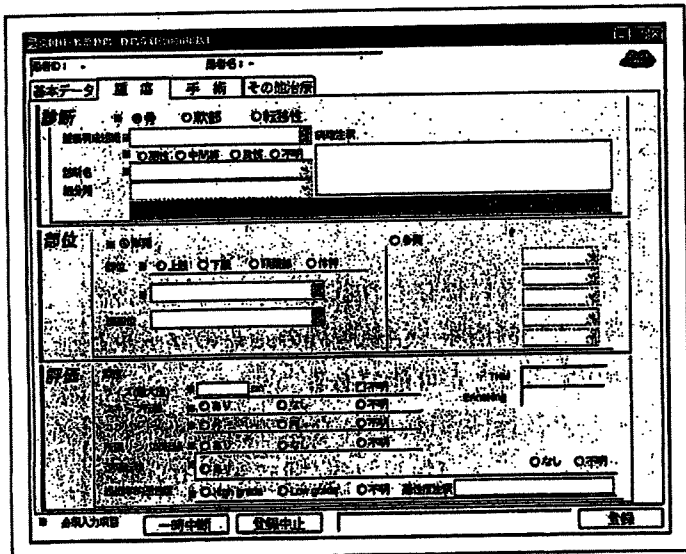


図 5. 「腫瘍」入力画面

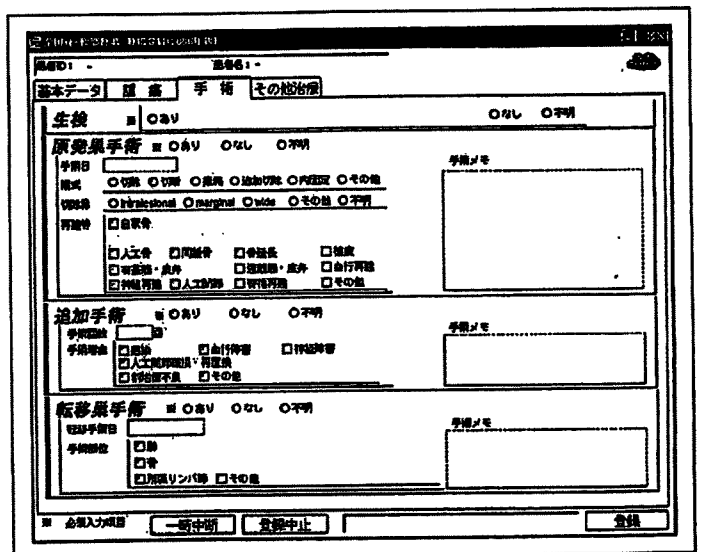


図 6. 「手術」入力画面

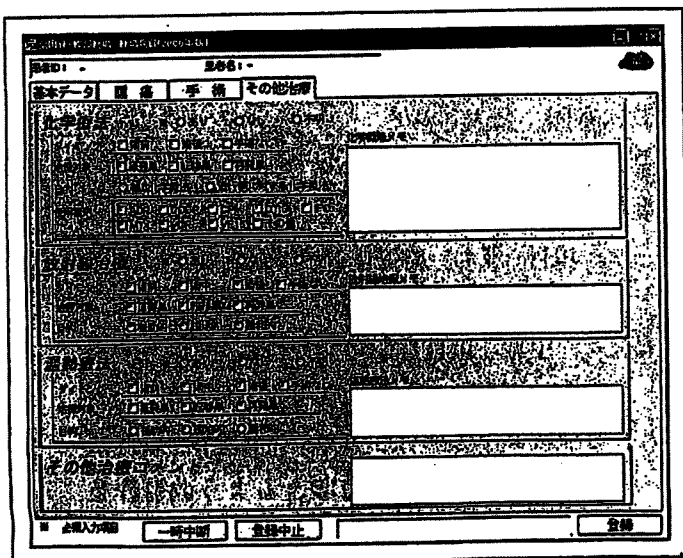


図 7. 「その他治療」入力画面

このような多岐にわたる情報を正確に、より簡便に入力できるよう、本アプリケーションは様々な入力補助システムを備えている。年齢、腫瘍の大きさ、診断日と手術日の前後関係などの項目で、論理的にあり得ない内容(年齢200歳、腫瘍径300cm、診断日前の手術日など)が入力された場合には、入力画面にアラームが表示され登録がブロックされる。また、組織診断、発生部位など、登録上必須と考えられる項目に関しては、その情報が入力されない限り、症例が登録されないよう設定されている。一方、原発性良性骨腫瘍、転移性骨腫瘍など、本登録ではその治療法よりも発生頻度を知る(基礎的疫学情報の収集)ことに主眼をおいた疾患では、“手術”、“その他治療”などの項目の

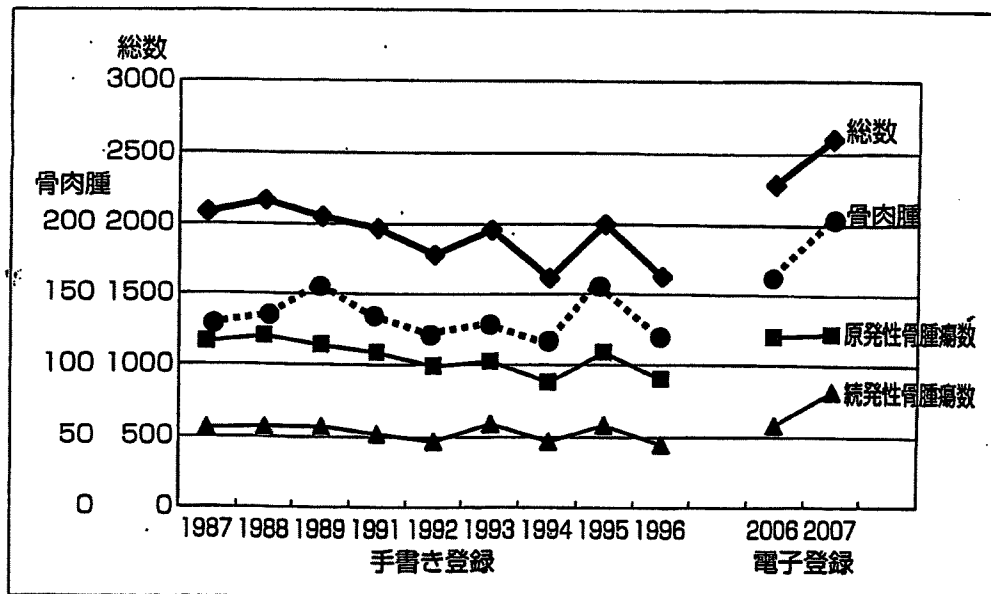


図 8.  
全国骨腫瘍登録の年次  
推移

多くが入力不要項目としてマスクされ、各施設の入力者の手間を省くよう配慮されている。

図 8 は、全国骨・軟部腫瘍登録(骨腫瘍)の登録症例数の推移を年度ごとに比較したものである。原発性骨腫瘍、続発性骨腫瘍、総数、いずれも手書き登録の時代(～1996年)に比べて新たな電子登録(2006, 2007年)になって登録数は増加する傾向にある。また、代表的な原発性悪性骨腫瘍である骨肉腫の登録症例数も 2007 年度の登録では 205 例に達している<sup>5)</sup>。我が国における骨肉腫の年間発生数は、約 200～300 例と推測されており、骨肉腫のみに限ると本登録はすでに我が国における全発生数の 70% 程度は網羅しているのではないかと考えられる。今後は、さらに登録率を向上させる(悉皆性の向上)とともに、二重登録の防止、登録情報の精度の向上・内容の充実(粒度の向上)を図り、本登録が真に我が国の骨・軟部腫瘍の実態を反映したものになるよう努力してゆくことが重要と考えられる。

稀少疾患である骨・軟部腫瘍に関する知見・治療成績を国レベルで向上させるためには、各施設の限られた経験・知識を多施設で共有してゆくことが最も効果的であり、全国骨・軟部腫瘍登録はそのための大きな力になることが期待される。また、本登録は、患者・社会への正確な情報提供、稀少がん診療の均霑化という意味でも重要な意義

を有すると考えられる。我々運動器疾患を扱う医師にとって共通の宝である(となりうる)全国骨・軟部腫瘍登録がさらに充実したものとなるよう、皆様のますますのご協力をよろしくお願いいたします。

<付：全国骨・軟部腫瘍登録に関するご質問・お問い合わせは、下記事務局へ>

〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1  
国立がんセンター中央病院  
全国骨・軟部腫瘍登録事務局  
TEL：03-3542-2511(内 2288)  
FAX：03-3542-3815  
E-mail：kotsunanbu@ml.res.ncc.go.jp

#### 文 献

- 1) 日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会・国立がんセンター編：全国骨腫瘍患者登録一覧表(2003)。
- 2) 川井 章：整形外科疾患登録をよりよいものにするためには？ 骨・関節・靭帯。18：283-291, 2005。
- 3) 日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会・国立がんセンター編：全国骨腫瘍登録一覧表, 2006。
- 4) 日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会・国立がんセンター編：全国悪性軟部腫瘍登録一覧表, 2006。
- 5) 日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会・国立がんセンター編：全国骨腫瘍登録一覧表, 2007。



# 骨腫瘍の診断

川井 章\*

## はじめに

原発性骨腫瘍は頻度が少なく診断も多岐にわたるため、その診断と治療にはある程度の専門的知識が要求されることが多い。しかし、臨床の現場では、原発性骨腫瘍患者の大多数は骨腫瘍を専門としていない医師（主に整形外科医）を初診し、診断・治療あるいは専門病院への紹介が行われている。第一線の病理医・整形外科医に求められているのは、発生頻度が少ないにもかかわらず、多様な臨床病理学的所見を呈する骨腫瘍をいかにして迅速に誤りなく診断し、必要な治療を受けられるようにするかという実際の難しい作業である。

本稿では第一線の臨床における診療を念頭に、原発性骨腫瘍の臨床病理学的特徴、診断の手順、生検についての考え方、診断に基づいた治療戦略について概説する。

## I. 原発性骨腫瘍の特徴

### 1. 疫学

よく知られているように、原発性骨腫瘍は稀な疾患である。米国NCIのSEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) Programのデータによると、原発性悪性骨腫瘍の人口10万人に対する発生頻度は年間0.8人と推計されている。これを我が国に当てはめると、日本全国で原発性悪性骨腫瘍は年間約1,000人程度発生しているものと推測される。我が国では、日本整形外科学会と国立がんセンターによって全国骨腫瘍登録が毎年実施されているが、本登録によると、平成19年度に全国で新たに診断・登録された原発性骨腫瘍は1,527例（良性1,012例、悪性509例、その他6

\*国立がんセンター中央病院整形外科

表1 原発性骨腫瘍・骨腫瘍類似疾患(1972~2003)

骨軟骨腫	8,914
内軟骨腫	4,514
単発性骨嚢腫	4,043
骨肉腫	3,256
線維性骨異形成	2,602
骨巨細胞腫	2,126
非骨化性線維腫	1,486
軟骨肉腫	1,218
類骨骨腫	841
好酸球性肉芽腫	642
動脈瘤様骨嚢腫	604
Ewing肉腫/PNET	473
悪性線維性組織球腫(MFH)	461
軟骨芽細胞腫	399
線維性骨皮質欠損	368

太字：悪性腫瘍。

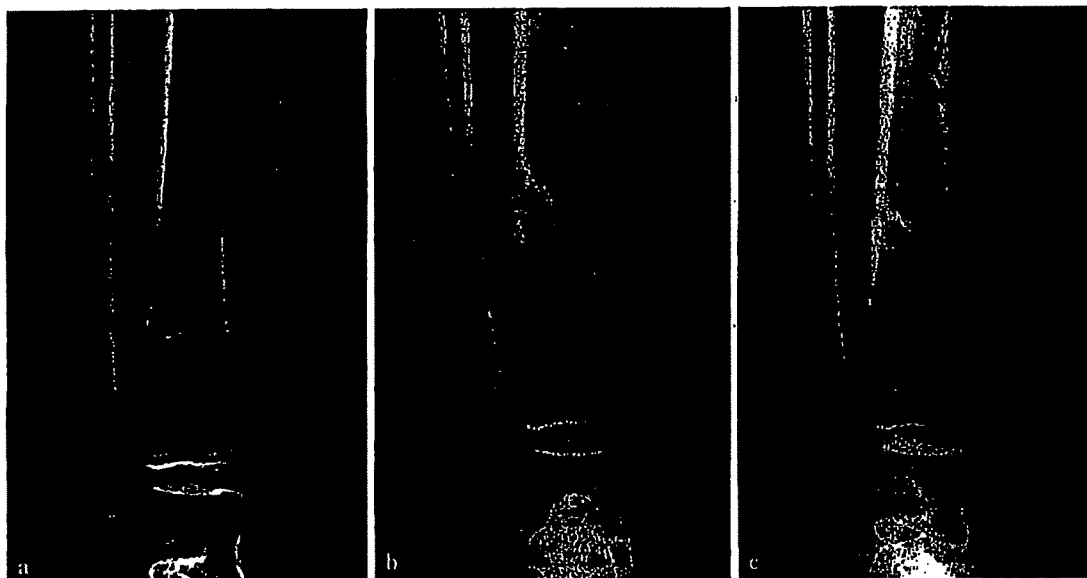
日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会/国立がんセンター 編：全国骨腫瘍登録一覧表(文献2より改変)。

例)、骨腫瘍類似疾患は654例である<sup>1)</sup>。

### 2. 頻度

表1は、全国骨腫瘍登録に1972~2003年の間に登録された原発性骨腫瘍・骨腫瘍類似疾患を頻度の高い順に並べたものである(骨髄腫、骨転移は除く)<sup>2)</sup>。これによると、原発性骨腫瘍の中で最も頻度の高いものは骨軟骨腫であり、その約1/2の頻度で内軟骨腫や単発性骨嚢腫、約1/3の頻度で骨肉腫が発生していることがわかる。原発性悪性骨腫瘍の中では骨肉腫が全体の約40%強を占め最も頻度が高く、次いで軟骨肉腫、Ewing肉腫/PNET (primitive neuroectodermal tumor)、悪性線維性組織球腫 malignant fibrous histiocytoma (MFH) の順である。良性骨病変は、骨軟骨腫、内軟骨腫、単発性骨嚢腫、線維性骨異形成、骨巨細胞腫の順に登録数が多い。非骨化性線維腫(線維性骨皮質欠損)は、全国骨腫瘍登録では30年間に1,486(368)例の登録があり、それぞれ7番目、15番目の頻度であるが、これらの疾患がほとんど症状を呈さず、

図1 非骨化性線維腫 non-ossifying fibroma (10歳, 女子) a: 診断時, b: 1年後, c: 2年後. 右下腿打撲にて単純X線撮影を行った際, 右脛骨に病変が発見された. 診断時, 右脛骨遠位骨幹部に認められた辺縁明瞭で骨硬化を伴う多房性病変は, 年と共に縮小, 不明瞭となり治癒傾向を示している.



外傷などの診察時に単純X線で偶然発見されることが多いこと, 自然治癒傾向を有する疾患であることなどを考慮すると, 実際には非骨化性線維腫(線維性骨皮質欠損)を有する人数は登録数よりもかなり多いことが予想される(図1)。

### 3. 臨床所見

骨腫瘍はそれぞれの腫瘍毎に年齢, 発生部位, 症状などに特徴を有し, 診断の参考となる。

#### (1) 年齢

癌は40歳以後年齢と共に指数関数的にその発生頻度が増加するが, 原発性骨腫瘍にはそのような際立った加齢との相関は認められない。原発性悪性骨腫瘍は10歳代に好発し, 骨肉腫は10歳代後半, Ewing肉腫/PNETは10歳前後に発生のピークが認められる。軟骨肉腫, MFHなどの悪性骨腫瘍は40~60歳代に好発する(図2)<sup>3)</sup>。

#### (2) 性別

性別は, 骨腫瘍全体としては男性にやや好発する傾向が認められる。骨肉腫, Ewing肉腫は男性に約1.5倍好発する。このほか, 全国骨腫瘍登録によると, 軟骨芽細胞腫, 類骨骨腫, 脊索腫, 骨嚢腫, Langerhans細胞肉芽腫(好酸球性肉芽腫)なども男女比1.5以上で男性に多く発生している<sup>1)</sup>。

#### (3) 発生部位

原発性骨腫瘍全体では, 大腿骨, 脛骨, 指骨, 上腕骨の順に好発する<sup>1)</sup>。組織型別では, 骨肉腫, 骨巨細胞腫, 骨軟骨腫はその半数以上が大腿骨, 脛骨に発生する。一方, 軟骨肉腫, Ewing肉腫/PNETは四肢長

管骨と共に骨盤など体幹の骨にも好発する傾向が認められる。内軟骨腫はその多くが指趾骨に発生し, 指趾骨原発の腫瘍の80%以上は内軟骨腫である。腫瘍の発生部位から診断が推測されるものとしては, 指趾骨発生の内軟骨腫のほか, 仙骨発生の脊索腫, 肋骨発生の線維性骨異形成, 腫骨発生の単発性骨嚢腫などがある。

長管骨において, 骨肉腫を含む大多数の原発性骨腫瘍はその骨幹部部に生じることが多い。骨端部に発生する腫瘍は稀であり, 骨端部発生の原発性骨腫瘍は骨巨細胞腫, 軟骨芽細胞腫, 淡明細胞型軟骨肉腫の3組織型にほぼ限定される。一方, 骨幹部に好発する腫瘍としてはEwing肉腫/PNET, Langerhans細胞肉芽腫(好酸球性肉芽腫)が代表的である(図3)。

#### (4) 症状

多くの骨腫瘍は痛みを契機として発見されることが多い。良性骨腫瘍の疼痛は腫瘍に侵された骨の微小骨折あるいは続発した炎症によるものが多いと考えられ, 増悪・軽快を繰り返すこともある。一方, 経時的に増悪する痛み, 安静時痛, 局所の腫脹・熱感を伴う痛みは腫瘍自体の増大を示唆し, 悪性骨腫瘍を疑わせる。良性の類骨骨腫では特徴的な夜間痛を呈し, 非ステロイド性鎮痛剤が著効する。骨軟骨腫は関節近傍の無痛性の硬い腫瘤を主訴とすることが多い。受傷機転のはっきりしない骨折, 骨折線の不明瞭な骨折, 局所に著明な硬結・腫脹を伴う骨折などでは病的骨折の可能性も忘れてはならない。

図2 骨腫瘍の好発年齢

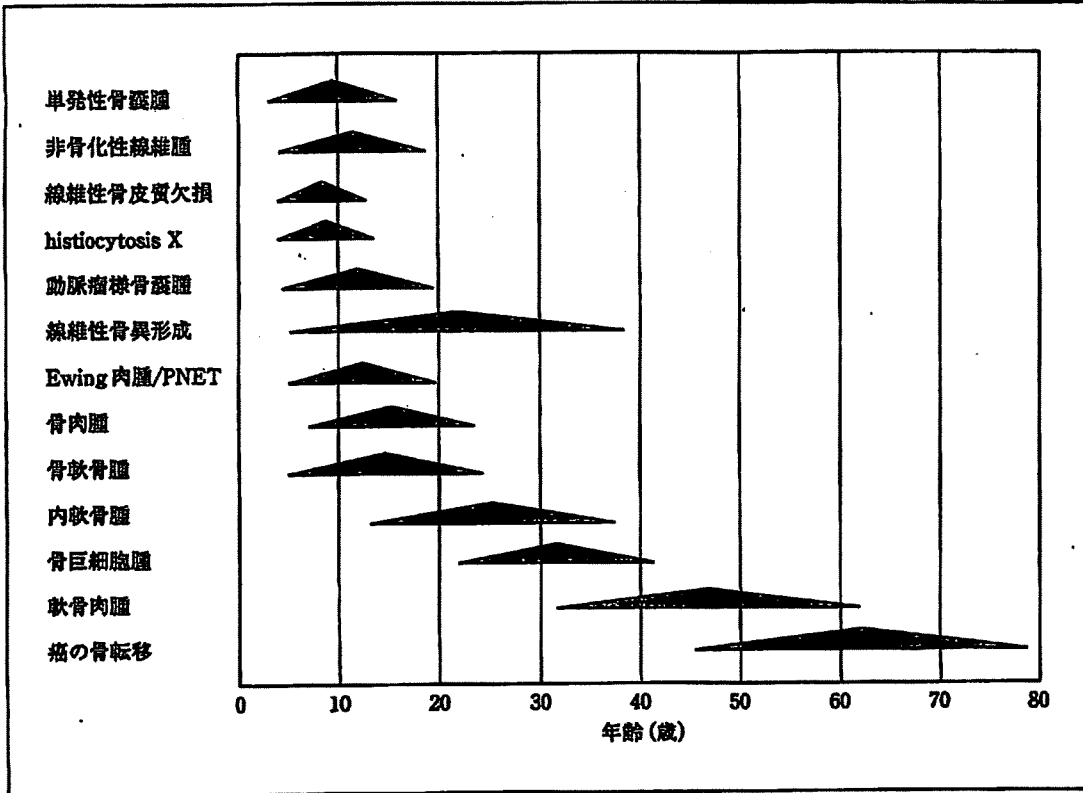
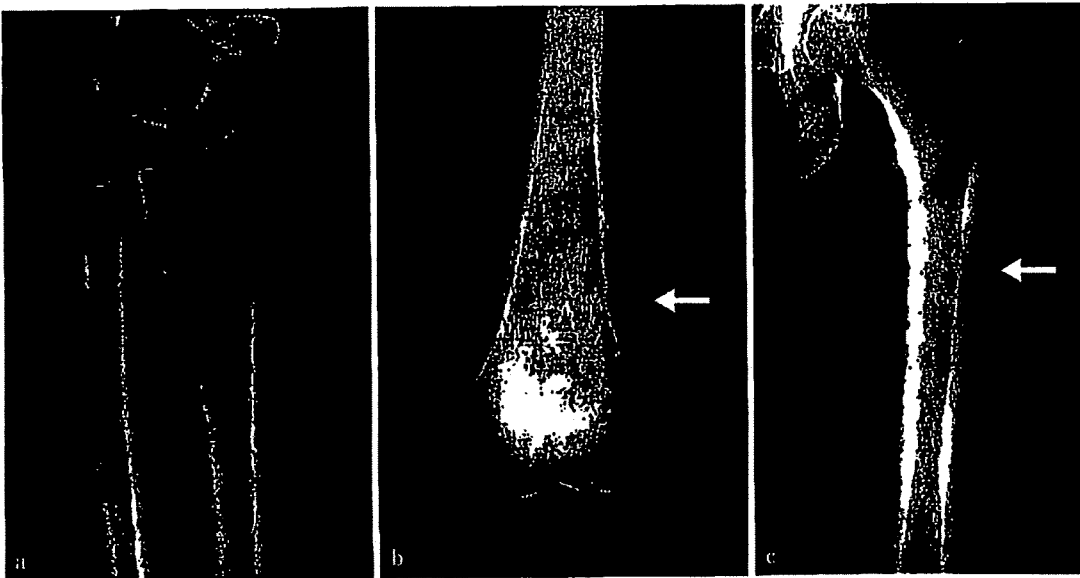


図3 骨腫瘍の発生部位 a: 骨端部 (骨巨細胞腫), b: 骨幹端部 (骨肉腫), c: 骨幹部 (Ewing肉腫/PNET).

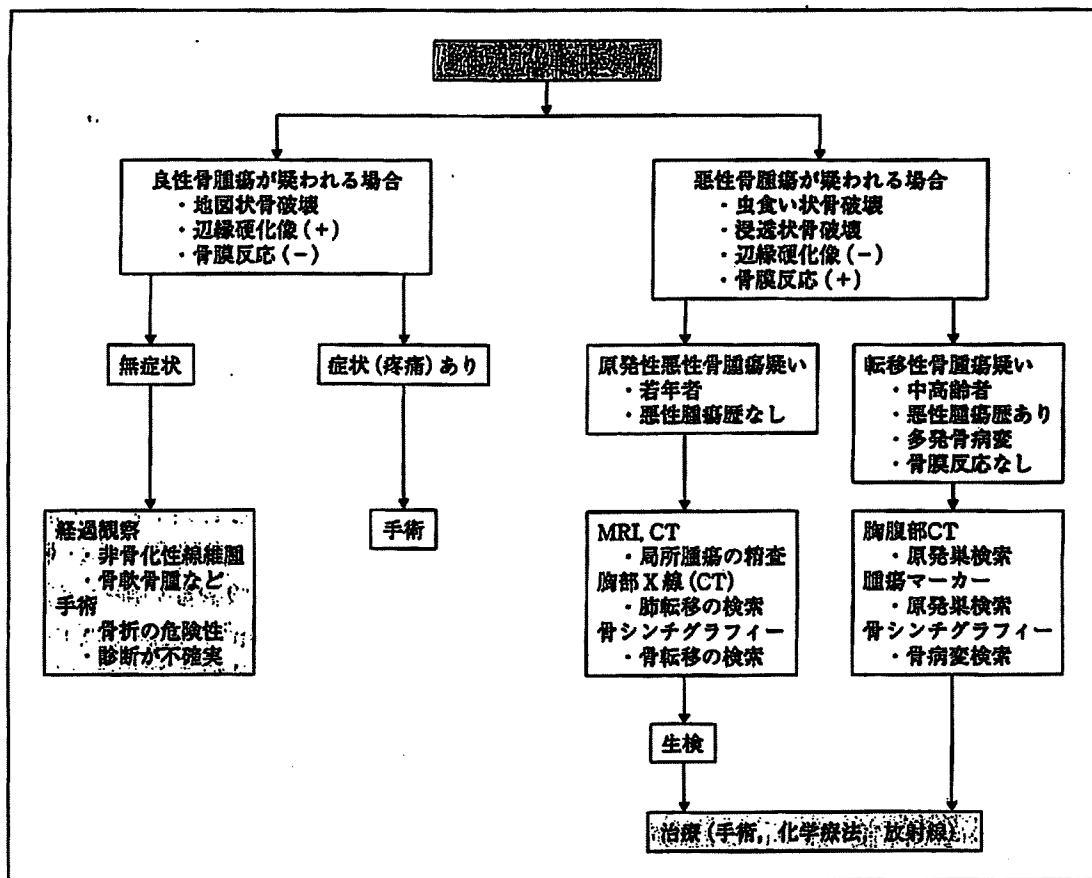


## II. 診断の手順 (図4)

骨腫瘍は、疼痛のある部位の単純X線撮影で発見されることが多いが、線維性骨皮質欠損などの良性腫瘍では外傷など他の理由で撮影した単純X線写真で偶然に見出されることもある。CT, MRI, PETなど

種々の画像診断法が発達している現在でも、骨腫瘍の臨床診断においては単純X線が最も有用かつ重要な検査であり、単純X線の所見から良性骨腫瘍、悪性骨腫瘍を見分けることが骨腫瘍診断の基本である。単純X線所見と各腫瘍の臨床的特徴(前述)を丁寧に検討することにより、多くの原発性骨腫瘍では組織型をある程度類推することも可能である。

図4 骨腫瘍診断の進め方



単純X線像から良性骨腫瘍が疑われた場合、症状がなく、非骨化性線維腫(線維性骨皮質欠損)など増大しない(自然消退する)腫瘍の可能性が高いと考えられる場合には経過観察とする。しかし、疼痛などの症状があるもの、病的骨折の危険性があると考えられるもの(骨皮質1/3以上の骨吸収性病変)、腫瘍増大の可能性が高いと考えられるもの(骨巨細胞腫など)、診断が不確実なもの、などでは手術を考慮する。

単純X線像から悪性骨腫瘍が疑われた場合、その病変が原発性悪性骨腫瘍か転移性骨腫瘍かの鑑別を行う。患者が若年者で悪性腫瘍の既往のないもの、骨膜反応が認められるものは原発性悪性骨腫瘍である可能性が高い。一方、中高齢者、悪性腫瘍の既往のあるもの、多発骨病変、長管骨の骨膜反応を伴わない骨吸収性病変、脊椎椎弓根の破壊像(pedicle sign)と椎体の非対称な圧潰などは転移性骨腫瘍を疑わせる。原発性悪性骨腫瘍が疑われたら、MRI、CTによって局所腫瘍の性状・進展範囲の正確な把握を行うと共に、胸部X線(できればCT)による肺転移の検索、骨シンチによる局所・全身の骨病変のスクリーニングを行う。これと並行してできるだけ早急に生検にて診断を確定

し、治療を開始する。

転移性骨腫瘍が疑われる場合、原疾患が既に判明している場合には全身状態、予後などを担当医と十分検討した上で治療方針を決定する。原発巣が不明の場合は骨病変の評価と共に原発巣検索が必要である。骨転移の原発巣としては、肺癌、乳癌、腎癌、前立腺癌、子宮癌、甲状腺癌などの頻度が高い。悪性リンパ腫も原発巣不明の骨破壊性病変を呈する疾患として忘れてはならない。肺癌、腎癌、肝癌等の検索には胸・腹部CTが有用である。前立腺癌におけるPSA(prostate specific antigen)、多発性骨髄腫におけるM蛋白など腫瘍特異的マーカーの検索も原発巣を絞り込む一助になる。しかし、これらの血液・画像検査でも原発巣不明の場合にはCTガイド下生検などによる骨病変の生検が必要となる。

### III. 骨腫瘍の生検

骨腫瘍の診断と治療において、生検によって得られる良・悪性の鑑別や悪性度の評価、組織学的診断は、その治療方針決定のために最も重要な情報である。生