

吉川秀樹:

整形外科医が誤診しやすい骨軟部腫瘍

第9回山梨大学整形外科セミナー

(2014.5.17 山梨)

吉川秀樹:

骨・軟部腫瘍における BMP 研究：歴史と展望

第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会

(2014.7.17-18 大阪)

伊村慶紀, 吉川秀樹,他:

類上皮肉腫に対する mTOR と c-MET を標的とした

抗腫瘍効果阻害剤

第73回日本癌学会学術総会

(2014.9.25-27 横浜)

伊村慶紀, 吉川秀樹,他:

滑膜肉腫に対する MET 阻害剤 (INC280) の抗腫瘍

効果とバイオマーカーの探索

第29回日本整形外科学会基礎学術集会

(2014.10.9-10 鹿児島)

吉川秀樹:

骨形成の謎に迫る—骨肉腫研究から骨再生医療へ

第5回臨床医学研究塾 (2014.11.1 大阪)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療確立のための研究

担当責任者 杉浦 英志 愛知県がんセンター中央病院整形外科 部長

研究要旨 骨軟部腫瘍は極めて稀な腫瘍であり、新たな診断・治療法を確立することは重要な課題であるが、骨軟部腫瘍は、様々な組織型があり、一般的な MRI などの画像診断で得られる局在や性状だけでは診断が困難なことが多い。最終的な診断は、生検もしくは切除による組織診断が必要となるが、診断までに時間を要することが多く治療開始が遅れる可能性がある。こうした侵襲を伴う手技を開始する前に、画像診断である程度の組織型を類推できれば治療初期における方針決定に有用であると考えられる。そこで今回、骨軟部腫瘍に対する画像診断法として Magnetization Transfer Ratio (MTR) という手法を用いて MTR の算出式を改良した Equivalent Cross-Relaxation Rate (ECR) 値を比較することで骨軟部腫瘍における ECR 値の有用性を検討した。ECR 値は良性腫瘍において個々の幅が大きく、悪性腫瘍群との有意な相違はなかったが、ECR 値が高いほど、細胞密度は高いという有意な相関関係を認めた。ECR が細胞密度と有意な相関関係を示したことで、治療前の画像診断として ECR は通常の MRI の情報に加えて新たな診断的情報となる可能性がある。

A. 研究目的

骨軟部腫瘍において、術前の画像診断としての MRI は欠かせないモダリティである。しかし、組織学的所見と直接結びつくような良悪性の判断を MRI の信号レベルから数値的に評価することは、困難である。MTR による手法では、従来の MRI と異なり組織中の水分とタンパク質の相互関係を評価でき、これが組織中の高分子の定量化に有用であることが報告されてきた。その後、MTR の算出式を改良した Equivalent Cross-Relaxation Rate Imaging (ECRI) はより鋭敏な定量化ができることが報告された。臨床的には ECRI によって算出された ECR 値が乳癌組織における腫瘍細胞の悪性度や線維化の程度と相関していることが示され、乳癌のリンパ節転移の評価判断にも利用できる可能性が示唆されている。しかしながら骨軟部腫瘍領域に於いては ECR 値が病理学的悪性度にどのように関連を示すのかは明らかにされていない。今回の研究では、骨軟部腫瘍における ECR 値の有用性を検討した。また、病理学的悪性度の一つの指標として組織標本の細胞密度や細胞核数を調査し病理学的悪性度と ECR 値との相関関係についても検討した。

B. 研究方法

(1) ECR の測定

骨軟部腫瘍に対して ECRI を測定し、かつ切除および生検にて病理学的診断のついた 50 例について検討した。ECR の測定には、OsiriX software を用いた。

ECRI の各スライスより腫瘍実質内の均一な領域を設定し、領域内の平均 ECR を算出した。腫瘍被膜や腫瘍内血管は除外した。全スライスの ECR を測定したが、特に両端部に近いスライスではアーチファクトの影響を強く受けるため、全スライスの平均 ECR \pm SD 以内の数値となるスライスのみを抽出し、平均値を算出した。

(2) 細胞密度とデータ解析

切除もしくは生検標本より作製した H&E 染色のプレパラートを使用し、細胞数をカウントした。術前に補助療法を施行し、切除標本にて細胞壊死がみられるような症例では生検標本を用いた。光学顕微鏡下で 400 倍の視野で撮影した $340 \mu\text{m}^2$ の組織像を ROI として設定し、各症例毎に任意の 10 か所 ROI を抽出した。細胞の計測には Image J を用いて、それぞれの撮影画像の核に対して閾値設定を行い、細胞の核数をカウントすることで細胞数を評価し、10 か所の平均値を算出した。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床情報の利用と公表について患者本人または代諾者に対し、治療時に包括的同意書を取得している。また、本研究は当院の倫理規定に基づく臨床研究であり、研究による患者への不利益は発生しないものと考えられる。

C. 研究結果

(1) ECR 値の測定

良性腫瘍において、ECR は幅が大きかった。脂肪

腫は 10 未満と特に低い傾向を示したが、PVNS や骨 GCT、線維腫、結節性筋膜炎では 40 以上と高い傾向を認めた。悪性腫瘍は多くが 40 前後と比較的高い値を示したが、脂肪系腫瘍である高分化型脂肪肉腫や粘液型脂肪肉腫では比較的低い傾向を示した。全体として高悪性度腫瘍の ECR は、良性もしくは低悪性度腫瘍の ECR よりも低い傾向を認めたが有意差はなかった。良性腫瘍でも、PVNS や骨 GCT では特に高い傾向を認めた。

(2) ECR と細胞密度との比較

細胞密度は ECRI と同様に、脂肪系腫瘍では少ない傾向を示し、PVNS や骨 GCT などの良性腫瘍や高悪性度腫瘍ら全般において高い傾向を示した。ECR と細胞密度は有意な相関関係を示した。その中でも Ewing 肉腫は、他の腫瘍よりも相対的に ECR に対し特に高い細胞密度を認め、線維腫になどの一部の良性腫瘍では細胞密度に対して相対的に高い ECR を呈する傾向を認めた。

D. 考察

通常の MRI では、遊離した水プロトンの信号を反映して脂肪成分・水分・線維成分といった性状を判別できるが、組織診断に不可欠な細胞密度や細胞の形状といった情報は反映されない。それに対し、ECR は核や細胞骨格などを含む細胞成分を構成する蛋白等の高分子の含有量と相関していると報告されている。さらに ECRI として画像化することで腫瘍細胞の細胞像を反映することができる。今回の研究では ECR 値は良性腫瘍において個々の幅が大きく、悪性腫瘍群との有意な相違はなかったが、ECR 値が高いほど、細胞密度は高いという有意な相関関係を認めた。これまでの報告と同様に、これは核や小器官、細胞骨格などから構成される細胞の密度が、proton を含んだ高分子の含有量として ECR に反映されていると考えられる。そのため、良性腫瘍でも細胞密度の高い PVNS や骨 GCT では ECR は高値となる。同様に proton を含んだ高分子含有物質としてコラーゲンを含む基質は ECR が高くなる傾向があり、線維腫など線維成分を多く含む良性腫瘍でもこうした理由で ECR 値が高くなった可能性がある。また Ewing 肉腫では 1 個当たりの細胞体積の小さい小円型細胞からなる組織像を呈するため、他の腫瘍と比較して高い細胞密度 / ECR 比を呈したと考えられる。

E. 結論

今回の研究において、ECR と細胞密度は有意な相関関係を示し、治療前の画像診断として ECR は、通常の MRI の情報に加えて新たな診断的情報となる可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sugiura H, et al.:

Surgical procedures and prognostic factors for local recurrence of soft tissue sarcomas

J Orthop Sci, 19:141-149, 2014

Okuda H, Sugiura H, et al.:

Equivalent cross-relaxation rate imaging positively correlates with pathological grade and cell density of adipocytic tumors

Magnetic Resonance Imaging, 32:206-210, 2014

Nakamura T, Sugiura H, et al.:

Clinical outcomes of Kyocera Modular Limb Salvage system after resection of bone sarcoma of the distal part of the femur:the Japanese Musculoskeletal Oncology Group study

Int Orthop, 38:825-830, 2014

Ueda T, Sugiura H, et al.:

Phase I and pharmacokinetic study of trabectedin, a DNA minor groove binder, administered as a 24-h continuous infusion in Japanese patients with soft tissue sarcoma

Invest New Drugs, 32:691-699, 2014

Hamada S, Sugiura H, et al.:

Correlation between equivalent cross-relaxation rate and cellular density in soft tissue tumors

Skeletal Radiol, 43:141-147, 2014

Kozawa E, Sugiura H, et al.:

Multipule primary malignancies in elderly patients with high-grade soft tissue sarcoma

Int J Clin Oncol, 19:384-390, 2014

Arai E, Sugiura H, et al.:

Residual tumor after unplanned excision reflects clinical aggressiveness for soft tissue sarcomas

Tumour Biol, 35:8043-8049, 2014

Nishida Y, Sugiura H, et al.:

High incidence of regional and in-transit lymph node metastasis in patients with alveolar rhabdomyosarcoma

Int J Clin Oncol, 19:536-543, 2014

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:

腫瘍用人工関節置換術後に深部感染を来した 3 例
中部整災誌, 57:333-334, 2014

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
非浸潤型および浸潤型血管脂肪腫の臨床的特徴と手術法についての検討
中部整災誌, 57:751-752, 2014

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
腹斜筋内に認めた浸潤型血管脂肪腫の1例
臨床整形外科, 49:639-644, 2014

吉田雅博, 杉浦英志, 他:
右下腿軟部腫瘍の1例
東海骨軟部腫瘍, 26:9-10, 2014

吉田雅博, 杉浦英志, 他:
左脛骨骨腫瘍の1例
東海骨軟部腫瘍, 26:21-22, 2014

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
左大腿部軟部腫瘍の1例
東海骨軟部腫瘍, 26:31-32, 2014

杉浦英志, 他:
軟部肉腫における広範切除術後の局所再発と切除縁についての検討
日整会誌, 88:575-581, 2014

2. 学会発表

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
非浸潤型及び浸潤型血管脂肪腫の臨床的特徴と手術法についての検討
第122回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会
(2014.4.11-12 岡山)

吉田雅博, 杉浦英志, 他:
尺骨合併切除を要した前腕発生軟部肉腫の2例
第122回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会
(2014.4.11-12 岡山)

濱田俊介, 杉浦英志, 他:
骨・軟部腫瘍における ECR と細胞密度の評価
第87回日本整形外科学会学術集会
(2014.5.22-25 神戸)

浦川浩, 杉浦英志, 他:
上腕骨発生孤立性骨嚢腫の治療成績に影響する因子の検討
第87回日本整形外科学会学術集会
(2014.5.22-25 神戸)

小澤英史, 杉浦英志, 他:
軟部肉腫初回治療後に肺転移を生じた症例の検討 : 45歳以降発症例
第87回日本整形外科学会学術集会
(2014.5.22-25 神戸)

二村尚久, 杉浦英志, 他:
骨外 Ewing 肉腫の切除縁設定に関する考察—化学療法後の MR 画像と組織所見の関連—
第87回日本整形外科学会学術集会
(2014.5.22-25 神戸)

山田健志, 杉浦英志, 他:
AYA 世代進行期悪性骨・軟部腫瘍患者の治療経験
第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

筑紫聡, 杉浦英志, 他:
上腕骨近位骨腫瘍切除後の clavícula pro humero 法
第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

杉浦英志, 他:
軟部肉腫における分子標的治療薬の意義—パゾパニブの有効性について—
第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

吉田雅博, 杉浦英志, 他:
後腹膜発生軟部肉腫の手術治療成績
第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

杉浦英志, 他:
染色体転座が報告されている組織型の悪性軟部腫瘍患者を対象にトラベクテジンとベストサポータティブケアを比較した第II相臨床試験
第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
粘液線維肉腫の切除縁と局所再発についての検討
第47回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
肝細胞癌の骨転移病変に対する臨床的特徴
第52回日本癌治療学会学術集会
(2014.8.28-30 横浜)

小澤英史, 杉浦英志, 他:
血管肉腫 9 例についての検討
第 123 回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2014.10.3-4 名古屋)

長谷川弘晃, 杉浦英志, 他:
右大腿部に発生したグロムス腫瘍の 1 例
第 123 回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2014.10.3-4 名古屋)

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

ヒト軟骨分化誘導間葉系幹細胞移植による免疫不全マウス皮下への異種移植における
異所性骨再生に関する研究

担当責任者 阿部 哲士 帝京大学医学部整形外科 准教授

研究要旨 スキッドマウス皮下へ、scaffold である Porous PLGA block 上でヒト由来の軟骨分化させた間葉系幹細胞（以下 hMSC-DSCMSC-DCs ; human Mesenchymal stem cell derived chondrocytes）の異種移植試験を試み、骨分化誘導能の評価を行った。その結果 hMSC-DCs 移植群のみ異所性骨再生が確認された。比較対照群である hMSC 群や Scaffold 群では骨の形成が見られなかった。hMSC-DCs 群では早期に移植体周囲より骨組織に置換され、移植後 8 週では新生骨組織の内部に骨髄組織が確認された。hMSC-DCs が hMSCs より高い骨分化誘導能を持つ事が明らかになった。皮下移植モデルであり、本来骨形成が起こらない部位で十分な骨誘導能を得られたことから、本法はヒト臨床応用への有望な可能性を持った骨再生法と考える。

A. 研究目的

骨腫瘍切除後の骨欠損には局所の血行不良や骨折部の不安定性等の治癒阻害因子によって十分な骨再生が期待できないため自家骨移植術や人工骨移植術が必要となる。自家骨移植術では、採骨部位の合併症があり、また採取可能な骨組織のサイズや形状にも制限があることから、腫瘍切除後の大きな骨欠損には適用に限界がある。人工骨は母床となる骨組織内では、「骨伝導能」は有するが、自ら異所性に骨を作る「骨誘導能」は乏しく、限定的な使用に限られ自家海綿骨移植術を凌駕するものではない。近年細胞培養技術の飛躍的向上を背景に、自家骨髄由来間葉系幹細胞（以下 MSC と略記）を用いた骨組織再生の研究が盛んに試みられているが十分な骨量と強度を兼ね備えた全周性の骨欠損補填を再現性を以て実現することはできなかった。

我々は、自家骨髄由来間葉系幹細胞をさらに軟骨分化させた MSC-DCs を生分解性の scaffold である Porous PLGA block と組み合わせて用いる治療法を開発し、ラット大腿骨骨欠損モデルにて骨幹部全周性骨欠損を高い骨再生を得られることを報告した。

今後ヒトに対する骨再生医療を実現するためには、ヒト由来 MSC-DCs でも動物と同じような骨再生が生じるのであるかを検証する必要がある。

本研究の目的は、ヒト由来の MSC-DCs が MSCs より高い骨分化誘導能を持ちうるか in vivo での検証をおこなう事である。

B. 研究方法

対象動物として異種移植に適しているスキッドマウス（SCID; severe combined immunodeficiency mice、日本クレア）を用いた。hMSCは、術前にインフォームド・コンセントが得られた、基礎疾患のない腰部脊柱管狭窄症患者の手術中に採取した骨髄液から分離・培養した。

hMSCをbFGF存在下で増殖させ、PLGA scaffoldに播種した後に軟骨分化培地で分化誘導を行い径5mm x 2mm円柱状の3次元培養hMSC-DCs移植体を作製した。

5 週齢雄スキッドマウス背部皮下筋膜上に 3 群（hMSC-DCs 群、hMSCs 群、Scaffold 群）の移植体を移植した。

移植後12週までの間、経時的に軟X線撮影及び組織の取り出しを行い、 μ CTおよび組織学的（HE染色）検索を行った。

（倫理面への配慮）

帝京大学医学部の動物実験に関する倫理委員会の承認を得た後に本研究を実施した。

C. 研究結果

軟 X 線撮影及び μ CT では、Scaffold 群、hMSCs 群では全例で X 線不透過性の石灰化組織形成を認めなかった。hMSC-DCs 群移植群は、全例に石灰化組織形成が確認され、石灰化は外周部に強く認められた。

病理組織学的評価でも、hMSC-DCs 群でのみ骨の形成が確認され、石灰化組織が骨組織である事が確

認められた。移植後 4 週から移植体周囲一層が骨組織に置換されており、8、12 週と経過するにつれて骨組織の厚さが増していった。移植後 8 週から新たに形成された骨組織の内部に骨髄組織が確認され、12 週にかけて成熟していく様子が観察され新生骨髄中に巨核球や多数の血球細胞を認めた。

D. 考察

本研究から hMSC-DCs が hMSCs より高い骨分化誘導能を持つ事が明らかになった。皮下移植モデルであり、本来骨形成が起こらない部位で十分な骨誘導能を得られたことから、本法はヒト臨床応用への有望な可能性を持った骨再生法と考える。

E. 結論

本治療法は新しい骨再生治療法としてヒト臨床応用への有望な可能性があると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sato K, Abe S, et al.:

Establishment of Reproducible, Critical-Sized, Femoral Segmental Bone Defects in Rats

Tissue Eng Part C Methods, 20(12):1037-1041, 2014

Harada N, Abe S, et al.:

Bone regeneration in a massive rat femur defect through endochondral ossification achieved with chondrogenically differentiated MSCs in a degradable scaffold

Biomaterials, 35(27):7800-7810, 2014

岩井俊也:

軟骨分化誘導したヒト骨髄由来間葉系幹細胞はすぐれた骨分化誘導能を呈する

-マウス皮下移植における異所性骨化形成能の評価-
帝京医学雑誌, 37(3):105-115, 2014

山本巖:

間葉系幹細胞分化軟骨細胞 (MSC-DC s) 移植によってラット萎縮性偽関節も修復できる

帝京医学雑誌, 37(5):175-184, 2014

2. 学会発表

原田紀子, 阿部哲士, 他:

間葉系幹細胞分化軟骨細胞 (MSC-DC s) 移植によりラット大腿骨 15mm 骨欠損は 4 週間で修復できる

第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2014.10.9-10 鹿児島)

佐藤健二, 阿部哲士, 他:

間葉系幹細胞分化軟骨細胞 (MSC-DC s) によるイヌ大腿骨骨欠損の再生

第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2014.10.9-10 鹿児島)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

腫瘍用人工膝関節置換術の膝蓋骨に関連する合併症について

担当責任者 畠野 宏史 新潟県立がんセンター新潟病院整形外科 部長

研究要旨 腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨に関連する合併症によって、下肢機能が低下することも示唆されてきている。今回、腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨位置異常と患肢機能との関連を調査した。対象は1989年以降に大腿骨遠位部骨腫瘍に対して腫瘍用人工膝関節置換を行った症例のうち2年以上経過した32例である。32例中、膝蓋骨低位群は10例(31.3%)、正常群は22例(68.8%)であった。平均膝屈曲角度は低位群が75度であり、正常群の105.7度に比べて有意に小さかった($p<0.05$)。膝蓋骨の亜脱臼位については、Merchant viewによる評価が可能であった23例で検討した。23例中5例(21.7%)に亜脱臼を認め、18例(78.3%)は非亜脱臼であった。亜脱臼群の平均膝屈曲角度は68度、非亜脱臼群では104.4度で、有意差はないものの脱臼群で屈曲角が小さい傾向があった。膝蓋骨低位、亜脱臼例では、膝関節屈曲が制限されることが示された。膝蓋骨低位によって膝蓋大腿関節の不適合性、膝蓋骨と脛骨コンポーネントのインピンジメントをきたすことが屈曲制限の原因になると考えられる。

A. 研究目的

大腿骨遠位部の骨腫瘍切除後の骨欠損に対する腫瘍用人工膝関節置換による再建術は、術後早期に下肢機能の回復、社会復帰が期待できるという長所を持ち、安定した成績が得られることから、近年汎用されてきている。しかし、感染、破損、looseningなどの合併症により、再置換を余儀なくされることもある。また、腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨に関連する合併症によって、下肢機能が低下することも示唆されてきている。しかし、本邦ではこの合併症に注目し検討した報告は少ない。

本研究の目的は、腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨位置異常と患肢機能との関連を明らかにすることである。

B. 研究方法

1989年以降に大腿骨遠位部骨腫瘍に対して腫瘍用人工膝関節置換を行った症例のうち2年以上経過した32例を対象とした。経過観察期間は平均123か月、手術時年齢は平均36歳、男性17例、女性15例である。最も多い組織型は骨肉腫であった。これらの症例の術後患肢機能と関連する因子、特に、膝蓋骨の位置異常について注目して検討した。膝蓋骨の高さはInsall-Salvati ratio (ISR)を用いて評価した。

ISRは、膝側面XPで、膝蓋靭帯長[Length of Patella Tendon(PT)]と膝蓋骨長[Length of Patella(P)]を計測し、PTをPで除した値(PT/P)を算出し、 $0.8<ISR<1.5$

を正常群、 $ISR\leq 0.8$ を膝蓋骨低位群とした。また、膝蓋骨の亜脱臼位については、Merchant viewによる膝関節軸写にて膝蓋骨傾斜角を計測し、傾斜角 $<10^\circ$ を正常群、傾斜角 $\geq 10^\circ$ を亜脱臼群とした。患肢機能はInternational Society of Limb Salvage (ISOLS) Scoring Systemを用いて評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は過去の臨床情報を用いた介入のない後ろ向き観察研究であり、また、個人を特定可能な情報は含まれず、特別な倫理的な問題は存在しない。

C. 研究結果

32例中、膝蓋骨低位群は10例(31.3%)、正常群は22例(68.8%)であった。平均膝屈曲角度は低位群が75度であり、正常群の105.7度に比べて有意に小さかった($p<0.05$)。平均ISOLS scoreは低位群が22.9点、正常群が24.6点であり有意差はなかった。膝蓋骨の亜脱臼位については、Merchant viewによる評価が可能であった23例で検討した。23例中5例(21.7%)に亜脱臼を認め、18例(78.3%)は非亜脱臼であった。亜脱臼群の平均膝屈曲角度は68度、非亜脱臼群では104.4度で、有意差はないものの脱臼群で屈曲角が小さい傾向があった。平均ISOLS scoreは亜脱臼群が21.6点、非亜脱臼群が25.7点であり有意差はなかった。また、年齢、骨切除長、関節包外・包内切除、インプラントの種類、膝蓋骨置換の有無についてISRや膝蓋骨亜脱臼との関連を解析

したが有意な関連性は認められなかった。

D. 考察

腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨に起因する合併症について、膝蓋骨低位、インピンジメント、脱臼、骨折などの合併症が63%に生じたと報告されている。また、膝蓋骨の合併症によって膝蓋骨再置換、再手術に至った例もあるとされている。

近年、悪性骨軟部腫瘍の長期生存が見込めるようになってきており、膝蓋骨に関連する長期的な合併症は看過できない問題点である。

膝蓋骨低位と膝屈曲角度については、低位群で有意に屈曲角が小さく、他の報告と同様に、本研究でも膝蓋骨低位例では、膝関節屈曲が制限されることが示された。膝蓋骨低位によって膝蓋大腿関節の不適合性、膝蓋骨と脛骨コンポーネントのインピンジメントをきたすことが屈曲制限の原因になると考えられる。腫瘍人工関節における膝蓋骨低位および亜脱臼は、腫瘍の切除に伴う膝蓋骨周囲の軟部組織欠損や血流低下に負うところが大きい。膝蓋骨の合併症予防のために切除範囲を小さくすることはできないが、適切な joint line でインプラントを設置することや術後リハビリテーションなどをできる範囲で行うことが重要となる。

E. 結論

腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨に起因する合併症について調査した。膝蓋骨低位と膝屈曲角度については、低位群で有意に屈曲角が小さく、他の報告と同様に、本研究でも膝蓋骨低位例では、膝関節屈曲が制限されることが示された。悪性骨軟部腫瘍の長期生存が見込めるようになってきた近年では、膝蓋骨に関連する長期的な合併症は看過できない問題点である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sasaki T, Hatano H, et al.:

Real-time polymerase chain reaction analysis of MDM2 and CDK4 expression using total RNA from core-needle biopsies is useful for diagnosing adipocytic tumors

BMC Cancer, 2014 4:468, 2014

Hatano H, et al.:

Malignant transformation of fibrous dysplasia: A case report

Oncology Letters, 8:384-386, 2014

Hatano H, et al.:

Osteosarcoma of the distal radius treated with segmental forearm resection, hand replantation, and subsequent limb lengthening: case report

J Hand Surg Am, 39:1155-1159, 2014

皇野宏史:

腫瘍用人工膝関節置換術後の膝蓋骨の位置異常と患肢機能

別冊整形外科, 65:214-217, 2014

2. 学会発表

Hatano H, et al.:

Late Patellar Complications of Distal Femoral Replacement after Bone Tumor Resection

2014 Musculoskeletal Tumor Society Annual Meeting (2014.10.10-11 Houston, USA)

Hatano H, et al.:

Additional Diagnostic Utility of *CDKN2A* mRNA Expression in Distinguishing Lipomas and Well-differentiated Liposarcomas: Comparison with *MDM2* and *CDK4* mRNA Expression

2014 Musculoskeletal Tumor Society Annual Meeting (2014.10.10-11 Houston, USA)

小林宏人, 皇野宏史, 他:

右前腕悪性リンパ腫上腕切断化学療法寛解 22 年後の異所再発

第 216 回新潟整形外科研究会 (2014.1.11 新潟)

生越章, 皇野宏史, 他:

骨関節手術における β リン酸 3 カルシウム移植術の臨床成績

第 87 回日本整形外科学会学術総会 (2014.5.22-25 神戸)

生越章, 皇野宏史, 他:

悪性末梢神経鞘腫瘍を発症した神経線維腫症 1 型症例における化学療法の効果と予後

第 87 回日本整形外科学会学術総会 (2014.5.22-25 神戸)

皇野宏史, 他:

小児の悪性骨腫瘍治療後の二次癌

第 87 回日本整形外科学会学術総会 (2014.5.22-25 神戸)

渡邊要, 皇野宏史, 他:
術前の整復操作で気付かれた 11 歳男児の大腿骨骨幹部病的骨折の 1 例
第 40 回日本骨折治療学会
(2014.6.27-28 熊本)

皇野宏史, 他:
脂肪腫と高分化型脂肪肉腫の鑑別診断における CDK4、MDM2 mRNA 発現の有用性と臨床所見との関連
第 47 回日本整形外科学会・骨軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

皇野宏史, 他:
小児骨・軟部肉腫治療後の二次癌および小児癌治療後の二次性骨・軟部肉腫
第 47 回日本整形外科学会・骨軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

有泉高志, 皇野宏史, 他:
整形外科が初回診断に関与した多発性骨髄腫の臨床的特徴
第 47 回日本整形外科学会・骨軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

有泉高志, 皇野宏史, 他:
ゲフィチニブ使用非小細胞肺癌例における骨転移の解析
第 47 回日本整形外科学会・骨軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

佐々木太郎, 皇野宏史, 他:
骨・軟部腫瘍における治療標的としての RANKL 関連分子の発現解析
第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2014.10.9-10 鹿児島)

生越章, 皇野宏史, 他:
胞巣状軟部肉腫にみられる免疫担当細胞の解析
第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2014.10.9-10 鹿児島)

生越章, 皇野宏史, 他:
高純度 β リン酸 3 カルシウム移植後の組織学的解析
再手術症例の検討
第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2014.10.9-10 鹿児島)

有泉高志, 皇野宏史, 他:
骨折遷延治癒例におけるリンパ管の発生
第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2014.10.9-10 鹿児島)

皇野宏史:
四肢以外発生の肉腫に対する診断と治療の実際
第 3 回新潟オンコロジーコミュニケーションミーティング (2014.9.26 新潟)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究

担当責任者 吉田 行弘 日本大学医学部整形外科 講師

研究要旨 非円形細胞肉腫に対する化学療法の有効性を確立するために、化学療法のプロトコールを作成し、世界的にも未だ確立していない標準的治療法を開発する目的で、多施設でその有効性を検討する。

A. 研究目的

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的化学療法のプロトコールの確立。

B. 研究方法

当施設および関連施設において経験する高悪性骨軟部腫瘍に対して、ADR、IFO、CDDPなどの化学療法を術前に行い、施行した化学療法の効果を日本整形外科学会の評価基準により評価し、さらに術後の切除標本より、その組織学的有効度を調査し、また長期的予後調査を行う。

（倫理面への配慮）

プロトコール要旨患者に配布し、承諾を得ている。

C. 研究結果

当施設において1994年から2014年までの間に経験した悪性軟部腫瘍のうち、平滑筋肉腫3例、脂肪肉腫2例、平滑筋肉腫3例、MFH3例、MPNST、横紋筋肉腫、血管上皮種、滑膜肉腫1例の計15例について上記の薬剤を使用したMAID療法を術前、術後に施行した。術前化学療法施行回数は1回から3回までであった。5例に術前放射線療法も追加した。術前化学療法施行の効果はそれぞれPR3例、PD1例、NC9例であった。切除標本は生存細胞が見られ、臨床的評価と同様であった。現在DOD5例、CDF9例であるが、長期的予後調査は経過観察期間が短いため評価は不可能である。さらに、滑膜肉腫3例、MFH2例の計5例の悪性軟部腫瘍に対しては、JCOG0304のプロトコールを使用した。滑膜肉腫の2例のみプロトコールを完了したが、他の2例は術前化学療法の段階で、患者の希望により断念し手術療法を行ない終了した。術前化学療法効果は、NC、PDがそれぞれ1例ずつPRは2例であった。3例は術後約6年であるが再発、転移はない。

D. 考察

高悪性度非円形細胞肉腫は一般にその頻度は少なく、一施設あたりの治療経験数はさきわめて少なく、現時点では各施設が各々のプロトコールに沿った化学療法を行い、成績が一定していない。今回のpilot studyにより、一定のプロトコールに沿った術前化学療法で多数例の解析を行うことにより、世界的標準の化学療法の指針が得られるものと考えられる。

E. 結論

ADRとIFOおよびCDPPは術前化学療法としての評価に値する有効な薬剤であり、今後のプロトコールに組み入れられるべき薬剤と考えた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kojima T, Yoshida Y, et al.:

Inhibition of human osteosarcoma cell migration and invasion by a gene silencer, pyrrole-imidazole polyamide, targeted at the human MMP9 NF- κ B binding site
Biol Pharm Bull, 37(9):1460-1465, 2014

Akita M, Yoshida Y, et al.:

Mitochondrial division inhibitor-1 induces mitochondrial hyperfusion and sensitizes human cancer cells to TRAIL-induced apoptosis
Int J Oncol, 45(5):1901-1912, 2014

Taniguchi M, Yoshida Y, et al.:

Inhibition of malignant phenotypes of human osteosarcoma cells by a gene silencer, a pyrrole-imidazole polyamide, which targets an E-box motif
FEBS Open Bio, 13;4:328-334, 2014

Osaka S, Yoshida Y, et al.:

Long-term outcome Following surgical treatment of
sacral chordoma

J Surg Oncol,109(3):184-188, 2014

2. 学会発表

吉田行弘, 他:

後腹膜腫瘍切除により右大腿神経切断を余儀なく
された患者の術後リハビリテーションについて
第 51 回日本リハビリテーション医学会学術集会
(2014.6.5-7 名古屋)

吉田行弘, 他:

体幹部を中心に発生した原発性悪性骨軟部腫瘍に
対する治療戦略
第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

吉田行弘, 他:

腫瘍型人工関節置換術の原因とその対策
第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

小島敏雄, 吉田行弘, 他:

Pazopanib 導入後 5 日目に両側気胸を発症した
undifferentiated pleomorphic sarcoma の一例
第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

吉田行弘:

骨軟部腫瘍領域の現況と未来
第 70 回柏市整形外科医会
(2015.1.23 千葉)

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

メトトレキサート大量療法（HDMTX）における排泄遅延に関する研究

担当責任者 横山 良平 国立病院機構九州がんセンター整形外科 医長

研究要旨 高悪性度骨肉腫および骨悪性線維性組織球腫に対して HDMTX 療法を行った 25 患者 180 コースのうち実際に 72 時間値の血中濃度計測できた 164 コース中 49 コースで排泄遅延が見られた。排泄遅延は、15 歳以下では $12\text{g}/\text{m}^2$ が投与された 48 コース中 12 コースであったのに対し、16 歳以上では $8\text{g}/\text{m}^2$ もしくはそれ以下の投与 76 コース中 25 コースに発生した。投与量は年齢を考慮した設定が必要であることが示唆された。

A. 研究目的

メトトレキサート大量療法（HDMTX）は高悪性度骨肉腫に対する化学療法の根幹をなすレジメンの一つである。この療法においては高い血中濃度を待つすみやかに体外へ排泄することが肝要である。特に排泄遅延は重篤な有害事象を引き起こすこと、その後の化学療法の遅延の原因にもなりうる。そこで HDMTX 時の MTX 排泄遅延の態様について明らかにすることを目的として研究を行った。

B. 研究方法

2002年より2010年までに九州がんセンターで高悪性度骨肉腫および骨悪性線維性組織球腫（平滑筋肉腫を含む）に対してHDMTX行った25患者について、年齢、投与量、腎機能、血中MTX濃度の最高値と安全域である $10^{-6}\text{mol}/\text{L}$ 未満になるまでに要した時間を後方視的に解析した。

C. 研究結果

25 患者の年齢は 10 歳から 59 歳、中央値 19 歳、平均 27 歳であった。投与量は $6.4\sim 12\text{g}/\text{m}^2$ で計 180 コースが投与され、投与開始 72 時間後の血中濃度をモニターできたのは 164 コースであった。血中濃度が $10^{-6}\text{mol}/\text{L}$ 未満になるのが 72 時間を超える排泄遅延は 49 コースに出現した。33 コースは 96 時間以内に安全域になったが、3 コース（3 患者）は 120 時間を超えて $10^{-6}\text{mol}/\text{L}$ 以上であった。

投与量は 15 歳以下では $12\text{g}/\text{m}^2$ 、16 歳以上は $8\text{g}/\text{m}^2$ で投与することが多かったが、排泄 $12\text{g}/\text{m}^2$ では 48 コース中 12 コース（25%）で排泄遅延を生じ、 $8\text{g}/\text{m}^2$ 以下の 76 コースでも 25 例（33%）に排泄遅延が発生した。

また 120 時間を超えて排泄遅延が続いた 3 例は年齢が 54、57、59 歳であった。57 歳の 1 例は血中

濃度が $10^{-6}\text{mol}/\text{L}$ 未満になるのに 288 時間を要し、その間に Grade 4 の好中球および血小板減少を来した。また、好中球減少に伴って敗血症を来し、エンドトキシンショックを合併して血液透析を行った。この患者のクレアチニンクリアランス（Ccr）は Cockcroft-Gault の計算式では $90\text{ml}/\text{min}$ 、実測で $60\text{ml}/\text{min}$ と低かったが、その他の患者では Ccr と排泄遅延に関連は見られなかった。

D. 考察

従来より小児では MTX の排泄が速いことが指摘され、15 歳を境に投与量を分けていたが、今回の解析でも 16 歳以上では投与量が少ないにも関わらず排泄遅延の頻度が高いことが確認された。MTX の投与前には Ccr による腎機能の評価が行われるが、Ccr と排泄遅延の間には明確な関連性はなかった。また、実測値と Cockcroft-Gault の計算式による値との間にはばらつきが大きく Ccr による腎機能の評価には注意が必要である。むしろ年齢、特に 50 歳以上では排泄遅延の頻度が高くなる傾向があり投与量の設定に注意が必要である。

現在実施中の骨肉腫に対する JCOG0905 プロトコールの対象は 40 歳以下となっており、この点では問題はないが、30 歳まで $12\text{g}/\text{m}^2$ を投与することになっており排泄遅延に警戒する必要がある。

E. 結論

HDMTX では年齢が上がるとともに排泄遅延の危険性が高くなるため、年齢を考慮した投与量設定が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

石黒晶子, 横山良平, 他:

脂肪腫における MDM2 遺伝子と CDK4 遺伝子発現
増幅レベルの検索

第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

横山良平, 他:

乳児線維肉腫治療における不完全切除の役割
症例報告および文献的考察

第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2014.7.17-18 大阪)

中川亮, 横山良平, 他:

骨髄浸潤を伴った骨膜性軟骨肉腫の 1 例

第 128 回西日本整形・災害外科学会学術集会
(2014.11.22-23 沖縄)

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

四肢以外に発生した肉腫に対する治療の現状と問題点に関する研究

担当責任者 高橋 満 静岡県立静岡がんセンター 副院長

研究要旨 四肢以外の肉腫は、発生部位により生存期間が異なるものの、術後無病期間は四肢発生より明らかに短い。とくに後腹膜や縦隔の巨大腫瘍では wide margin の確保が困難なため、手術単独では高率に早期の再発を生じる。これらの腫瘍に対しては、術前化学療法や放射線治療を含む補助治療を試みる事が重要である。

A. 研究目的

四肢の肉腫に対しては、整形外科の専門医が、ガイドラインに基づいてほぼ一定の治療方針で対応しているが、四肢以外に発生する肉腫は、稀な頻度ゆえ、専門医に限られる。このためこうした症例に遭遇した外科医は、自身の得意とする疾患の取り扱いに準じて治療するものの、手術、化学療法、放射線治療についての優先順位、タイミングは一定せず、組織型に応じた統一的な方針で治療されることも少ない。本研究の目的は、四肢以外に生じた肉腫に対する治療の現状と、問題点について明らかにすることである。

B. 研究対象

2002年9月～2012年8月の10年間の当院のがん登録症例40,715例のうち、病理登録システムから抽出された四肢以外の肉腫で、頭蓋、子宮内膜発生およびGIST, DFSPを除いた136例（0.3%）である。初期治療を他院で受けた症例が48例、非手術的に治療されたものが42例含まれた。整形外科が関わった症例は80例、担当科のみで治療されたものが56例であった。これらの治療結果について、後方視的に調査した。

（倫理面への配慮）

本研究には、個人を特定可能な情報は含まれない。また、個々の治療経過を提示することはない。

C. 研究結果

①発生部位の頻度：

胸腔・縦隔発生が35例で最多、後腹膜33例、頭頸部30例でほぼ同数、胸壁9例、子宮7例、腹腔6例、その他16例であった。初期治療の担当科は泌尿器科が28例、呼吸器外科18例、消化器外科17例、頭頸部外科14例、婦人科9例、呼吸器内科7例、その他33例で、当初から整形外科で治療開始

されたものは10例のみであった。

②組織型別の頻度：

非手術を含めた全症例では、MFH/UPS 23例、平滑筋肉腫22例、脂肪肉腫21例（脱分化型11例）、横紋筋肉腫15例、PNET 11例、滑膜肉腫7例、転移を有するSFT 6例、その他31例で、平滑筋肉腫とMFH、横紋筋肉腫、PNETの頻度が高かった。一方、手術症例ではMFH、横紋筋肉腫、PNETの比率が減少し、平滑筋肉腫、脱分化型脂肪肉腫のほか、滑膜肉腫、血管肉腫の割合が高かった。

③治療後の生存期間（OS）：

全136例の中央値は47ヶ月、3年OS 64.8%、5年OS 42.3%であった。手術を施行した86例では、全生存期間の中央値は51か月であったが、術後の無病期間(PFS)の中央値は14.5ヶ月、3年無病率28.5%で、再発後の生存期間は中央値29ヶ月であった。

④発生部位別生存期間：

頭頸部発生例は横紋筋肉腫が8例含まれ、3年OS 66.4%、5年OSが58.1%と良好であったが、手術施行例のPFSは中央値20ヶ月であった。

縦隔・肺発生例では全例のOS中央値は41ヶ月、術後のPFSは18ヶ月であった。

後腹膜症例では、OSの中央値は49ヶ月であったが、手術例のPFSは5ヶ月と短かった。

D. 考察

頭頸部では、横紋筋肉腫の頻度が高いのが特徴的で、生検診断がついて非手術例が多かった。一方、脂肪肉腫、平滑筋肉腫、滑膜肉腫では全例手術がされたが、初回手術後、短期間で再発を生じた。OSの高率が維持された理由としては、一度不十分手術を受けても再手術によりサルベージできた症例が多かった事があげられる。

胸腔・縦隔発生では、MFH、PNET、滑膜肉腫の頻度が高く、これらの手術症例は多くなかったが、

この部位の高悪性腫瘍に対する手術が行われると不十分切除となつて、早期に広範な胸膜播種を生じることが多かった。術前病理診断に基づく手術計画と、化学療法に対する反応が予後を規定することになる。

後腹膜に生じた肉腫では、脂肪肉腫の割合が高く、脱分化型脂肪肉腫を含めて全例が手術されていた。しかし、手術症例の術後 PFS 中央値は 5 か月で、きわめて短かった。後腹膜の巨大な肉腫に対しては、手術単独では腫瘍遺残を避けることができない。放射線や化学療法の追加が必要で、集学的治療の成否が重要な予後規定因子となる。

E. 結論

四肢以外の肉腫は、発生部位により生存期間が異なるものの、術後無病期間は四肢発生より明らかに短い。とくに後腹膜や縦隔の巨大腫瘍では wide margin の確保が困難なため、手術単独では高率に早期の再発を生じる。

これらの腫瘍に対しては、術前化学療法や放射線治療を含む補助治療を試みることが重要である。整形外科医を含む、肉腫治療専門家が参加したカンサーボードによる治療方針の決定がのぞまれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Katagiri H, Takahashi M, et al.:

New prognostic factors and scoring system for patients with skeletal metastasis

Cancer Med, 3(5):1359-1367, 2014

2. 学会発表

高橋満, 他:

四肢以外に発生した肉腫に対する治療の現状と問題点

第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2014.7.17-18 大阪)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

骨軟部腫瘍における病理診断の精度管理に関する研究

担当責任者 野島 孝之 金沢医科大学臨床病理学 教授

研究要旨 骨軟部腫瘍は病理診断に難渋することが多い。近年、免疫組織化学及び分子生物学の技術的進歩により、骨軟部腫瘍の解析が飛躍的に進んでいる。髄膜発生の孤立性線維性腫瘍（solitary fibrous tumor, SFT）は従来髄膜血管周皮腫とよばれ、比較的小となし組織像と頭蓋内腫瘍であるにも関わらず、長期の臨床経過で骨などに遠隔転移を来たすことが知られている。今回、骨をはじめとする遠隔臓器に転移を来たした3例の髄膜 SFT について、CD34、STAT6、NAB2 を免疫組織学的に検討、また、*NAB2-STAT6* のキメラ遺伝子を RT-PCR 法により解析した。その結果、免疫組織学的には STAT6 が SFT の鑑別診断に有効であり、また、*NAB2-STAT6* のキメラ遺伝子産物が髄膜原発腫瘍および転移巣においても確認され、NAB2 の exon 6 と STAT6 の exon 17 が切断部であった。これらの切断点は臨床的な侵襲性 SFT として報告されている症例の切断部に一致しており、原発腫瘍の *NAB2-STAT6* 解析が臨床的予後を検討する上で重要であることを示唆していた。

A. 研究目的

骨軟部腫瘍の病理学的組織診断は、腫瘍の種類が多く、組織分類が多岐にわたり、複雑で、発生頻度が比較的低く、病理医が熟達することが難しい、また、その補助手技として、免疫組織化学の結果をどのように診断にむすびつけてよいのか判断に悩むことも多い。一方、骨軟部腫瘍の遺伝子解析では、異なる2つの遺伝子が部分的に結合し、正常とは異なる DNA 配列により異常な蛋白を産生し、腫瘍が発生する転座型の遺伝子異常が多く報告されている。骨軟部腫瘍における免疫組織化学による特異的な抗原や遺伝子異常の検出は、組織診断への応用を可能にするものである。しかし、特異的な抗体や遺伝子異常が確認されていない腫瘍も多い。がんの臨床研究を行うに当たって、正確な病理組織診断、悪性度の客観的な標準化は標準治療を確立するために欠かせない重要な基盤である。

B. 研究方法

SFTは線維芽細胞への分化を示す紡錘形腫瘍で、血管周皮腫様の線維血管組織に富む増殖様式を示す。血管周皮腫様の血管構造はSFT以外の多数の良性・悪性骨軟部腫瘍に出現し、血管線維腫、筋線維芽細胞腫、紡錘形脂肪腫、滑膜肉腫、Ewing肉腫、GISTなどとの鑑別に苦慮する。近年、SFTに染色体12q13逆位による特異なキメラ遺伝子*NAB2-STAT6*の存在が報告された。また、髄膜に発生する血管周

皮腫はSFTに極めて類似した組織像を示すが、免疫染色で多くのSFTが陽性となるCD34の発現は髄膜血管周皮腫では少ない。2013年のWHO分類では、髄膜血管周皮腫にも*NAB2-STAT6*の存在が確認され、髄膜血管周皮腫は髄膜発生のSFTであるとの見解となった。髄膜SFTは頭蓋内の発生であるが、術後の長期経過観察で、全身に遠隔転移が知られている。骨軟部腫瘍の組織像を検討した結果、髄膜SFTの遠隔転移であった3例を経験したので、免疫組織学的にCD34、STAT6、NAB2の発現、2例に*NAB2-STAT6*キメラ遺伝子の解析を行なった。

C. 研究結果

3例は脳腫瘍の既往歴があり、髄膜腫あるいは髄膜血管周皮腫と病理診断されていた。脳腫瘍の術後8年～13年後に、骨転移と、あるいは、肺や腎、後腹膜に転移を認めた。組織学的には3例とも転移巣は血管周皮腫様配列を示し、1例は壊死巣、分裂像も多く、明らかに悪性SFTであったが、他2例は核異型、多形性に乏しく低悪性度の腫瘍であった。原発巣、転移巣の免疫組織学的検討では、CD34は1例が陽性、2例は陰性で、STAT6は3例とも核に陽性を示した。NAB2の免疫染色は検討した2例の核に陽性所見を得たが、背景の正常組織の核も陽性であった。2例に原発巣、転移巣のRT-PCR法による*NAB2-STAT6*の解析を行なったところ、2例とも原発巣、転移巣に*NAB2-STAT6*のキ

メラ遺伝子産物を認め、2例とも切断部は NAB2 の exon 6 と STAT6 の exon 17 であった。

D. 考察

SFT の *NAB2-STAT6* のキメラ遺伝子は多数の多型があり、Barthelme S らの報告 (Am J Pathol, 2014, 184:1209-1218) では NAB2 の exon 4 と STAT6 の exon 2/3 が最も多く、NAB2 の exon 6 と STAT6 の exon 17/18 では臨床経過がより侵襲性であると述べている。髄膜 SFT の原発巣、転移巣を併せて *NAB2-STAT6* キメラ遺伝子解析を行った報告は未だない。NAB2 の免疫染色は SFT の核に陽性所見を得るが、正常組織やその他の腫瘍の核にも陽性となり、SFT の診断に有効な NAB2 の新たな抗体の開発が必要と思われる。

E. 結論

髄膜血管周皮腫は SFT 同様の STAT6 の発現と *NAB2-STAT6* のキメラ遺伝子産物があり、SFT と同一腫瘍であることを確認した。免疫組織学的に、SFT の確定診断には CD34 よりも STAT6 が極めて感度が高く、有効である。また、髄膜 SFT の初回手術時の *NAB2-STAT6* キメラ遺伝子の解析が臨床的予後の推測に有用となる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki H, Nojima T, et al.:

A case of pure sclerosing epithelioid fibrosarcoma with a cytogenetic and fluorescence in situ hybridization study

Pathol Int, 65:48-50, 2015

Nakada S, Nojima T, et al.:

NAB2-STAT6 fusion gene analysis in two cases of meningeal solitary fibrous tumor /hemangiopericytoma with late distant metastases

Brain Tumor Pathol, in press 2015

2. 学会発表

黒瀬望, 野島孝之, 他:

横紋筋肉腫成分を伴った精巣原発混合性胚細胞性腫瘍の1例

第103回日本病理学会総会 (2014.4.24-26 広島)

福島万奈, 野島孝之, 他:

腫瘍性骨軟化症における間葉系マーカーの発現
第103回日本病理学会総会 (2014.4.24-26 広島)

中田聡子, 野島孝之, 他:

神経線維腫症1型患者に発生した毛様細胞性星細胞腫の1例

第103回日本病理学会総会 (2014.4.24-26 広島)

桑島由佳, 野島孝之, 他:

診断に苦慮している悪性消化管間葉腫瘍の剖検例
第103回日本病理学会総会 (2014.4.24-26 広島)

藤井愛, 野島孝之, 他:

Arthrogryposis-Renal dysfunction-Cholestasis (ARC) 症候群の1剖検例

第103回日本病理学会総会 (2014.4.24-26 広島)

中田聡子, 野島孝之, 他:

神経線維腫症1型の成人に発生した粘液性領域の目立つ pilocytic astrocytoma の1例

第32回日本脳腫瘍病理学会

(2014.5.23-24 徳島)

桑原強, 野島孝之, 他:

仙尾部悪性奇形腫の治療30年後に発症した子宮付属器関連癌の1例

第40回北陸小児癌症例検討会 (2014.9.13 金沢)

野島孝之:

骨軟部腫瘍の新 WHO 分類。骨形成性腫瘍のトピックス

2014年 IAP 病理学教育セミナー・教育シンポジウム (2014.11.22 沖縄)

中田聡子, 野島孝之, 他:

子宮体部 solitary fibrous tumor の1例

第74回日本病理学会中部支部交見会

(2014.12.20 名古屋)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

非円形細胞悪性軟部腫瘍における AKT/mTOR シグナル経路の治療標的としての可能性に関する研究

担当責任者 小田 義直 九州大学大学院医学研究院形態機能病理 教授

研究要旨 非円形細胞悪性軟部腫瘍である粘液線維肉腫および隆起性皮膚線維肉腫における Akt/mTOR pathway と予後を含めた臨床病理学的因子との比較を行った。粘液線維肉腫 75 例において高率に Akt/mTOR pathway の因子である Akt, mTOR, S6, 4E-BP1 の活性化が認められ、これらの活性化は組織学的悪性度である FNCLCC grade と相関していた。Akt/mTOR pathway と MAP kinase pathway の相関を示唆する結果も得られた。隆起性皮膚線維肉腫においては純粋な隆起性線維肉腫成分に比較して悪性度の高い線維肉腫成分において Akt/mTOR pathway の活性化がより効率に認められた。線維肉腫における Akt/mTOR pathway の活性化に PDGFRB 発現は強く関与していなかった。以上より Akt/mTOR pathway は粘液線維肉腫と隆起性皮膚線維肉腫の双方において治療標的となりうることが示唆された。

A. 研究目的

軟部悪性腫瘍はまれな腫瘍であるが、その中でも悪性円形細胞の形態を有する腫瘍（Ewing 肉腫、横紋筋肉腫）ではキメラ遺伝子などの分子生物学的な病態の解明が進み、化学療法などを組み合わせた集学的治療で好成績をあげている。しかし、平滑筋肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、滑膜肉腫、孤立性線維性腫瘍、隆起性皮膚線維肉腫、悪性線維性組織球腫、脂肪肉腫、線維肉腫、類上皮肉腫などの非円形細胞悪性軟部腫瘍においては、発生機序の解明や有効な治療法の確立は未だ進んでおらず、外科的切除が行われているものの一旦再発・転移を来した場合は有効な薬物療法がなく依然予後不良である。これまでに非円形細胞悪性軟部腫瘍である平滑筋肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍、滑膜肉腫および孤立性線維性腫瘍における主なシグナル伝達系経路である AKT-mTOR pathway での分子発現を系統的、網羅的に検索を行い病態への関与を調査し、AKT-mTOR pathway が治療標的となりうることを報告した。今回、粘液線維肉腫と隆起性皮膚線維肉腫における AKT-mTOR pathway の分子発現、病態への関与を調査し、治療標的としての可能性について検討を行う。

B. 研究方法

1) 粘液線維肉腫:75 例(原発例)および 22 例(再発例)について、Akt, mTOR, S6RP, 4EBP1, MEK のリン酸化型のタンパクの発現と臨床病理学的因子との相関を評価し、それぞれの蛋白同士についても発現を比較検討した。蛋白発現についての評価は免疫組織

化学染色で陽性細胞が 10%以上ある場合を発現陽性例とした。さらに凍結標本を用いて Western blot を行い、リン酸化蛋白発現を確認した。原発例 10 例については凍結標本を用い、AKT1 とその上流の PIK3CA における mutation の有無を確認した。

2) 隆起性皮膚線維肉腫(DFSP)54 例、DFSP に線維肉腫(FS)成分を伴う例（以下 DFSP+FS）24 例、表在性 FS 4 例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて、リン酸化 AKT、リン酸化 mTOR、リン酸化 S6RP、リン酸化 4E-BP1 の免疫染色およびウエスタンブロットを行った。さらにこの腫瘍に特異的な融合遺伝子 COL1A1-PDGFB によって活性化されているとされるリン酸化 PDGFRB について同様の検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は九州大学医学研究院倫理委員会にて承認され、個人情報情報を削除した臨床病理データとの比較を解析した後ろ向き研究であり、研究による患者への不利益は発生しないと考えられる。患者の個人情報保護の徹底に努めた。

C. 研究結果

1) 粘液線維肉腫：原発例では Akt, mTOR, S6RP, 4EBP1 のリン酸化は 65%、45%、41%、66%の症例に認め、再発例についても 66%、71%、47%、38%に見られ、原発例、再発例ともに高い陽性率を示し、Akt-mTOR pathway の活性化を確認できた。さらに凍結標本を用いて Western blot を行い、リン酸化蛋

白発現を確認した。Akt と mTOR については、リン酸化発現例について比較検討したところ、有意な ($p=0.012$) 相関が得られた。Pathway 全体が発現している症例は 12 例(16%)であった。悪性度については FNCLCC で high grade な腫瘍と pmTOR の発現に相関を認めた($p=0.011$)。MAP kinase(MEK) pathway においては、MEK のリン酸化は 64% の症例で見られ、S6RP との有意な相関($P=0.032$)を認めた。これによって、Akt-mTOR 系の下流である S6RP の発現は MAP kinase との関連も示唆された。原発例(凍結材料)で、Akt (AKT1)とその上流にある PIK3(PIK3CA) の mutation を確認したが、いずれも mutation は認めなかった。

2) 免疫染色結果では DFSP54 例において、リン酸化 AKT 44.4%、リン酸化 mTOR 31.5%、リン酸化 4E-BP1 57.4%、リン酸化 S6RP 44.4%、リン酸化 PDGFRB 50%の陽性率であった。また DFSP+FS 24 例の DFSP 領域においては、リン酸化 AKT 45.8%、リン酸化 mTOR 33.3%、リン酸化 4E-BP1 50%、リン酸化 S6RP 33.3%、リン酸化 PDGFRB 58.3%の陽性率であり DFSP 単独と同様の結果であった。また、DFSP+FS 24 例の FS 領域においては、リン酸化 AKT 70.8%、リン酸化 mTOR 54.2%、リン酸化 4E-BP1 75%、リン酸化 S6RP 41.7%、リン酸化 PDGFRB 66.7%の陽性率であり、表在性 FS 4 例はいずれの染色結果も 100%陽性であり、DFSP 単独例より陽性率が高かった。また、腫瘍組織凍結標本を用いたウエスタンブロットの結果は免疫染色の結果と概ね一致した。免疫染色結果の統計解析を行い、DFSP 例では AKT-mTOR 系の各因子 (AKT, mTOR, S6RP, 4E-BP1), PDGFRB 間には、正の相関を認めた。DFSP においては AKT-mTOR 系は 3 から 6 割弱の症例で、PDGFRB は 5 割程度の症例で活性化していることが示唆された。DFSP と DFSP に発生した FS には AKT-mTOR 系と PDGFRB の活性化に差があることが明らかとなった。

D. 考察

粘液線維肉腫において原発巣、再発巣ともに Akt-mTOR pathway、MAP kinase(MEK) pathway の活性化が見られ、それぞれの蛋白発現に相関を認め、分子標的治療のターゲットになる可能性が示唆された。また腫瘍の悪性度と Akt/mTOR pathway の活性化との関連が示唆された。DFSP では、PDGFRB および AKT-mTOR 系の一連のシグナル伝達によってカスケード的に活性化されることが裏付けられた。また、DFSP から FS への悪性転化に PDGFRB

および AKT-mTOR 系の活性化が関与していることが予想され、mTOR 阻害薬の有効性が示唆された。

E. 結論

粘液線維肉腫において Akt/mTOR pathway は高率に活性化しておりこの pathway の活性化は予後不良因子である組織学的悪性度と相関することより治療標的となり得ることが示唆された。隆起性皮膚線維肉腫においても Akt/mTOR pathway が活性化しており、その活性化は進展した線維肉腫成分でより高率に認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Dobashi Y, Oda Y, et al.:

Significance of Akt activation and AKT gene increases in bone and soft tissue tumors
Hum Pathol, 45(1):127-136, 2014

Yamamoto H, Oda Y, et al.:

Insulin-like growth factor II mRNA-binding protein-3 (IMP3) expression in gastrointestinal mesenchymal tumors
Hum Pathol 45(3): 481-487, 2014

Kohashi K, Oda Y, et al.:

Differential microRNA expression profiles between malignant rhabdoid tumor and epithelioid sarcoma: miR193a-5p is suggested to downregulate SMARCB1 mRNA expression
Mod Pathol, 27(6):832-839, 2014

Yamada Y, Oda Y, et al.:

Activation of Akt-mTOR pathway and receptor tyrosin kinase in solitary fibrous tumors
Cancer, 120(6):864-876, 2014

Takahashi Y, Oda Y, et al.:

Activation of the Akt/mammalian target of rapamycin pathway in myxofibrosarcomas
Hum Pathol, 45(5):984-993, 2014

Miyoshi K, Oda Y, et al.:

Close correlation between CXCR4 and VEGF expression and frequent CXCR7 expression in rhabdomyosarcoma
Hum Pathol, 45(9):1900-1909, 2014