

別添 3

I. 総括研究報告書

腹腔外発生デスマイド型線維腫症患者の診断基準、重症度分類および診療ガイドライン確立に向けた研究

研究代表者

西田佳弘 名古屋大学大学院医学系研究科整形外科 准教授

研究要旨

腹腔外発生デスマイド型線維腫症の診療ガイドラインを策定するには、発症原因であるβ-カテニンの診断・治療において有する役割を明らかにする必要がある、β-カテニン免疫染色の診断における意義、活動性予測における非リン酸化β-カテニン免疫染色の有用性を明らかにした。難病であるため明確な診断基準と重症度分類が必要であり、本研究班で作成した原案を元に日本整形外科学会で承認された。また診療アルゴリズムについては日本整形外科学会ホームページ、広報ニュースを通じて広く発信できた。また最終目的である診療ガイドライン策定については Minds、図書館協会、日本整形外科学会の協力により 11 項目のクリニカルクエスチョンに関して文献検索・評価と統合を行い、推奨文とその強さの設定まで達成した。

研究分担者

川井 章 国立がん研究センター中央病院希少がんセンター センター長
戸口田淳也 京都大学ウイルス・再生医科学研究所 教授
生越 章 新潟大学・医歯学総合病院魚沼地域医療教育センター 特任教授
國定俊之 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授
松本嘉寛 九州大学大学院医学研究院 准教授
阿江啓介 公益財団法人がん研究会有明病院整形外科 部長
平川晃弘 東京大学大学院医学系研究科 生物統計情報学講座 特任准教授

研究協力者

上田孝文 国立病院機構大阪医療センター整形外科 部長
江森誠人 札幌医科大学整形外科 講師
遠藤 誠 九州大学大学院医学研究院 助教
川島寛之 新潟大学大学院医歯学総合研究科整形外科 講師
岡本 健 京都大学臨床研究総合センター 准教授

鬼頭宗久 信州大学医学部附属病院整形外科 助教
五木田茶舞 埼玉県立がんセンター 整形外科長
小林英介 国立がん研究センター中央病院 医長
小林 寛 東京大学大学院医学系研究科 整形外科 助教
濱田健一郎 大阪大学大学院医学系研究科 整形外科 助教
藤原智洋 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 助教
松延知哉 九州労災病院整形外科 骨軟部腫瘍外科部長
山口直比古 聖隷佐倉市民病院 日本医学図書館協会
吉田雅博 国際医療福祉大学臨床医学研究センター 教授、日本医療機能評価機構医療情報サービス事業部 (M i n d s) 部長 兼任
浜田俊介 名古屋大学医学部附属病院整形外科 医員
酒井智久 名古屋大学大学院医学系研究科整形外科 大学院
小池 宏 名古屋大学大学院医学系研究科整形外科 大学院
清水光樹 名古屋大学大学院医学系研究科整形外科 大学院

A. 研究目的

デスマイド型線維腫症、特に腹腔外発生デスマイドは生命を脅かすことがほとんどない良性腫瘍である。しかし悪性腫瘍よりもきわめて高い術後再発率を示し、手術の有無にかかわらず甚大な機能障害を引き起こす。稀少疾患であり、効果的な治療法が未確立であり、かつ多科の医師によって診療されることが多いため不適切な診療が実施され、QOL の低下をきたす患者が多い。β-カテニン遺伝子 (CTNNB1) 変異は発症原因として報告されているだけでなく、治療成績にも関連していることが示唆されている。本研究ではデスマイド型線維腫症診療におけるβ-カテニン免疫染色、遺伝子変異型決定の果たす意義を明らかにし、デスマイド型線維腫症に対する診断基準・重症度分類の策定、診療アルゴリズムの作成、診断・治療ガイドラインの確立を目的とする。

B. 研究方法

(1) デスマイド型線維腫症におけるβ-カテニン免疫染色の意義解析：研究代表・分担施設より臨床病理学的にデスマイドと診断のついた検体(プレパラート)を集積し、β-カテニン免疫染色を実施し、診断に有用と言われている核内陽性染色率を明らかにする。抗体の種類によって陽性率が異なることが予想されるため2種類の異なった抗体を使用してβ-カテニンの核内および細胞質の染色性を absent (0%), weak (1% to 9%), moderate (10% to 50%), or strong (51% to 100%) の4段階で評価し、陽性率を検討する。また核内陽性率と細胞質陽性率についても調査する。各種臨床因子・CTNNB1 変異型とβ-カテニン免疫染色との関連を統計学的に解析する。

(2) 非リン酸化β-カテニン免疫染色の有用性に関する解析：デスマイドにおいてはβ-カテ

ニンのリン酸化が起きないと、APC 複合体による分解ができず、 β -カテニンの核内集積が起こるとされている。したがって、非リン酸化 β -カテニンの染色性解析により、デスマイドの活動性を推測できると仮説をたて、研究代表者施設において、腹腔外発生デスマイド型線維腫症と病理診断され、COX-2 阻害剤治療を実施した 40 例（セレコキシブ 2 例、メロキシカム 38 例）を対象として、 β -カテニンおよび非リン酸化 β -カテニン抗ヒトモノクローナル抗体を用いて免疫染色を実施した。染色性は核内と細胞質に分けて実施し、陽性度により Strong, Moderate, Weak, Negative の 4 群に分類した。全例凍結腫瘍検体あるいはプレパラート検体を使用して CTNNB1 変異解析を行った。染色性と各種臨床成績、CTNNB1 変異型との関連を調査した。

(3) 研究代表者で診断基準および重症度分類の原案を作成する。班会議開催時あるいはメール審議により、研究代表者、分担者間で内容を吟味する。本研究班全体の原案に対して外部病理医にコンサルトを行う。それらの結果を踏まえて作成した案を日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会に提出し、委員による評価を受ける。適宜修正を図り、最終的には日本整形外科学会の理事会により承認を受ける。

(4) 平成 28 年度に腹腔外発生デスマイド型線維腫症の診療アルゴリズムを作成し、日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会、理事会で検討、承認を受けた。その内容を日本整形外科学会および市民公開講座により、診療を担当する医師、患者に広く発信する。

(5) 診療ガイドラインの策定：平成 28 年度に抽出したデスマイド診療における重要臨床課題にもとづき、クリニカルクエスチョンを決定する。また、各クリニカルクエスチョンに対してシステマティックレビュー(SR)を実施するために日本整形外科学会を通して SR 委員を新規選定する。文献検索は図書館協会に依頼し、文献の評価と統合、推奨文の作成を SR 委員と本班研究班員の協力によって実施する。難病情報センターホームページへの掲載、NPO 法人鶴舞骨軟部腫瘍研究会－患者会 SNS を通した患者への情報発信を図る。

(倫理面への配慮)

患者の各種臨床因子・治療成績に関わる調査、 β カテニン免疫染色解析については個人情報取り扱いに十分注意し、臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日全部改正）に準じ、遺伝子変異型解析についてはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 20 年 12 月 1 日一部改正）に準じ、名古屋大学医学系研究科倫理委員会の承認および研究参加者の書面での同意を得た上で行った。また、研究分担施設での倫理委員会の承認を得た上で行った。

C. 研究結果

(1) 研究代表・分担施設よりデスマイドと診断された 113 症例を集積し、 β -カテニン免疫染色を実施した。94 例(83%)で核内陽性所見が得られ、45F 遺伝子変異において強い陽性像を認めた。細胞質染色は 45F、41A において wild type より強い陽性所見を認めた。CTNNB1

変異解析で hot spot に変異を認めた 54 例中、5 例(10.2%)では核内陰性所見であった。抗体の種類を変えて実施した場合、デスマイドにおける核内陰性率はより高くなった(30%)。核内染色性と各種臨床因子との間に有意な関連を認めなかった。CTNNB1 変異型と染色性の関連については、S45F 型で核内陽性が強く ($P < 0.01$)、細胞質染色性については T41A と S45F が wild type と比較して有意に強く染まった ($P < 0.01$)。

(2) 研究代表施設で前向きにメロキシカム治療を実施したデスマイド 40 例を対象とした。男性 16 例、女性 24 例、平均年齢は 41.7 歳 (中央値 36 歳、10-87 歳)、発生部位は腹壁 10 例、他の体幹部 11 例、四肢 15 例、頸部 4 例であった。腫瘍の最大径の平均は 7.6cm、平均経過観察期間は 29.6 ヶ月 (2-104 ヶ月)、メロキシカムの RECIST による治療効果判定は、CR(complete remission)1 例、PR(partial remission)12 例、SD(stable disease)7 例、20 例が PD(progressive disease)であった。染色性を 2 群に分けると(negative and weak vs moderate and strong)、非リン酸化 β -カテニンの核内染色性と COX-2 阻害剤の臨床成績との間に有意な関連を認め ($P=0.022$)、 β -カテニンの核内染色性との間には有意な関連を認めなかった ($P=0.38$)。非リン酸化 β カテニン染色による核内陽性像は、CTNNB1 変異解析による hot spot 陽性症例で有意に多く認められた。非リン酸化 β -カテニンの染色性と臨床因子との関連解析では、年齢が若いほど染色性が強く ($P=0.013$)、サイズが大きいほど染色性が強い傾向があった ($P=0.081$)。

(3) 診断基準として通常の病理学的診断と CTNNB1 あるいは APC 遺伝子変異特定による診断項目を設けた。重症度分類は機能障害と痛みを中心に軽症・中等症・重症に分類し、研究代表者が原案を作成、研究分担者からの意見を参考に訂正した。分担者からは「重症度に関しては、判定する医師でのバラつきをできるだけ出ないようにした方が良い。削除している文章に身障者等級に関する文があるが、これも併記してはどうか。もしくは参考文献として欄外に記載するなど。中等度が 5 級相当からという点は賛成。」などの意見が出た。これに外部の病理医にコンサルトして修正した案を日整会骨軟部腫瘍委員会に提出して意見を受けた。委員からは「診断項目の 2 がやはり気になる。「デスマイドに特異的な β カテニン遺伝子 (エクソン 3 のコドン 41 あるいは 45 にホットスポットを有する)・APC 遺伝子変異を確認」というのは国際的にも充分受け入れられる診断項目か?もし、受け入れられる項目であったとしても、この遺伝子検査が精密に行うことのできる施設はあるか?」などの意見があり、適宜修正した後に理事会へ提出し、承認された。

(4) 作成・承認された腹腔外発生デスマイド型線維腫症の診療アルゴリズムを日本整形外科学会広報室ニュース第 109 号 (平成 29 年 4 月 15 日発行) に掲載し、日本整形外科学会委員に広く情報を発信した。また、平成 29 年 7 月 1 日に第 6 回 骨軟部腫瘍 市民公開講座を名古屋市ウインクあいちにて「神経線維腫症 1 型とデスマイド型線維腫症」のタイトルで開催し、研究代表者が「腹腔外デスマイド型線維腫症の診療アルゴリズム」の講演名で、作成したアルゴリズムの説明を、デスマイド患者・家族向けに行った。

(5) クリニカルクエスチョンを 11 項目作成した。本研究班員をガイドライン策定委員とし、

SR 委員と協力して図書館協会によって抽出された文献の 1 次・2 次スクリーニングを実施し、最終的に絞った論文について評価と統合、推奨文の作成と推奨度の決定を全員の投票によって行った。

CQ1. デスマイドの診断には β カテニン遺伝子変異解析が有用か

7 文献に関して文献の評価と統合を行い、推奨文は、デスマイド型線維腫症の診断に CTNNB1 変異解析を行うことを弱く推奨する、とした。

CQ2. COX-2 阻害剤治療は無治療と比較して有効か

5 論文に関して論文の評価と統合を行い、推奨文は、デスマイド型線維腫症患者治療に COX-2 阻害剤の使用することを弱く推奨する、とした。

CQ3. 腫瘍が増大しない場合に薬物治療を中止してよいか

12 論文に関して評価と統合を実施し、薬物治療により腫瘍が SD になった場合、各種治療による SD 継続期間を考慮した上で治療を中止することを弱く推奨する、とした。

CQ4. 手術治療は有用か

10 論文に関して評価と統合を実施し、デスマイド型線維腫症の存在で困っている患者に手術治療を行うことを弱く推奨する、とした。

CQ5. 手術では広範切除が辺縁切除と比較して推奨されるか

7 論文に関して評価と統合を実施し、推奨文は、デスマイド型線維腫症の手術では辺縁切除が弱く推奨される、とした。

CQ6. 放射線治療は有用か

7 論文に関して評価と統合を実施し、推奨文は、デスマイド型線維腫症に対して無治療経過観察、手術や薬物治療実施が不適切な場合、放射線治療を行うことを弱く推奨される、とした。

CQ7. 発生部位は手術の治療成績の予後規定因子となるか

10 論文に関して評価を行い、推奨文は、手術を実施する場合、発生部位と再発率に関連があることを踏まえて行うことを弱く推奨する、とした。

CQ8. 発生部位は薬物治療成績の予後規定因子となるか

8 論文に関して評価を行い、推奨文は、薬物療法の効果に関して発生部位を考慮しないで実施することを弱く推奨する、とした。

CQ9. 低用量 MTX+VBL 抗がん剤治療は有用か

9 論文に関して評価を行い、症例を選べば MTX+VBL 療法は行うことを弱く推奨する、とした。

CQ10. DOX を中心とした抗がん剤治療は有用か

6 論文に関して評価を行い、他の治療に抵抗性のデスマイド型線維腫症に対して DOX を中心とした化学療法を行うことを弱く推奨する、とした。

CQ11. 分子標的薬は有用か

10 論文に関して評価を行い、推奨文は、難治性デスマイド型線維腫症患者に分子標的治療薬を投与することを弱く推奨する、とした。

D. 考察

デスマイド型線維腫症の病理診断では、通常の顕微鏡学的所見に加えて β -カテニン免疫染色による核内への陽性染色性が重要な確定診断の所見と考えられている。核内の陽性染色がないことでデスマイドとは診断できないとの病理診断レポートを記載する病理医が散見される。今回の結果で β -カテニン免疫染色はデスマイド診断において偽陰性である症例が少なからずあることが明らかとなった。また抗体によっても陽性率が異なることが判明した。逆に β -カテニン染色によって陽性が得られる他の腫瘍として孤立性線維性腫瘍、子宮内膜間質肉腫、滑膜肉腫、線維肉腫、明細胞肉腫が報告されている。Amary らはデスマイド型線維腫症に対する β -カテニン免疫染色は全例に陽性であったが類似疾患でも 72%に陽性であり、特異性は高くないことを報告している (Am J Surg Pathol 2007)。デスマイド診断においては β -カテニン免疫染色は補助的役割であり、今後 CTNNB1 変異解析など、より診断を確定できる手法を使用する必要性があると考えられた。

非リン酸化 β -カテニン免疫染色がより臨床像を反映することが示唆された。デスマイド型線維腫症の発症に β -カテニンの遺伝子 (CTNNB1) 変異が関与していることが報告されている。特に CTNNB1 の変異により β -カテニンのリン酸化が阻害されると、その分解も阻害され、 β -カテニンが安定化して核内に集積し、TCF/LEF と結合体を形成して、標的遺伝子を活性化する。この活性化がデスマイド型線維腫症でも腫瘍形成、増殖、進展に関与していると考えられている。したがって単なる β -カテニンを染色する抗体よりも、安定化した β -カテニンを反映する非リン酸化 β -カテニンを認識する抗体を用いた方がデスマイドの病態を反映すると予測される。本研究結果により、非リン酸化 β -カテニン抗体による免疫染色が、COX-2 阻害剤の効果の有用な予測因子になることが明らかとなり、また CTNNB1 の変異型とも関連することが判明し、腫瘍が活動的であるかの判断基準として有用であることが示唆された。

欧米ではデスマイドが疑われる症例は全例 CTNNB1 の変異解析を実施している施設があり、特に軟部腫瘍を診療する専門センターでは実施されていることが多い。本邦では実施している施設は限られているため、遺伝子解析の項目を診断基準に入れることに関しては意見が分かれた。しかし現在のゲノム医療の発展を考えた場合、今後診療に取り入れられるのは確実と考えられ、診断基準に採用した。四肢発生や主要神経に近接して発生した場合などは重篤な機能障害の原因となることが多い。患者間で症状に大きな違いがあるため、重症度分類を確立することは、治療方針の決定には非常に重要である。また難病行政におけるデスマイドの今後を考えた場合にも重症度の違いを明確にしておくことは有意義であると考えられた。

平成 28 年度に作成、日本整形外科学会で承認された診療アルゴリズムの内容を知ってもらう必要がある。平成 29 年度に日本整形外科学会広報室ニュースと市民公開講座にて情報の発信を試みた。今後、研究代表者の運営する NPO 法人鶴舞骨軟部腫瘍研究会ホームページ

等を通して、アルゴリズムの内容を周知していく必要がある。

デスモイド型線維腫症は希少疾患であるため、エビデンスレベルの高い論文がほとんどなく、治療薬については保険適用となっていない。また発生部位が多彩であることから症例ごとに治療方針が異なることが多い。しかし、希少疾患に対して一定のガイドラインを患者・家族・診療担当医に示すことには大きな意義がある。今回の推奨文により、希少疾患診療に不慣れな医師や情報が不足している患者・家族に対して有用な情報を提供できると考えられた。

E. 結論

デスモイド型線維腫症に対する診療アルゴリズム、診断基準・重症度分類作成について達成できた。診療ガイドラインについても推奨文作成、推奨の強さまで決定できた。

F. 健康危険情報

研究代表者の施設においても、研究分担者の施設においても、特記事項はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1)Tomohisa Sakai, Yoshihiro Nishida, Shunsuke Hamada, Hiroshi Koike, Kunihiro Ikuta, Takehiro Ota, Naoki Ishiguro.

Immunohistochemical staining with non-phospho b-catenin as diagnostic and prognostic tool of COX-2 inhibitor therapy for patients with extra-peritoneal desmoid-type fibromatosis.

Diagn Pthol. 2017; 12 (1): 66

2. 学会発表

(1)Yoshihiro Nishida.

Introductory Lecture: Multidisciplinary approach to desmoid-type fibromatosis
19th International Society of Limb Salvage General Meeting
Kanazawa (Japan) 2017. 5. 10-12 (Day2)

(2)西田佳弘, 浦川浩, 新井英介, 生田国大, 浜田俊介, 酒井智久, 石黒直樹
デスモイド型線維腫症患者に対する前向き R1 切除の臨床成績
第 50 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 2017. 7. 13-14 (Day1) 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし