

別添 4 (1)

II. 代表・分担研究報告書

1. 腹腔外発生デスモイド型線維腫症診断における β -カテニン免疫染色の意義に関する研究

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

研究協力者 小池 宏 名古屋大学大学院医学系研究科整形外科 大学院

研究要旨

デスモイド型線維腫症の病理診断において、 β -カテニンの免疫染色による核内染色像が診断の手段として用いられている。しかし陰性所見を呈するデスモイド型線維腫症を経験する。本研究では2種の β -カテニン抗体を用いた染色性を評価し、陰性率、各種臨床因子やCTNNB1変異型との関連を解析した。 β -カテニン核内染色性は20例(18%)で陰性を示し、細胞質染色性は9例で陰性(8%)であった。他の抗体を使用した染色でも30%において核内陰性であった。デスモイド型線維腫症の診断において、 β -カテニンの免疫染色だけにたよるのではなく、CTNNB1変異解析の導入を考慮する必要があると考えられた。

A. 研究目的

デスモイド型線維腫症の病理診断において、 β -カテニンの免疫染色による核内染色像が診断の手段として用いられている。しかし画像を含む臨床所見と標準的な病理所見、また β -カテニン遺伝子(CTNNB1)変異陽性でデスモイド型線維腫症と考えられる症例でも、 β -カテニン免疫染色で核内の陽性染色像が認められない症例を経験する。本研究では、デスモイド型線維腫症診断における β -カテニン免疫染色の有用性を評価すること、 β -カテニン染色性と各種臨床因子、CTNNB1変異型との関連性を解析することを目的とした。適切にデスモイド型線維腫症の診断をつけることは、患者に適切な治療法を実施する上できわめて重要であり、患者の健康状態を維持、改善する厚生労働行政の課題解決となる。

B. 研究方法

1997年から2017年までに研究代表・分担6施設(名古屋大学、国立がん研究センター中央病院、新潟大学、岡山大学、九州大学、がん研有明病院)においてデスモイド型線維腫症と診断のついた113例を集積した。家族性大腸腺腫症症例は含まれていなかった。113例に対して β -カテニン染色をDAKO mouse monoclonal antibody, M3539を使用して実施した。106例については β -カテニン染色をNovocastra mouse monoclonal antibodyを使用しても実施した。凍結標本あるいはプレパラートからDNAを抽出し、CTNNB1の変異hot spotを含

む2種の異なったプライマーペアを作成し、PCRにて増幅し、ダイレクトシーケンスにて塩基配列を決定した。 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、各種臨床因子・CTNNB1変異型との関連を統計学的に解析した。

(倫理面への配慮)

患者の各種臨床因子、 β -カテニン免疫染色解析については個人情報の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

患者の診断時平均年齢は41.6歳(8-80)、男性38症例、女性75症例、腹壁20例、四肢31例、頭頸部14例、体幹48例であり、平均腫瘍最大径は7.9cm(2-20)であった。CTNNB1変異はT41Aが44例、S45Fが10例、59例はhot spotに変異を検出できなかった。 β -カテニン核内染色性は20例(18%)で陰性を示し、細胞質染色性は9例で陰性(8%)であった。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($P<0.01$)。核内と細胞質の染色性の比較で、細胞質染色のほうが核内染色よりも強く見られた症例は有意にT41Aに大多く認められた($P<0.01$)。CTNNB1のhot spotに変異を認めた症例の中で核内染色性が陰性であったものが10.2%あった。またNovocastra mouse monoclonal antibodyによる β -カテニン免疫染色でも32症例(30%)において核内陰性であった。

D. 考察

本研究によりデスマイド型線維腫症と臨床病理診断のつく症例でも少なからず(18%) β -カテニンの核内染色性が陰性であった。また抗体を変えた場合はより多くの症例で陰性所見であった。CTNNB1解析でhot spotに変異が認められているにもかかわらず、核内陰性症例が10.2%認められたことは、 β -カテニン免疫染色で核内陽性像が認められなくても、デスマイド型線維腫症である可能性が充分あることを示している。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)。またLe Guellecらはデスマイド型線維腫症260例と類似疾患191例のCTNNB1変異解析を実施し、デスマイド型線維腫症では88%に変異を認めたが、類似疾患では全例で変異を認めなかったと報告している(Mod Pathol

2012)。これらの結果はデスモイド型線維腫症診断における CTNNB1 変異解析の特異性の高さ、 β -カテニン免疫染色評価の特異性の低さを示唆している。本研究でも CTNNB1 変異が陽性である症例における β カテニン免疫染色の陽性率が高くなかったことから、臨床における病理診断に、CTNNB1 変異解析を導入する必要性があると考えられた

E. 結論

デスモイド型線維腫症に対する適切な診療を実施するためにはまず適切な診断をつけることが重要である。本邦では β -カテニン免疫染色による評価が実施されているが、染色性が陰性であってもデスモイド型線維腫症である症例が少なからず存在する。また抗体によっても陰性率が上がることが予想さえ、CTNNB1 変異解析を導入するなどの対策が必要であると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

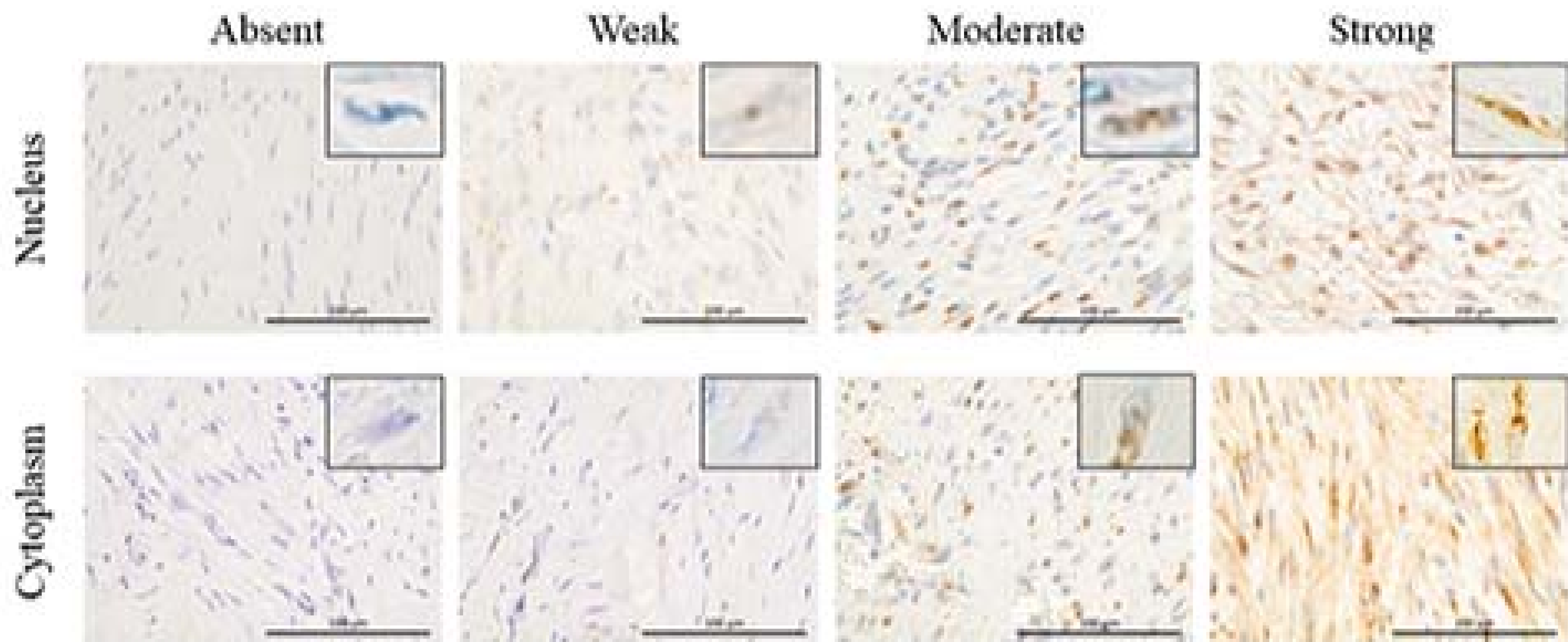


図1. デスモイド型線維腫症におけるβ-カテニン免疫染色

表 1. *CTNNB1* 変異型と β -カテニンの染色性

β -catenin positivity	<i>CTNNB1</i> mutation status			<i>p</i> value ^a
	T41A (n = 44)	S45F (n = 10)	WT (n = 59)	
Nuclear				P<0.01
strong	5	8	12	
absent, weak, moderate	39	2	47	
Cytoplasmic				P<0.01
strong	33	10	24	
absent, weak, moderate	11	0	35	

^a Chi-square test

表 2. *CTNNB1* 変異型と 2 種の抗体による β -カテニン染色性

nuclear β -catenin positivity	<i>CTNNB1</i> mutation status			<i>p</i> value ^a
	T41A (n = 43)	S45F (n = 9)	WT (n = 54)	
DAKO antibody				P<0.01
strong	5	7	10	
moderate	23	2	26	
weak	10	0	5	
absent	5	0	13	
Novocastra antibody				P<0.05
strong	2	2	5	
moderate	17	2	7	
weak	15	4	20	
absent	9	1	22	

^a Chi-square test