

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16328

研究課題名（和文）発生母地あるいはその周辺組織の硬度がデスモイド型線維腫症の病態に与える影響の検証

研究課題名（英文）The effect of the stiffness of the original tissue or surrounding tissue on the pathogenesis of desmoid-type fibromatosis

研究代表者

酒井 智久（SAKAI, TOMOHISA）

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：40821971

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：デスモイド型線維腫症培養細胞を用いて、筋線維芽細胞に強く発現する  $\alpha$ -SMAタンパク・デスモイド型線維腫症で発現と核内集積が既知である  $\beta$ -cateninタンパク発現が上昇することを確認した。また、過去に間葉系細胞での発現が報告されている機械的シグナル受容体Trpv4のデスモイド型線維腫症培養細胞における発現を免疫蛍光細胞染色で確認した。臨床的知見からのアプローチとして、デスモイド型線維腫症に対する保存的治療の臨床成績および画像上の増大・治療介入に至るリスクの検討を行った。頸部発生例とCTNNB1 S45F変異例が治療介入リスクであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

当院において半年以上の経過観察が可能であった168病変を対象として検討を行い、168病変中44%に当たる74病変で治療介入が行われていた。頸部発生例では画像上の増大とは有意な関連を示さなかったが、他の部位と比較し有意に治療介入に至るリスクが高かった。他の治療介入リスクとしてはCTNNB1 S45F変異を持つ例が単変量・多変量解析ともに治療介入リスクであった。この結果はアジアからの報告として最大であること、また頸部が治療介入のリスクであることを示唆することができ、有用な報告であると考えられる。本研究成果は、国際科学誌『Cancer Medicine』に掲載された。

研究成果の概要（英文）：On the primary cultured cells from desmoid-type fibromatosis, we confirmed that  $\alpha$ -SMA protein, which is strongly expressed in myofibroblasts, and  $\beta$ -catenin protein, which is known to be expressed and accumulated in the nucleus in desmoid-type fibromatosis, are upregulated. In addition, immunofluorescence staining confirmed the expression of the mechanical signal receptor Trpv4, which was previously reported to be expressed in mesenchymal cells, in desmoid-type fibromatosis cultured cells.

As an approach based on clinical findings, we examined the clinical outcome of conservative treatment for desmoid-type fibromatosis and the risk of progression and treatment intervention. Cases with neck lesions and CTNNB1 S45F mutations were intervention risks.

研究分野：医歯薬学

キーワード：デスモイド

## 1. 研究開始当初の背景

デスモイド型線維腫症は、WHO 分類で良悪性中間型に分類される(筋)線維芽細胞増殖性の間葉系腫瘍である。発症及び進展には Wnt/  $\beta$ -catenin シグナルの関与が示唆されており、APC 遺伝子に変異を持つ家族性大腸ポリポーシス(FAP)患者に腹腔内デスモイド型線維腫症が発症しやすいことが知られているが、実際には多くが FAP と関連せず、 $\beta$ -カテニン遺伝子 CTNNB1 に変異を持つ孤発性のデスモイド型線維腫症である。発症部位は腹腔内の他にも腹壁・その他体幹部・頸部・四肢など多彩な部位に発症しうる。

デスモイド型線維腫症に対する治療としては元来悪性軟部腫瘍に準じる広範切除術が標準治療として行われていたが、術後の機能損失が大きく、広範切除を行ったとしてもなお再発率が高いことが問題となっていた。経過観察のみで縮小を来す可能性があることから、近年治療法的第一選択は注意深く経過観察を行い腫瘍の増大または縮小傾向を観察する、いわゆる wait & see を中心とした保存的治療へと国際的に移行しつつある。保存的治療の選択肢としては wait & see の他にも、比較的副作用の少ないシクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) 阻害薬や抗エストロゲン薬などが報告されているが、いずれの報告も後方視的な症例蓄積での報告であり、世界的に有効性の確立された治療法は未だに存在していない。難治例に対してはメトトレキサートとビンブラスチン等による細胞傷害性の化学療法、イマチニブ、パゾパニブなど分子標的治療薬などの有用性が報告されているが、治療に対し抵抗性かつ外科的切除が困難である症例は依然として存在しており、新規の治療法開発が喫緊の課題となっている。

デスモイド型線維腫瘍の組織所見として豊富な膠原線維の増生と平滑筋アクチンの発現が認められ、これは線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化と細胞外マトリクスの産生が病態に関与するとされる各種の線維症と共通している。線維症においては組織硬度が機械的シグナル伝達を通じて線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を促進し、病態の進展に関与することが既に報告されている。また、デスモイド型線維腫症において亢進が確認されている Wnt/  $\beta$ -catenin シグナルが、特定の細胞種においては組織の硬度に影響を受けることも報告されていることから、これらの機械的刺激伝達シグナルがデスモイド型線維腫症の進展に関与していると仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、過去に間葉系細胞において関与が報告されている機械的刺激伝達シグナルおよび組織硬度がデスモイド型線維腫症の病態において果たす役割について検証することである。組織硬度の腫瘍発生への関与を示すことで、デスモイド型線維腫症の特異的な病態への理解を深めるとともに、機械的刺激伝達シグナルを治療ターゲットとする新規治療法の開発が期待できる。前述した線維症とは異なり、デスモイド型線維腫症における機械的刺激シグナルの関与は未だに報告されておらず、本研究がはじめての検証となる。

## 3. 研究の方法

本研究ではデスモイド型線維腫症由来の組織・培養細胞を用いて以下の評価を行うことを目的とする。比較対象としてヒト由来線維芽細胞を用い、共通点及び相違点についても合わせて評価を行う。具体的には樹立された培養細胞を 0.5kPa から 64kPa まで基質硬度が調節されたシリコンコーティング細胞培養チャンバー(既製品: Advanced Biomatrix 社)上で単層培養を行い、以下の項目を経時的に評価する。

#### (1) デスモイド型線維腫症におけるメカノレセプターの発現

過去に間葉系細胞での発現が報告されている機械的シグナル受容体 Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (Trpv4)、Integrin family (VLA-1~3, 5, 6, v 1 など) の組織における発現を免疫組織染色で、細胞における発現を免疫細胞染色及び western blot で評価する。

#### (2) デスモイド型線維腫症培養細胞における機械的刺激伝達シグナル

上記受容体の発現を確認した後、基質硬度の変化がデスモイド型線維腫症細胞内の Trpv4 を介した Ca イオン流入に対する影響について Ca 蛍光プローブを用いて調べる。また Integrin を介した FAK/MAPK シグナルに与える影響について免疫細胞染色、western blot によるタンパク発現解析、realtime-PCR による mRNA 発現解析等により調べる。

#### (3) 機械的刺激伝達シグナルが細胞増殖・筋線維芽細胞分化へ与える影響

基質硬度の上昇に伴い細胞の増殖、筋線維芽細胞に強く発現する  $\alpha$ -SMA タンパク、デスモイド型線維腫症で発現と核内集積が既知である  $\beta$ -catenin タンパク発現の変化を確認する。また、Trpv4 のアゴニスト GSK1016790A 及び RN-1734、Trpv4 アンタゴニスト HC-067047、FAK inhibitor defactinib、PND-1186 等を用いて、機械的シグナル伝達の変化がそれらの事象に及ぼす影響を調査する。

### 4. 研究成果

デスモイド型線維腫症培養細胞を用いて、基質硬度の上昇に伴い細胞の増殖・筋線維芽細胞に強く発現する  $\alpha$ -SMA タンパク・デスモイド型線維腫症で発現と核内集積が既知である  $\beta$ -catenin タンパク発現が上昇することを確認した。また、過去に間葉系細胞での発現が報告されている機械的シグナル受容体 Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (Trpv4) のデスモイド型線維腫症培養細胞における発現を免疫蛍光細胞染色で確認した。基礎研究においては、初代培養細胞が枯渇したため、新規細胞培養を行ったが実験に使用できる状態のものを得ることができず、以降の進捗を得られなかった。

臨床的知見からのアプローチとして、デスモイド型線維腫症に対する保存的治療の臨床成績および画像上の増大・治療介入に至るリスクの検討を行った。デスモイド型線維腫症は手術による再発率が高いと報告されている一方、経過観察のみで縮小する可能性もあるため、近年治療の第一選択肢は手術でなく監視療法となっている。しかしその治療成績の報告は少なく、特にアジア諸国からの大規模な研究報告は存在しない。当院において半年以上の経過観察が可能であった 168 病変を対象として検討を行い、168 病変中 44%に当たる 74 病変で治療介入が行われていた。機械的刺激や基質硬度に関連すると考え発生部位による増大や治療介入リスクの差異を検討し、頸部発生例では画像上の増大とは有意な関連を示さなかったが、他の部位と比較し有意に治療介入に至るリスクが高かった。他の治療介入リスクとしては CTNNB1 S45F 変異を持つ例が単変量・多変量解析ともに治療介入リスクであった。

この結果はアジアからの報告として最大であること、また頸部が治療介入のリスクであることを示唆することができ、有用な報告であると考え。本研究成果は、国際科学誌『Cancer Medicine』に掲載された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Sakai Tomohisa, Nishida Yoshihiro, Ito Kan, Ikuta Kunihiro, Urakawa Hiroshi, Koike Hiroshi, Imagama Shiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Clinical results of active surveillance for extra abdominal desmoid type fibromatosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 5245 ~ 5254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.5329	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kohsaka S, Hirata M, Ikegami M, Ueno T, Kojima S, Sakai T, Ito K, Naka N, Ogura K, Kawai A, Iwata S, Okuma T, Yonemoto T, Kobayashi H, Suehara Y, Hiraga H	4. 巻 145
2. 論文標題 Comprehensive molecular and clinicopathological profiling of desmoid tumours.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European journal of cancer (Oxford, England : 1990)	6. 最初と最後の頁 109-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejca.2020.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nishida Yoshihiro, Ikuta Kunihiro, Ito Shinji, Urakawa Hiroshi, Sakai Tomohisa, Koike Hiroshi, Ito Kan, Imagama Shiro	4. 巻 112
2. 論文標題 Limitations and benefits of FDG-PET/CT in NF1 patients with nerve sheath tumors: A cross-sectional/longitudinal study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CANCER SCIENCE	6. 最初と最後の頁 1114-1122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14802	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nishida Yoshihiro, Hamada Shunsuke, Urakawa Hiroshi, Ikuta Kunihiro, Sakai Tomohisa, Koike Hiroshi, Ito Kan, Emoto Ryo, Ando Yuichi, Matsui Shigeyuki	4. 巻 111
2. 論文標題 Desmoid with biweekly methotrexate and vinblastine shows similar effects to weekly administration: A phase II clinical trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CANCER SCIENCE	6. 最初と最後の頁 4187-4194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Tomohisa, Hamada Shunsuke, Koike Hiroshi, Shimizu Koki, Yoshida Masahiro, Nishida Yoshihiro	4. 巻 50
2. 論文標題 Is mutation analysis of beta-catenin useful for the diagnosis of desmoid-type fibromatosis? A systematic review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JAPANESE JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 1037-1042
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koike Hiroshi, Hamada Shunsuke, Sakai Tomohisa, Shimizu Koki, Yoshida Masahiro, Nishida Yoshihiro	4. 巻 50
2. 論文標題 Is tumour location a prognostic factor for pharmacological treatment in patients with desmoid-type fibromatosis? a systematic review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JAPANESE JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 1032-1036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikuta Kunihiro, Sakai Tomohisa, Koike Hiroshi, Okada Tohru, Imagama Shiro, Nishida Yoshihiro	4. 巻 18
2. 論文標題 Cardiac metastases from primary myxoid liposarcoma of the thigh: a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 WORLD JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12957-020-02009-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishida Y, Hamada S, Kawai A, Kunisada T, Ogose A, Matsumoto Y, Ae K, Toguchida J, Ozaki T, Hirakawa A, Motoi T, Sakai T, Kobayashi E, Gokita T, Okamoto T, Matsunobu T, Shimizu K, Koike H.	4. 巻 111
2. 論文標題 Risk factors of local recurrence after surgery in extraabdominal desmoid-type fibromatosis: A multicenter study in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CANCER SCIENCE	6. 最初と最後の頁 2935-2942
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14528	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hamada Shunsuke, Nishida Yoshihiro, Takanari Keisuke, Ota Takehiro, Urakawa Hiroshi, Ikuta Kunihiro, Sakai Tomohisa, Tsukushi Satoshi, Kamei Yuzuru, Ishiguro Naoki	4. 巻 50
2. 論文標題 Functional evaluation following deltoid muscle resection in patients with soft tissue sarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JAPANESE JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 772-778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Koki, Hamada Shunsuke, Sakai Tomohisa, Koike Hiroshi, Yoshida Masahiro, Nishida Yoshihiro	4. 巻 50
2. 論文標題 Efficacy of low-dose chemotherapy with methotrexate and vinblastine for patients with extra-abdominal desmoid-type fibromatosis: a systematic review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JAPANESE JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY	6. 最初と最後の頁 419-424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyz204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 酒井 智久, 西田 佳弘, 奥野 友介, 村上 典寛, 浦川 浩, 新井 英介, 生田 国大, 小池 宏, 伊藤 鑑, 石黒 直樹
2. 発表標題 Phosphaturic mesenchymal tumorにおける新規融合遺伝子NIPBL-BEND2の同定 (ポスター)
3. 学会等名 第93回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 酒井 智久, 西田 佳弘, 浦川 浩, 生田 国大, 小池 宏
2. 発表標題 Surgical dislocation of hip(Granz approach)を用いて切除を行った股関節滑膜性骨軟骨腫症の2例 (ポスター)
3. 学会等名 第53回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 酒井 智久, 西田 佳弘, 奥野 友介, 村上 典寛, 生田 国大, 小池 宏, 伊藤 鑑, 石黒 直樹
2. 発表標題 超希少な骨・軟部腫瘍に対する全エクソーム解析の有用性と今後の展望
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------