

人体の骨・軟部組織腫瘍に関する病理学的研究

《研究の概要》

人体の骨・軟部組織に生じる腫瘍は、発生頻度が低いことや多様な組織形態像を示すことなどから、その病理組織診断に難渋することが少なくなく、生物学的な特性や組織起源について不明な点が多い。本研究ではそれらの不明な点を明らかにし、腫瘍のより正確な診断法を確立することを目指して、これまで集積された骨・軟部腫瘍症例について臨床像や病理学的所見の細かな解析を行うとともに、種々の分子生物学的手法を応用し、主に遺伝子や染色体の異常の検索を試みた。

3年間にわたる調査研究の結果、主として以下の点を明らかにすることができた。

1) ある特定の腫瘍において日常の病理組織検査に使用されるホルマリン固定パラフィン包埋された腫瘍組織からでも、その腫瘍に特徴的とされる変異遺伝子の産物を比較的容易な方法で高頻度に検出できることを明らかにし、この検出法がそれらの腫瘍の補助的診断法として有用であることを証明した。2) 腫瘍のタイプによっては特定の遺伝子変異やその発現異常が見い出され、それらが腫瘍細胞の形態や分化、進展などの生物学的特性や腫瘍形成機序に関与していることが示唆された。3) 日常遭遇する機会のみれな腫瘍をいくつか経験し、その臨床病理像を詳細に解析するとともに文献的な考察を行うことでその腫瘍の特徴をより明確にすることができた。

以上のことからヒト骨・軟部腫瘍の研究においては、症例の臨床病理学的な解析に加え、分子生物学的手法を用いた遺伝子異常の検索が腫瘍の正確な診断と生物学的な特徴を把握する上で重要であり、本研究結果がこれらの腫瘍に対する効果的な治療や予防に将来結びついていくものと期待される。

研究者氏名及び所属機関

研究者氏名	所属機関及び地位	分担研究課題
橋本 洋	産業医科大学医学部教授	軟部腫瘍の臨床病理学的解析および染色体・遺伝子異常の検索
町並 陸生	東京大学医学部名誉教授	骨腫瘍の臨床・分子病理学的解析 (分担研究期間平成 9～10 年度)
石田 剛	東京大学医学部講師	骨腫瘍の分子病理学的解析 (分担研究期間平成 11 年度)
野島孝之	金沢医科大学医学部教授	軟部腫瘍の分子病理学的解析

研究報告

I 研究目的

本研究の目的は、いまだ組織起源や生物学的特性について不明な点が多いヒトの骨・軟部腫瘍について、その臨床病理学的所見を詳しく解析することに加え、分子生物学的手法を用いて染色体・遺伝子の異常を検索することにより、それらの腫瘍の診断法を確立し、更には生物学的特性や組織起源をより明らかにすることである。ヒトの骨・軟部腫瘍の適切な治療のためには、その組織起源や生物学的特性に基づいた正確な診断が必須であるが、その診断法はいまだ確立しているとはいえないため、本研究のように近年開発されてきた分子生物学的手法をも応用した腫瘍の詳細な調査が必要と考えられる。

II 研究計画及び材料と方法

- 1 ヒト骨・軟部腫瘍を収集し、腫瘍組織の代表的な部分から組織標本を作製するとともに、それらの新鮮組織材料やパラフィン包埋組織から核酸の抽出を行う。
- 2 腫瘍の組織像を光学顕微鏡下で観察し、適宜免疫組織化学的検索や電子顕微鏡的観察も加えながら、腫瘍の形態学的特徴を解析する。
- 3 腫瘍細胞の培養を試み、染色体分析を行う。
- 4 抽出した核酸を用いて、polymerase chain reaction (PCR) 法、Southern blotting 法、Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法などの分子生物学的手法により腫瘍に特徴的な染色体・遺伝子異常を検索する。

III 研究成果

1 骨・軟部腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋組織から市販のキットを用いて RNA の抽出を試みたところ、これまで考えられていた以上にこれらの組織からでも RNA が抽出できることを明らかにした。さらに以下のような数種の腫瘍のパラフィン包埋組織から抽出しえた RNA を用いて、RT-PCR 法によってそれぞれの腫瘍に特徴的な融合遺伝子の産物を高

頻度に検出することに成功し、この手法がそれらの腫瘍の診断、特に臨床病理学的に非定型的な症例の診断や、腫瘍の生物学的態度などを検討する上で有用であることを証明した。

(検索した腫瘍)	(特徴的融合遺伝子)
滑膜肉腫	SYT-SSX
Ewing/PNET 群	EWS-FLI1
粘液型脂肪肉腫	TLS-CHOP
隆起性皮膚線維肉腫	COL1A1 -PDGFB
先天性／幼児型線維肉腫	ETV6-NTRK3
骨外性粘液型軟骨肉腫	EWS-CHN／TAF2N-CHN

2 デスマイド腫瘍において腫瘍細胞の第8番染色体のトリソミー(3倍体)の有無をFISH法で検索し、この染色体異常の存在が腫瘍の再発と相関関係があることを明らかにした。

3 隆起性皮膚線維肉腫においてまれに生じるより悪性型への形質転化(線維肉腫化)についてp53遺伝子の変異などを調査することで、その生物学的態度の違いを分子生物学的に支持できる結果を得た。さらにこの線維肉腫化した腫瘍成分においても古典的な隆起性皮膚線維肉腫で認められる特徴的な融合遺伝子COL1A1 -PDGFB産物が検出され、この腫瘍成分の起源が古典的な隆起性皮膚線維肉腫と共通していることを示した。

4 後腹膜に発生する粘液型脂肪肉腫は、その染色体・遺伝子変異において古典的粘液型脂肪肉腫と異なり、高分化型ないし脱分化型脂肪肉腫に近い性格をもつことを明らかにした。

5 滑膜肉腫の垂型の中で上皮成分と非上皮成分とから成る二相型滑膜肉腫を対象とし、その両成分をmicrodissection法で分離採取した後、RT-PCR法の変法によってこの腫瘍に特徴的融合遺伝子SYT-SSX産物の検出を試みた結果、両成分のいずれからもこの遺伝子産物が検出され、共通した起源に由来した腫瘍細胞が異なる形態分化を示したという従来の仮説を支持することができた。

6 筋肉内粘液腫は時に骨の線維異形成と合併することがあり、この線維異形成にはGs α 遺伝子の変異が特徴的に認められることが知られていることから、筋肉内粘液腫においてこの遺伝子変異の有無を調査したところ、高率にこの遺伝子変異が検出され、両病変がこの遺伝子変異に基づく同様の形成機序を持つ可能性を指摘した。一方、筋肉内粘液腫と形態学的特徴が近似している傍関節性粘液腫においてはこの遺伝子変異を認めず、病変の形成において筋肉内粘液腫とは異なる遺伝子的背景が考えられた。

7 成人の真皮や皮下など表在性に生じる線維肉腫においてRT-PCR法により融合遺伝子産物の有無を検索したところ、隆起性皮膚線維肉腫に特徴的な融合遺伝子COL1A1 -PDGFB産物が高率に検出され、この腫瘍が隆起性皮膚線維肉腫と遺伝子的にも極めて近い関係にあることを明らかにした。一方筋肉内や腹腔内に生じる深在性の線維肉腫にはこの遺伝子産物が検出されず、表在性の腫瘍とは異なる遺伝子背景を持つ腫瘍と考えられた。

8 胸膜外に発生した孤立性線維性腫瘍を臨床病理学的に解析し、その細胞像殖能や p53 遺伝子変異についても検討を行った結果、この腫瘍のほとんどは良性の生物学的態度を示すことが明らかとなった。

9 極めてまれに発生する肉腫様脊索腫や骨内小嚢胞型髄膜腫を経験し、それらの臨床病理学的特徴を明らかにした。

10 骨肉腫において p53 遺伝子の欠失がない例はある例よりも術前の化学療法に対する感受性が高いことが示され、骨肉腫の化学療法抵抗性の予測に有用な因子と考えられた。また、細胞接着因子の一つであるカドヘリンのあるタイプのものが骨肉腫では高頻度に発現していることが明らかとなり、この因子と腫瘍の組織形態や浸潤・転移能との関連が推察された。さらに、ストレス蛋白として知られる heat shock protein の発現が骨肉腫の予後を推定する上で有用な因子の一つであることを明らかにした。

11 粘液型脂肪肉腫に認められる特徴的融合遺伝子 TLS-CHOP の変異型である II 型 TLS-CHOP の遺伝子産物の検索により、この融合遺伝子が粘液型脂肪肉腫の発生に関与していることを分子レベルで証明した。

12 滑膜肉腫の上皮成分の形成に肝細胞増殖因子 (HGF) とその受容体 (c-Met) の発現が関与していることを明らかにした。またこの受容体が色素性神経線維腫においても高度に発現していることがわかり、腫瘍細胞のメラニン産生能との関連を指摘した。

13 神経線維腫症 2 型と末梢神経性腫瘍の亜型である蔓状神経鞘腫との密接な関係を臨床病理学的に明らかにした。

14 隆起性皮膚線維肉腫の再発例では非再発例に比べ細胞増殖能が高く、この腫瘍の再発傾向と細胞増殖能との関係を指摘した。またこの腫瘍のまれな転移例を解析し、転移病巣での腫瘍細胞においても隆起性皮膚線維肉腫に特徴的な染色体異常を FISH 法で確認することができた。

15 骨巨細胞腫において、破骨細胞の各種マーカーの発現を検討したところ、多核巨細胞および単核間質細胞の多くがそれらのマーカーの一つである Cathepsin K を高度に発現していることを見出し、骨巨細胞腫が破骨細胞系の細胞と密接に関わっていることを示し、またその蛋白分解作用により、骨溶解性にこの腫瘍が進展することを考察した。

16 長管骨アダマンチノーマと骨線維異形成は臨床所見、レントゲンの所見、組織学的所見、および免疫組織化学的所見から、極めて密接に関わっている病変であり、一連の疾患である可能性を明らかにした。

17 Castleman 病に合併したいわゆる vascular neoplasia を解析し、この腫瘍細胞がサイトカインの interleukin-6 と vascular endothelial growth factor を高度に産生していることを見出し、これらのサイトカインがこの病変の発生や進展に深く関わっている可能性を指摘した。

18 通常骨内に発生する軟骨粘液線維腫のまれな骨膜発生例を解析し、特に悪性軟骨性腫瘍との鑑別について考察した。

19 粘液型および円形細胞型脂肪肉腫において細胞計測を行い、両者における腫瘍細胞の相違点とともに他の粘液性腫瘍との細胞学的診断上の鑑別点を明らかにした。

20 種々の脂肪性腫瘍について、脂肪分化に関与する転写因子である PPAR γ と C/EBP α の発現を調査したところ、ほとんどの脂肪性腫瘍においてこれらの因子の発現を認め、この検索法は脂肪性腫瘍と悪性線維性組織球腫との鑑別において有用であることを証明した。

21 腫瘍に特異的な融合遺伝子に関わる遺伝子の切断部位を詳細に検討することで、切断部位の異なる数種の亜型融合遺伝子を見出し、典型的な形態学的所見を示したにもかかわらず融合遺伝子産物が検出されなかった腫瘍における未知の亜型融合遺伝子の存在の可能性を指摘した。

22 滑膜肉腫に特徴的な融合遺伝子 SYT-SSX に関与する SSX 遺伝子の発現を種々の腫瘍で検索したところ、滑膜肉腫以外の悪性腫瘍にも変異をきたした SSX 遺伝子の発現が高頻度に認められ、それらの悪性骨・軟部腫瘍の発生におけるこの変異 SSX 遺伝子の生物学的役割が示唆された。また、Ewing 肉腫で検出した変異 SSX 遺伝子を詳細に調査したところ、この遺伝子は SSX 遺伝子の偽遺伝子であることが判明し、この遺伝子も Ewing 肉腫の発生に関与している可能性が示唆された。さらに、SSX 遺伝子産物に対する抗体を作成し、種々の腫瘍蛋白の解析におけるこの抗体の有用性を示した。

IV 考察

腫瘍の正確な診断には腫瘍細胞の組織起源を明らかにし、腫瘍の臨床病理学的特徴を明確にとらえることが必要であるが、ヒトの骨・軟部腫瘍においてはその発生頻度が低いことや組織形態が多様性に富むことなどの理由から、腫瘍の組織起源や生物学的な特性について不明な点が多く、診断に難渋することも少なくなかった。さらに、それらの不明な点の解明に有用と考えられる腫瘍組織を用いた分子生物学的な研究もこれまで数少なかった。

本研究では集積された腫瘍症例の臨床病理学的解析に加え、腫瘍組織から得られる核酸や蛋白を分子生物学的に解析することで、腫瘍をより包括的かつ詳細に検討することができ、先の研究成果で示したように、数々の腫瘍においてその臨床病理学的特徴や生物学的性格の推定につながる染色体・遺伝子異常を明らかにできた。また本研究で開発した融合遺伝子などの腫瘍に特徴的な遺伝子異常をパラフィン包埋組織から検出する方法は、腫瘍の診断に直接応用可能であり、特に意義深いものと考えられる。さらに本研究遂行の過程

で経験した非定型的な症例や希少な腫瘍についてもその腫瘍の特徴をより明確にすることができた。以上のことから、本研究結果は今日のヒト骨・軟部腫瘍の診断および治療に大いに貢献できるものと考えられる。

今後はこれらの成果を踏まえ、いまだ解明されていない腫瘍の生物学的特性や発生機序についての解析調査を進め、ヒト骨・軟部腫瘍のより適格な治療や予防に結びつく情報をさらに入手し、提供していく必要があると考えられる。

V 研究成果の発表

- 1 Hisaoka M, Tsuji S, Hashimoto H, Aoki T, Uriu K. Dedifferentiated liposarcoma with an inflammatory malignant fibrous histiocytoma-like component presenting a leukemoid reaction. *Pathol Int* 47: 642-646, 1997
- 2 Kouho H, Aoki T, Hisaoka M, Hashimoto H. Clinicopathological and interphase cytogenetic analysis of desmoid tumours. *Histopathology* 31: 336-341, 1997
- 3 Hisaoka M, Hashimoto H, Murao T. Peripheral primitive neuroectodermal tumour with ganglioneuroma-like areas arising in the cauda equina. *Virchows Arch* 431: 365-369, 1997
- 4 Hisaoka M, Hashimoto H, Iwamasa T. Diagnostic implication of Kaposi's sarcoma-associated herpes virus with special reference to the distinction between spindle cell hemangioendothelioma and Kaposi's sarcoma. *Arch Pathol Lab Med* 122: 72-76, 1998
- 5 青木隆敏、橋本洋. 粘液状軟部腫瘍の鑑別診断：パラフィン包埋組織を用いた FISH 法の応用. *病理と臨床* 16: 161-166, 1998
- 6 Hisaoka M, Hashimoto H, Daimaru Y. Intranodal palisaded myofibroblastoma with so-called amianthoid fibers: A report of two cases with a review of the literature. *Pathol Int* 48: 307-312, 1998
- 7 Morimitsu Y, Hisaoka M, Okamoto S, Hashimoto H, Ushijima M. Dermatofibrosarcoma protuberans and its fibrosarcomatous variant with areas of myoid differentiation: A report of three cases. *Histopathology* 32: 547-551, 1998
- 8 Hisaoka M, Okamoto S, Morimitsu Y, Tsuji S, Hashimoto H. Dermatofibrosarcoma protuberans with fibrosarcomatous areas: Molecular abnormalities of the p53 pathway in fibrosarcomatous transformation of dermatofibrosarcoma protuberans. *Virchows Arch* 433: 323-329, 1998
- 9 Hisaoka M, Tsuji S, Morimitsu Y, Hashimoto H, Shimajiri S, Kamiya S, Ushijima M. Detection of TLS/FUS-CHOP fusion transcripts in myxoid/round cell liposarcomas by nested reverse transcription-polymerase chain reaction using archival paraffin-embedded tissues. *Diagn Mol Pathol* 7: 96-101, 1998
- 10 Tsuji S, Hisaoka M, Morimitsu Y, Hashimoto H, Jimi A, Watanabe J, Eguchi H, Kaneko Y. Peripheral primitive neuroectodermal tumour of the lung: report of two cases. *Histopathology* 33: 369-374, 1998

- 11 Tsuji S, Hisaoka M, Morimitsu Y, Hashimoto H, Shimajiri S, Komiya S, Ushijima M. Detection of SYT-SSX fusion transcripts in synovial sarcoma by reverse transcription-polymerase chain reaction using archival paraffin-embedded tissues. *Am J Pathol* 153: 1807-1812, 1998
- 12 Hisaoka M, Hashimoto H, Iwamasa T, Ishikawa K, Aoki T. Primary synovial sarcoma of the lung: report of two cases of the rare pulmonary sarcoma confirmed by molecular detection of SYT-SSX fusion gene transcripts. *Histopathology* 34: 205-210, 1999
- 13 Hisaoka M, Tsuji S, Morimitsu Y, Hashimoto H, Shimajiri S. Molecular detection of EWS-FLI1 chimeric transcripts in Ewing family tumors by nested reverse transcription-polymerase chain reaction: Application to archival paraffin-embedded tumor tissues. *APMIS* 107: 577-584, 1999
- 14 Hisaoka M, Morimitsu Y, Hashimoto H, Ishida T, Mukai H, Satoh H, Motoi T, Machinami R. Retroperitoneal liposarcoma with combined well-differentiated and myxoid malignant fibrous histiocytoma-like myxoid areas. *Am J Surg Pathol* 23: 1480-1492, 1999
- 15 Wang J, Hisaoka M, Shimajiri S, Morimitsu Y, Hashimoto H. Detection of COL1A1-PDGFB fusion transcripts in dermatofibrosarcoma protuberans by reverse transcription-polymerase chain reaction using archival formalin-fixed, paraffinembedded tissues. *Diagn Mol Pathol* 8: 113-119, 1999
- 16 Wang J, Morimitsu Y, Okamoto S, Hisaoka M, Ishida T, Sheng W, Hashimoto H. COL1A1 -PD GFB fusion transcripts in fibro sarcomatous are as of six dermatofibrosarcomas protuberans. *J Mol Diag* 2: 47-52, 2000
- 17 Kasai T, Shimajiri S, Hashimoto H. Detection of SYT-SSX fusion transcripts in both epithelial and spindle cell areas of biphasic synovial sarcoma using laser capture microdissection. *Mol Pathol* 53: 107-110, 2000
- 18 Okamoto S, Hisaoka M, Ushijima M, Nakahara S, Toyoshima S, Hashimoto H. Activating Gs α mutation in intramuscular myxomas with and without fibrous dysplasia of bone. *Virchows Arch* 436, 2000 (in press)
- 19 Okamoto S, Hisaoka M, Aoki T, Kadoya C, Kobanawa S, Hashimoto H. Intraosseous microcystic meningioma. *Skeletal Radiol* (in press)
- 20 Morimitsu Y, Nakajima M, Hisaoka M, Hashimoto H. Extrapleural solitary fibrous tumor: Clinicopathologic study of 17 cases. *Pathol Int* (submitted)
- 21 Morimitsu Y, Aoki T, Yokoyama K, Hashimoto H. Sarcomatoid chordoma: chordoma with a massive malignant spindle-cell component. *Skeletal Radiol* (submitted)
- 22 Okamoto S, Ishida T, Ohnishi H, Machinami R, Hashimoto H. Synovial sarcomas of three children in the first decade: clinicopathological and molecular findings. *Pathol Int* (submitted)
- 23 Sheng W-Q, Hashimoto H, Okamoto S, Ishida T, Meis-Kindblom JM, Kindblom L-G, Hisaoka M. Expression of COL1A1-PDGFB fusion transcripts in superficial adult

- fibrosarcoma suggests a close relationship to dermatofibrosarcoma protuberans. J Pathol (submitted)
- 24 Okamoto S, Hisaoka M, Meis-Kindblom JM, Kindblom L-G, Hashimoto H. No activating Gs α mutation at Arg 201 codon occurs in juxta-articular myxoma. (in preparation)
 - 25 Koyama S, Morimitsu Y, Morokuma F, Hashimoto H. Primary synovial sarcoma of the kidney: report of a case confirmed by molecular detection of the fusion transcript SYT-SSX. (in preparation)
 - 26 Kuroda M, Ishida T, Takanashi M, Satoh M, Machinami R, Watanabe T. Oncogenic transformation and inhibition of adipocytic conversion of preadipocytes by TLS/FUS-CHOP type II chimeric protein. Am J Pathol 151: 735-744, 1997
 - 27 Ishida T, Kuwada Y, Motoi N, Oka T, Machinami R. Dedifferentiated chondrosarcoma of the rib with a malignant mesenchymatous component: An autopsy case report. Pathol Int 47: 397-403, 1997
 - 28 Kashima T, Matsushita H, Kuroda M, Takeuchi H, Udagawa H, Ishida T, Hara M, Machinami R. Biphasic synovial sarcoma of the peritoneal cavity with t(X;18) demonstrated by reverse transcription polymerase chain reaction. Pathol Int 47: 637-641, 1997.
 - 29 Ishida T, Kuroda M, Motoi T, Oka T, Imamura T, Machinami R. Phenotypic diversity of neurofibromatosis 2: Association with plexiform schwannoma. Histopathology 32: 264-270, 1998
 - 30 Yamamoto M, Ishida T, Machinami R. Atypical decubital fibroplasia in a young patient with melorheostosis. Pathol Int 48: 160-163, 1998
 - 31 Goto A, Kanda H, Ishikawa Y, Matsumoto S, Kawaguchi N, Machinami R, Kato Y, Kitagawa T. Association of loss of heterozygosity at the p53 locus with chemoresistance in osteosarcomas. Jpn J Cancer Res 89: 539-547, 1998
 - 32 Ishida T, Iijima T, Goto T, Kawano H, Machinami R. Concurrent enchondroma and periosteal chondroma of the humerus mimicking chondrosarcoma. Skeletal Radiol 27: 337-340, 1998
 - 33 Motoi T, Ishida T, Kuroda M, Horiuchi H, Oka T, Matsumoto K, Nakamura T, Machinami R. Coexpression of hepatocyte growth factor and c-met proto-oncogene product in synovial sarcoma. Pathol Int 48: 769-775, 1998
 - 34 Ishida T. Critical commentary to malignant granular cell tumor. Report of a case and review of the literature. Pathol Res Pract 194: 515, 1998
 - 35 石田剛、鹿島健司、町並陸生. 腫瘍に伴う骨軟化症・くる病の病理. 病理と臨床 17: 23-27, 1999
 - 36 Ishida T, Yamamoto M, Goto T, Kawano H, Yamamoto A, Machinami R. Clear cell chondrosarcoma of the pelvis in a skeletally immature patient. Skeletal Radiol 28: 290-293, 1999
 - 37 Tsuchida R, Ishida T, Uozaki H, Bessho F, Machinami R. Microtubular aggregates

- withing the rough endoplasmic reticulum of embryonal rhabdomyosarcoma cells:
a case report. *Ultrastruct Pathol* 23: 193-198, 1999
- 38 元井亨、山本基、石田剛、町並陸生. 滑膜肉腫の最新の知見: SYT-SSX キメラ遺伝子転写産物の検出と診断への応用. *病理と臨床* 17: 951-958, 1999
- 39 Sasaki M, Ishida T, Horiuchi H, Machinami R. Dermatofibrosarcoma protuberans: An analysis of proliferative activity, DNA flow cytometry and p53 overexpression with emphasis on its progression. *Pathol Int* 49: 799-806, 1999
- 40 Kashima T, Takeshita S, Kawaguchi J, Kuroda M, Takanashi M, Horiuchi H, Imamura T, Ishikawa Y, Ishida T, Mori S, Machinami R, Kudo A. Anomalous protein expression of cadherins in osteosarcoma: Possible relationship to its metastasis and morphogenesis. *Am J Pathol* 155: 1549-1555, 1999
- 41 石田剛、元井亨、町並陸生. 長管骨アダマンチノーマと骨線維性異形成の組織発生. *病理と臨床* 17: 1044-1052, 1999
- 42 石田剛、黒田雅彦. 脂肪肉腫と TLS/FUS-CHOP 融合遺伝子. *整形災害外科* 42:12 94-1295, 1999
- 43 島田智子、石井美樹子、河野純一、赤嶺享、小島貴、田中文彦、石田剛. 粘液型および円形細胞型脂肪肉腫の細胞学的検討. *日本臨床細胞学会雑誌* 38: 504-510, 2000
- 44 石田剛. 結節性筋膜炎およびその類似病変. *病理と臨床* 18: 89-94, 2000
- 45 石田剛. fibrous dysplasia から発生した骨肉腫の 1 例. *病理と臨床* 18:89-94, 2000
- 46 Uozaki H, Ishida T, Imamura T, Iijima T, Goto T, Machinami R. Heat shock proteins expression in osteosarcoma and its relationship to poor prognosis. *Pathol Res Pract* (submitted)
- 47 Kakiuchi C, Ishida T, Sato H, Katano H, Ishiko T, Mukai H, Kogi M, Kasuga N, Takeuchi K, Yamane K, Fukayama M, Mori S. Neoplastic cells of vascular neoplasia complicating with Castleman's disease secrete interleukin-6 and vascular endothelial growth factor. *Lab Invest* (submitted)
- 48 石田剛. 骨の原発不明 (転移性) 癌. *病理と臨床* (投稿中)
- 49 Ishida T. Osteofibrous dysplasia vs. adamantinoma of long bone. *Pathol Case Reviews* (submitted)
- 50 Motoi T, Ishida T, Imamura T, Mori S, Machinami R. Overexpression of c-met oncogene product in benign peripheral nerve tumors: Possible relation to their melanogenesis. (in preparation)
- 51 Motoi T, Ishida T, Imamura T, Machinami R. Expression of E-and N-cadherin in synovial sarcoma. (in preparation)
- 52 Kashima T, Hayashi K, Takanashi M, Horiuchi H, Ishida T, Machinami R. CD44 and osteopontin expression in giant cell tumor of bone. (in preparation)
- 53 Kashima T, Takanashi M, Kakiuchi C, Horiuchi H, Hayashi K, Ishida T, Machinami R. Cathepsin K expression in giant cell tumor of bone. (in preparation)
- 54 Ishida T, Kawano T, Okinaga S, Yasui H. Periosteal chondromyxoid fibroma. (in preparation)

- 55 Hiraga H, Nojima T, Abe S, Yamashiro K, Yamawaki S, Kaneda K, Nagashima K. Establishment of a new continuous clear cell sarcoma cell line. Morphological and cytogenetic characterization and detection of chimeric EWS/ATF-1 transcripts. *Virchows Arch* 431: 45-51, 1997
- 56 Obata K, Hiraga H, Nojima T, Yoshida M-C, Abe S. Molecular characterization of a t (11;22) (q24;q12) translocation junction in two cases of Ewing's sarcoma. *Chromosome Science* 1: 97-100, 1997
- 57 野島孝之、平賀博明、阿部周一. 横紋筋肉腫の組織型と染色体異常および遺伝子発現. *病理と臨床* 16: 135-140, 1998
- 58 山下学、竹上勉、佐々木恵子、野島孝之. In Situ PCR 法における液相条件の検討. *臨床病理* 46: 83-87, 1998
- 59 Hiraga H, Nojima T, Abe S, Saw a H, Isu K, Yamashiro K, Yamawaki S, Kaneda K, Nagashima K. Molecular diagnosis of synovial sarcoma. *Diagn Mol Pathol* 7: 102-110, 1998
- 61 Akai T, Iizuka H, Kadoya S, Nojima T, Kohno M. Primitive neuroectodermal tumor in the spinal epidural space. *Neuro Med Chir* 38: 508-511, 1998
- 62 Obata K, Hiraga H, Nojima T, Yoshida M-C, Abe S. Molecular characterization of the genomic breakpoint junction in a t (11;22) (q24;q12) translocation in Ewing's sarcoma. *Genes Chromosomes Cancer* 25: 6-15, 1999
- 63 Hiraga H, Nojima T, Yamashiro K, Yamawaki S, Kaneda K, Nagashima K. Histological and molecular evidence for a case of synovial sarcoma of bone. *J Bone Joint Surg* 81-A: 558-563, 1999
- 64 Suzuki T, Segami N, Kaneyama K, Nishimura M, Nojima T. Specific expression of interleukin-1 β in temporomandibular joints with internal derangement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 88: 413-417, 1999
- 65 Suzuki T, Bessho K, Segami N, Nojima T, Iizuka T. Bone morphogenetic protein-2 in temporomandibular joints with internal derangement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 88: 670-673, 1999
- 66 Park Y-K, Unni KK, Kim YW, Han C-S, Yang MH, Wenger DE, Sim FH, Lucas DR, Ryan JR, Nadim YA, Nojima T, Fletcher CDM. Primary alveolar soft part sarcoma of bone. *Histopathology* 35: 411-417, 1999
- 67 野島孝之、黒瀬望、山城勝重. 骨腫瘍の生検ならびに切除材料の取り扱いと診断へのアプローチ. *病理と臨床* 17: 1019-1022, 1999
- 68 野島孝之、平賀博明、山城勝重. 小円形細胞肉腫の鑑別診断. ユーイング肉腫を中心として. *病理と臨床* 17: 1066-1070, 1999
- 69 Suzuki T, Segami N, Nojima T. Analysis of 70Kd heat-shock protein expression in the patients with internal derangement. *Int J Oral Maxillofacial Surg* (in press)
- 70 Niu M, Nojima T, Takegami T. The efficiency of translocation of foreign gene into different mammalian cell line and expression of hepatitis C virus protein

NS3. J Biol Chem (submitted)

- 71 Suzuki T, Bessho K, Segami N, Iizuka T, Nojima T. Immunohistochemical localization of bone morphogenetic protein-2 in oral and maxillo-facial area of human embryo. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod (submitted)
- 72 Suzuki T, Segami N, Nojima T. Serotonin localization in temporomandibular joints with internal derangement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod (submitted)