



Title	鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における局所治療の妥当性評価と次世代シーケンサーによる遺伝子変異に関する研究
Author(s)	対馬, 那由多
Description	配架番号 : 1707
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	乙第7204号
Issue Date	2024-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r7204
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91863
Type	doctoral thesis
File Information	TSUSHIMA_Nayuta.pdf



学位論文

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における局所治療の妥当性評価と
次世代シーケンサーによる遺伝子変異に関する研究

(Studies on sinonasal mucosal melanoma: the appropriateness of the
local treatment and genetic mutations using targeted next-generation
sequencing technology)

2024 年 3 月

北海道大学

対馬 那由多

学位論文

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における局所治療の妥当性評価と
次世代シーケンサーによる遺伝子変異に関する研究

(Studies on sinonasal mucosal melanoma: the appropriateness of the
local treatment and genetic mutations using targeted next-generation
sequencing technology)

2024 年 3 月

北海道大学

対馬 那由多

目次

1. 発表論文目録および学会発表目録	1 頁
2. 要旨	3 頁
3. 略語表	7 頁
4. 本論文全体の緒言	8 頁
5. 第一章	
5.1 緒言	11 頁
5.2 方法	12 頁
5.3 結果	16 頁
5.4 考察	22 頁
6. 第二章	
6.1 緒言	25 頁
6.2 方法	26 頁
6.3 結果	29 頁
6.4 考察	36 頁
7. 総括および結論	39 頁
8. 謝辞	41 頁
9. 利益相反	42 頁
10. 引用文献	43 頁

1. 発表論文および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した

原著論文

1. Tsushima N, Kano S, Hatanaka K, Suzuki T, Hamada S, Idogawa H, Nakamaru Y, Suzuki M, Hatanaka Y, Homma A: Targeted Next-generation Sequencing of Japanese Patients with Sinonasal Mucosal Melanomas Identifies Frequent NRAS and CTNNB1 mutations. *Auris Nasus Larynx*, In press
2. Tsushima N, Kano S, Yasuda K, Suzuki T, Hamada S, Nakamaru Y, Suzuki M, Uchinami Y, Aoyama H, Homma A: Treatment outcomes of the patient with sinonasal mucosal melanoma: the role of endoscopic resection and postoperative radiotherapy. *Int J Clin Oncol*, 28, 1218–1226, 2023
3. Tsushima N, Kano S, Suzuki T, Idogawa H, Yoshida D, Yasuda K, Otsuka M, Aoyama H, Homma A: Salvage surgery improves the treatment outcome of patients with residual/recurrent maxillary sinus cancer after superselective intra-arterial cisplatin infusion with concomitant radiation therapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 279, 899–905, 2022

本研究の一部は以下の学会に発表した

国際学会

1. Tsushima N, Kano S, Mizumachi T, Suzuki T, Homma A: Validity of endoscopic resection and postoperative radiation therapy for treatment of sinonasal malignant melanoma, International Congress of ORL-HNS 2019, Seoul, Korea, 2019
2. Tsushima N, Kano S, Suzuki T, Hamada S, Yasuda K, Aoyama H, Homma A: Treatment outcome of endoscopic surgery and postoperative radiotherapy for sinonasal mucosal melanoma, AHNS 11th International Conference on Head and Neck Cancer, Montreal, Canada, 2023
3. Tsushima N, Kano S, Suzuki T, Hamada S, Idogawa H, Homma A: Treatment outcomes of sinonasal mucosal melanoma: usefulness of endoscopic surgery and postoperative radiotherapy, 3rd International Congress of the Asian Oncology Society in conjunction with the 61st Annual Meeting of Japan Society of Clinical Oncology, Yokohama, 2023

国内学会

1. 対馬 那由多, 加納 里志, 水町 貴諭, 鈴木 崇祥, 本間 明宏: 当科における鼻副鼻腔悪性黒色腫症例治療成績の検討, 第 29 回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会, 2019
2. 対馬 那由多, 加納 里志, 水町 貴諭, 鈴木 崇祥, 本間 明宏: 鼻副鼻腔悪性黒色腫症例治療成績の検討, 第 45 回北海道頭頸部腫瘍研究会, 2019
3. 対馬 那由多, 加納 里志, 鈴木 崇祥, 浜田 誠二郎, 八木 建樹, 本間 明宏: 鼻副鼻腔悪性黒色腫根治治療例の検討, 第 31 回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会, 2022
4. 対馬 那由多, 加納 里志, 鈴木 崇祥, 浜田 誠二郎, 安田 耕一, 清水 康, 田口 純, 本間 明宏: 次世代シーケンサーによる鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の遺伝子発現解析, 第 47 回日本頭頸部癌学会・学術講演会, 2023

2. 要旨

【背景と目的】

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫は予後不良な疾患であり、5年全生存率は24%とされている。経過を通して局所再発を43%、遠隔転移を66%に生じた報告も見られる。標準治療は手術および術後放射線治療である。鼻副鼻腔領域は顔面の骨構造に囲まれており、外切開手術を行う場合、顔面の変形、嚥下機能低下、視機能の低下といった術後の後遺症を避けることはできない。病変の切除が困難な場合は根治的な放射線治療が行われる。

当院での鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する治療方針は、可能であれば鼻内内視鏡手術を行い、全例に術後放射線治療(2018年以降は術後陽子線治療)を勧めている。この方針は一貫しており、治療成績を確認することで内視鏡手術と術後放射線治療が妥当な治療方法であるかを確認する。既報告と同等の治療成績であれば、外切開に比べて術後の後遺症を軽減できることから内視鏡手術と術後放射線治療の有用性を示すことができると考えた。

悪性黒色腫に関する薬物療法に関しては、BRAF V600変異を認める皮膚悪性黒色腫に対するBRAF阻害薬とMEK阻害薬の併用による分子標的治療が標準薬物療法として確立している。さらに抗PD-1阻害薬などが開発されてからは、免疫チェックポイント阻害薬の有効性が確認され皮膚悪性黒色腫の標準薬物療法の1つになっている。一方、粘膜悪性黒色腫における遺伝子変異の報告は少数であり、本邦からの報告はない。そのため、粘膜悪性黒色腫においては免疫チェックポイント阻害薬が薬物療法の主役となり、分子標的治療が確立していない。日本人の鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における遺伝子変異を解析することで、皮膚悪性黒色腫のようにドライバー遺伝子を標的とした分子標的薬の対象となる変異が見いだされる可能性がある。次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子変異解析と臨床病理学的特徴の評価を行い、遺伝子変異と予後の関連についても解析することで、遺伝子変異が予後規定因子となりえるかについても検討する。

【対象と方法】

当院で根治目的の治療を行った鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫症例を対象とした。

1. 30例を対象として、予後に関する後方視的検討を行った。主要評価項目は全生存率、副次的評価項目は無再発生存率、累積遠隔転移率および局所再発率とした。これらの算出にはKaplan-Meier法を用いた。

2. 18例を対象として、手術検体を用いて次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子変異検索を行った。CTNNB1変異を認めた症例には表現型の確認のためβカテニンの免疫組織化学染色を行った。遺伝子変異の有無による臨床病理学的特徴および予後との関連についても解析を行った。

【結果】

1. 28例に対して手術が行われ、その他2例には根治目的の陽子線治療が施行された。21例は内視鏡手術のみで病変が切除された。手術症例には全例に術後放射線治療が行われた。19例に遠隔転移を認め、原病死した11例の死因はすべて遠隔転移によるものであった。2年全生存率は70%、5年全生存率は46%であり、2年累積遠隔転移率および2年局所再発率はそれぞれ63%、6.7%であった。
2. 18例のうち8例(44%)に何らかの遺伝子変異を認めた。NRAS変異が最多であり6例(33%)であった。次いでCTNNB1変異を2例(11%)に認め、1例はNRAS変異との重複であった。BRAF変異は1例(5.6%)に認めたが、分子標的薬の対象となるV600変異は認めなかった。遺伝子変異の有無による臨床病理学的特徴および予後との有意な関連はなかったが、NRAS変異例ではT4症例が多く、生存率も劣る傾向が見られた。CTNNB1変異を認めた2例ではいずれにおいても免疫組織化学染色によりβカテニンの核移行が確認された。

【考察】

1. 2年および5年全生存率は既報告に遜色ない成績であった。したがって内視鏡手術と術後放射線治療を基本とした当科の治療方針は妥当であると考える。

局所再発を認めた4例はいずれも切除断端陽性であった。本研究においては9例が切除断端陽性であり、これら9例のうち5例では局所再発を認めなかった。すなわち、切除断端陽性であり局所再発を認めなかった5例では、残存病変は術後放射線治療により消失した可能性がある。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の切除において広い安全域を確保することは重篤な術後後遺症につながり、適切な切除範囲を決定することは困難な場合がある。

既報告において術後放射線治療は局所制御を改善するが全生存率には寄与しないとされている。しかし、鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における局所再発は痛み、出血、顔面の変形などを生じ生活の質を大きく低下させる。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の切除においてはその解剖学的特徴から一塊にしての切除が困難で

あり、複数に分けての切除とせざるを得ない場合がある。時に病変がスキップし複数に分かれていることもあり、適切な断端評価が困難なことも経験する。現状でどのような症例で術後放射線治療が省略可能であるのか判断する基準は定まっていないこともあり、当科では全例に術後放射線治療を勧めている。

遠隔転移の制御に関しては、免疫チェックポイント阻害薬による術後補助薬物療法が選択肢に含まれる。多数の粘膜悪性黒色腫症例を対象とした前向き臨床試験は行われていないが、PD-1 阻害薬であるニボルマブの投与が予後改善に寄与する可能性がある。

2. NRAS 変異は本研究で最多 (33%) であり、既報告における皮膚悪性黒色腫における NRAS 変異の頻度は 15–20% である。粘膜悪性黒色腫における NRAS 変異の頻度は欧米において 7/71 例 (10%)、2/30 例 (7%)、8/56 例 (14%) と報告されている。中国からは 4/7 例 (57%) の報告があり、NRAS 変異はアジア圏において欧米よりも高い可能性がある。

過去の報告では 11 例の粘膜悪性黒色腫と 20 例の皮膚悪性黒色腫を対象として NRAS 変異例が有意に予後不良であったとしており、NRAS 変異は予後規定因子となっている可能性がある。NRAS 変異に対する分子標的薬は確立していないが、MEK 阻害薬単剤および pan-RAF 阻害薬と MEK 阻害薬の併用により NRAS 変異を認める皮膚悪性黒色腫で予後が改善した報告がある。NRAS 変異をもつ粘膜悪性黒色腫においても、RAF および MEK の活性化が生じていることが予想されるため RAF 阻害薬や MEK 阻害薬が有効な可能性があると考えられる。

βカテニンは CTNNB1 遺伝子にコードされ、その活性化は腫瘍の発生に関与する。CTNNB1 遺伝子に変異が生じた場合、βカテニンは核内に移行し、転写因子として機能する。中国より粘膜悪性黒色腫 67 例中 4 例 (6%) において CTNNB1 変異を認めたことが報告されている。CTNNB1 変異は進行した粘膜悪性黒色腫例において免疫チェックポイント阻害薬に対する抵抗性を示すとされている。βカテニンの免疫組織化学染色は CTNNB1 変異の同定と比較して安価であり、多くの施設で行うことができ、結果の判明も早い。βカテニンの免疫組織化学染色により CTNNB1 変異の有無を推定できる可能性がある。

本研究では BRAF 変異を 1 例 (5.6%) に認めた。粘膜悪性黒色腫における BRAF 変異の頻度は、既報告では 0–14% とされている。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に限定した場合、4/90 例 (4.4%) に BRAF 変異を認めたが、V600 変異は含ま

れなかったとする報告がある。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫においては、BRAF V600 変異の頻度の低さから分子標的薬の対象となる症例は稀であると考え
る。

【結論】

1. 局所病変は内視鏡手術と術後放射線治療により、重篤な術後後遺症を避けたいうえで一定の制御が得られる。予後改善には遠隔転移の制御が求められる。
2. 遺伝子変異の有無は臨床病理学的特徴および予後との有意な関連を認めなかったが、NRAS 変異は予後と関連し、CTNNB1 変異は免疫チェックポイント阻害薬の抵抗性に関連している可能性がある。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫症例における遺伝子変異の意義を明らかにするには大規模な前向き臨床試験が必要である。

3. 略語表

本文中，ならびに図表中で使用した略語は以下のとおりである。

AWD	alive with disease
BRAF	v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
BSC	best supportive care
COSMIC	Catalogue of Somatic Mutations in Cancer
CT	computed tomography
CTNNB1	catenin beta-1
DNA	deoxyribonucleic acid
DOD	die of the disease
DOOD	die of other disease
ERK	extracellular signal-regulated kinase
ICI	immune checkpoint inhibitor
MEK	mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase
MRI	magnetic resonance imaging
NCCN	national comprehensive cancer network
ND	neck dissection
NED	no evidence of disease
NGS	next-generation sequencer
NRAS	neuroblastoma RAS viral oncogene homolog
PET	positron emission tomography
PORT	postoperative radiation therapy
RBE	reactive biological effectiveness
RNA	ribonucleic acid
UICC	union for international cancer control

4. 本論文全体の緒言

粘膜悪性黒色腫は希少がんの一種として知られ、年間の発症頻度は10万人あたり0.7人とされる (Papasprou et al, 2011). 明確なリスク因子は知られていないが、喫煙の関与を疑う報告がある (Ma et al, 2021). 粘膜悪性黒色腫は50%以上が頭頸部領域に発生し、そのうち66%が鼻副鼻腔原発と報告されている (Crippen et al, 2018). その他の好発部位としては肛門直腸や膺外陰が知られている (Ma et al., 2021). 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の予後は局所再発と遠隔転移のため不良であり、既報告では5年全生存率が24% (Elsamna et al, 2021), 経過を通して局所再発を43%, 遠隔転移を66%に認めたことも報告されている (Lombardi et al, 2016; Samstein et al, 2016). 予後不良であることから、TNM分類ではステージIおよびIIは存在せず、ステージIIIもしくはIVいずれかに分類される. 皮膚悪性黒色腫における5年全生存率はステージにより大きく異なるが、全体で83.8% (Buja et al, 2021), 局所再発と遠隔転移はそれぞれ7%(Ng et al, 2001), 8.7–43%との報告がある (Chu et al, 2021; Hohnheiser et al, 2011). 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫は皮膚悪性黒色腫と比較して全生存率が劣り、局所再発および遠隔転移の制御が困難な疾患である.

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の標準治療は手術および術後放射線治療であるが、鼻腔や上顎洞および篩骨洞などの副鼻腔は頭蓋底や眼窩に隣接しており (図1), それらに腫瘍が浸潤した場合の切除には大きな侵襲を伴う. また、鼻副鼻腔は顔面の骨構造に囲まれており、腫瘍が鼻副鼻腔内に限局している場合にも外切開による手術では顔面の皮膚切開を要し、術後の変形や視機能低下といった後遺症を避けることができない. 後遺症を軽減可能な鼻内内視鏡手術も術式の選択肢に含まれるが、外切開手術との選択基準は定まっていない. 術後放射線治療に関しても有効性に関する明らかなエビデンスはない. 術後補助療法には遠隔転移の制御を目的とした免疫チェックポイント阻害薬 (Immune checkpoint inhibitor; ICI) を用いた薬物療法も選択肢に含まれる (Haddad et al, 2021). しかし、その希少性から大規模な前向き臨床試験は行われておらず、適応基準は確立していない. 粘膜悪性黒色腫は病因に関する研究が進んでおらず、遺伝子変異の報告も少数にとどまる. 日本人における粘膜悪性黒色腫に関する遺伝子変異の報告はこれまで見られない.

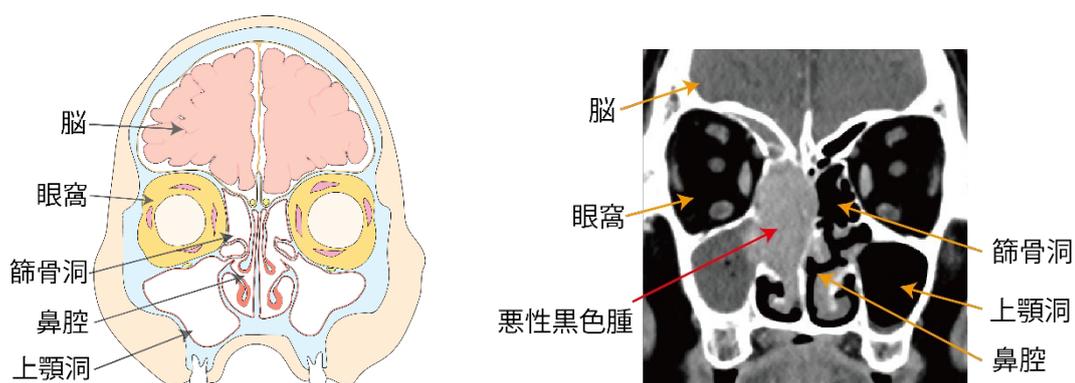


図 1. 鼻副鼻腔と周囲の構造 (a), 右鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の造影 CT 冠状断 (b).

皮膚粘膜悪性黒色腫は年間発症頻度が 10 万人あたり白人で 24.3 人, アジア人で 2.3 人と人種差を認める (藤澤・大塚, 2013). 皮膚悪性黒色腫は遺伝子変異の解析が進んでおり, 66%に遺伝子変異を認め, そのうち 80%が v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) 遺伝子における V600E 変異であることが知られている (Si et al, 2012). BRAF V600 変異をもつ皮膚悪性黒色腫に対する BRAF 阻害薬と mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase (MEK) 阻害薬を用いた分子標的薬による併用療法は標準治療の 1 つとして広く臨床で用いられている. 皮膚悪性黒色腫の薬物療法としては ICI, ドライバー遺伝子を標的とした分子標的薬のいずれも標準治療として確立している. 一方, 粘膜悪性黒色腫では neuroblastoma RAS viral oncogene homolog (NRAS) や KIT の変異を認めた報告はあるが, BRAF V600 変異は稀であり, 現段階では他の治療につながる遺伝子変異は確認されておらず, 一般にドライバー遺伝子を標的とした分子標的治療の対象とはならない. 表 1 に粘膜悪性黒色腫と皮膚悪性黒色腫の特徴, 図 2 に粘膜悪性黒色腫の内視鏡所見を示す.

表 1. 皮膚および粘膜悪性黒色腫の臨床的特徴

	皮膚悪性黒色腫	粘膜悪性黒色腫
頻度 (10万人/年)	白人 24.3, アジア人 1.7	全人種 0.7
リスク因子	紫外線暴露	不明
5年全生存率	83.8%	24%
初回治療	手術 (+薬物療法 (+術後放射線治療))	手術+術後放射線治療 (+薬物療法)
薬物療法	免疫チェックポイント阻害薬, BRAF 阻害薬+MEK 阻害薬	免疫チェックポイント 阻害薬
主な遺伝子変異	BRAF V600	NRAS, KIT など



図 2. 内視鏡で観察した鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫は予後が不良であり，改善するためには適切な局所治療と遠隔転移への有効な薬物療法が求められている．局所治療に関しては術式選択および術後放射線治療の適応基準の妥当性を明らかにする必要がある．遠隔転移については ICI 以外の薬物療法が確立していないことが課題となっており，遺伝子変異の解析により新たな分子標的治療が可能となれば予後の改善が期待できる．

本論文では第一章において当院における鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する治療方針の妥当性を検討した．当院では鼻内内視鏡手術と術後放射線治療を基本方針としており，外切開手術による術後の形態変化，機能低下を回避した治療戦略で良好な予後が得られているのかを確認した．第二章では手術検体を用いて次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析を行った．これまでに報告の無かった日本人の鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の遺伝子変異を解析することにより予後への影響を検討し，さらには現状確立していないドライバー遺伝子を標的とした分子標的薬の対象となる遺伝子変異の同定を試みた．

5. 第一章

5.1. 緒言

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫は予後不良な疾患であり、5年全生存率は24% (Elsamna et al, 2021), 経過を通して局所再発を43%, 遠隔転移を66%に生じた報告も見られる (Lombardi et al, 2016; Samstein et al, 2016). 標準治療は手術および術後放射線治療である (Haddad et al, 2021). 近年の内視鏡手術の発展により、鼻副鼻腔領域において良性腫瘍のみでなく悪性腫瘍に対してもその適応が拡大している (Tsushima et al, 2022; López et al, 2022; Nakamaru et al, 2021). 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する内視鏡手術の治療成績も報告されており、これまでの外切開手術と同等の治療効果が示されている (Farber et al, 2019; Hur et al, 2019; Swegal et al, 2014). 鼻副鼻腔領域は顔面の骨構造に囲まれており、外切開手術では顔面の皮膚切開を要し、進展範囲によっては上顎や眼球などの眼窩内容の切除が必要となる。そのため、外切開手術を行う場合、顔面の変形、嚥下機能低下、視機能低下といった術後の後遺症を避けることはできない。術式に関して定まった基準はなく、現状では各施設の判断に委ねられている。術後放射線治療についても適応の判断基準は確立していない。根治目的の放射線治療も選択肢に含まれるが、National Comprehensive Cancer Network (NCCN) をはじめとしたガイドラインにおける標準治療は手術および術後放射線治療である。

当院での鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する治療方針を図3に示す。手術適応があると判断した場合は、可能であれば内視鏡手術を行う。内視鏡手術による病変の根治的な切除が困難である場合は、外切開手術との併用もしくは外切開手術単独での切除を行う。判断基準としては、完全な腫瘍の切除もしくは肉眼的な遺残病変を認めずに切除可能 (R0 もしくは R1 切除, 表2) と判断した場合には内視鏡手術の適応としている。術後は全例に放射線治療を勧めている。明らかな残存病変 (R2 切除) が想定されるなど根治切除が困難である場合や患者が手術を希望しなかった場合は根治目的の放射線治療を行っている。当院での治療方針は一貫しており、治療成績を確認することで内視鏡手術と術後放射線治療が妥当な治療方法であるかを確認する。既報告と同等の治療成績であれば、術後の後遺症を軽減できることから内視鏡手術と術後放射線治療の有用性を示すことができると考えた。

表 2. 切除断端の R 分類による評価

R0 切除	完全に腫瘍が切除されている
R1 切除	肉眼的に腫瘍が切除されているが、顕微鏡的に残存
R2 切除	肉眼的に腫瘍が残存

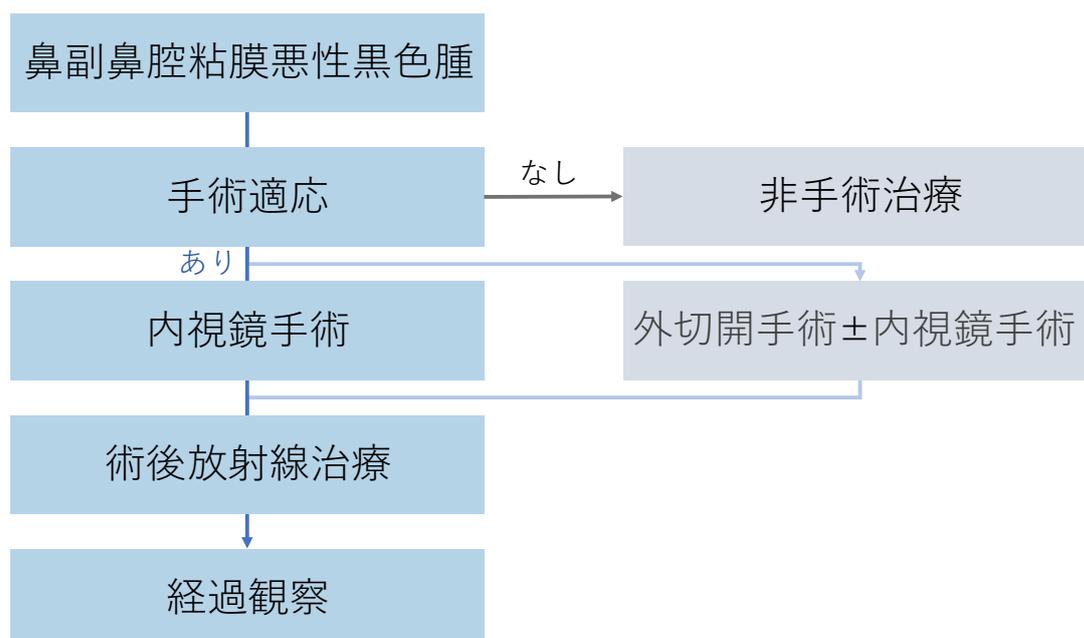


図 3. 当院の治療方針

5.2. 方法

対象は 2002 年 1 月から 2021 年 4 月に当院で治療を行った鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫症例とした。同期間に当院を受診した患者は 32 例であり、そのうち 2 例は根治治療を行っておらず除外した。1 例は初診時に遠隔転移を認めており、もう 1 例は全身状態が不良であることから根治治療を行うのは困難と判断した。30 例が対象となり、全例で病理組織学的検査により粘膜悪性黒色腫であることが確認されていた。対象例の患者背景を表 3 に示す。男性 18 例、女性 12 例であり、年齢の中央値は 72 歳であった。観察期間の中央値は 2.2 年であり、範囲は 0.5–8.6 年であった。28 例は鼻腔原発であり、副鼻腔原発は 2 例であった。T4b 症例は本研究に含まれていなかった。本研究は北海道大学病院倫理審査番号 C-T2020-0152 の一部として、ヘルシンキ宣言に基づき行われた。

表 3. 患者背景

項目	n (%)
全体	30
性別	
男性	18 (60)
女性	12 (40)
年齡	
中央值 (範圍)	72 (45-83)
經過觀察期間, 年	
中央值 (範圍)	2.2 (0.5-8.6)
亜部位	
鼻腔	28 (93)
側壁	20 (67)
鼻中隔	6 (20)
鼻腔底	2 (6.7)
副鼻腔	2 (6.7)
上顎洞	2 (6.7)
T 分類	
3	22 (73)
4a	8 (27)
4b	0
N 分類	
0	28 (93)
1	2 (6.7)
臨床病期	
III	22 (73)
IV	8 (27)

治療前評価

臨床病期は鼻副鼻腔内視鏡所見，造影 computed Tomography (CT) および magnetic resonance imaging (MRI)，positron emission tomography (PET)-CT に基づいて決定した。造影剤の使用に支障がある場合は単純 CT および MRI による評価も可能とした。リンパ節腫大の病的意義判断が困難である場合は超音波検査所見を判断基準として用いた。全症例において，臨床病期は頭頸部外科医，放射線治療医，放射線診断医，腫瘍内科医で構成される頭頸部がんセンターボードにより決定した。臨床病期の判断には UICC 第 7 版の TNM 分類を用いた。

手術および術後放射線治療

全対象 30 例のうち 28 例に対して手術治療を行った。他の 2 例には根治目的の陽子線治療を行った。陽子線治療を行った 2 例はいずれも腫瘍が鼻翼に進展しており，切除のみでなく自家組織移植が必要であることを説明すると手術を希望されなかった。手術症例 28 例のうち 21 例 (75%) に対しては内視鏡手術のみでの切除を行った。術後放射線治療は 28 例全例に対して行われ，そのうち 17 例には X 線，11 例には陽子線が用いられた。2017 年までは X 線による術後放射線治療を行っていたが，2018 年からは陽子線治療に変更している。術後放射線治療の場合，照射線量は X 線では 60 gray (Gy)/30 fraction (fr)，陽子線治療では 30 Gy reactive biological effectiveness (RBE)/5fr とした。R2 切除となった場合，もしくは根治治療としての放射線治療では 60 Gy RBE/15fr の陽子線治療を行った。術後放射線治療開始前に間質性肺炎と大血管炎を生じた 1 例に対しては，術後放射線治療を早期に終えるため X 線による 30 Gy/5fr の照射を行った。手術および放射線治療の内容は表 4 に示した。

表 4. 治療内容

治療内容	n
手術	28
内視鏡手術	21
内視鏡と外切開の併用	1
外切開手術	6
術後放射線治療	28
X 線/陽子線	17/11
根治的放射線治療	2
X 線/陽子線	0/2

治療後経過観察

治療後 1 年間は再発有無確認のため月に 1 度の診察を行った。治療後 1 年から 2 年までは 2 か月に 1 度、その後は 3 か月から 6 か月に 1 度の診察を行った。CT もしくは MRI による評価は 3 か月から 6 か月の間隔で行った。PET-CT による評価は CT や MRI での良悪性判定が困難な場合に行った。再発もしくは残存が疑われる場合は可能であれば組織生検もしくは穿刺吸引細胞診を行った。

再発形式

再発形式は初回の再発部位により決定した。局所再発、頸部再発、局所および頸部再発、遠隔転移を含む再発の 4 群いずれかに分類した。残存と再発は、その判断が困難であることから、区別しなかった。遠隔転移と同時に局所もしくは頸部転移を認めた場合は遠隔転移を含む再発に分類し、再発形式ごとに予後を解析した。

統計学的解析

統計学的解析は JMP Pro 16.0.0 (SAS institute, Cary, NC, USA) を用いて行った。主要評価項目は全生存率とした。全生存率，無再発生存率，累積遠隔転移率，累積局所再発率は Kaplan-Meier 法により算出した。起算日は治療開始日として，2022 年 6 月 30 日まで予後の追跡を行った。二群間の予後の比較は log-rank 検定を用い，P 値 0.05 未満である場合に有意とした。

Cox 比例ハザードモデルによるハザード比と 95%信頼区間の推定を単変量解析として行った。全生存と累積遠隔転移に対して年齢，性別，亜部位，T 分類および N 分類を対象項目とした。症例数が少ないため，多変量解析は施行しなかった。

5.3. 結果

再発形式

対象経過観察期間中に 21 例 (70%) に再発を認めた。図 4a に初回再発形式を示す。初回再発は 3 例で局所再発，3 例に頸部再発，15 例が遠隔転移を含む再発であった。経過観察中に認めた全ての再発形式を図 4b に示す。遠隔転移は 19 例 (63%) に認めた。遠隔転移の形式としては肺が 11 例と最多であり，肝臓 10 例，副腎 6 例が続いた (表 5)。

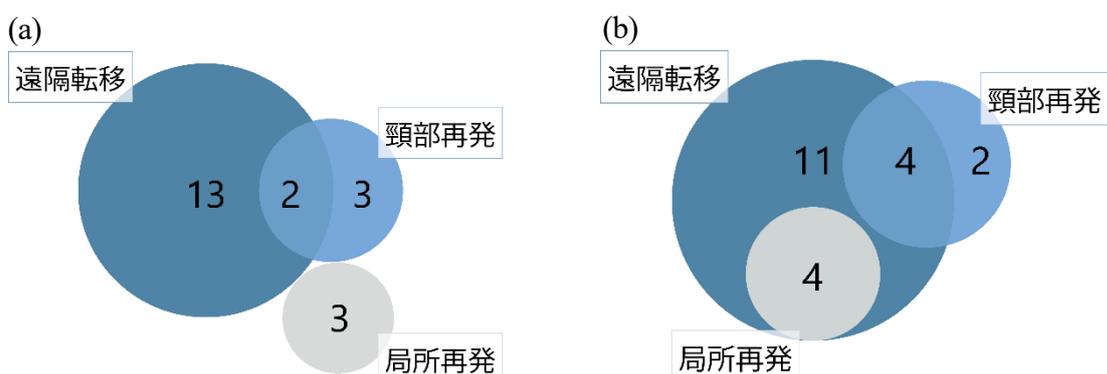


図 4. 再発形式 (a = 初回再発, b = 全再発)

表 5. 遠隔転移臓器

遠隔転移臓器	n
肺	11
肝臓	10
副腎	6
骨	5
皮下	4
腹膜	4
筋	3
膵臓	3
脳	2
皮膚	1
縦隔	1

* 重複あり

臨床経過

臨床経過を図 5a に示す。局所再発した 3 例はいずれもその後遠隔転移を認めた (図 5b)。頸部再発をきたした 3 例のうち 2 例には頸部郭清術を施行し、1 例には ICI による薬物療法を行った (図 5c)。遠隔転移を含む再発に分類された 15 例のうち 12 例に薬物療法を施行した (図 5d)。そのうち 2 例には薬物療法後に残存した単独の遠隔転移病変に対する救済手術を行った。1 例には膵尾部切除術、もう 1 例には肝左葉切除術を施行し、いずれも非担癌生存中である。観察期間中に 13 例が死亡し、11 例 (85%) は遠隔転移によるものだった。他の 2 例は他臓器のがんによる死亡であった。陽子線治療による根治照射を行った 2 例はいずれも非担癌生存中である。

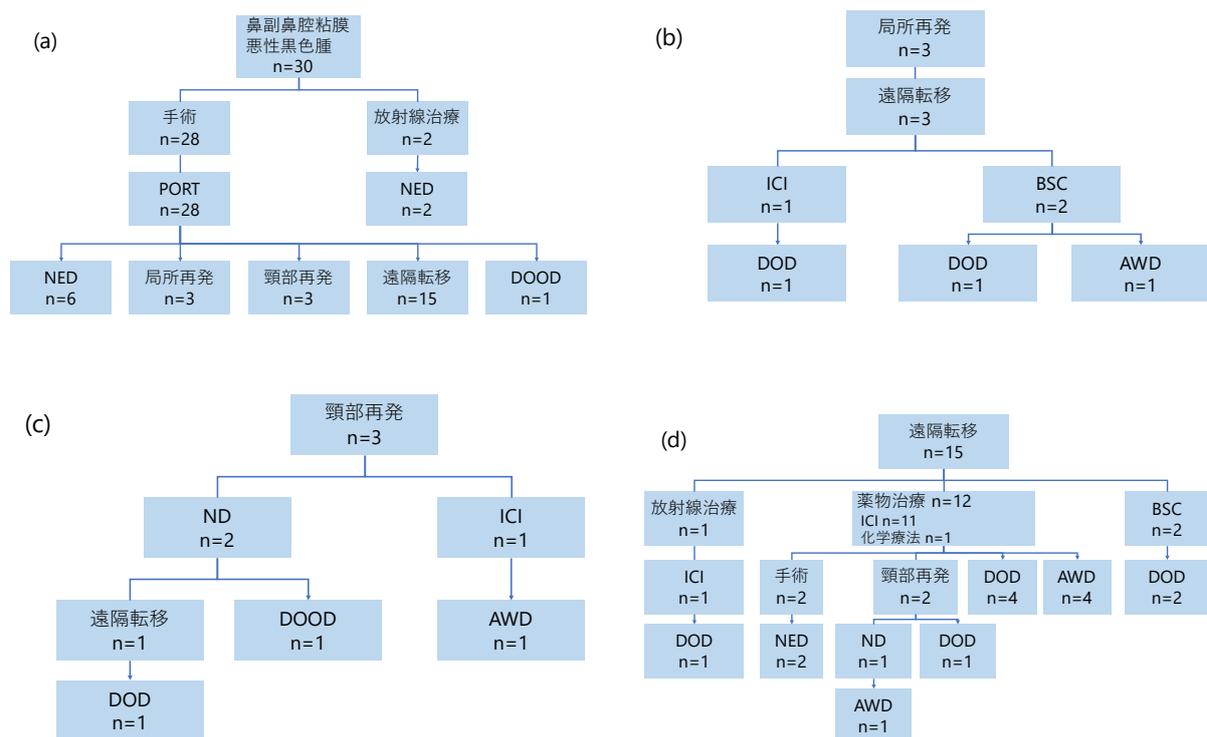


図 5. 臨床経過

PORT, postoperative radiotherapy; NED, no evidence of disease; DOOD, die of other disease; ICI, immune checkpoint inhibitor; BSC, best supportive care; DOD, die of the disease; ND, neck dissection; AWD alive with disease

手術

手術後の病理診断において 9 例は病変の多発や広範囲な進展により切除断端陽性であった。そのうち 7 例は R1 切除であり、他 2 例は R2 切除であった。R2 切除であった 2 例のうち 1 例には内視鏡手術を行っており、腫瘍が涙嚢に進展しており遺残した。もう 1 例は、内視鏡と外切開の併用による手術を行い、腫瘍が脳実質に浸潤しており完全切除は困難であった。7 例では切除断端への腫瘍浸潤が不明であり、12 例では断端陰性であった。術後合併症は 3 例に認め、2 例が創感染、1 例は術後出血であった。感染を認めた 2 例は初回手術として上顎全摘術を施行していた。いずれの合併症も Clavien-Dingo classification においてグレード 2 以下であった。

生存率および累積遠隔転移率，累積局所再発率

全症例の2年全生存率は70%，5年全生存率は46%であった(図6a)。図6bはT分類ごとの全生存率を示しており，T4症例では有意に全生存率が低かった($P = 0.049$)。2年および5年無再発生存率はそれぞれ29%，17%であり(図6c)，T4症例において有意に無再発生存率が低かった(図6d， $P = 0.022$)。2年累積遠隔転移率は63%であり(図6e)，T分類による有意差を認めた($P = 0.023$)。一方，2年累積局所再発率は6.7%であり，T4症例における局所再発は認めなかった(図6g, h)。

表6に全生存に対する単変量解析を示した。いずれも有意なリスク因子ではなかった。一方で累積遠隔転移に関しては，T分類(ハザード比3.8; 95%信頼区間1.3–11)，亜部位(ハザード比19; 95%信頼区間2.6–139)は累積遠隔転移に対する有意なリスク因子であった(表7)。

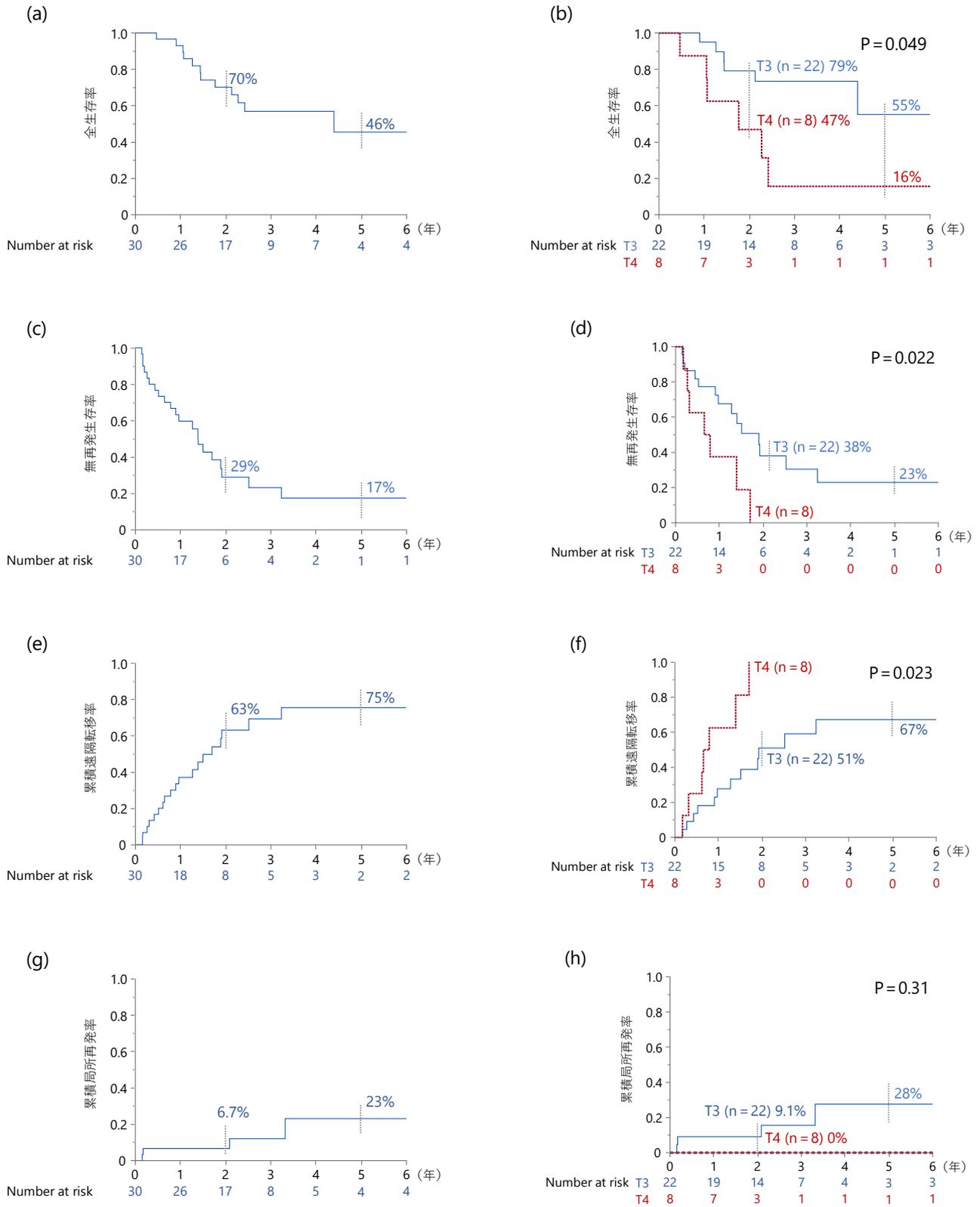


図 6. 全生存率 (a, b), 無再発生存率 (c, d), 累積遠隔転移率 (e, f), 累積局所再発率 (g, h)

表 6. 全生存率に対する単変量解析

単変量解析			
因子	n	ハザード比 (95% 信頼区間)	P 値
性別			0.52
男性	18	1	
女性	12	1.4 (0.48–4.3)	
年齢			0.09
< 71	15	1	
≥ 71	15	2.6 (0.86–8.3)	
亜部位			0.08
鼻腔	28	1	
副鼻腔	2	4.0 (0.86–18)	
T 分類			0.06
3	22	1	
4	8	2.9 (0.96–8.9)	
N 分類			0.99
0	28	1	
1	2	n. s	

表 7. 遠隔転移に対する単変量解析

単変量解析			
因子	n	ハザード比 (95% 信頼区間)	P 値
性別			0.59
男性	18	1	
女性	12	1.29 (0.52–3.2)	
年齢			0.70
< 71	15	1	
71 ≤	15	0.83 (0.33–2.1)	
亜部位			0.004
鼻腔	28	1	
副鼻腔	2	19 (2.6–139)	
T 分類			0.011
3	22	1	
4	8	3.8 (1.3–11)	
N 分類			0.99
0	28	1	
1	2	n. s	

5.4. 考察

本研究において2年および5年全生存率はそれぞれ70%、46%であり、既報告に遜色ない成績であった (Amit et al, 2018; Flukes et al, 2021; Lombardi et al, 2016; Samstein et al, 2016; Sun et al, 2014) (表8)。したがって内視鏡手術と術後放射線治療を基本とした当科の治療方針は妥当であると考え。当科では頭蓋底手術や眼窩内容の切除を含むような拡大手術は行っていない。これら高侵襲な手術は必ずしも予後向上にはつながらないと考えており、本邦の既報告でも鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の頭蓋底手術は予後を考慮すると適応にはならないとされている (犬山ほか, 1996)。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する頭蓋底手術における周術期の死亡率と合併症の頻度はそれぞれ6%、26%と報告されている。これらの数値は他の頭蓋底悪性腫瘍と同等であるが、頭蓋底手術を行った鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の3年全生存率は28%と報告され、頭蓋底手術後の5年生存率が80–90%の嗅神経芽細胞腫、44%の扁平上皮癌と比較して大きく劣る (Ganly et al, 2006)。

表8. 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における本報告と既報告の全生存率比較

	n	観察期間	2年全生存率 (%)	5年全生存率 (%)
本研究	30	2002–2021	70	46
Flukes S et al.	100	1997–2018	68	38
Amit M et al.	198	1991–2016	-	38
Lombardi D et al.	58	2002–2013	-	29
Samstein RM et al.	78	1998–2013	-	31
Sun CZ et al.	68	1976–2005	-	30

本研究における2年および5年累積局所再発率はそれぞれ6.7%、23%であった (図6g)。局所再発は4例のT3症例に生じ、T4症例における局所再発例はなかった。局所再発を認めた4例はいずれも切除断端陽性であった。本研究においては9例が切除断端陽性であり、これら9例のうち5例では局所再発を認めなかったが、これらは残存病変が術後放射線治療により消失したと考えられる。鼻副鼻腔粘膜悪性黒

色腫において内視鏡手術により広い安全域を確保することは困難であるが、術後放射線治療により一定の局所制御が得られた。予後は遠隔転移に強く影響を受けるため、当科では術後の後遺症が強くなる拡大手術を勧めていない。本研究では T4 症例における局所再発例を認めなかったが、T4 症例の 2 年無再発生存率は 0% であり (図 6d) , 遠隔転移により早期に死亡し、長期経過を確認できていないことが原因の一つとなっている可能性がある。

本研究では全体の 63% にあたる 19 例で遠隔転移が生じており、原病死した 11 例の死因はいずれも遠隔転移であった (図 5) 。一般に遠隔転移に対しては薬物療法が行われるが、本研究で薬物療法後に残存した遠隔転移に対して救済手術を行った 2 例はいずれも非担癌生存中である。われわれは遠隔転移に対する救済手術の適応条件として、切除可能であることの他に病巣が 1 つで進行が比較的緩徐であることとしている。こうした、いわゆるオリゴメタスタシスに対する救済手術は治療成績の向上につながると考える。

補助薬物療法は皮膚悪性黒色腫において標準治療に含まれ、ICI による術後補助薬物療法により無遠隔転移生存率、無再発生存率、全生存率が向上したことが報告されている (Eggermont et al, 2016, 2015)。Checkmate238 試験では悪性黒色腫における術後ハイリスク群に対して PD-1 阻害薬であるニボルマブもしくは CTLA4 阻害薬であるイピリムマブによる術後補助薬物療法を行い、ニボルマブ群において有意に無再発生存率が向上したことが報告されている (Ascierto et al, 2020; Weber et al, 2017)。しかし、粘膜悪性黒色腫は 906 例のうち 29 例であることから、この結果をそのまま粘膜悪性黒色腫に外挿してよいのかという議論がある。Checkmate067 試験は切除困難もしくは遠隔転移を認める悪性黒色腫を対象として薬物療法のレジメンによる治療成績を比較しており、945 例中 79 例の粘膜悪性黒色腫が含まれている (Wolchok et al, 2022)。同試験ではイピリムマブ単独群と比較し、ニボルマブとイピリムマブ併用群もしくはニボルマブ単独群において全生存率と無再発生存率が向上していた。ニボルマブがイピリムマブより有効であることを示唆する結果であるが、Checkmate067 試験は術後補助薬物療法として行われたものではない。これまでに粘膜悪性黒色腫に対して術後補助薬物療法の成績を前向きに比較した試験はないが、

ニボルマブを用いた術後補助薬物療法は治療成績の向上につながる可能性がある。

これまで鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する術後放射線治療の有用性は十分に示されていない (Abiri et al., 2022)。既報告において術後放射線治療は局所制御を改善するが全生存率には寄与しないとされている (Flukes et al, 2021; Plavc et al, 2016)。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における局所再発は痛み、出血、顔面の変形などを生じ生活の質 (QOL) を大きく低下させる。本研究では外切開手術は内視鏡手術で十分な切除ができないと判断したときにのみ行った。したがって、過去の報告と比較して切除安全域は狭いと考えられる。それにも関わらず比較的良好な局所制御が得られていることは、術後放射線治療が寄与したと考える。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の切除においてはその解剖学的特徴から一塊にしての切除が困難であり、複数に分けての切除とせざるを得ない場合がある。時に病変がスキップし複数に分かれていることもあり、適切な断端評価が困難なことも経験する。現状でどのような症例で術後放射線治療が省略可能であるのか判断する基準は定まっていないこともあり、当科では全例に術後放射線治療を勧めている。本研究では術後放射線治療として X 線が 17 例、陽子線が 11 例に用いられ、局所再発は各々 3 例 (18%)、1 例 (9.1%) であった。

本研究には 2 例の初診時頸部転移症例を含むが、いずれも放射線治療により制御されていた。頸部再発は 6 例 (20%, 図 4b) に認めしたが、いずれも直接の死因となつてはいなかった。術前評価で頸部リンパ節転移を認めない N0 症例に対する予防的頸部郭清術や頸部への予防的放射線治療の効果に関する明らかなエビデンスはない。一方で予防的治療を行わないことは手術による肩の可動域低下や放射線治療による皮膚の拘縮などを避けることができる。利益と不利益を考慮し、当科では N0 症例に対する予防的頸部郭清術および放射線治療を行っていない。

以上より局所制御において、内視鏡手術と術後放射線治療を基本とした当科の治療方針は治療効果と術後 QOL の面から妥当であると考えられる。一方で治療成績の向上には遠隔転移の制御が必要である。第二章では遠隔転移を含めた予後と遺伝子変異の関連を検討する。

6. 第二章

6.1. 緒言

粘膜悪性黒色腫は希少がんの 1 つである。粘膜悪性黒色腫はアジア圏では全悪性黒色腫の 22.6%を占め、欧米 (全悪性黒色腫の 1.3%) と比べその割合が高いと報告されている (Tang et al, 2019)。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫は予後が不良であり、遠隔転移の制御が困難なことが知られている。

鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する標準治療は手術と術後放射線治療である。ICI による術後補助薬物療法も選択肢の 1 つであるが、その適応基準は定まっていない。粘膜悪性黒色腫は皮膚悪性黒色腫と比較して ICI の効果が劣ると報告されている (全生存期間中央値 18 か月対 45 か月, $P=0.003$) (Mao et al, 2021)。

皮膚悪性黒色腫の発癌メカニズムに関しては多数の報告がある。既報告では皮膚悪性黒色腫の 66%で BRAF 変異を認め、そのうちの 80%は BRAF V600E 変異とされている (Si et al, 2012)。BRAF V600 変異を認める皮膚悪性黒色腫に対する BRAF 阻害薬と MEK 阻害薬の併用は標準治療として確立している。一方、粘膜悪性黒色腫では遺伝子変異の頻度が皮膚原発と比較して少なく、BRAF V600 変異は稀である (Chłopek et al., 2022)。さらに日本人での遺伝子変異の報告はない。そのため、粘膜悪性黒色腫においては ICI が薬物療法の主役となり、BRAF のようなドライバー遺伝子を標的とした分子標的治療が確立していない。鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の予後改善のためには第一章で示したように薬物療法による遠隔転移の制御が求められている。日本人の鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫における遺伝子変異を解析することで、皮膚悪性黒色腫のように分子標的治療の対象となる変異が見いだされる可能性がある。本研究では鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫症例において次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子変異解析と臨床病理学的特徴の評価を行う。遺伝子変異と予後の関連についても解析することで、遺伝子変異が予後規定因子となりえるかについても検討する。

6.2. 方法

対象は 2003 年 1 月から 2021 年 3 月に当院で治療を行った鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫症例である。選択基準は (1) 病理組織学的検査で粘膜悪性黒色腫と診断されている, (2) 過去に治療歴がない鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫症例である, (3) 根治目的の手術が行われている, とした。保存されている組織検体が次世代シーケンサーによる解析に不適切な症例は除外とした。29 例が選択基準を満たし, そのうち 8 例は検体不良のために除外されて 21 例が本研究の対象となった。本研究は北海道大学病院倫理審査番号 C-T2020-0152 の一部として, 1964 年のヘルシンキ宣言を遵守して行われた。

治療方法

臨床病期は鼻副鼻腔内視鏡所見, 造影 CT および MRI, PET-CT に基づいて判断した。造影剤を使用できない場合は単純 CT および MRI も可能とした。リンパ節腫大の病的意義判断が困難である場合は超音波検査所見を判断基準として用いた。全症例において, 臨床病期は頭頸部外科医, 放射線治療医, 放射線診断医, 腫瘍内科医で構成される頭頸部がんボードにより決定した。臨床病期の判断には UICC 第 7 版の TNM 分類を用いた。

当院の治療方針は鼻内内視鏡手術と術後放射線治療を基本方針としている。内視鏡手術では病変の根治的な切除が困難である場合は, 外切開手術との併用もしくは外切開手術単独での切除を行う。術後は全例に放射線治療を勧めている。手術による根治的な切除が困難である場合や患者が手術を希望しなかった場合は根治目的の放射線治療を行っている。術前および術後補助薬物療法は行っていない

検体からの deoxyribonucleic acid (DNA) および ribonucleic acid (RNA) 抽出

組織検体は原発巣の手術検体から採取した。ヘマトキシリンエオジン染色により腫瘍の割合が高い部位を同定し, ホルマリン固定パラフィン包埋切片から 10 μm の厚さで切り出しを行った。検体に占める腫瘍の割合が 90%未満である場合はマクロダイセクション法により非腫瘍組織を除去した。DNA の抽出は GeneRead DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, NRW, Germany), RNA の抽出は ReliaPrep FFPE Total

RNA Miniprep System (Promega, Madison, WI, USA)を用いて行った。DNA および RNA の定量と品質評価はそれぞれ Qubit 2.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and TapeStation (Agilent, Santa Clara, CA, USA) を用いて行った。

next-generation sequencer (NGS)

遺伝子パネルとして The Ampliseq for Illumina Focus Panel (Illumina, San Diego, CA, USA) を用い、既知の固形腫瘍と関連する 52 種類の遺伝子変異について解析を行った (表 9)。ライブラリー構築には DNA and RNA were amplified using the Ampliseq library PLUS for Illumina (Illumina) を用いた。遺伝子増幅後のシーケンス反応には MiSeq sequencer (Illumina) を用いて遺伝子変異の解析を行った。

表 9. 遺伝子リスト (The Ampliseq for Illumina Focus Panel)

DNA pool				
AKT1	EGFR	FGFR4	JAK3	MYCN
ALK	ERBB2	GNA11	KIT	NRAS
AR	ERBB3	GNAQ	KRAS	PDGFRA
BRAF	ERBB4	HRAS	MAP2K1	PIK3CA
CCND1	ESR1	IDH1	MAP2K2	RAF1
CDK4	FGFR1	IDH2	MET	RET
CDK6	FGFR2	JAK1	MTOR	ROS1
CTNNB1	FGFR3	JAK2	MYC	SMO
DDR2				
RNA pool				
ABL1	EGFR	ETV5	NTRK1	PPARG
ALK	ERBB2	FGFR1	NTRK2	RAF1
AKT3	ERG	FGFR2	NTRK3	RET
AXL	ETV1	FGFR3	PDGFRA	ROS1
BRAF	ETV4	MET		

シーケンス結果の解析

シーケンス反応後、Base Space Sequence HUB 上の DNA amplicon および RNA amplicon (Illumina) を用いて FASTQ ファイルより一遺伝子変異および塩基の挿入、欠失、融合遺伝子の検出を行った。下記基準で有意な遺伝子変異を選択した。(1) バリアントの頻度が 10%以上であること、(2) バリアント領域で 10x カバレッジ以上であること、(3) 同義置換 (塩基が変化してもコードするアミノ酸は変わらない)

ではないこと, (4) エクソンにおける変異であること, (5) Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC) database (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>)に登録されている変異であること. 遺伝子変異の機能的意義に関しては ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) database to ascertain the pathogenicity of the variants を用いて評価した.

免疫組織化学染色

catenin beta-1 (CTNNB1) 変異を認めた症例に対してβカテニンの免疫組織化学染色を行った. CTNNB1 遺伝子はβカテニンをコードしており, その遺伝子変異が生じるとβカテニンの核移行が生じることが知られている. ホルマリン固定パラフィン包埋切片を 3 μm 厚に切離し, キシレンとエタノール類により再水和化し脱パラフィン処理を行った. EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (Dako, Carpinteria, CA, USA) 中で 20 分間沸騰させて抗原賦活した. 緩徐に冷却した後に EnVision FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (Dako)を用いて室温で 5 分間反応させて内因性過酸化水素活性を不活化し, ブロッキングした. 一次抗体として Purified Mouse Anti-β-Catenin (BD Biosciences, NJ, USA) を Dako REAL Antibody Diluent (Dako) により 200 倍希釈し, 室温で 30 分間静置した. 二次抗体として EnVision FLEX/HRP Detection Reagent (Dako)を使用して室温で 30 分間静置した. その後 EnVision FLEX DAB+ Chromogen (Dako)と EnVision FLEX Substrate Buffer (Dako) を用い室温で 30 分間静置して発色させた. また, ヘマトキシリンによる核染色を行った. CTNNB1 変異を認めない鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫検体をネガティブコントロールとして用いた.

統計学的解析

統計学的解析は JMP Pro 17.0.0 (SAS institute) を用いて行った. 遺伝子変異と臨床病理学的特徴の関連に関しては Fisher の正確確率検定, χ^2 乗検定, もしくは Wilcoxon 検定いずれか適切な方法により検討した. 全生存率, 無再発生存率, 累積遠隔転移率の算出には Kaplan-Meier 法を用い, 二群間の比較は log-rank 検定により行った. P 値が 0.05 未満の場合に有意差があると判定した. 観察期間は治療開始日から死亡もしくはイベント発生までとして, 2023 年 6 月 30 日まで追跡した.

6.3. 結果

臨床病理学的特徴

21 例中 18 例の遺伝子変異解析を行った。3 例は抽出した DNA の品質が NGS を行うには不十分であったため除外した。対象例の患者背景を表 10 に示す。男性 10 例、女性 8 例であり、年齢の中央値は 67.5 歳であった。観察期間の中央値は 3.2 年であり、臨床病期は III が 11 例、IV が 7 例であった。

表 10. 患者背景

項目	n (%)
全体	18
性別	
男性	10 (56)
女性	8 (44)
年齢	
中央値 (範囲)	67.5 (49–83)
経過観察期間, 年	
中央値 (範囲)	3.2 (0.6–9.6)
亜部位	
鼻腔	17 (94)
副鼻腔	1 (5.6)
T 分類	
3	11 (61)
4	7 (39)
N 分類	
0	17 (94)
1	1 (5.6)
臨床病期	
III	11 (61)
IV	7 (39)

手術および術後放射線治療

18 例中 12 例に対して内視鏡下のみで病変の切除を行い，1 例には外切開を併用，5 例は外切開による切除を行った．18 例全例に対して術後放射線治療を行い，13 例に X 線，5 例に陽子線を用いた．術前評価で頸部リンパ節転移を認めなかった症例に対しては，予防的な頸部郭清術もしくは放射線治療は施行しなかった．

遺伝子変異

NGS 結果のフローチャートを図 7 に示す．COSMIC データベースに基づき，26 の体細胞変異が同定された．そのうち 18 バリエントは ClinVar データベースで病原性が示されていないために除外した．結果として 9 バリエントが病的な遺伝子変異として同定された．

同定された遺伝子変異を表 11 に示す．BRAF 変異は 1 例 (5.6%) に認め，変異形式はエクソン 15 における K601R 変異であった．本研究で BRAF V600 変異は認めなかった．NRAS 変異は 6 例 (33%) に認めた．そのうち 2 例はエクソン 3 における変異であり，いずれも Q61R 変異であった．他の 4 例はエクソン 2 における変異 (G13V, G12V, G12R, G12S) であった．CTNNB1 変異は 2 例に認め，エクソン 3 における S45F 変異と S37F 変異であった．1 例は CTNNB1 と NRAS 変異を同時に認めていた (エクソン 3 における CTNNB1 S45F 変異とエクソン 2 における NRAS G12R 変異)．RNA の解析において融合遺伝子は同定されなかった．

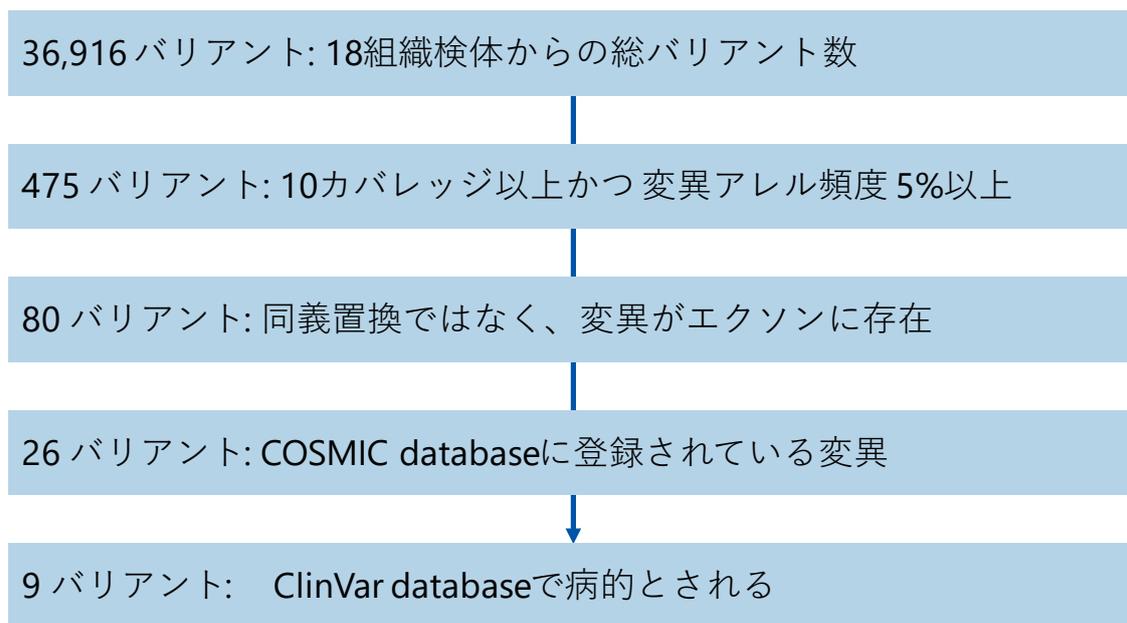


図 7. NGS 結果解析のフローチャート

表 11. 遺伝子変異一覧

患者	性別	年齢	重部位	遺伝子	エクソン	ヌクレオチド 変異	アミノ酸 変異
1	男	63	鼻腔	NRAS	3	182A>G	Q61R
2	女	66	鼻腔	NRAS	3	182A>G	Q61R
3	女	49	鼻腔	NRAS	2	38G>T	G13V
4	女	72	鼻腔	NRAS	2	35G>T	G12V
5	女	67	鼻腔	NRAS	2	34G>C	G12R
				CTNNB1	3	134C>T	S45F
6	男	60	鼻腔	NRAS	2	34G>A	G12S
7	女	74	鼻腔	BRAF	15	1801A>G	K601R
8	男	83	鼻腔	CTNNB1	3	110C>T	S37F

免疫組織化学染色

2例の CTNNB1 変異例に対してβカテニンの免疫組織化学染色を行った。いずれにおいてもβカテニンの核移行が確認され、2例のネガティブコントロールでは核移行が観察されなかった (図 8)。

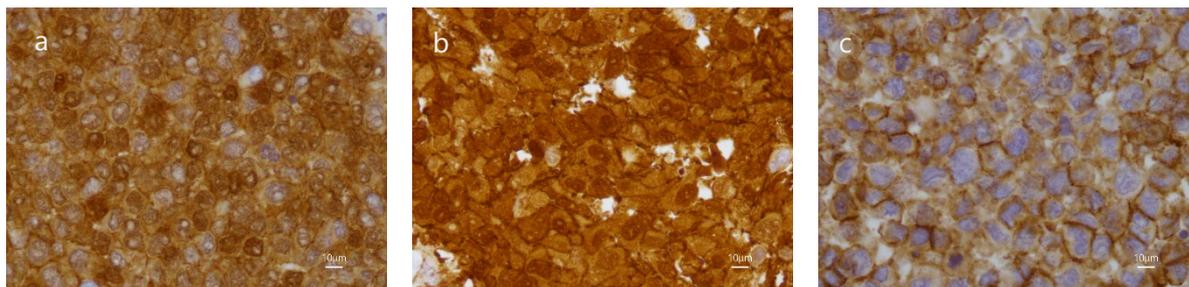


図 8. βカテニンによる免疫組織化学染色 (a, b = CTNNB 変異あり. c = ネガティブコントロール)

遺伝子変異と臨床病理学的特徴

臨床病理学的特徴と NGS による遺伝子変異解析の結果を図 9, 表 12 および 13 に示す。遺伝子変異の有無において有意差を認めた項目はなかった。NRAS 変異の有無により年齢に有意差を認めた (中央値 64.5 対 71, P=0.04)。

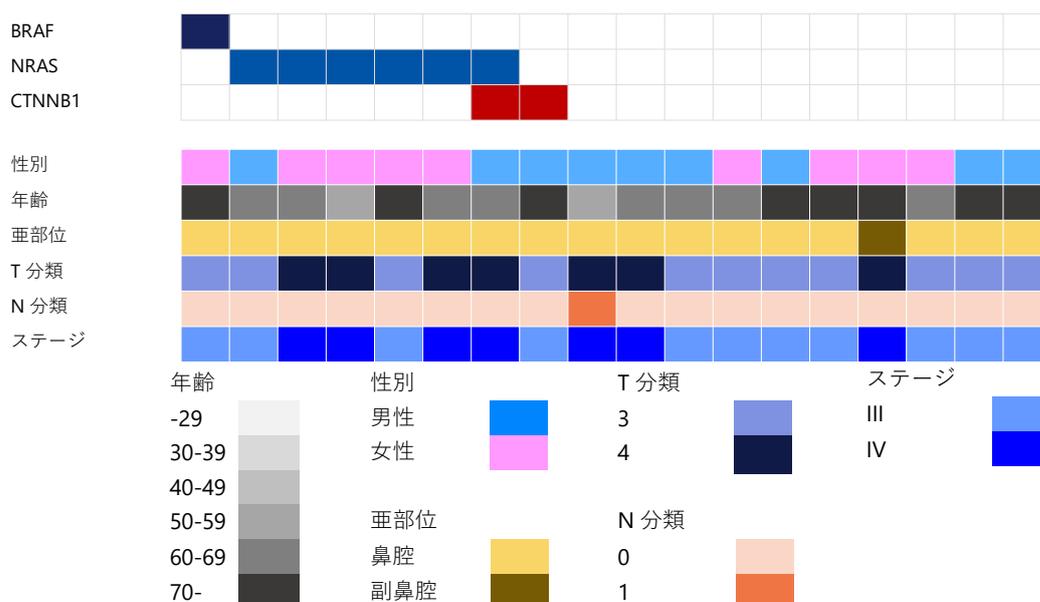


図 9. 遺伝子変異および臨床病理学的特徴

表 12. 遺伝子変異有無と臨床病理学的特徴

	遺伝子変異 n(%)		P 値
	変異あり n=8	変異なし n=10	
年齢中央値 (範囲)	66.5 (49-83)	69.5 (59-78)	0.30
性別 男性	3 (38)	7 (70)	0.16
亜部位			1
鼻腔	8 (100)	9 (90)	
副鼻腔	0	1 (10)	
T 分類			0.63
3	4 (50)	7 (70)	
4	4 (50)	3 (23)	
N 分類			1
0	8 (100)	9 (90)	
1	0	1 (10)	
ステージ			0.63
III	4 (50)	7 (70)	
IV	4 (50)	3 (30)	
術式			0.80
内視鏡切除	6 (75)	6 (60)	
外切開手術	1 (13)	4 (40)	
内視鏡と外切開の併用	1 (13)	0	
術後放射線治療			1
X 線	6 (75)	7 (70)	
陽子線	2 (25)	3 (30)	

表 13. NRAS 変異と臨床病理学的特徴

	NRAS 変異 n(%)		P 値
	変異あり n=6	変異なし n=12	
年齢中央値 (範囲)	64.5 (49-72)	71 (59-83)	0.04
性別 男性	2 (33)	8 (80)	0.32
亜部位			1
鼻腔	6 (100)	11 (92)	
副鼻腔	0	1 (8)	
T 分類			0.14
3	2 (33)	9 (82)	
4	4 (67)	3 (18)	
N 分類			1
0	6 (100)	11 (92)	
1	0	1 (8)	
ステージ			0.14
III	2 (33)	9 (82)	
IV	4 (67)	3 (18)	
術式			0.89
内視鏡切除	4 (75)	8 (73)	
外切開手術	1 (13)	4 (27)	
内視鏡と外切開の併用	1 (13)	0	
術後放射線治療			1
X 線	4 (67)	9(75)	
陽子線	2 (33)	3 (25)	

遺伝子変異と生存率および遠隔転移

遺伝子変異の有無による全生存率には差がなく、2年全生存率は変異無しでは77%、変異有りでは63%であった ($P = 0.79$, 図 10a) . 無再発生存率および累積遠隔転移率においても有意差は見られなかった ($P = 0.97, 0.96$; 図 10b, c). NRAS 変異の有無で比較した場合も全生存率, 無再発生存率, 累積遠隔転移率に有意差は見られなかった ($P = 0.90, 0.30, 0.55$; 図 10d-f).

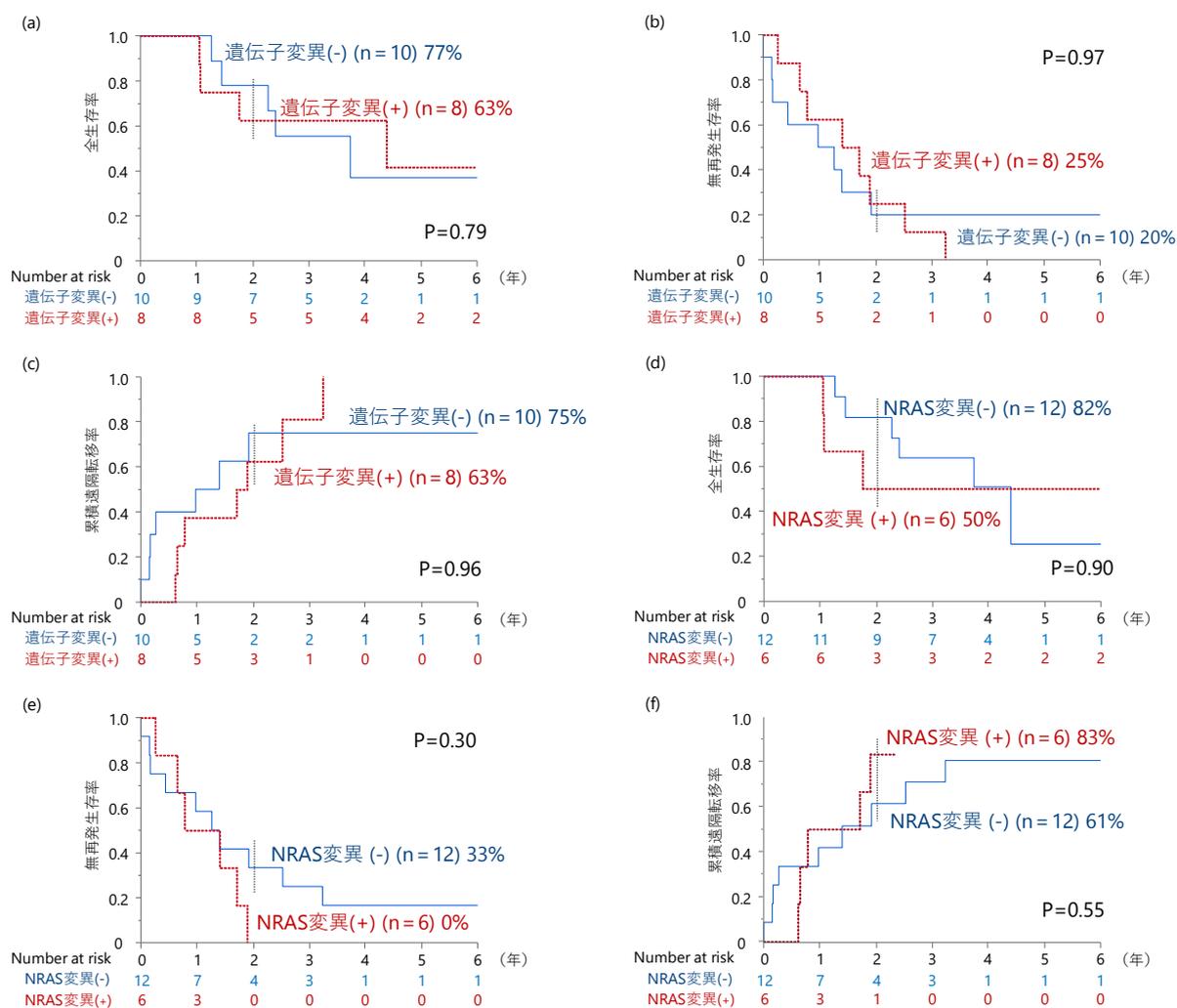


図 10. 遺伝子変異の有無 (a-c) および NRAS 変異の有無 (d-f) による全生存率, 無再発生存率, 累積遠隔転移率の比較

6.4. 考察

本研究では 18 例中 8 例 (44%) に遺伝子変異を認めた。NRAS 変異が最多 (6/18 例, 33%) であり、次いで CTNNB1 変異であった (2/18 例, 11%)。BRAF 変異を認めたのは 1 例, 5.6%であった。過去の報告では粘膜悪性黒色腫における遺伝子変異は 16–38%であり、BRAF 変異は稀であるとされている (Lombardi et al, 2016; Maldonado - Mendoza et al, 2019; Minor et al, 2012; Omholt et al, 2011; Zebary et al, 2013)。一方、皮膚悪性黒色腫においては遺伝子変異の頻度が 66%と報告されている (Si et al, 2012)。

NRAS 変異は本研究で最多 (33%) であり、既報告における皮膚悪性黒色腫における NRAS 変異の頻度は 15–20%である (Zhou et al, 2021)。粘膜悪性黒色腫における NRAS 変異の頻度は欧米において 7/71 例 (10%), 2/30 例 (7%), 8/56 例 (14%) と報告されている (Minor et al, 2012; Omholt et al, 2011; Zebary et al, 2013)。一方で中国からは 4/7 例 (57%) の報告があり (Zhang et al, 2019), NRAS 変異はアジア圏において欧米よりも高い可能性が示唆された。本研究において NRAS 変異例では若年で発症する傾向が見られたが (中央値 64.5 対 71, $P = 0.04$), NRAS 変異例では発症年齢が有意に高かったとする報告もある (平均値 56.5 対 50.8, $P = 0.04$) (Si et al, 2012)。NRAS 変異と発症年齢に関しては現状その関連に一定した見解がなく、さらなる検討が必要と考える。

本研究では 2 例で NRAS Q61R 変異を認め、G12V, G12R, G12S, G13V 変異を各 1 例で認めた。これらの変異は既報告における NRAS 変異のホットスポットと一致する (Dumaz et al, 2019)。過去の報告では 11 例の粘膜悪性黒色腫と 20 例の皮膚悪性黒色腫を対象として NRAS 変異例が有意に予後不良であったとしている (Si et al, 2012)。本研究では生存解析において有意差は認めなかったが、NRAS 変異例では T4 症例が多く、生存率も低い傾向が見られた。NRAS 変異が生じると NRAS が恒常的に活性化し、その下流に位置する RAF の活性化を引き起こす。活性化した RAF は MEK や extracellular signal-regulated kinase (ERK) の活性化を生じさせ、細胞質および核内に存在する細胞増殖、分化および生存に関連する分子を活性化させる (Omholt et al., 2003)。現在は NRAS に対する分子標的治療は確立していないが、

MEK 阻害薬の一種であるビニメチニブの使用により皮膚悪性黒色腫例の無増悪生存率が向上したことが報告されている (Dummer et al, 2017). 皮膚悪性黒色腫に関する報告では pan-RAF 阻害薬であるナポラフェニブと MEK 阻害薬であるトラメチニブの併用により全奏効率が 46.7%である (de Braud et al, 2023). NRAS 変異をもつ粘膜悪性黒色腫においても, RAF および MEK の活性化が生じていることが予想されるため RAF 阻害薬や MEK 阻害薬が有効な可能性があると考ええる.

Wnt/ β カテニン経路の変異は悪性腫瘍を含む様々な疾患を引き起こすことが知られている (Liu et al, 2022; MacDonald et al, 2009). β カテニンは CTNNB1 遺伝子にコードされ, その活性化は腫瘍の発生に関与する (Kim et al, 2018). CTNNB1 遺伝子に変異が生じた場合, β カテニンは核内に移行し, 転写因子として機能する (Gao et al., 2018). 本研究では 2 例 (11%) に CTNNB1 変異を認め, いずれにおいても免疫組織化学染色で β カテニンの核移行が確認された (図 8). 過去には中国より粘膜悪性黒色腫 67 例中 4 例 (6%) において CTNNB1 変異を認めたことが報告されている (Newell et al, 2019). また, CTNNB1 変異は進行した粘膜悪性黒色腫例において ICI に対する抵抗性を示すことが報告されており, 腫瘍内在性の β カテニンからのシグナルが T 細胞の浸潤を阻害することが原因と考えられている (Gao et al, 2018; Mao et al, 2021). CTNNB1 変異にもホットスポットが存在し, S33, S37, S45, T41, D32, G34 が知られている (Kikuchi, 2003). 本研究では S37F と S45F 変異を認め, いずれの変異においても他臓器の悪性腫瘍で β カテニンの核移行が生じることが報告されている (Kim et al., 2018). β カテニンの免疫組織化学染色は NGS による CTNNB1 変異の同定と比較して安価であり, 多くの施設で行うことができ, 結果の判明も早い. これらの点から, β カテニンの免疫組織化学染色により ICI の効果を推定することができる可能性があると考ええる.

本研究では BRAF 変異は 1 例 (5.6%) に認めた. 粘膜悪性黒色腫における BRAF 変異の頻度は皮膚悪性黒色腫と比べて低いとされ, 既報告では 0–14%とされている (Carlino et al, 2014; Curtin et al, 2005; Zebary et al, 2013; Zheng et al, 2020). 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に限定した場合, 4/90 例 (4.4%) に BRAF 変異を認めたが, V600 変異は含まれなかったとする報告がある (Chłopek et al, 2022). 本研究で認めた BRAF

K601R 変異は BRAF 阻害薬と MEK 阻害薬の併用による分子標的治療の対象とはならない。粘膜悪性黒色腫においては、BRAF V600 変異の頻度の低さから BRAF および MEK に対する分子標的治療の対象となる症例は稀であると考えられる。

当科では第一章で示したように原発巣は内視鏡手術と術後放射線治療で一定の制御が得られているが、遠隔転移により予後が不良である。皮膚悪性黒色腫と比較して、粘膜悪性黒色腫においては分子標的薬の治療対象となる BRAF V600 変異の頻度が低く、ICI の奏効率も低い。本研究で確認された NRAS 変異と CTNNB1 変異はそれぞれ予後規定因子と ICI に対する抵抗性に関連する因子である可能性がある。NRAS 変異が予後規定因子であれば、変異が確認された際に積極的に補助薬物療法を行うなど、適切に治療強度を高めることが可能となりえる。NRAS 変異に対する分子標的薬が開発された場合、変異の頻度の高さから BRAF V600 変異に対する BRAF 阻害薬と MEK 阻害薬の併用治療よりも対象となる患者は多いと考えられる。また、CTNNB1 変異が ICI の治療抵抗性の原因となっているとすれば、治療方法選択の際に判断基準の 1 つとして用いることができると考えられる。その場合は免疫組織化学染色によるβカテニンの核移行検出により代用することで、より効率の良い検索も可能となりえる。本研究は日本人における粘膜悪性黒色腫の遺伝子変異を解析した初の報告である。今後より解析例を増やしていくことで、現状予後不良である鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫に対する治療成績向上に結び付くことを期待している。

7. 総括および結論

1. 本研究から得られた新知見

- ・ 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の局所病変に対する治療として、鼻内内視鏡手術と術後放射線治療は従来の外切開手術に遜色ない治療成績が得られることが示された。
- ・ 日本人の鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の遺伝子変異を初めて報告し、NRAS 変異が最多であり、次いで CTNNB1 変異を認めた。BRAF V600 変異は認めなかった。

2. 新知見の意義

- ・ 内視鏡手術と術後放射線治療を行うことで、従来の外切開手術により生じる顔面の変形、嚥下機能低下、視機能の低下といった術後の後遺症を避けて局所治療を行うことが可能である。
- ・ NRAS 変異は予後と関連し、CTNNB1 変異は免疫チェックポイント阻害薬に対する抵抗性を示す可能性がある。
- ・ BRAF V600 変異は稀であるため、現在使用可能な分子標的薬の対象となる症例は少ないと考えられる。

3. 本研究で得られた新知見から展開されうる研究と今後の課題と展望

- ・ 内視鏡手術と術後放射線治療により局所病変の制御は得られるが、遠隔転移により予後は不良である。治療成績の向上には遠隔転移に対する有効な薬物療法が必要である。
- ・ NRAS 変異を認めた場合に補助薬物療法を積極的に行うことで予後が改善されれば、補助薬物療法の適応に関する新たなバイオマーカーとなりえる。
- ・ NRAS 変異に対する分子標的治療が可能となれば、鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫において免疫チェックポイント阻害薬に加えて新たな分子標的薬が選択肢の 1 つとなりえる。

- ・ CTNNB1 変異を薬物療法選択の際に判断基準の 1 つとして用いることが考えられる。βカテニンの免疫組織化学染色で代用することで、より効率の良い検索も可能となりえる。
- ・ 本研究では遺伝子パネルを用いたターゲット遺伝子領域の検索を行った。未知の遺伝子変異を確認するためには全エクソン領域の検索を行うことが望ましい。
- ・ 鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫は希少がんであり、単一施設では十分な症例の蓄積が困難である。多施設共同研究を行うことで、症例数を増やしてより信頼性の高い遺伝子変異の解析を行いたい。

8. 謝辞

本論文の執筆にあたり，多くの方々にご支援いただきました．本研究に関する議論，国内外での発表の機会を与えていただくとともに，ご指導承りました北海道大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室の本間明宏教授，および福田諭名誉教授に厚くお礼申し上げます．あわせて，本研究の遂行にあたり様々な助言と励ましを頂きました耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室の教室員，特に加納里志講師に心よりお礼申し上げます．本研究に多大なご協力をいただいたゲノム・コンパニオン診断研究部門の畑中佳奈子先生，畑中豊先生，鼻副鼻腔粘膜悪性黒色腫の治療を共に行っている放射線治療学教室，腫瘍内科学教室の先生方に改めてお礼申し上げます．また，本研究にご協力いただいた患者の皆様に深く感謝いたします．最後となりますが，私をいつも支えてくれた家族に感謝いたします．

本研究の一部は，JSPS 科研費 19K18754 の助成を受けたものです．

2023 年 11 月
対馬 那由多

9. 利益相反

本研究に関して開示すべき利益相反はない。

10. 引用文献

Abiri A, Yasaka TM, Lehrich BM, Goshtasbi K, Papagiannopoulos P, Tajudeen BA, St. John MA, Harris JP and Kuan EC (2022) Adjuvant Therapy and Prognosticators of Survival in Head and Neck Mucosal Melanoma. *Laryngoscope* 132, 584–592.

Amit M, Tam S, Abdelmeguid AS, Kupferman ME, Su SY, Raza SM, DeMonte F and Hanna EY (2018) Patterns of Treatment Failure in Patients with Sinonasal Mucosal Melanoma. *Ann Surg Oncol* 25, 1723–1729.

Ascierto PA, Del Vecchio M, Mandalá M, Gogas H, Arance AM, Dalle S, Cowey CL, Schenker M, Grob JJ, Chiarion-Sileni V, et al (2020) Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage IIIB–C and stage IV melanoma (CheckMate 238): 4-year results from a multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 21, 1465–1477.

de Braud F, Dooms C, Heist RS, Lebbe C, Wermke M, Gazzah A, Schadendorf D, Rutkowski P, Wolf J, Ascierto PA, et al (2023) Initial Evidence for the Efficacy of Naporafenib in Combination With Trametinib in NRAS-Mutant Melanoma: Results From the Expansion Arm of a Phase Ib, Open-Label Study. *J Clin Oncol* 41, 2651–2660.

Buja A, Bardin A, Damiani G, Zorzi M, De Toni C, Fusinato R, Spina R, Vecchiato A, Del Fiore P, Mocellin S, Baldo V, Rugge M and Rossi CR (2021) Prognosis for Cutaneous Melanoma by Clinical and Pathological Profile: A Population-Based Study. *Front Oncol* 11.

Carlino MS, Haydu LE, Kakavand H, Menzies AM, Hamilton AL, Yu B, Ng CC, Cooper WA, Thompson JF, Kefford RF, et al (2014) Correlation of BRAF and NRAS mutation status with outcome, site of distant metastasis and response to chemotherapy in metastatic melanoma. *Br J Cancer* 111, 292–299.

Chłopek M, Lasota J, Thompson LDR, Szczepaniak M, Kuźniacka A, Hińcza K, Kubicka K, Kaczorowski M, Newford M, Liu Y, et al (2022) Alterations in key signaling pathways in sinonasal tract melanoma. A molecular genetics and immunohistochemical study of 90 cases and comprehensive review of the literature. *Mod. Pathol* 35, 1609–1617.

Chu PY, Chen YF, Li CY, Yang JS, King YA, Chiu YJ and Ma H (2021) Factors influencing locoregional recurrence and distant metastasis in Asian patients with cutaneous melanoma after surgery: A retrospective analysis in a tertiary hospital in Taiwan. *J Chin Med Assoc* 84, 870–876.

Crippen MM, Kiliç S and Eloy JA (2018) Updates in the management of sinonasal mucosal melanoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 26, 52–57

Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho K-H, Aiba S, Bröcker E-B, LeBoit PE, et al (2005) Distinct Sets of Genetic Alterations in Melanoma. *N. Engl. J. Med* 353, 2135–2147.

Dumaz N, Jouenne F, Delyon J, Mourah S, Bensussan A and Lebbé C (2019) Atypical BRAF and NRAS mutations in mucosal melanoma. Atypical BRAF and NRAS mutations in mucosal melanoma. *Cancers (Basel)* 11.

Dummer R, Schadendorf D, Ascierto PA, Arance A, Dutriaux C, Di Giacomo AM, Rutkowski P, Del Vecchio M, Gutzmer R, Mandala M, et al (2017) Binimetinib versus dacarbazine in patients with advanced NRAS-mutant melanoma (NEMO): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 18, 435–445.

Eggermont AMM, Chiarion-Sileni V, Grob J-J, Dummer R, Wolchok JD, Schmidt H, Hamid O, Robert C, Ascierto PA, Richards JM, et al (2016) Prolonged Survival in Stage III Melanoma with Ipilimumab Adjuvant Therapy. *N. Engl. J. Med* 375, 1845–1855.

Eggermont AMM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, Dummer R, Wolchok JD, Schmidt H, Hamid O, Robert C, Ascierto PA, Richards JM, et al (2015) Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): A randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 16, 522–530.

Elsamna ST, Ahsanuddin S, Mir GS, Sukyte-Raube D, Fang CH, Baredes S and Eloy JA (2021) Surgical Margin Status and Survival Following Resection of Sinonasal Mucosal Melanoma. *Laryngoscope* 131, 2429–2435.

Farber NI, Bavier RD, Crippen MM, Vatsa N, Hsueh WD and Eloy JA (2019) Comparing endoscopic resection and open resection for management of sinonasal mucosal melanoma. *Int Forum Allergy Rhinol* 9, 1492–1498.

Flukes S, Lohia S, Barker CA, Cracchiolo JR, Ganly I, Patel SG, Roman BR, Shah JP, Shoushtari AN, Tabar V et al (2021) Are our patients doing better? A single institution experience of an evolving management paradigm for sinonasal mucosal melanoma. *Oral Oncol* 112.

Ganly I, Patel SG, Singh B, Kraus DH, Bridger PG, Cantu G, Cheesman A, De Sa G, Donald P, Fliss DM, et al (2006) Craniofacial resection for malignant melanoma of the skull base: report of an international collaborative study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 132, 73–78.

Gao C, Wang Y, Broaddus R, Sun L, Xue F and Zhang W (2018) Exon 3 mutations of CTNNB1 drive tumorigenesis: a review. *Oncotarget* 9, 5492–5508.

Haddad RI., Hicks WL, Hitchcock YJ, Jimeno A, Leizman D, Pinto HA, Rocco JW, Rodriguez CP, Schwartz D and Shah JP (2023) NCCN Guidelines Version 1.2024 Head and Neck Cancers Continue NCCN Guidelines Panel Disclosures.

Hohnheiser AM, Gefeller O, Göhl J, Schuler G, Hohenberger W and Merkel S (2011) Malignant melanoma of the skin: Long-term follow-up and time to first recurrence. *World J Surg* 35, 580–589.

Hur K, Zhang P, Yu A, Kim-Orden N, Kysh L and Wrobel B (2019) Open Versus Endoscopic Approach for Sinonasal Melanoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Rhinol Allergy* 33, 162–169.

Kikuchi A (2003) Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. *Cancer Sci* 94, 225–229

Kim G, Kurnit KC, Djordjevic B, Singh C, Munsell MF, Wang WL, Lazar AJ, Zhang W and Broaddus R (2018) Nuclear β -catenin localization and mutation of the CTNNB1 gene: a context-dependent association. *Mod. Pathol* 31, 1553–1559.

- Liu J, Xiao Q, Xiao J, Niu C, Li Y, Zhang X, Zhou Z, Shu G and Yin G (2022) Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduct Target Ther* 7.
- Lombardi D, Bottazzoli M, Turri-Zanoni M, Raffetti E, Villaret AB, Morassi ML, Ungari M, Vermi W, Battaglia P, Castelnovo P, et al (2016) Sinonasal mucosal melanoma: A 12-year experience of 58 cases. *Head Neck* 38, E1737–E1745.
- López F, Shah JP, Beitler JJ, Snyderman CH, Lund V, Piazza C, Mäkitie AA, Guntinas-Lichius O, Rodrigo JP, Kowalski LP, et al (2022) The Selective Role of Open and Endoscopic Approaches for Sinonasal Malignant Tumours. *Adv Ther* 39, 2379–2397
- Ma Y, Xia R, Ma X, Judson-Torres RL and Zeng H (2021) Mucosal Melanoma: Pathological Evolution, Pathway Dependency and Targeted Therapy. *Front Oncol* 11.
- MacDonald BT, Tamai K and He X (2009). Wnt/ β -Catenin Signaling: Components, Mechanisms, and Diseases. *Dev Cell* 17, 9-26.
- Maldonado-Mendoza J, Ramírez-Amador V, Anaya-Saavedra G, Ruíz-García E, Maldonado-Martínez H, Fernández Figueroa E and Meneses-García A (2019) CD117 immunoexpression in oral and sinonasal mucosal melanoma does not correlate with somatic driver mutations in the MAPK pathway. *J Oral Pathol Med* 48, 382–388.
- Mao L, Qi Z, Zhang L, Guo J and Si L (2021) Immunotherapy in Acral and Mucosal Melanoma: Current Status and Future Directions. *Front Immunol* 12.
- Minor DR, Kashani-Sabet M, Garrido M, O’Day SJ, Hamid O and Bastian BC (2012) Sunitinib therapy for melanoma patients with KIT mutations. *Clin. Cancer Res* 18, 1457–1463.
- Nakamaru Y, Suzuki M, Kano S, Mizumachi T, Tsushima N, Suzuki T, Honma A, Nakazono A, Kimura S, Onimaru R, et al (2021) The role of endoscopic resection for selected patients with sinonasal squamous cell carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 48, 131–137.
- Newell F, Kong Y, Wilmott JS, Johansson PA, Ferguson PM, Cui C, Li Z, Kazakoff SH, Burke H, Dodds TJ, et al (2019) Whole-genome landscape of mucosal melanoma reveals diverse drivers and therapeutic targets. *Nat Commun* 10.
- Ng AKT, Jones WO and Shaw JHF (2001) Analysis of local recurrence and optimizing excision margins for cutaneous melanoma. *Br J Surg* 88, 137–142.
- Omholt K, Platz A, Kanter L, Ringborg U and Hansson, J (2003) NRAS and BRAF mutations arise early during melanoma pathogenesis and are preserved throughout tumor progression. *Clin Cancer Res* 9, 6483–6488
- Omholt K, Grafström E, Kanter-Lewensohn L, Hansson J and Ragnarsson-Olding BK (2011) KIT pathway alterations in mucosal melanomas of the vulva and other sites. *Clin. Cancer Res* 17, 3933–3942.
- Papaspyrou G, Garbe C, Schadendorf D, Werner JA, Hauschild A and Egberts F (2011) Mucosal melanomas of the head and neck: New aspects of the clinical outcome, molecular pathology, and treatment with c-kit inhibitors. *Melanoma Res* 21, 475–482

- Plavc G, But-Hadžić J, Aničič A, Lanišnik B, Didanović V and Strojjan P (2016) Mucosal melanoma of the head and neck: A population-based study from Slovenia. 1985-2013, *Radiat. Oncol* 11.
- Samstein RM, Carvajal RD, Postow MA, Callahan MK, Shoushtari AN, Patel SG, Lee NY and Barker CA (2016) Localized sinonasal mucosal melanoma: Outcomes and associations with stage, radiotherapy, and positron emission tomography response. *Head Neck* 38, 1310–1317.
- Si L, Kong Y, Xu X, Flaherty KT, Sheng X, Cui C, Chi Z, Li S, Mao L and Guo J (2012) Prevalence of BRAF V600E mutation in Chinese melanoma patients: Large scale analysis of BRAF and NRAS mutations in a 432-case cohort. *Eur J Cancer* 48, 94–100.
- Sun CZ, Li QL, Hu ZD, Jiang YE, Song M and Yang AK (2014) Treatment and prognosis in sinonasal mucosal melanoma: A retrospective analysis of 65 patients from a single cancer center. *Head Neck* 36, 675–681.
- Swegal W, Koyfman S, Scharpf J, Sindwani R, Greskovich J, Borden E and Burkey BB (2014) Endoscopic and open surgical approaches to locally advanced sinonasal melanoma comparing the therapeutic benefits. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 140, 840–845.
- Tang H, Ma M, Dai J, Cui C, Si L, Sheng X, Chi Z, Xu L, Yu S, Xu T, et al (2019) MiR-let-7b and miR-let-7c suppress tumorigenesis of human mucosal melanoma and enhance the sensitivity to chemotherapy. *J. Exp. Clin. Cancer Res* 38.
- Tsushima N, Kano S, Suzuki T, Idogawa H, Yoshida D, Yasuda K, Otsuka M, Aoyama H and Homma A (2022) Salvage surgery improves the treatment outcome of patients with residual/recurrent maxillary sinus cancer after superselective intra-arterial cisplatin infusion with concomitant radiation therapy. *Eur. Arch. Oto-Rhino-L* 279, 899–905.
- Weber J, Mandala M, Del Vecchio M, Gogas HJ, Arance AM, Cowey CL, Dalle S, Schenker M, Chiarion-Sileni V, Marquez-Rodas I, et al (2017) Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma. *N. Engl. J. Med* 377, 1824–1835.
- Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Lao CD, Cowey CL, Schadendorf D, Wagstaff J, Dummer R et al (2022) Long-Term Outcomes With Nivolumab Plus Ipilimumab or Nivolumab Alone Versus Ipilimumab in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol* 40, 127–137.
- Zebary A, Jangard M, Omholt K, Ragnarsson-Olding B and Hansson J (2013) KIT, NRAS and BRAF mutations in sinonasal mucosal melanoma: A study of 56 cases. *Br J Cancer* 109, 559–564.
- Zhang Y, Fu X, Qi Y and Gao Q (2019) A study of the clinical characteristics and prognosis of advanced mucosal and cutaneous melanoma in a Chinese population. *Immunotherapy* 11, 91–99.
- Zheng AW, Jia DD, Zhou CC and Li T (2020) Mutational profiling of melanomas in patients from the southeast coast of China. *Transl Cancer Res* 9, 4781–4789.
- Zhou L, Wang X, Chi Z, Sheng X, Kong Y, Mao L, Lian B, Tang B, Yan X, Bai X, et al (2021) Association of NRAS Mutation With Clinical Outcomes of Anti-PD-1 Monotherapy in Advanced Melanoma: A Pooled Analysis of Four Asian Clinical Trials. *Front Immunol* 12.

犬山 征夫 (1996) 頭頸部癌の境界領域における治療法の最新の進歩 (協和企画通信：東京)

藤澤康弘, 大塚藤男 (2013) 皮膚悪性腫瘍—基礎と臨床の最新研究動向—悪性黒色腫—皮膚悪性腫瘍の疫学調査—日本と外国の国際比較—. 日本臨牀 71, 7-12.