

厚生労働科学研究費補助金

がん臨床研究事業

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の
確立に関する研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岩本 幸英

平成 17 (2005) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

- 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 1
主任研究者 岩本幸英

II. 分担研究報告

1. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 22
主任研究者 岩本 幸英
分担研究者 田仲 和宏
2. 悪性軟部腫瘍の薬物療法開発における基礎的、臨床研究 30
分担研究者 中馬 広一
3. BMP-2は悪性線維性組織球腫の予後因子である 37
分担研究者 内田 淳正
4. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 39
分担研究者 吉川 秀樹
5. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 42
分担研究者 尾崎 敏文
6. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 45
分担研究者 戸口田 淳也
7. 高悪性度骨軟部腫瘍の腫瘍随伴症候群に関する研究 48
分担研究者 荒木 信人
8. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 50
分担研究者 吉田 行弘
9. 高悪性度軟部肉腫に対する癌ワクチン療法の開発に関する研究 52
分担研究者 和田 卓郎
10. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 54
分担研究者 井須 和男
11. 高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究 56
分担研究者 川口 智義
12. Ewing's sarcoma family of tumorsにおけるc-kitの発現 61
分担研究者 舘崎 慎一郎
13. 骨軟部肉腫手術不能症例の動注療法に関する研究 66
分担研究者 高橋 満

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 69

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
総括研究報告書

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究

主任研究者 岩本 幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科教授

研究要旨 四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍は、円形細胞肉腫と非円形細胞肉腫に大別され、後者が大多数を占める。円形細胞肉腫に対する化学療法の有効性は証明されているが、非円形細胞肉腫に対しては世界的にも未だ標準治療が確立されていない。現在の高悪性度非円形細胞肉腫の治療の基本は外科的切除であるが、手術単独の10年生存率は約35%と低く、標準治療とは言い難い。術前・術後の化学療法が試みられているが、大規模比較試験によって有用性が証明された治療法は未だ存在しない。本研究は、四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍の大部分を占める非円形細胞肉腫に対する標準治療を確立することを目的とする。現時点でもっとも有効かつ実施可能と考えられるADM+IFO併用術前術後化学療法の有効性と安全性を第2相試験により評価し、十分な有効性と安全性が示された場合、手術単独療法とのランダム化第3相試験の実施を検討する。本研究により本疾患に対する標準治療を確立することは、国内のみならず世界的にも極めて意義深いと考えられる。また、肉腫の薬剤耐性や転移のメカニズムの解析も進め、MDR1等の多剤耐性遺伝子に対する阻害剤の併用が耐性克服に有用であること、細胞骨格制御因子であるFAKのリン酸化が肉腫細胞の浸潤能の亢進に重要であることが示唆された。また、軟部肉腫における腫瘍随伴症候群の病態解明、手術不能例、進行再発例に対する治療戦略の開発、術前MRI画像による至適切除線の決定法についても検討を加えた。CGH法による染色体変異の解析により、軟部肉腫の診断に有用な特徴的変異や予後予測因子が同定された。また、肉腫におけるFGF、c-kit、HER2、BMPなどの発現や意義に関する検討を行い、新しい分子標的治療の可能性を模索した。さらに、肉腫特異的融合遺伝子やWT1遺伝子産物を標的とした、悪性骨軟部腫瘍に対する腫瘍特異的免疫療法の開発も実施した。

分担研究者

田仲 和宏

九州大学医学部附属病院整形外科 助手

中馬 広一

国立がんセンター中央病院整形外科 医長

内田 淳正

三重大学医学部整形外科 教授

吉川 秀樹

大阪大学大学院医学系研究科整形外科 教授

尾崎 敏文 (平成16年度より)

岡山大学大学院医歯学総合研究科整形外科講師

戸口田 淳也

京都大学再生医科学研究所組織再生応用分野 教授

荒木 信人

大阪府立成人病センター整形外科 部長

吉田 行弘

日本大学医学部整形外科 講師

和田 卓郎

札幌医科大学医学部整形外科 助教授

井須 和男

北海道がんセンター整形外科 医長

川口 智義

癌研究会附属病院整形外科 部長

舘崎慎一郎

千葉県がんセンター整形外科 部長

高橋 満

静岡県がんセンター整形外科 部長

A. 研究目的

四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍は円形細胞肉腫と非円形細胞肉腫に大別され、後者が大多数を占める。非円形細胞肉腫に対する化学療法の有効性は未だ確定しておらず、外科的切除が治療の中

心である。欧米における非円形細胞肉腫進行例に対する臨床試験により、アドリアマイシン(ADM)とイホマイド(IFO)は単剤での有効性が示された。他の薬剤はこの2剤よりも奏効性が劣っている。一方、補助化学療法に関しては有効性を示すデータに乏しいが、ADMを中心とした補助化学療法の臨床試験を集めたメタアナリシスの結果、IFOを含んでいない、薬剤強度が低いなどの問題はあつたものの、予後を改善する可能性が示された。また、最近、エピルピシン(EPI)+IFO療法による術後化学療法の予後改善効果が報告された。我が国においては、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対し、進行例に対するADM+CPM+IFOの第2相試験が最近行われたのみである。整形外科領域の四肢原発の非円形細胞軟部肉腫における標準的治療法を確立する上で、手術と併用しうる有効な化学療法を確立することは極めて重要である。しかし、世界的にも四肢発生肉腫に限った化学療法の臨床試験はほとんどない。本研究の主目的は、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対するADM+IFOによる補助化学療法の有効性と安全性を第2相試験として評価し、手術単独との第3相試験に進める価値があるかどうかを判断することにある。本研究によって、有効性が認められれば第3相試験を経て、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する標準的治療法の確立が期待される。また、本研究に関連して、軟部肉腫における腫瘍随伴症候群の病態解明、手術不能例、進行再発例に対する治療戦略の開発、術前MRI画像による至適切除縁の決定等についても検討を加えた。

一方、非円形細胞肉腫は化学療法感受性がさほど高くないという根本的問題もあり、近い将来における肉腫に有効な新規薬剤の出現が期待できない現状においては、既存の抗癌剤に対する耐性克服や肉腫細胞の浸潤・転移の制御の方策を講じなければ、劇的な生命予後改善効果は得られないと考えられる。そこで、将来のさらなる高悪性度骨軟部肉腫の治療成績向上に向けて、この観点からの基礎的研究を行う

必要があり、肉腫の薬剤耐性機序および浸潤・転移の分子機構の解明とその克服に関する研究も実施していく。

また、新しい診断法の模索として、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)法を用いた骨軟部腫瘍の染色体変異解析の有用性を検証した。肉腫におけるFGF、c-kit、HER2、BMPなどの発現や意義に関する検討を行い、新しい分子標的治療の可能性を模索した。さらに、全く新しい治療法の開発を目的として、滑膜肉腫に対する腫瘍抗原特異的免疫療法、骨軟部腫瘍に対するWT1遺伝子産物を標的とした腫瘍特異的免疫療法の効果を検討した。

B. 研究方法

高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する Ifosfamide, Adriamycin による補助化学療法の第2相臨床試験

研究形式：多施設共同第2相臨床試験であり、プライマリエンドポイントは奏効割合、セカンダリエンドポイントは2年無増悪生存割合、無増悪生存期間、全生存期間、有害事象発生割合、重篤な有害事象発生割合、心毒性発生割合、脳症発生割合および手術合併症発生割合とする。

対象：1) 年齢20～65才、2) ECOG Performance Status 0-1、3) 四肢原発の軟部腫瘍、4) 切開生検サンプルを用いた病理診断にて非円形細胞軟部肉腫(WHO分類の以下のいずれか；悪性線維性組織球腫、線維肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、滑膜肉腫、多形型横紋筋肉腫、未分化肉腫)、5) AJCC病期分類でStage III (T2bN0M0)、6) MRIでの評価可能病変を有する、7) 切除可能、8) 未治療例かつ他の癌種に対し化学療法・放射線療法の既往がない。

化学療法スケジュール (計5コース)：

ADM 30 mg/m²/day (day 1-2)、IFO 2 g/m²/day (day 1-5)

以上を3週1コースとして術前3コース、術後2コースの計5コース実施する。

手術療法：

術前化学療法終了後、3コース目の化学療法開始日

より5週以内に広範切除術を施行する。

治療効果判定と治療の継続：

術前化学療法3コース終了後MRIを撮影し、2方向計測にて評価する。術前化学療法中に臨床的に増悪と判断された場合は、化学療法を中止して切除を行う。手術後の切除縁評価にて十分な切除縁が得られていないと判断される場合は、術後化学療法の終了後に各施設の判断により放射線療法を実施してもよい。治療終了例は再発を認めるまで追加治療を行わず経過を観察する。治療中止例の後治療は自由とする。

統計学的考察と予定症例数：

本研究の主たる目的は、本治療レジメンが手術単独との第2相臨床試験を行うに足る有効性を示すかどうかを評価することである。プライマリエンドポイントは奏効割合、セカンダリエンドポイントは、2年無増悪生存割合、無増悪生存期間、全生存期間および安全性である。症例集積期間は2年間とし、登録終了2年後に最終解析を行う。登録予定症例数は75例である。進行例に対しての薬剤強度の高くない化学療法による奏効率の点推定値は30%程度であり、これら過去の試験では、化学療法が進行例に対してであるものの、生存には寄与しないことが示されている。従って、閾値奏効率を30%としてこれを上回ることを、手術単独療法と比較するランダム化比較試験を行う要件とし、期待奏効率は45%に設定した。これらの設定の下では、 $\alpha=0.10$ 、 $\beta=0.10$ として、SWOGの2stage designを用い、必要予定登録症例数は68例となる。参加予定施設は全国26施設であり、年間平均2例程度は各施設での集積は見込めるものと考えられる。このうち同意を7割で得られると仮定すると、1年に35~37例、2年間で70例以上の症例が集積可能と考えられる。

肉腫の薬剤耐性機序および浸潤・転移の分子機構の解明とその克服に関する研究

各種肉腫細胞株に対して低濃度のADMを投与した環境下での継代を行い樹立したADM耐性株を用い、

薬剤排泄ポンプであるMDR1およびMRP1等の薬剤耐性関連遺伝子の発現を調べた。これらのポンプの阻害剤を投与し、薬剤耐性が克服可能かを検討した。

線維肉細胞株にGFP遺伝子を恒久的に導入し、細胞の挙動が明確に追跡可能な系を構築した。その細胞を用い、in vivoでの肉腫細胞の浸潤・転移の様子を観察した。同時に細胞の運動能を制御する因子であるFAKの活性化状態について調べ、FAKを介するシグナル伝達の関与について検討した。

軟部肉腫の治療戦略の開発に関する研究

軟部肉腫患者においてしばしば認められる腫瘍随伴症候群の病態解明と臨床的意義について検討した。また、手術不能例、進行再発例に対する有効な化学療法の開発を行った。術前MRI画像による至適切除縁の決定法等についても検討を加えた。

比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)法を用いた悪性軟部腫瘍の染色体変異の解析

代表的軟部肉腫である悪性線維性組織球腫の新鮮凍結標本を対象としてCGHを行った。CGH法で高頻度に確認された変異領域に対しては、マイクロアレイCGH法を追加し変異遺伝子の特定を行った。

肉腫に対する分子標的治療の開発

滑膜肉腫において特異的に発現していることが遺伝子発現プロファイリングによって確認されているFGFのシグナル伝達経路とその分子標的としての有用性について検討した。また、滑膜肉腫に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤FK228の効果についても検討した。軟部肉腫やEwing肉腫におけるc-kit,HER2/neu発現についても解析を加えた。悪性線維性組織球腫におけるBMP-2の発現と予後との相関について検討した。

滑膜肉腫に対する腫瘍抗原特異的免疫療法

ヒト滑膜肉腫特異的融合遺伝子SYT-SSXのアミノ酸配列より、腫瘍組織適合抗原HLA-A24と結合可能な腫瘍抗原ペプチドを合成し、HLA-A24陽性の滑膜肉腫患者6例に対して第1相臨床試験を実施

した。

WT1 遺伝子産物を標的とした腫瘍特異的免疫療法
悪性骨軟部腫瘍で高率に過剰発現している WT1 遺伝子産物を標的として、WT1 ペプチドを用いた腫瘍ワクチン療法を開発し、6 例の悪性骨軟部腫瘍患者に対し第 1/2 相臨床試験を実施した。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言および我が国の「臨床研究に関する倫理指針」従い以下を遵守する。

- 1) プロトコルの IRB (倫理審査委員会) 承認が得られた施設からしか患者登録を行わない。
- 2) 全ての患者について登録前に十分な説明と理解に基づく自発的同意を本人より文書で得る。
- 3) データの取り扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保しプライバシー保護を厳守する。
- 4) 研究の第三者的監視：JCOG を構成する他の研究班の主任研究者等と協力して、臨床試験審査委員会、効果・安全性評価委員会、監査委員会を組織し、研究開始前および研究実施中の第三者的監視を行う。

また、臨床サンプルを用いた研究においては、文部科学省・厚生労働省・経済産業省による、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」に準じて行い、十分なインフォームドコンセントを得、個人情報保護を徹底し、同意の撤回は随時可能と明記し患者・家族の利益を守ることに配慮した。

C. 結果

高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する Ifosfamide, Adriamycin による補助化学療法の第 2 相臨床試験

本研究では、四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍の大部分を占める非円形細胞肉腫に対する標準治療を確立することを主目的としている。高悪性度軟部肉腫に対する化学療法の臨床研究を中心に据えており、平成 14 年度は実施計画書作成、研究体制整備、平成 15 年度はフルプロトコール作成、JCOG 審査委員会での審査を行った。すでに骨軟部悪性

腫瘍の治療を実施している主要な 26 施設による全国規模の研究組織が整い、JCOG と討論を重ね臨床研究プロトコールを作成した。今年度は各施設での IRB 審査を経て、症例登録を開始した。現在の登録症例数は 4 例である。今後の年次計画としては、平成 17 年度；症例集積、モニタリング、中間解析、平成 18 年度；登録完遂、結果解析、第 3 相試験の準備開始、を予定している。

肉腫の薬剤耐性機序および浸潤・転移の分子機構の解明とその克服に関する研究

肉腫の薬剤耐性機序に関する研究では、ADM を段階的に増量し長期間継代することにより各種の薬剤耐性株作成に成功しているが、これらの細胞を用いた検討では、薬剤排泄ポンプである MDR1 や MRP1 の発現亢進が見られ、これが薬剤耐性の原因の一つと考えられた。これらのポンプの阻害剤を使用することでこの薬剤耐性は部分的に克服できた。浸潤・転移の分子機構の解析では、GFP 導入細胞の挙動が 1 細胞のレベルで追跡可能なシステムが構築できた。マウスを用いた in vivo の実験で、肉腫細胞が浸潤していく際に、細胞内の FAK のリン酸化が亢進し、FAK が活性化することが判明した。この活性化は浸潤している辺縁部の細胞にのみ見られ、中心部分の細胞では FAK リン酸化は生じていなかった。

軟部肉腫の治療戦略の開発に関する研究

高悪性度軟部腫瘍では高 CRP 血症や白血球、血小板増加などの腫瘍随伴症候群を伴う症例が多い。そこで、腫瘍随伴症候群を伴う悪性線維性組織球腫における、臨床因子との相関と腫瘍随伴症候群の原因究明を行った。46 例の悪性線維性組織球腫の解析では、65%の症例が術前高 CRP 血症を呈していた。予後との相関では無病生存率、生存率ともに有意に高 CRP 血症群が不良であった。臨床因子との相関では、高 CRP 群は腫瘍サイズ、腫瘍の深さ、組織学的悪性度、等と有意な相関が認められた。また高 CRP 血症 7 例で測定した IL-6 値は総て上昇が認められており、IL-6 が高 CRP 血症と関

係していることが示唆された。逆にその receptor は発現が少ないこと、sIL-6R の投与により細胞内 stress fiber が増強し浸潤能と増殖能が抑制されること、それらの signal 伝達が STAT3 と MAPK のリン酸化を通じて行われることを解明した。

成人軟部悪性腫瘍に対する VP16 単剤の奏効率は 10%程度であるが、IFO との相乗効果が報告されていることから、IFO+VP16 併用化学療法の効果について検討した。成人発生非円形細胞肉腫 22 例に実施した結果、PR6 例、NC14 例で、奏効率は 27%であった。有害事象として骨髄抑制による発熱が 10%であり、比較的毒性は軽く、中・高齢者に対する化学療法として応用も十分可能であった。奏効率は低いものの新しい治療レジメンとして有望と考えられた。また、粘液脂肪肉腫に対する IFO-VP16、DOX-CDDP 交互療法の効果についても検討した。7 例中 PR 4 例であり比較的高い奏効率が得られた。また、7 例の手術不能の軟部肉腫進行例に対して CDDP を用いた動注療法と放射線療法を施行した。治療終了後 3 週間以内に PR となった症例はなかったが、脊柱近傍発生の 2 例で脊柱管内の腫瘍が消失した。また、切除を行わなかった 4 例中 3 例で経過とともに腫瘍は縮小し、臨床的にも疼痛が改善し ADL が維持された。腫瘍死した 5 例の生存期間は 5 から 15 ヶ月、中央値 11 ヶ月であり腫瘍の再増殖はなかった。2 例は 33 ヶ月、34 ヶ月で生存中である。

術前 MRI による至適切除縁の決定に関しては、T2 強調像で通常 high signal を示すが、この外縁は黒い線 (low signal intensity line : LSL) で縁取られることが多い。しかし、さらにその外側に、T2 強調像で high signal を示す領域がしばしば存在する (reactive edematous zone: REZ)。この領域には腫瘍細胞浸潤の可能性があるが、その危険性は腫瘍境界を縁取る LSL の所見と強く関連する。本研究における腫瘍外縁の判定は、前任地での 78 例と、当院での 61 例、計 139 例の骨軟部悪性腫瘍を対象とし、SE 法での T1,T2 強調画像における所見と、切

除標本での腫瘍外縁の病理学的評価を対比検討したものである。腫瘍像外縁において、LSL が T1,T2 いずれでも連続性に变化無く認められる場合：この line を strong LSL と判定した。反映するものは、病理学的には、厚い腫瘍被膜を反映する場合と、腫瘍の外側の barrier を反映する場合があった。前者の場合、この外側の REZ には浮腫組織のみで、出血や毛細血管増性といった反応層は見られなかった。したがって、この line を最小切除縁とした場合、日整会骨・軟部肉腫切除縁判定基準では marginal margin となるが、腫瘍遺残のない切除という点では、安全性に関し barrier を介した wide margin に相当した。後者の場合、腫瘍像外縁の strong LSL は腫瘍の外側の健全な barrier を反映した。

比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)法を用いた骨軟部腫瘍の染色体変異の解析

悪性線維性組織球腫の CGH 法による解析では、全例何らかの変異を認めた。特に変異の多かった領域は gain : 1p, 4p, 5p, 12q, loss : 2q, 3p, 16q, 19p であった。CGH の結果と臨床的な予後との比較では、6p12、18q11.2 の gain、2q37 の loss で予後との相関を認めた。

肉腫に対する分子標的治療の開発

滑膜肉腫細胞株における FGF シグナルの解析では、23 種類の FGF のうち FGF2、8、9、11 及び 18 遺伝子が 5 株において共通して発現していた。受容体に関しては、FGFR2b 以外の受容体を発現しており、自己分泌機構の存在が伺われた。また、原発巣組織腫瘍での遺伝子発現解析では、FGF に関しては細胞株同様上記 5 種類の FGF の発現が共通して認められた。しかし FGFR に関してはやや異なり、細胞系では陰性であった上皮細胞関連 FGFR である FGFR2b が特に二相性滑膜肉腫の症例で陽性であった。組換え FGF 蛋白、特に FGF8 の添加により全ての滑膜肉腫細胞株において増殖促進効果が認められ、これは ERK 及び p38 蛋白のリン酸化の亢進を伴っていた。一方、FGFR 特異的阻害剤 (SU5402 及び PD166866) は濃度依存性に 5 種類の

滑膜肉腫細胞株全てに対し増殖抑制効果を示した。滑膜肉腫において FGF8 を中心とした FGF シグナルは自己分泌機構を介して ERK のリン酸化による増殖促進作用をもち、FGFR 特異的阻害剤は、そのシグナルを阻害することで細胞周期を停止させ増殖を阻害することが判明した。

また、滑膜肉腫細胞株 5 株を用いて、FK228 を投与し MTT assay を行ったところ、濃度依存的に増殖抑制効果を示した。IC50 は滑膜肉腫に対しては 0.02-0.2nM であった。In vivo においても、FK228 投与群では著明な腫瘍の縮小を認めた。滑膜肉腫細胞株に対する FK228 の腫瘍増殖抑制効果は、今までに報告された他の腫瘍細胞株よりも遥かに低濃度であった。

また、Ewing 肉腫における c-kit の発現を調べ、これらの臨床病理学的因子との関連につき検討を行ったところ、c-kit の発現は 21 例中 9 例 (47%) に認めるも、予後を含め各臨床病理学的因子については全ての項目で c-kit の発現との関連は認めなかった。Ewing 肉腫における c-kit の発現は予後因子とはならないことが示唆された。さらに、398 例の軟部肉腫の免疫組織学的検討の結果、骨外性 Ewing 肉腫 25%と血管肉腫 13%に c-kit が比較的高く発現しているが、その他はほぼ陰性であった。C-kit 陽性の症例は全症例の 3%に過ぎなかった。Glivec の効果が期待できる同じタイプの増殖因子レセプターである platelet-derived growth factor receptor alpha(PDGFRα)遺伝子の変異もほとんど検出されなかった。一方、HER 2/neu(c-erbB 2)の発現は軟部肉腫 281 例中 168 例 (60%) において陽性であった。特に、多形型悪性線維性組織球腫、粘液線維肉腫、悪性末梢神経症種、滑膜肉腫、平滑筋肉腫でその発現率が高く、過剰発現を示した患者は予後不良であった。悪性度、病期と相関性が認められた。悪性線維性組織球腫の予後因子を検索する目的で、BMP-2 (Bone Morphogenetic Protein-2) の発現の予後に及ぼす影響を免疫組織学的に検討したところ、単変量、多変量解析の結果、BMP-2 高発現群は低

発現群に比して有意に予後が良いことが明らかとなった。

滑膜肉腫に対する腫瘍抗原特異的免疫療法

切除不能の滑膜肉腫進行例 6 例を対象とし、9-mer のペプチド (SYT-SSX B:GYDQIMPCK) を 2 週ごとに合計 6 回皮下投与した。投与量は最初の 3 例が 0.1mg、その後の 2 例が 1mg であった。1 例で 1 回目のワクチン投与後に微熱がみられたが、他の有害事象の発生はなかった。遅延型過敏反応は全例で陰性であった。6 例中 5 例で病状が進行したが、1 例では腫瘍増大が抑制され NC と判定された。3 例で末梢血中の CTL 存在頻度が増加した。腫瘍増大が抑制された 1 例では CTL 頻度が減少した。これら 4 例ではペプチド特異的 CTL の誘導が可能であった。

WT1 遺伝子産物を標的とした腫瘍特異的免疫療法

現在までに 6 例の悪性骨軟部腫瘍患者に WT1 ペプチド療法を実施した。組織診断別の内訳は、軟部肉腫が 4 例(PNET 2 例、悪性線維性組織球腫 1 例、線維肉腫 1 例)、骨腫瘍が 2 例 (淡明細胞軟骨肉腫 1 例、間葉性軟骨肉腫 1 例) である。比較的進行例が多く、明らかに臨床的に WT1 ペプチド療法の有効性を示した症例は未だ認めていない。安全性については、本ワクチン療法に伴う重篤な副作用は皮内投与局所の発赤・腫脹以外見られていない。

D. 考察

本研究は、四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍の大部分を占める非円形細胞肉腫に対する標準治療を確立することを主目的とする。現時点でもっとも有効性が期待され実施可能と考えられる ADM+ IFO 併用術前術後化学療法の有効性と安全性を第 2 相試験により評価し、十分な有効性と安全性が示された場合、手術単独療法とのランダム化第 3 相試験の実施を検討する。四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍は、円形細胞肉腫と非円形細胞肉腫に大別され、後者が大多数を占める。円形細胞肉腫に対する化学療法の有効性は証明されているが、

非円形細胞肉腫に対しては世界的にも未だ標準治療が確立されていない。現在の高悪性度非円形細胞肉腫の治療の基本は外科的切除であるが、切除単独の10年生存率は約35%と低く、標準治療とは言い難い。術前・術後の化学療法が試みられているが、大規模比較試験によって有用性が証明された治療法は未だ存在しない。国内年間新患者数が約450例と、他がん種と比較して稀な疾患であることもあり、特に我が国では本疾患に対する臨床試験は少ない。切除不能の進行例に対しては、最近ADM+CPM+IFO3剤併用化学療法の第2相試験が行われたが、本研究で対象とする切除可能な症例に対する集学的治療の国内臨床試験は皆無である。各施設における単独の治療成績を見ると、高悪性度非円形細胞肉腫の手術単独による予後は不良であり、補助化学療法による予後改善の可能性を示唆する結果であった。しかし、補助化学療法の効果を明らかにするためには、前向き臨床試験が必須である。本研究により本疾患に対する標準治療を確立することは、国内のみならず世界的にも極めて意義深いと考えられる。

また、手術不能例や転移を有する症例など進行例に対しても、抗癌剤動注などの工夫を行うことで効果が期待できる可能性を示唆され、症例数を増やした多施設での臨床研究を行う必要があると考えられた。高悪性度軟部腫瘍において腫瘍随伴症候群を伴う症例は予後が不良であり、IL-6が関係していることが示唆された。それらのシグナル伝達はSTAT3とMAPKのリン酸化を通じて行われていることから、このシグナル系路を標的とした治療法開発の可能性が考えられる。

肉腫の薬剤耐性機序の解明に関する研究では、我々の樹立した肉腫での耐性株は、薬剤耐性関連遺伝子のMDR1やMRP1の発現亢進が見られ、これが多剤耐性の原因の一つと考えられた。これらのポンプの阻害剤を使用することでこの薬剤耐性は部分的に克服できたことから、難治性の肉腫に対する化学療法においては、MDR1やMRP1の阻害薬との併用

が有用であると考えられた。浸潤・転移の分子機構の解析では、GFP導入細胞を用いたin vivoでの検討で、肉腫細胞が実際に周囲組織へ浸潤していく際に、細胞内のFAKのリン酸化が特異的に亢進し、FAKが活性化することが判明した。従って、FAKを標的とした分子標的治療は、肉腫の浸潤・転移の制御に有効である可能性が示唆された。

CGH法を用いた骨軟部腫瘍の染色体不安定性の解析においては、各腫瘍にいくつかの特徴的な、遺伝子・染色体変異が認められた。悪性末梢神経鞘腫瘍における変異は他の腫瘍より高頻度に出現し、DAB2とEGFRのgainや、CDH1のlossが好発していた。滑膜肉腫では、monophasicはbiphasicよりも遺伝子・染色体変異の点から不安定で、PDGFRA、EGFR、FGFR1、SAS、MDM2等のgainが高頻度に出現することが特徴であった。脂肪肉腫とMPNSTでは、予後因子は不明であったが、滑膜肉腫では、変異数と数個のgainが予後と関係あった。CGH法を用いた解析の有用性が示された。滑膜肉腫でのFGFシグナルの意義に関しては、滑膜肉腫ではFGFの自己分泌機構が受容体からERKのリン酸化を介して増殖に促進的に作用していることが判明した。FGF受容体阻害剤が滑膜肉腫に対する新規治療法となる可能性を示唆する結果と考えられた。滑膜肉腫細胞株に対するFK228の腫瘍増殖抑制効果は、今までに報告された他の腫瘍細胞株よりも遥かに低濃度であり、有効な治療法となる可能性がある。一方、HER2/neu(c-erbB2)遺伝子は第17染色体に位置し、185kDの膜貫通型チロシンキナーゼであるHER2蛋白をコードする。HER2/neu蛋白はEGF受容体を構成するする4つの膜蛋白の一つであるが、軟部肉腫での発現率は非常に高く、過剰発現を示した患者は予後不良であった。分子標的治療のターゲットとして有望であることを示唆する結果であった。

滑膜肉腫に対する免疫療法では6例中1例で腫瘍増大が抑制されたが、その頻度は高いものではなかった。今後はIFAやGM-CSFなどアジュバント

の併用、昨年度合成した改変ペプチドを使用することによって、より高い奏効率が得られるものと考えている。また、腫瘍増大が抑制された例で CTL の頻度が減少した点は興味深い。CTL が末梢血から腫瘍に動員された可能性が考えられる。

WT1 ペプチド腫瘍ワクチン療法に関しては、悪性骨軟部腫瘍においては臨床的に有効な症例は未だ認められないが、他の癌種では脳腫瘍や乳癌の一部で有効と思われる症例がみられている。今後さらに症例を増やし、悪性骨軟部腫瘍においても有効例を探索・評価することにより、腫瘍特異的免疫療法の確立を目指す予定である。

E. 結論

四肢に発生する高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する標準治療を確立することを目的とし、現時点でもっとも有効性が期待され実施可能と考えられる ADM+IFO 併用術前術後化学療法の有効性と安全性を検討する第 2 相試験を計画した。平成 14 年度は実施計画書作成、研究体制整備、平成 15 年度はフルプロトコール作成、JCOG 審査委員会での審査を行った。すでに骨軟部悪性腫瘍の治療を実施している主要な 26 施設による全国規模の研究組織が整い、JCOG と討論を重ね臨床研究プロトコールを作成した。今年度は各施設での IRB 審査を経て、症例登録を開始している。今後は、症例集積、モニタリング及び結果解析、第 3 相試験の準備開始、を行っていく。本研究によって、ADM+IFO 療法の有効性が認められれば第 3 相試験を経て、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する標準的治療法の確立が期待される。世界的にみても、補助化学療法の有効性を示す画期的な研究となり、世界標準となりうる可能性を秘めている。非円形細胞軟部肉腫に対する化学療法の奏効率はさほど高くないことが問題であるが、MDR1 をはじめとする多剤耐性関連遺伝子の発現が関与しており、その阻害剤の併用が耐性克服に有用と考えられた。肉腫の浸潤・転移には FAK が深く関与しており、その

制御が転移抑制に重要であることが示された。また、CGH 法による染色体変異の解析は、悪性軟部腫瘍の診断や予後予測に有用である可能性が示唆された。FGF シグナルや HER2、BMP などの分子が新しい分子標的治療のターゲットになりうると考えられた。肉腫特異的融合遺伝子や WT1 遺伝子産物を標的とした、悪性骨軟部腫瘍に対する腫瘍特異的免疫療法は、奏効例はまだ見られないものの、症例を増やし治療法開発を継続する予定である。

F. 健康危険情報

国民の生命、健康に重大な影響を及ぼすと思われるような健康危険情報は無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawaguchi K, Oda Y, Saito T, Yamamoto H, Takahira T, Tamiya S, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M
Decreased expression of transforming growth factor-*B* II receptor is associated with that of p27KIP1 in giant cell tumor of bone: A possible link between transforming growth factor-*B* and cell cycle-related protein.
Human Pathology 35: 61-68, 2004

Takahira T, Oda Y, Tamiya S, Yamamoto H, Kawaguchi K, Kobayashi C, Oda S, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M
Microsatellite instability and p53 mutation associated with tumor progression in dermatofibrosarcoma protuberans.
Human Pathology 35: 240-245, 2004

Saito T, Oda Y, Kawaguchi K, Takahira T, Yamamoto H, Tanaka K, Matsuda S, Sakamoto A, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M
PTEN and other tumor suppressor gene mutations as secondary genetic alterations in synovial sarcoma.
Oncology Reports 11: 1011-1015, 2004

Matsunobu T, Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Sakimura R, Hanada M, Li Xu, Oda Y, Naruse I, Hoshino H, Tsuneyoshi M, Iwamoto Y
The prognostic and therapeutic relevance of

p27kipl in Ewing's family tumors.
Clin. Cancer Res., 10: 1003-1012, 2004

Oda Y, Takahira T, Kawaguchi K, Yamamoto H, Tamiya S, Matsuda S, Tanaka K, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M
Low-grade fibromyxoid sarcoma versus low-grade myxofibrosarcoma in the extremities and trunk. A comparison of clinicopathological and immunohistochemical features
Histopathology 45:29-38, 2004

Takahira T, Oda Y, Tamiya S, Yamamoto H, Kawaguchi K, Kobayashi C, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M
Alterations of the p16^{INK4a}/p14^{ARF} pathway in clear cell sarcoma
Cancer Sci. 95(8):651-655, 2004

Kawaguchi K, Oda Y, Saito T, Yamamoto H, Takahira T, Tamiya S, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M
Death-Associated Protein Kinase (DAP Kinase) Alteration in Soft Tissue Leiomyosarcoma: Promoter Methylation or Homozygous Deletion Is Associated With a Loss of DAP Kinase Expression
Hum Pathol, 35(10):1266-1271, 2004

Saito T, Oda Y, Kawaguchi K, Sugimachi K, Yamamoto H, Tateishi N, Tanaka K, Matsuda S, Iwamoto Y, Ladanyi M, Tsuneyoshi M
E-cadherin mutation and Snail overexpression as alternative mechanisms of E-cadherin inactivation in synovial sarcoma
Oncogene, 23:8629-8638, 2004

細川哲、田仲和宏、松田秀一、播谷勝三、三浦裕正、岩本幸英、小林周、小田義直
当科における手の腫瘍症例の検討
災害外科と整形外科, 53: 166-169, 2004

泉貞有、小田義直、松田秀一、田仲和宏、岩本幸英、恒吉正澄
脛腓骨同時発生の osteofibrous dysplasia の 1 例
診断病理 21(3):251-253, 2004

Kuwano M, Oda Y, Izumi H, Yang S, Uchiyama T, Iwamoto Y, Toi M, Fujii T, Yamana H, Kinoshita H, Kamura T, Tsuneyoshi M, Yasumoto K, Kohno K
The role of nuclear Y-box binding protein 1 as

a global marker in drug resistance
Mol Cancer Ther, 3(11):1485-1492, 2004

岩本幸英
癌の骨転移の診断における Pitfalls
骨・関節・靭帯, 17(4): 406-408, 2004

岩本幸英
第76回日本整形外科学会学術総会シンポジウム「私の患肢温存手術」序文
日整会誌, 78: 143-145, 2004

松延知哉、岩本幸英
原発性骨腫瘍
THE BONE, 18(5):47-52, 2004-9

岩本幸英
骨軟部腫瘍の基本戦略と目標
日本医師会雑誌, 132(7), 989-991, 2004

田仲和宏、岩本幸英
Ewing 肉腫の発癌機構と分子標的治療
整形外科, 55(10):1322, 2004

岩本幸英
悪性骨・軟部腫瘍の化学療法
今日の整形外科治療指針、二ノ宮節夫、富士川恭輔、越智隆弘、国分正一、岩谷力(編)、pp198-201、医学書院、東京、2004

岩本幸英
全身性疾患 第3章 骨・軟部腫瘍
神中整形外科学 改訂 22 版, 上巻, 杉岡洋一監修, 岩本幸英編集, pp571-694, 南江堂, 東京, 2004

Umio Yamaguchi¹, Tadashi Hasegawa², Yuki Morimoto¹, Ukihide Tateishi³, Makoto Endo¹, Fumihiko Nakatani¹, Akira Kawai¹, Hirokazu Chuman¹, Yasuo Beppu¹, Mareyuki Endo⁵, Hidekachi Kurotaki⁶, and Koh Furuta⁴
A practical approach to clinical diagnosis of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumour and other small round cell tumours sharing EWS rearrangement by applying new fluorescence in situ hybridization probes for EWSR1 on formalin-fixed paraffin-embedded tissue
J Clin Pathol, in press

Umio Yamaguchi, Tadashi Hasegawa, Taizo Masuda, Shigeki Sekine, Akira Kawai, Hirokazu Chuman, Tadakazu Shimoda: Differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumor and other spindle cell tumors in the gastrointestinal tract based on immunohistochemical analysis. *Virchows Arch* 445: 142-150, 2004.

Umio Yamaguchi, Tadashi Hasegawa, Shinji Sakurai, Yuji Sakuma, Yutaka Takazawa, Tsunekazu Hishima, Tomoko Mitsuhashi, Shigeki Sekine, Hirokazu Chuman, Tadakazu Shimoda: Interobserver variability in histologic recognition, interpretation of KIT immunostaining and determining MIB-1 labeling indices in gastrointestinal stromal tumors and other spindle cell tumors of the gastrointestinal tract. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* (In press) 2004.

川井章、伊藤康正、山口洋、中馬広一、別府保男、長谷川匡
淡明細胞軟骨肉腫
整形外科 南江堂 54 (7) : 828-829, 2003.

中馬広一
進行性再発骨軟部肉腫に対する化学療法の現状
癌と化学療法
癌と化学療法社 31 (9) : 1331-1339, 2004.

山口洋 (分担執筆)
軟部腫瘍 がん化学療法看護 2004 年度版
南光堂 2004.

山口洋、長谷川匡
軟部肉腫の病理診断と治療 (特集) 癌と化学療法
癌と化学療法社 31 (9) : 1340-1345, 2004.

川井章、中馬広一、伊藤康正、山口洋、森本裕樹、別府保男
がん骨転移の疫学 (特集)
骨・関節・靭帯 アークメディア
17 (4) : 363-367, 2004.

川井章、別府保男、中馬広一、伊藤康正、山口洋、森本裕樹
シンポジウム 高齢者骨・軟部腫瘍の治療

高齢者骨・軟部腫瘍の治療成績—わが国の現状—
日本整形外科学会雑誌 78 : 377-381, 2004.

Asano N Yamazaki T Seto M Matsumine A Yoshikawa H Uchida A
The expression and prognostic significance of bone morphogenetic protein-2 in patients with malignant fibrous histiocytoma
J Bone Joint Surg 86B:607-612 2004

Matsumine A Myoui A Kusuzaki K Araki N Seto M Yoshikawa H Uchida A
Calcium hydroxyapatite ceramic implants in bone tumor surgery
J Bone Joint Surg 86B:719-725 2004

Asanuma K Wakabayashi H Hayashi T Okuyama N Seto M Matsumine A Kusuzaki K Uchida A
Thrombin Inhibitor, Argatroban, Prevents Tumor Cell Migration and Bone Metastasis
Oncology 67:166-173 2004

Kudawara I Araki N Myoui A Kato Y Uchida A Yoshikawa H
New cell lines chondrocytic phenotypes from human chondrosarcoma
Virchow Arch 444:577-586 2004

Uchida A Wakabayashi H Okuyama N Matsumine A Kusuzaki K
Metastatic bone disease: pathogenesis and strategies for treatment
J Orthop Sci 9:415-420 2004

Fukuda A Kusuzaki K Hirata H Matsubara T Seto M Matsumine A Uchida A
Metastasis of malignant peripheral nerve sheath tumor to free vascularized myocutaneous flap
Oncol Rep 13:295-297 2005

Yoshida K Kusuzaki K Matsubara T Matsumine A Kumamoto T Komada Y Naka N Uchida A
Periosteal Ewing's sarcoma treated by photodynamic therapy with acridine orange
Oncol Rep 13:279-282 2005

Ochi, K., Daigo, Y., Katagiri, T., Nagayama, S., Tsunoda, T., Myoui, A., Naka, N., Araki, N., Kudawara, I.,

- Ieguchi, M., Toyama, Y., Toguchida, J., Yoshikawa, H., Nakamura, Y.: Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma by gene-expression profiles. *International Journal of Oncology*, 24:647-655, 2004.
- Sakaura, H., Hosono, N., Mukai, Y., Ishii, T., Yonenobu, K., Yoshikawa, H.: Outcome of total en bloc spondylectomy for solitary metastasis of the thoracolumbar spine. *Journal of Spinal Disorders and Tech.*, 17:297-300, 2004.
- Kudawara, I., Araki, N., Myoui, A., Uchida, A., Fukuda, H., Yoshikawa, H.: Synovial sarcoma after chemotherapy for osteosarcoma. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 418:198-201, 2004.
- Asano, N., Yamazaki, T., Seto, M., Matsumine, A., Yoshikawa, H., Uchida, A.: The expression and prognostic significance of bone morphogenetic protein-2 in patients with malignant fibrous histiocytoma. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 86 B:607-612, 2004.
- Yoshikawa, H., Nakase, T., Myoui, A., Ueda, T.: Bone morphogenetic proteins in bone tumors. *Journal of Orthopaedic Science*, 9:334-340, 2004.
- Fang, Z., Matsumoto, S., Ae K., Kawaguchi, N., Yoshikawa, H., Ueda, T., Ishii, T., Araki, N., Kito, M.: Postirradiation soft tissue sarcoma: a multiinstitutional analysis of 14 cases in Japan. *Journal of Orthopaedic Science*, 9:242-246, 2004.
- Nakanishi, H., Araki, N., Joyama, S., Higuchi, C., Mano, M., Ishiguro, S., Itoh, K., Ueda, T., Yoshikawa, H.: Myxoid Liposarcoma With Adipocytic Maturation: Detection of TLS/CHOP Fusion Gene Transcript. *Diagn Mol Pathol*, 13:92-96, 2004.
- Nakanishi, H., Araki, N., Kuratsu, S., Narahara, H., Ishikawa, O., Yoshikawa, H.: Skeletal metastasis in patients with gastric cancer. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 423:208-212, 2004.
- Higashiyama, M., Kodama, K., Takami, K., Higaki, N., Yamada, T., Mano, M., Tsukamoto Y, Araki N, Yoshikawa, H.: Surgical treatment of bone metastasis followed by a primary lung cancer lesion: report of a case. *Surgery Today*, 34:600-605, 2004.
- Ida, K., Kawaguchi, S., Sato, Y., Tsukahara, T., Nabeta, Y., Sahara, H., Ikeda, H., Torigoe, T., Ichimiya, S., Kamiguchi, K., Wada, T., Nagoya, S., Hiraga, H., Kawai, A., Ishii, T., Araki, N., Myoui, A., Matsumoto, S., Ozaki, T., Yoshikawa, H., Yamashita, T., Sato, N.: Crisscross CTL induction by SYT-SSX junction peptide and its HLA-A*2402 anchor substitute. *Journal of Immunology*, 173:1436-1443, 2004.
- Kudawara, I., Araki, N., Myoui, A., Kato, Y., Uchida, A., Yoshikawa, H.: New cell lines with chondrocytic phenotypes from human chondrosarcoma. *Virchows Archives*, 444:577-586, 2004
- Matsumine, A., Myoui, A., Kusuzaki, K., Araki, N., Seto, M., Yoshikawa, H., Uchida, A.: Calcium hydroxyapatite ceramic implants in bone tumor surgery. A long term follow-up study. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 86B:719-725, 2004.
- Nakanishi, H., Yoshioka, K., Joyama, S., Araki, N., Myoui, A., Ishiguro, S., Ueda, T., Yoshikawa, H., Itoh, K.: IL-6/soluble IL-6R signaling attenuates proliferation and invasion, and induces morphological changes of a newly established pleomorphic malignant fibrous histiocytoma. *American Journal of Pathology*, 165:471-480, 2004.
- 名井陽、菅野伸彦、小山毅、山梨亘、玉井宣行、上田孝文、吉川秀樹、越智隆弘：骨盤類骨骨腫に対するナビゲーションを利用した小侵襲切除術。整形外科, 55:1466-1467, 2004.
- 名井陽、吉川秀樹、荒木信人：骨腫瘍。NEW MOOK 整形外科, 15:193-204, 2004.
- Umehara N, Ozaki T, Sugihara S, Kunisada T, Morimoto Y, Kawai A, Nishida K, Yoshida A, Murakami T, Inoue H. Influence of telomerase activity on bone and soft tissue tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*, 130: 411-16, 2004.
- Ozaki T, Wai D, Schaefer KL, Lindner N, Boecker W, Winkelmann W, Dockhorn-Dworniczak B, Poremba C. Comparative genomic hybridization in cartilaginous tumors. *Anticancer Res*, 24: 1721-5,

2004.

Ito T, Ouchida M, Ito S, Jitsumori Y, Morimoto Y, Ozaki T, Kawai A, Inoue H, Shimizu K.. SYT, a partner of SYT-SSX oncoprotein in synovial sarcomas, interacts with mSin3A, a component of histone deacetylase complex. *Lab Invest* (in press).

Ito T, Ouchida M, Morimoto Y, Yoshida A, Jitsumori Y, Ozaki T, Sonobe H, Inoue H, Shimizu K. Significant growth suppression of synovial sarcomas by the histone deacetylase inhibitor FK228 in vitro and in vivo. *Cancer Letters* (in press).

尾崎敏文. *Topics マイクロアレイ CGH. 医学のあゆみ*, 209: 187-8, 2004.

沼本邦彦, 尾崎敏文, 国定俊之, 大畑範英, 井上 一. 当科における軟骨肉腫の治療成績. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 47: 157-158, 2004.

大畑範英, 尾崎敏文, 国定俊之, 森本裕樹, 井上 一. 当科における腹壁外デスマイドの治療成績. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 47: 143-144, 2004.

中川寧子, 尾崎敏文, 国定俊之, 井上 一. 孤立性骨嚢腫の治療成績. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 47: 141-142, 2004.

武田健, 尾崎敏文, 国定俊之, 杉原進介, 井上 一. 腫瘍切除後、加温骨処理を行った症例. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 47: 1065-1066, 2004.

尾崎敏文, 濱田全紀, 国定俊之, 千田益生, 井上 一. AI 回転形成術後のリハビリテーションマニュアル. *整形外科* 2004, 55: 1479-1482, 2004.

Ishibe, T., Nakayama, T., Okamoto, T., Aoyama, T., Nishijo, K., Shibata, K. R., Shima, Y., Katagiri, T., Nakamura, Y., Nakamura, T., Toguchida, J.
Disruption of fibroblast growth factor signal pathway inhibits the growth of synovial sarcomas: potential application

of signal inhibitors to molecular target therapy. *Clin. Cancer Res.*, in press.

Nagayama, S., Iizumi, M., Katagiri, T., Toguchida, J., Nakamura, Y.
Identification of *PDZK4*, a novel gene with PDZ domains, that is upregulated in synovial sarcomas. *Oncogene*, 23: 5551-7, 2004.

戸口田淳也、長山聡、岡本健、中村孝志、中村祐輔：
滑膜肉腫の細胞起源。
骨・関節・靭帯 17: 145-148, 2004.

中山富貴、戸口田淳也、坪山直生、中村孝志。
骨軟部腫瘍における融合遺伝子解析の有用性。
中部整災誌 46: 1065-1066, 2004.

Nakanishi H, Araki N, et al
Interleukin-6 / soluble interleukin-6 receptor signaling attenuates proliferation and invasion, and induces morphological changes of a newly established pleomorphic malignant fibrous histiocytoma cell line.
Am J Pathol 165; 471-480: 2004.

Nakanishi H, Araki N, et al
Clinical implications of serum C-reactive protein levels in malignant fibrous histiocytoma.
Int J Cancer 99: 167-170, 2002.

Fujibe M, Wada T, et al.: Thr(203) of claudin-1, a putative phosphorylation site for MAP kinase, is required to promote the barrier function of tight junctions. *Exp Cell Res* 295, 36-47, 2004

Oshima Y, Wada, T, et al.: Abdominal small round cell tumor with osteoid and EWS/FLI1. *Hum Pathol* 35, 773-775, 2004.

Wada, T, et al.: One-bone forearm reconstruction using vascularized fibular graft for massive forearm soft-tissue and bone defect: case report. *J Reconstr Microsurg* 20, 285-289, 2004.

Ida K, Wada T, et al.: Crisscross CTL induction by

SYT-SSX junction peptide and its HLA-A*2402 anchor substitute. *J Immunol* 173:1436-43, 2004.

Tsukahara T, Wada T, et al.: Identification of human autologous cytotoxic T-lymphocyte-defined osteosarcoma gene that encodes a transcriptional regulator, papillomavirus binding factor. *Cancer Res* 64:5442-8, 2004.

Soma T, Wada T, et al.: Thr(207) of claudin-5 is involved in size-selective loosening of the endothelial barrier by cyclic AMP. *Exp Cell Res* 2004;300-1:202-12.

Kawaguchi S, Wada T, et al.: Phase I vaccination trial of SYT-SSX junction peptide in patients with disseminated synovial sarcoma. *J Transl Med* 2005;3-1:1.

井須和男：神経芽細胞腫、脊索腫。二ノ宮節夫他編、今日の整形外科治療指針第5版、229、医学書院、東京、2004

井須和男：高齢者における悪性骨・軟部腫瘍に対する化学療法の適応。日整会誌 78 巻、392-395、2004

松本誠一、川口智義他：骨軟部肉腫の手術法、癌と化学療法、31:1314-1318, 2004

松本誠一、川口智義他：脂肪肉腫、今日の整形外科、p222, 2004

川口智義：整形外科専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ、2004

松本誠一、川口智義他：悪性線維性組織球腫、今日の整形外科、p221-222, 2004

真鍋 淳、川口智義他：恥骨・座骨の悪性腫瘍の手術、新OS Now、18-25, 2004

川口智義：The Concept of Curative Margin in Surgery for Bone and Soft Tissue Sarcoma, *Clin. Orthop.* 419:165-172, 2004

松本誠一、川口智義他：高齢者骨・軟部肉腫の外科的治療と適応、日整会誌、78:382-385, 2004

小山晋一、川口智義他：上腕骨近位端切除に伴う

患肢温存手術の治療成績、日整会誌、78:S630, 2004

Yonemoto T, Tatezaki S, et al: Multiple primary cancers in patients with osteosarcoma: The influence of anticancer drugs and genetic factors. *Am J Clin Oncol* 27: 220-224, 2004.

Imai R, Tatezaki S, et al: Carbon ion radiotherapy for unresectable sacral chordomas. *Clin Cancer Res* 10: 5741-5746, 2004.

Kawaguchi S, Tatezaki S, et al: Phase I vaccination trial of SYT-SSX junction peptide in patients with disseminated synovial sarcoma. *J Transl Med* 3:1, 2005.

萩原洋子, 館崎慎一郎, 他: 大腿骨転子部に発生した悪性骨腫瘍に対する遊離血管柄付き腓骨移植を用いた再建術. *整形・災害外科* 47: 405-410, 2004.

木村秀樹, 館崎慎一郎, 他: 肺転移症例に対する外科治療成績. *癌と化学療法* 31: 1319-1323, 2004.

小久保晃伸、高橋満 他
下肢悪性骨腫瘍に対し血管柄付き腓骨と加温処理骨を併用した再建法. *整形外科*, 55: 1535-1538, 2004

山田健志、高橋満 他
広範な骨髄浸潤を呈した成人発症後腹膜神経芽細胞腫の1例. *癌と化学療法*, 31: 2065-2068, 2004

高木辰哉、高橋満 他
骨転移の診断と最新治療: 骨シンチグラフィー. *骨・関節・靭帯* 17: 386-395, 2004

中島浩敦、高橋満 他
大腿骨近位転移性骨腫瘍に対する腫瘍切除・人工骨頭置換術の治療経験. *関節外科* 23: 285-289, 2004

鈴木喜貴、高橋満 他
四肢長管骨骨幹部転移性骨腫瘍に対するアドリアマイシン混入セメントを併用した髄内釘による治療. *臨床整形外科* 39: 79-83, 2004

学会発表

Li Xu, Tanaka K, Nakatani F, Matsunobu T, Sakimura R, Hanada M, Okada T, Nakamura T, Iwamoto Y
Transactivation of cyclin gene by EWS-Flil in Ewing's family of tumors.

The 50 th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Francisco, Mar. 7-10, 2004

Matsunobu T, Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Sakimura R, Hanada M, Li Xu, Okada T, Nakamura T, Iwamoto Y

Regulation of the expression of p27 protein in Ewing's family tumor cells.

The 50 th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Francisco, Mar. 7-10, 2004

Sakimura R, Tanaka K, Nakatani F, Matsunobu T, Hanada M, Li Xu, Okada T, Nakamura T, Iwamoto Y

Histone deacetylase inhibitor suppress the function of EWS-Flil which enhance histone deacetylation in Ewing's family tumors.

The 50 th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Francisco, Mar. 7-10, 2004

Hanada M, Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Sakimura R, Matsunobu T, Li Xu, Okada T, Nakamura T, Iwamoto Y

Phosphorylation of focal adhesion kinase is up-regulated in invading fibrosarcoma cells in vivo and in vitro

The 50 th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Francisco, Mar. 7-10, 2004

Ito Y, Tanaka K, Kawai A, Yamaguchi U, Morimoto Y, Chuman H, Beppu Y, Iwamoto Y, Kufe D

The c-Abl tyrosine kinase translocation to mitochondria in ER stress-induced apoptosis.

The 50 th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Francisco, Mar. 7-10, 2004

Tanaka K, Matsunobu T, Nakatani F, Sakimura R, Hanada M, Li X, Nakamura T, Iwamoto Y

Specific inhibition of EWS-Flil expression by RNA interference in Ewing's sarcoma cells.

18th Meeting of the European Association for Cancer Research

July 3-6, 2004, Innsbruck, Austria

Iwamoto Y

Oncogenic Fusion Protein EWS-Flil As A Molecular Target In Ewing's Sacroma

14 th Triennial Congress, Asia-Pacific Orthopaedic Association, Kuala Lumpur, Malaysia, September. 5-10, 2004

Hanada M, Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Sakimura R, Matsunobu T, Li X, Okada T, Nakamura T, Iwamoto Y

Phosphorylation of focal adhesion kinase is up-regulated in invading fibrosarcoma cells in vivo and in vitro.

The 5th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of the U. S. A., Canada, Europe and Japan (Oct 10-13, 2004, Banff, Canada)

岡田貴充、田仲和宏、松延知哉、岩本幸英

Ewing 肉腫に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果

第2回日本臨床腫瘍学会

平成16年3月12~13日

岡田貴充、田仲和宏、中谷文彦、崎村陸、松延知哉、花田麻須大、岩本幸英

多剤耐性骨肉腫細胞株に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果

第8回がん分子標的治療研究会総会

平成16年5月12日~13日

中谷文彦、田仲和宏、崎村陸、松本嘉寛、松延知哉、李旭、花田麻須大、岡田貴充、岩本幸英

融合蛋白質 EWS-Flil の標的遺伝子としての p21 の同定—ユーイング肉腫の発がんメカニズムと分子標的治療の可能性—

第77回日本整形外科学会学術総会

平成16年5月20日~23日

花田麻須大、田仲和宏、松本嘉寛、中谷文彦、崎村陸、松延知哉、李旭、岡田貴充、中村幸之、岩本幸英

GFP 発現線維肉腫細胞のマウス筋肉内浸透モデルの開発

第36回日本結合組織学会学術大会

平成16年6月3日~4日

松井元、播谷勝三、田仲和宏、松田秀一、細川哲、岩本幸英

仙骨・脊索腫の手術成績
第 107 回西日本整形・災害外科学会
平成 16 年 6 月 19 日～20 日

李旭 田仲和宏 中谷文彦 松延知哉 崎村陸
花田麻須大 岡田貴充 中村幸之 岩本幸英
Ewing 肉腫における Flavopiridol (HMR1275) の細胞増殖抑制効果
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

中谷文彦 田仲和宏 松延知哉 崎村陸 花田麻須大 李旭 岡田貴充 中村幸之 岩本幸英
EWS—Fli 1 による p21 遺伝子の発現調節—第二報
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

崎村陸 田仲和宏 中谷文彦 松延知哉 花田麻須大 李旭 岡田貴充 中村幸之 岩本幸英
Ewing 肉腫における EWS—Fli1 によるヒストン脱アセチル化に関する検討
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

川口謙一 小田義直 齋藤剛 高比良知也
小林周 山本英崇 田宮貞史 立石直美
岩本幸英 恒吉正澄
軟部肉腫における腫瘍関連遺伝子のプロモーター領域の過剰メチル化の解析とその意義
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

田仲和宏 中敬彦 松田秀一 細川哲
播広谷勝三 岩本幸英
粘液型脂肪肉腫に対する温熱放射線
治療法の治療成績
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

松田秀一 田仲和宏 細川哲 播広谷勝三
岩本幸英
悪性骨軟部腫瘍切除に対する同種骨移植を用いた再建術の検討
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

細川哲 田仲和宏 松田秀一 播広谷勝三
岩本幸英

手指に発生した腱鞘巨細胞腫の検討
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

高比良知也 小田義直 田宮貞史 山元英崇 川口謙一 小林周 泉貞有 岩本幸英 恒吉正澄
明細胞肉腫における p16INK4a/p14ARF 経路の異常
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

松延知哉 田仲和宏 中谷文彦 崎村陸 花田麻須大 李旭 岡田貴充 中村幸之 岩本幸英
RNA Interference を用いた EWS-Fli1 特異的発現抑制
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

岡田貴充 田仲和宏 中谷文彦 崎村陸 松延知哉 花田麻須大 李旭 中村幸之 播広谷勝三 小田義直 岩本幸英
多剤耐性骨肉腫細胞株に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

伊藤康正 田仲和宏 別府保男 ドナルドキープ 岩本幸英
小胞体ストレス誘導アポトーシス：それは c-Abl Tyrosine Kinase の小胞体からミトコンドリアへの移行によって導かれる
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

播広谷勝三 前田健 田仲和宏 松田秀一 細川哲 志田純一 岩本幸英
原発性脊椎悪性腫瘍の治療成績
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

東野修 前田健 志田純一 細川哲 播広谷勝三 岩城徹 岩本幸英
脊髄 Hemangiopericytoma の 2 症例
第 37 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
平成 16 年 7 月 15 日～16 日

田仲和宏、岩本幸英
EWS-Fli1 による Ewing 肉腫発がん機構と分子標的治療の可能性

第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

松延知哉、田仲和宏、崎村陸、花田麻須大、李旭、
岡田貴充、中村幸之、岩本幸英
EWS-Fli1 は細胞老化を抑制する
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

川口謙一、小田義直、高比良友也、小林周、斉藤
剛、山元英崇、田宮貞史、織田信弥、岩本幸英、
恒吉正澄
軟部肉腫における Microsatellite
instability(MSI)と hMLH1 および hMSH2 蛋白発現
の解析とその意義
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

花田麻須大、田仲和宏、松本嘉寛、中谷文彦、崎
村陸、松延知哉、李旭、岡田貴充、中村幸之、岩
本幸英
GFP 発現線維肉腫細胞のマウス筋肉内浸潤モデルを
用いた FAK リン酸化の分布の検討
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

富士純一、William B Stallcup、岩本幸英
NG2 プロテオグリカンはガレクチン 3 と $\alpha 3 \beta 1$ イ
ンテグリンを介して血管新生を促進する
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

李旭、田仲和宏、中谷文彦、松延知哉、崎村陸、
花田麻須大、岡田貴充、中村幸之、岩本幸英
Ewing 肉腫における Flavoprodol(HMR1275)の細胞
増殖抑制効果
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

岡田貴充、田仲和宏、中谷文彦、崎村陸、松延知
哉、花田麻須大、李旭、中村幸之、播広谷勝三、
小田義直、岩本幸英
多剤耐性骨肉腫、Ewing 肉腫細胞株に対するヒスト
ン脱アセチル化酵素阻害剤の効果
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

崎村陸、田仲和宏、松延知哉、花田麻須大、李旭、

岡田貴充、中村幸之、岩本幸英
Ewing 肉腫に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害
剤のアポトーシス誘導機序
第 63 回 日本癌学会学術総会
平成 16 年 9 月 29 日～10 月 1 日

田仲和宏、岩本幸英
悪性骨軟部腫瘍の浸潤・転移に関わる
シグナル伝達分子
第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会
平成 16 年 10 月 21 日～22 日

花田麻須大、田仲和宏、松本嘉寛、中谷文彦、
松延知哉、岩本幸英
GFP 発現線維肉腫細胞のマウス筋肉内浸潤モデルを
用いた FAK リン酸化の分布の検討
第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会
平成 16 年 10 月 21 日～22 日

芳田辰也、田仲和宏、松田秀一、細川哲、
播広谷勝三、横山良平、中馬広一、岩本幸英
骨軟部腫瘍切除後のマイクロサージャリーによる
再建術の成績
第 42 回日本癌治療学会総会
平成 16 年 10 月 27 日～29 日

播広谷勝三、前田健、田仲和宏、松田秀一、
細川哲、岩本幸英
原発性脊椎悪性腫瘍の治療成績
第 42 回日本癌治療学会総会
平成 16 年 10 月 27 日～29 日

山本俊策、田仲和宏、松田秀一、細川哲、
播広谷勝三、芳田辰也、富士純一、松延知哉、
崎村陸、岩本幸英
非円形細胞軟部肉腫に対する化学療法的安全性
第 108 回西日本整形・災害外科学会
平成 16 年 11 月 26 日～27 日

山口洋、中馬広一、川井章、伊藤康正、森本裕樹、
別府保男、牧本敦、細野亜古、大平睦郎、長谷川
匡、横山良平
Ewing 肉腫の治療成績の検討
第 37 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2004 年 7 月 15 日)

山口洋、長谷川匡、中馬広一、川井章、伊藤康正、
森本裕樹、別府保男、広瀬隆則

低悪性度悪性末梢神経鞘腫瘍の病理組織学的
多様性
第 37 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2004 年 7 月 16 日)

山口洋、長谷川匡、中馬広一、立石宇貴秀、
古田耕
FISH 解析による desmoplastic small round cell
tumor (DSRCT) の EWS 遺伝子再構成を伴った染色体
転座 t(11;22)(p13;q12) の検出
第 63 回日本癌薬学術総会
(2004 年 9 月 29 日～10 月 1 日)

中馬広一
再発乳がん骨転移に対する治療のガイドラインと
実際
第 37 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2004 年 7 月 15 日)

中馬広一
上部胸壁、腕神経周辺発生の骨軟部腫瘍に対する
肩甲骨縦節後方侵入法について
第 37 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2004 年 7 月 16 日)

中馬広一
整形外科領域における抗がん剤併用療法の適正使
用 抗がん剤の併用療法における適応外使用に関
する講習会 (2004 年 7 月 24 日)

中馬広一
転移性骨腫瘍の臨床—安全性とベネフィット—
第 3 回九州・癌と骨病変研究会
(2004 年 9 月 25 日)

中馬広一
悪性骨・軟部腫瘍の治療ガイドライン
第 4 2 回日本癌治療学会総会
(2004 年 10 月 27 日)

川井章、中馬広一、中谷文彦、山口洋、森本裕樹、
中山 Robert、末原義之、別府保男 国立がんセン
ター中央病院整形外科 骨肉腫に
対する Ifosfamide(IF0)+ Cisplatin(CDDP)/
Adriamicin(ADR)化学療法
第 4 2 回日本癌治療学会総会
(2004 年 10 月 28 日)

Miyazaki S, Matsumine A, Kusuzaki K, Matsubara T,
Okamura A, Okuyama T, Seto M, Shiraishi T, Nobori T,
Uchida A

Expression of Methlthioadenosine Phosphorylase in
Osteosarcoma
50th Annual Meeting of the Orthopaedic Research
Society (March 7-10,2004)

Asanuma K, Wakabayashi H, Okuyama N, Seto M,
Matsumine A, Kusuzaki K, Asanuma K, Uchida A
Prevention of Bone Metastasis in Human Breast Cancer
by The Thrombin Inhibitor
50th Annual Meeting of the Orthopaedic Research
Society (March 7-10,2004)

Hirata H, Nagakura T, Tsujii T, Morita A, Yoshida T,
Fujisawa K, Uchida A
ECM Remodeling Causes Carpal Tunnel Syndrome
50th Annual Meeting of the Orthopaedic Research
Society (March 7-10,2004)

Tsujii M, Hirata H, Nagakura T, Morita A, Yoshida T,
Fujisawa K, Uchida A
Roles of Tenascin C, PG-E2 and MMP2 in CTS
50th Annual Meeting of the Orthopaedic Research
Society (March 7-10,2004)

Yamada M, Masuda K, Uchida A
Osteogenetic Protein-1 Stimulates The Production and
Accumulation of Proteoglycan by Tendon Cells
The 15th Korean-Japanese Combined Orthopaedic
Symposium(June 24-26,2004)

Hioki Y, Kaneko T, Mizutani N, Uchida A
Management and Outcome on Preventing Falls in Our
Hospital
International Society for Fracture Repair Symposium
(June 29-July 1,2004 Yokohama, Japan)

Matsumine A, Kusuzaki K, Ueda T, Okamura A, Uchida
A
Small leucine-rich proteoglycan, decorin expression as a
biomarker of outcome in soft tissue tumor
40th Annual Meeting of American Society of Clinical
Oncology (June,2004 New Orleans, LA)

Matsumine A, Myoui A, Kusuzaki K, Araki N, Ueda T,
Seto M, Okuyama N, Yoshikawa H, Uchida A