

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

悪性軟部腫瘍に対する化学療法に関する研究

分担研究者 中馬 広一 国立がんセンター中央病院 骨軟部組織科医長

研究要旨 JCOG0403 臨床研究において、治療開始に際して十分な病理検査が非常に重要であり、切開生検による十分な組織採取が不可欠であり、進行症例を減らす努力として早期紹介、早期診断が不可欠である。高齢者発生の多い粘液型脂肪肉腫、粘液型線維肉腫、粘液型 MFH の適格症例を多く参加を高めることが今後の研究速度を決定する方法と考えられた。粘液型脂肪肉腫や粘液型線維肉腫、粘液型 MFH は、低悪性度で化学療法の有用性について否定的である考え方もあるが、当科での進行再発した粘液型脂肪肉腫に対する IFM, DXR, CDDP, VP16 併用化学療法の奏効性を検討し、悪性度高い症例を対象にすると高い奏効性が確認できた。今後の本臨床研究進行を推進する根拠と考えられた。

A. 研究目的

悪性軟部腫瘍の組織多様性により、標準的化学療法は未だに確立されていない。個々の組織亜型、類似亜型に合わせた化学療法、分子標的薬剤が選択、選別されることで更に高い奏効性が得られると期待される。パイロット的臨床研究とその臨床研究に関連する基礎的研究を行い、有望な治療プロトコルを探索する研究を行うことは臨床研究を行う上で非常に重要である。JCOG0403 に逸脱した進行再発例を中心に行った単施設パイロット研究の結果をまとめ、高齢者、粘液型脂肪肉腫、粘液型線維肉腫、MFH 等再発性進行性症例を対象とした第二相臨床試験やグリベック以外の分子標的薬候補を求めた探索的基礎研究を行い、現在進行中の臨床試験の進行を推し進める対策を検討し、今後行うべき臨床試験の方向性を模索することを目的とした。

B. 研究方法

高齢者に投与可能な併用療法として、IFM/VP16 と CDDP/DXR 交互療法を粘液型脂肪肉腫再発進行症例に対する探索的臨床試験を行うとともに、高齢者に多い粘液型線維肉腫や高悪性度脱分化脂肪肉腫の進行症例に対する奏効性を確認し、治療完遂性、有害事象の解析を行うとともに、現状の悪性軟部腫瘍に対する化学療法の問題点、限界、適応の正確予測に関する検討を行った。

JCOG0403 臨床研究に参加するとともに、効率的患者

集積を推進する対策として、適格条件非適合症例の解析を行った。

今後期待されている分子標的薬の可能性として、増殖因子である ERBB2, c-kit の発現率を確認して既知分子標的薬の奏効性を予測する文献的、基礎的研究データの集積を行っている。

（倫理的配慮）IFM/VP16 併用療法の単施設検討で、奏効率 27%とやや低いものも、70 歳以上の高齢者にも安全に治療が行えることが確認された (Kawai A et al: ASCO proceedings 2004; 9062, 829.)。高齢者骨肉腫、骨原発 MFH の臨床検討から、高齢者の有害事象のプロファイルは、Grade 3, 4 の骨髄抑制発生が高いものの GCSF 併用で十分対応可能であることが確認でき、治療関連死の発生無く現状の治療支援技術で対応可能であると判断された。比較的消化器関連事象が軽微な IFM/VP16 併用療法を交互に治療することで、より完遂率を高める可能性があると同推された。IAP 療法 (IFM2g/m<sup>2</sup>, DXR20mg/m<sup>2</sup>, CDDP20mg/m<sup>2</sup>x2-3 日) が、粘液型脂肪肉腫、MFH、粘液型線維肉腫進行再発例に対する臨床奏効率は約 50%で、放射線療法併用で約 67%であった (中馬; New Mook 整形外科 18: 183-190, 2005) 臨床経験から、本治療スケジュールが有望であると考えられるとともに、安全性が担保されると予想され、本治療開始に際して、過去の臨床結果と標準治療が確立していない現状、探索的側面を説明し、治療同意を文書で得た上で開始した。同意を得た後も、治療

中止、中断は患者の意思に従うことを配慮した。

### C. 研究結果

四肢原発高悪性度軟部腫瘍に対する術前術後 JCOG0403 研究の登録は低調であり、当科での登録は 1 例のみである。他院切除後、再発、進行症例、体幹発生例が多い当科でも、画像所見から高分化脂肪肉腫を除いてあと、初診時ないし針生検で悪性腫瘍が疑われ、JCOG0403 の適格症例である四肢発生で 5cm 以上の腫瘍で候補症例は、MFH1 例、MPNST 疑い 1 例、粘液型脂肪肉腫 3 例（針生検で Grade1 だったが）、Myxofibrosarcoma3 例（1 例局所感染合併、患者拒否 1 例、生検 Grade 1）と粘液型肉腫の症例が多く、脱落症例の悪性度診断のための切開生検が極めて重要で、十分なサンプル採取が不可欠で正確な病理悪性度診断が重要と考えられた。

粘液／円形細胞型脂肪肉腫に対する化学療法の過去の治療成績解析

当院での紹介症例は、再発進行症例、体幹、頭頸部発生、腹腔内脂肪肉腫、MFH 再発例がほとんど、外科的切除不能症例を含めた進行再発例に対する化学療法の確立はきわめて緊急重要課題である。奏効性を予測する悪性度判定は難しく、壊死の少ない本タイプや粘液型線維肉腫、MFH では悪性度が低く診断されることが多く、予想外の早期遠隔転移、急速な進行を示す症例も多い。

CDDP を含めた併用化学療法の有効性を検証するために、window 法にて、2 回の CDDP/DXR を IFM/VP16 併用療法より先行投与し、臨床奏効性を確認。その上で IFM/VP16 療法を 2 クール施行し、切除、組織評価を行うことを原則とした。組織採取不可能な症例は、腫瘍増大、悪化を認めない場合、そのまま治療を継続する。5 回目以降は、CDDP/DXR と IFM/VP16 との交互療法を続け、最終的総合評価は 4 クール、8 クール、12 クールで行うことで治療研究を行っている。最近 8 例の臨床効果と判定するとともに、1989

年以降の粘液型脂肪肉腫化学療法についての奏効性と検討し、CDDP 追加の有用性を検証した。

対象は 1998 年以降に当科で化学療法を用いて治療を行った粘液／円形細胞型脂肪肉腫全 19 例である。年齢は 23 歳から 74 歳（年齢中央値 42 歳）、性別は男性 13 例、女性 6 例。組織学的悪性度は、grade1 4 例、grade2 9 例、grade3 6 例であった。原発・局所再発 8 例全てで手術が併用されており、原発 4 例に対する化学療法は、術前のみ 2 例、術後のみ 1 例、術前・術後両方 1 例であった。また、局所再発 4 例に対する化学療法は、術前のみ 1 例、術後のみ 1 例、術前・術後両方 2 例であった。使用薬剤は主に ifosfamide・adriamycin・cyclophosphamide を併用したコースもしくは、ifosfamide・etoposide・adriamycin・cisplatin を併用したコースのいずれかであり、1-11 コース（中央値 6 コース）の化学療法が行われた。放射線療法は 12 例で併用した。腫瘍縮小効果（JCOG RECIST ガイドライン）、組織学的効果（日整会組織学的効果判定基準）、副作用（NCI-CTC ガイドライン）、予後について調査・検討した。

<結果>観察期間は 1-55 ヶ月（中央値 16 ヶ月）で、転帰は NED/CDF5 例（26%）、AWD6 例（32%）、DOD8 例（42%）であった。腫瘍縮小効果の評価は 15 例で可能であり、PR8 例（53%）、SD5 例（33%）、PD2 例（13%）であった。組織学的効果は 8 例で評価可能であり、grade3 2 例（25%）、grade2 3 例（38%）、grade1 1 例（13%）、grade0 2 例（25%）であった。副作用は、15 例（79%）に grade4 の血液毒性を認めたが、非血液毒性の grade 3 以上を認めなかった。手術的に腫瘍の完全切除が可能であった 10 例では、NED/CDF5 例、AWD2 例、DOD3 例であったのに対し、完全切除不能 9 例では、AWD4 例、DOD5 例であった。遠隔転移に対し化学療法を行った 11 例では、NED1 例、AWD5 例、DOD5 例であった。

治療が行われた治療プロトコール別の症例と臨床、組織効果、有害事象の結果

薬剤	症例数	年齢	性別	組織型 grade	薬剤 投与量	コース 数	RECIST	組織学的 化療効果	予後	フォロー 期間 (月)	血液 毒性
IFO CPA/ADM	8	38 (28-50)	M 6 F 2	Gr1 1 Gr2 5 Gr3 2	IFO 14 CPA 1200-1800 ADM 60	6.8 (2-8)	PR 3 SD 0 PD 2 n.e. 3	Gr0 0 Gr1 0 Gr2 1 Gr3 0 n.e. 7	NED 1 AWD 0 DOD 7	27 (4-5)	Gr3 4 Gr4 4
IFO/VP CDDP/ADM	8	50 (23-74)	M 5 F 3	Gr1 3 Gr2 4 Gr3 1	IFO 9 VP 500 CDDP 100-120 ADM 60	6.4 (4-1)	PR 4 SD 4 PD 0 n.e. 0	Gr0 2 Gr1 1 Gr2 1 Gr3 1 n.e. 3	NED 3 AWD 5 DOD 0	13 (4-3)	Gr3 1 Gr4 7
IFO/VP	2	55 (49-60)	M 1 F 1	Gr1 0 Gr2 0 Gr3 2	IFO 9 VP 500	4.5 (4-5)	PR 1 SD 1 PD 0 n.e. 0	Gr0 0 Gr1 0 Gr2 1 Gr3 1	NED 1 AWD 1 DOD 0	32 (25-39)	Gr4 2

血液毒性は、CDDP 群の方が強い傾向があった。

70 歳以上は 2 例でした。2 例とも CDDP を含むレジメンを行っており、約 80mg/m<sup>2</sup>, 4wks interval で計 6 コースの治療が、大きな遅延なく行われており、70 歳でも 4 回以上の投与可能であった。

Myxofibrosarcoma、MFH、脱分化脂肪肉腫に効果についても認められる。Myxofibrosarcoma (肺転移、上顎周囲)、MFH、脱分化脂肪肉腫、骨外性骨肉腫での奏効性もあり、治療対象と考慮されるべきである。

<文献的検討>

中馬広一 悪性軟部腫瘍に対する化学療法 中馬広一 New Mook 整形外科 18: 183-190, 2005 IFM, DXR

中馬広一 悪性軟部腫瘍の化学療法 (効果判定含む) 整形外科学大系 中山書店 20 (1) 4-19, 2005 in press.

川井章、別府保男、中馬広一、中谷文彦、山口洋、森本裕樹: 非円形細胞型軟部肉腫に対する化学療法: 東日本整災会誌 17 巻: 600-604, 2005.

DXR、DTIC、Cy、CYVADIC 療法、MAID 療法、AI 併用

療法、IAP 療法の進行再発例を対象にした臨床試験を紹介レビューして、悪性軟部腫瘍に対する治療の現状と今後を解説した。最近、国内で行われた大量 IFM と Cy/DXR 交互療法の JMOG study 第 2 相臨床試験の結果が奏効率 47.2%、著効例 1 例の結果、IFM9g/m<sup>2</sup> と VP16500mg/m<sup>2</sup> の単施設第 2 相試験の結果は 27.3% と奏効率は低いものの高齢者にも比較的完遂率の高い結果を示した。現在進行中の、JCOG による四肢原発高悪性度紡錘型細胞軟部肉腫に対する IFO/ADM 併用療法の術前、術後補助療法の第 2 相臨床試験の紹介と、悪性軟部腫瘍に対する分子標的薬であるイマチニブ (グリベック) の臨床試験の医師主導臨床試験の紹介し、本邦での臨床研究の方向性を考察した。

Sato O, Wada T, Kawai A, Yamaguchi U, Makimoto A, Kokai Y, Yamashita T, Chuman H, Beppu Y, Tani Y, Hasegawa T. Expression of epidermal growth factor receptor, ERBB2 and KIT in adult soft tissue sarcomas: a clinicopathologic study of 281 cases. Cancer. 103(9): 1881-90, 2005

成人軟部腫瘍における EGFR, ERBB2, c-kit の発言

頻度に関する研究、281 例中、60%、多刑型 MFH (89%), 粘液型線維肉腫 (89%), 滑膜肉腫 (76%), 悪性末梢神経鞘腫(89%), and 平滑筋肉腫(73%). の高悪性度組織型に高く、高分化脂肪肉腫(38%), 線維肉腫(36%), 粘液型脂肪肉腫 (6%). の頻度であった。ERBB2 と KIT の発現は限られていた。予後と相関し、高発現群では、64%の5年生存率、発現の見られない症例は79%の予後であった。予後、悪性度との相関を認め、EGFR の過発現は臨床意義が高いと考えられた。

Yamaguchi U, Hasegawa T, Morimoto Y, Tateishi U, Endo M, Nakatani F, Kawai A, Chuman H, Beppu Y, Endo M, Kurotaki H, Furuta K. A practical approach to the clinical diagnosis of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumour and other small round cell tumours sharing EWS rearrangement using new fluorescence in situ hybridisation probes for EWSR1 on formalin fixed, paraffin wax embedded tissue.

BACKGROUND: パラフィン切片を使った FISH 法における EWS プロブの検出率を検討した研究。EWS 遺伝子配列が確認できた症例が、16 ES/PNETs で 14, 6 例 DRSCTs ですべて、6 例の淡明細胞肉腫 6 例中 5 例、3 例未分化滑膜肉腫、3 例横門筋肉腫、3 例神経芽腫では陰性で遺伝子異常と一致していた。

#### D. 考察

JCOG0403 臨床研究への参加症例を促すために、切開生検、十分なサンプリングが極めて重要であり、まれな適応症例の効率的参集が必要である。

粘液型肉腫の再発、進行症例では、既存の抗がん剤を併用することで、腫瘍縮小効果及び組織学的効果共に約5-6割の症例でPRもしくはgrade2以上の治療効果がみられ、粘液/円形細胞型脂肪肉腫に対する化学療法の一定の有効性が示された。根治のためには手術的な腫瘍の完全切除が必須であるが、化学療法が補助療法として有用である可能性が示唆された。今後考える単施設臨床試験に向けてのプロトコールコンセプトとして、DXR/CDDP, IFM/VP16 alternative chemotherapy の第2相試験ないし DXR/IFM vs. DXR/CDDP, IFM/VP16 alternative chemotherapy の比較試験で、再発進行症例(後腹膜原発、転移)症例を対象にした研究を推し進めるこ

とが有望と考えられた。

また、文献的調査では、悪性軟部腫瘍の標準薬として、DXR、IFM が有望な薬剤であるが、その評価は一定していない。原因として組織の多様性、悪性度予測、感受性予測が不十分であること、長期治療可能な薬剤が存在せず生命予後改善、補助化学療法効果を引き出せずにいる。打開策として、併用薬剤を増やし、最低6ヶ月の化学療法が罹患患者の多い中年以降の患者でも完遂率の高い治療を開発することである。悪性軟部腫瘍に対する分子標的薬の出現、現行の薬剤との併用方法に関する地道な研究が不可欠である。

#### E. 結論

本邦における骨軟部腫瘍に対する本格的臨床研究を経験して、組織型、悪性度を一部の組織で腫瘍全体を予測することが極めて困難であることが明らかとなった。進行再発症例を中心にした第2相臨床試験で、高悪性度な症例を選別できた上で、補助療法の有用性、奏効性を検証する臨床試験モデルに直結しないことが原因である。組織学的検討で、いかに予測不良症例を予測する技術の開発が不可欠である。長期間投与可能な薬剤の開発、治療プロトコールの開発、著効、高い奏効例を観察できる強力な併用化学療法プロトコール開発、低悪性度の悪性軟部腫瘍にも有効な感受性の広い治療方法の開発研究と伴ってより標準的治療体系確立へと進むプロセスである。

#### F. 健康危険情報

JCOG0403 および単施設臨床研究において、骨髄抑制に関する有害事象の発生が高い。十分な臨床観察、支援治療、G-CSF、輸血、抗生物質等の治療対策で対応され、治療関連死は認められておらず、十分に治療対応が行われている。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Sato O, Wada T, Kawai A, Yamaguchi U, Makimoto A, Kokai Y, Yamashita T, Chuman H, Beppu Y, Tani Y, Hasegawa T. Expression of epidermal growth factor receptor, ERBB2 and KIT in adult soft tissue sarcomas: a clinicopathologic study of 281 cases Cancer. 103(9): 1881-1890,2005

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.

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.

川井章、中馬広一 悪性軟部腫瘍の化学療法  
骨、関節、靭帯 アークメディア 15: (6) 617-624,  
2004

中馬広一 悪性軟部腫瘍に対する化学療法  
中馬広一 New Mook 整形外科 18:  
183-190, 2005

中馬広一 悪性軟部腫瘍の化学療法 (効果判定含  
む) 整形外科学大系 中山書店 20 (1) 4-19,  
2005. in press.

川井章、別府保男、中馬広一、中谷文彦、山口洋、  
森本裕樹 : 非円形細胞型軟部肉腫に対する化学療  
法 : 東日本整災会誌 17 巻 : 600-604, 2005.

Yamaguchi U, Hasegawa T, Morimoto Y, Tateishi U,  
Endo M, Nakatani F, Kawai A, Chuman H, Beppu Y,  
Endo M, Kurotaki H, Furuta K:  
A practical approach to the clinical diagnosis of Ewing's  
sarcoma/primitive neuroectodermal tumour and other  
small round cell tumours sharing EWS rearrangement  
using new fluorescence in situ hybridisation probes for  
EWSR1 on formalin fixed, paraffin wax embedded  
tissue. J Clin Pathol. 58(10):1051-6, 2005

Sakuraba M, Kimata Y, Iida H, Beppu Y, Chuman H,  
Kawai A:  
Pelvic ring reconstruction with the double-barreled  
vascularized fibular free flap.  
Plast Reconstr Surg 116(5):1340-5, 2005

Endo M, Hasegawa T, Tashiro T, Yamaguchi U,  
Morimoto Y, Nakatani F, Shimoda T:  
Bizarre parosteal osteochondromatous proliferation with  
a t(1;17) translocation. Virchows Arch. 447(1):99-102,  
2005

Kondo S, Yamaguchi U, Sakurai S, Ikezawa Y, Chuman H,  
Tateishi U, Furuta K, Hasegawa T:  
Cytogenetic confirmation of a gastrointestinal stromal  
tumor and ewing sarcoma/primitive neuroectodermal  
tumor in a single patient.  
Jpn J Clin Oncol. 35(12):753-6. 2005

中馬広一 骨・軟部腫瘍外科の要点と盲点 (岩本幸  
英 編) 軟部腫瘍の診察の基本. p41-43  
文光堂, 2005

中馬広一 骨・軟部腫瘍外科の要点と盲点 (岩本幸  
英 編) 広範切除における基本的な術中テクニッ  
ク. p140-147 文光堂, 2005

## 2. 学会発表

The 13th International Symposium on Limb Salvage  
(Sep 7-10, 2005, Seoul, Korea)

Nakatani F, Chuman H, Kawai A, Yamaguchi U,  
Morimoto Y, Endo M, Kobayashi E, Kimata Y,  
Sakuraba M, Kadota H, Yano T, Beppu Y  
Surgical management of soft tissue sarcomas of the  
groin

Endo M, Kobayashi E, Morimoto Y, Yamaguchi U,  
Nakatani F, Kawai A, Chuman H, Beppu Y  
Concomitant use of vascularized fibular graft and  
pasteurized autologous bone graft in surgery for bone  
and soft tissue sarcoma of lower extremity

Morimoto Y, Endo M, Yamaguchi U, Nakatani F,  
Kawai A, Chuman H, Beppu Y  
Negative pressure dressing systems help management of  
chronic wound after bone and soft tissue tumor resection

Yamaguchi U, Chuman H, Endo M, Morimoto Y,  
Nakatani F, Kawai A, Beppu Y  
Short-term outcome and complications of long fusions  
for patients with metastatic disease involving the spine

The 41st Annual Meeting of American Society of  
Clinical Oncology (May 13-17, 2005, Orlando, USA)

Kawai A, Kadota H, Yamaguchi U, Morimoto Y, Endo  
M, Nakayama R, Nakatani F, Chuman H, Beppu Y  
Blood loss associated with musculoskeletal tumor  
surgery

第 38 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 21~22 横浜)

中谷文彦、中馬広一、川井章、山口洋、森本裕樹、  
遠藤誠、飛内賢正、小林幸夫、渡辺隆、牧本敦、  
別府保男  
骨原発性悪性リンパ腫の臨床病理学的検討

遠藤誠、中馬広一、鎌田正、森本裕樹、山口洋、  
中谷文彦、川井章、別府保男  
骨・軟部腫瘍に対する重粒子線治療後の疼痛・神経  
障害の緩和の方法

森本裕樹、山口洋、中谷文彦、川井章、中馬広一、  
別府保男  
隆起性線維肉腫の治療成績

川井章、中馬広一、中谷文彦、山口洋、森本裕樹、  
遠藤誠、中山ロバート、末原義之、別府保男  
原発性骨盤悪性骨腫瘍の治療成績

第78回日本整形外科学会 学術総会(2005.5.12～  
15 横浜)

中馬広一、川井章、中谷文彦、山口洋、森本裕樹  
遠藤誠、別府保男  
腫瘍専門医との共同治療現場での手術適応と支援  
的手術方法の実際

芳田辰也、田仲和宏、松田秀一、細川哲、  
播谷勝三、横山良平、中馬広一、岩本幸英  
骨軟部腫瘍に対する複合組織移植術を用いた再建  
例の検討

第43回日本癌治療学会 総会(2005.10.25～27 名  
古屋)

川崎元敬、川井章、中山ロバート、遠藤誠、  
森本裕樹、山口洋、中谷文彦、中馬広一、別府保男、  
長谷川匡  
四肢発生骨肉腫の予後因子と治療成績の変遷

第54回東日本整形災害外科学会 学術集会  
(2005.9.23～24 東京)

川井章、別府保男、中馬広一、中谷文彦、山口洋、  
森本裕樹、遠藤誠、和田卓郎、伊原公一郎  
上肢悪性骨軟部腫瘍治療後の患肢機能とQOL

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

高悪性度軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究

分担研究者 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

研究要旨 我々は遺伝子プロファイリングの結果から、滑膜肉腫(synovial sarcoma、SS)の細胞起源が神経堤(neural crest)に由来する細胞ではないかという仮説を立て、培養細胞を用いて検証した。まず切除組織を用いた遺伝子発現解析より、SS細胞はin vivoで多様な間葉系組織及び非間葉系組織関連遺伝子を発現していることが明らかになった。一方SS培養細胞では、それらのうちのいくつかは完全に発現が消失していた。SS培養細胞株を間葉系幹細胞に対する分化誘導法に準じた方法で処置すると、in vitroで陰性化していたいくつかの分化関連遺伝子の発現が誘導され、基質形成能及び細胞形態等を指標としても、明らかに特定の方向への分化が誘導された。特にニューロンへの分化誘導により著しく増殖が低下した細胞株があり、分化誘導療法の可能性を示唆する結果が得られた。以上よりSS細胞は少なくとも骨、軟骨、ニューロンへの分化能をもち、明らかに間葉系幹細胞とは異なる多分化能をもった神経堤幹細胞類似の細胞であることが明らかになった。

A. 研究目的

肉腫の起源細胞は多くの場合不明である。特定の基質産生能等によりその起源を推定できる場合もあるが、成熟分化した間葉系細胞から肉腫が発生するかは疑問であり、より可能性の高い仮説として、多分化能を有した組織幹細胞が起源であるとの考え方がある。肉腫の起源となりうる幹細胞としては、当然間葉系幹細胞が考えられるが、それに加えて神経堤幹細胞も想定される。神経堤細胞は、神経管形成後に間葉組織に移動し広く分布し、様々な細胞に分化することが知られており、特に頭頸部では骨軟骨形成にも関与する。本研究ではSSの起源細胞が神経堤幹細胞ではないかという仮説を検証することを目的とする。近年癌幹細胞という概念が治療の標的として注目されており、細胞表面マーカーなど分子標的となる因子の同定が検討されており、本研究の目的は癌の基礎生物学の理解のみならず、治療の立場からも重要なものであると考えられる。

B. 研究方法

5種類のヒトSS細胞株(SYT-SSX1陽性2株、SYT-SSX2陽性3株)及び18例の切除組織を用いて解析を行った。まずこれらのSS腫瘍材料における骨、軟骨、脂肪、血管及び神経関連遺伝子の発現を半定量的RT-CPR法により解析した。次に間葉系幹細胞に対する分化誘導法に準じた方法等を用いてそれぞれの方向へ分化誘導を行い、関連遺伝子の発現及

び基質形成等の分化形質の表現型の変化を観察した。

C. 研究結果

1. 定常状態における分化関連遺伝子の発現について

定常状態における分化関連遺伝子の発現パターンは切除組織と培養細胞で大きく異なるものがあった。例えば軟骨関連遺伝子ではSOX9、COMP、COL9A1の発現は両者で共通であったが、COL2A1に関しては切除組織では半数で陽性であったのに対し培養細胞では全例陰性であった。骨関連遺伝子ではOSF2、OCそしてCOL1A1の発現が培養細胞で陰性化していた。ニューロン関連ではneurofilament群の発現は比較的維持されていたが、鍵となる転写因子であるMASH1の発現が陰性化しており、シグナル伝達系では切除組織ではほぼ全例で陽性であるCRABP1の発現が1/5例のみでしか検出されなくなっていた。メラノサイト関連では癌抗原であるPRAMEの発現は維持されていたが、分化シグナル伝達系における重要な因子であるENDRBが陰性化していた。このように培養細胞ではin vivoで陽性であった多くの分化関連遺伝子が陰性化していた。これらの分化マーカーの発現強度は、SYT-SSX1腫瘍とSYT-SSX2腫瘍の間では差は明らかでなかったが、単相型腫瘍と二相型腫瘍との間で、いくつかの遺伝子において有意な相違が認められた。

## 2. 分化誘導後の変化について

間葉系幹細胞に対する方法に準じて行った骨、軟骨、脂肪分化誘導に対して培養細胞は興味深い反応を呈した。骨誘導では誘導前からALP陽性であった株でCOL1A1の発現が誘導されアリザリンレッド陽性の石灰化結節が認められた。軟骨誘導に対する反応はより顕著であり、全例にCOL2A1とCOL11A1及びA2の発現が誘導されアルシャンブルー陽性のペレットを形成した。ニューロン誘導はNT2細胞の誘導法に準じて行い、加えてATRA、FGF2及びBMP2添加による誘導を試みた。その結果、特にFGF2によりTuj1陽性の神経突起様構造の形成が観察され、遺伝子発現としてもMASH1遺伝子の発現が誘導された。一方メラノサイト関連遺伝子に関しては、分化誘導によりEDNRB、DCT等は誘導されたが主たる転写因子であるMIFは誘導されず、メラニン形成も観察されなかった。脂肪誘導には全く反応せず、グリア関連遺伝子の発現も誘導されなかった。またHUVECに対する管腔形成誘導法で血管内皮への分化能を解析したが、全く認められなかった。以上よりSSは少なくとも骨、軟骨、ニューロンへ分化誘導できる能力をもった細胞であることが判明した。

## D. 考察

定常状態における様々な遺伝子の発現パターンはSSが多分化能をもった細胞であることを示唆するものであり、神経堤幹細胞を起源とする仮説を支持する結果であると考えられる。In vitro 培養細胞でいくつかの重要な分化関連遺伝子の発現が消失している原因は不明であるが、同様の現象は培養系においてしばしば認められることであり、例えば軟骨細胞の初代培養系においてCOL2A1の発現は急速に消失することは周知に事実である。三次元から二次元への変化等の因子が関与している可能性はある。しかし解析した軟骨関連遺伝子が全て発現している症例においても、組織学的にSS腫瘍の中に明らかかな軟骨組織成分は認められないことより、in vivo においても、未だ不明の何らかの決定的な因子が欠如していると考えられる。神経に関しては、時に末梢神経鞘内の発生の報告もあることから、グリア及びシュワン細胞との類似性を予想したが、結果的にはニューロンへの分化能の方が明確に検出された。興味深いことに、従来は増殖刺激因子であったFGF2により神経組織が誘導され、同時に顕著な増殖抑制が観察された。これは標的細胞を同定することができれば、神経への分化誘導療法により細胞死を導ける可能性を示すものであると考えられる。以上の結果からSSが神経堤幹細胞の能力の少なくとも一部

を携えた細胞であることが強く示唆され、今後は更にそのなかでの癌幹細胞を同定していく作業により治療の標的となる因子の同定を試みる予定である。

## E. 結論

SSの起源が神経堤由来細胞であり、かつSSは神経堤幹細胞としての多分化能を携えた細胞であることが判明した。この事実は分化誘導療法の可能性を示唆するものであり、かつSSにおける癌幹細胞を同定し、治療の分子標的を探索する有力な手がかりであると考えられる。

## F. 健康危険情報

本研究は現時点では、ヒトを対象としておらず該当しない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Aoyama, T., Bojian Liang, B., Okamoto, T., Matsusaki, T., Nishijo, K., Ishibe, T., Yasura, K., Nagayama, S., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J. PGE2 signal through EP2 promotes the growth of articular chondrocytes. *J. Bone Miner. Res.*, 20: 377-89, 2005.

Ishibe, T., Nakayama, T., Okamoto, T., Aoyama, T., Nishijo, K., Roberts Shibata, K. R., Shima, Y., Nagayama, S., 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.*, 11: 2702-12, 2005.

Handa, T., Nagai, S., Ito, I., Tabuena, R., Shigematsu, M., Hamada, K., Kitaichi, M., Izumi, T., Aoyama, T., Toguchida, J., Mishima M. Polymorphisms of B7 (CD80 and CD86) genes do not affect disease susceptibility to sarcoidosis. *Respiration*, 72: 243-8, 2005.

Nagayama, S., Furukawa, C., Katagiri, T., Okamoto, T., Aoyama, T., Oyaizu, N., Imamura, M., Toguchida, J., Nakamura Y. Therapeutic potential of antibodies against FZD10, a cell-surface protein, for synovial sarcomas. *Oncogene*, 24: 3201-12, 2005

Nakayama, T., Tsuboyama, T., Toguchida, J., Tanaka, C., Oya, N., Hiraoka, M., Nakamura, T. Recurrence of osteosarcoma after intraoperative radiation therapy. *Orthopedics*, 28: 1195-7, 2005.

Ren, X., Inoue, T., Hoshiya, H., Kurimasa, A., Inoue, T., Ayabe, F., Shibata, K., Toguchida J., Oshimura M. A Novel Human Artificial Chromosome Vector Provides Effective Cell Lineage-Specific Transgene Expression in Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*, 23: 1608-16, 2005.

Matsusaki, T., Aoyama, T., Nishijo, K., Okamoto, T., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida J. Expression of the cadherin-11 gene is a discriminative factor between articular and growth plate chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*, in press.

Otsuka, S., Nishijo, K., Nakayama, T., Aoyama, T., Ishibe, T., Shibata, KR, Shima, Y., Nakamura, T., Otsuka, T., Toguchida, J. A variant of the *SYT-SSX2* fusion gene in a case of synovial sarcoma. *Cancer Genet Cytogenet*, in press.

Ikeguchi, R., Kakinoki, R., Aoyama, T., Shibata, K. R., Otsuka, S., Fukiage, K., Nishijo, N., Ishibe, T., Shima, T., Otsuki, B., Azuma, T., Tsutsumi, S., Nakayama, T., Otsuka, T., Nakamura, T., Toguchida, J. Regeneration of osteonecrosis of canine scapho-lunate using bone marrow stromal cells: possible therapeutic approach for Kienböck disease. *Cell Transplantation*, in press.

## 2. 学会発表

石部達也、中山富貴、岡本健、長山聡、青山朋樹、柴田弘太郎ロバーツ、嶋靖子、中村孝志、戸口田淳也：滑膜肉腫の細胞起源および分化誘導療法の可能性について。  
第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 21 横浜)

嶋靖子、岡本健、石部達也、青山朋樹、西庄功一、柴田弘太郎、中山富貴、中村孝志、清野透、戸口田淳也：骨髄間葉系幹細胞の癌化と分化の関連性について  
第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 21 横浜)

西庄功一、中山富貴、青山朋樹、石部達也、嶋靖子、柴田弘太郎、中村孝志、戸口田淳也：骨肉腫における骨分化形質発現における Wnt/bcatenin 経路の役割。  
第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 21 横浜)

大塚聖視、青山朋樹、柴田弘太郎ロバーツ、吹上謙一、中山富貴、中村孝志、大塚隆信、戸口田淳也：骨肉腫細胞の分化能の可塑性とその制御機構について。  
第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 21 横浜)

中山富貴、坪山直生、戸口田淳也、足立荘一、平松英文、小林道弘、中村孝志：四肢骨肉腫に対する Etoposide を使用した化学療法の成績。  
第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 22 横浜)

坪山直生、笠原勝幸、鬼木浩二、戸口田淳也、中山富貴、中村孝志：下肢悪性種横治療後長期生存者の自己健康評価。  
第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2005. 7. 22 横浜)

戸口田淳也：骨軟部腫瘍における遺伝子解析の臨床応用。  
第14回近整会夏期研修会 (2005. 8. 27 淡路島)

戸口田淳也：骨軟部腫瘍：遺伝子診断と再生医療の応用。  
第33回岡山県整形外科勤務医会 (2005. 9. 3 岡山)

保坂泰介、戸口田淳也、中村孝志、Webster K Cavenee、Karen C Arden：転写因子 Foxo1 の生理的及び腫瘍新生血管における発現解析。  
第64回日本癌学会総会 (2005. 9. 14 札幌)

福川千香子、長山聡、片桐豊雅、戸口田淳也、中村祐輔：滑膜肉腫特異的に発現亢進が認められる遺伝子 FZD10 の機能解析およびその抗体治療としての可能性の検討。  
第64回日本癌学会総会 (2005. 9. 14 札幌)

大塚聖視、中山富貴、西庄功一、青山朋樹、石部達也、柴田弘太郎ロバーツ、嶋靖子、中村孝志、大塚隆信、戸口田淳也：

SYT-SSX2 融合遺伝子の新規 variant.

第 64 回日本癌学会総会 (2005. 9. 14 札幌)

西庄功一、中山富貴、山朋樹、石部達也、嶋靖子、柴田弘太郎、中村孝志、戸口田淳也：

p53 欠損骨芽細胞 MMC2 の脱分化過程における Wnt/bcatenin 経路の役割.

第 64 回日本癌学会総会 (2005. 9. 14 札幌)

石部達也、中山富貴、長山聡、岡本健、青山朋樹、西庄功一、柴田弘太郎、嶋靖子、中村孝志、戸口田淳也：

遺伝子発現と多分化能からみた滑膜肉腫細胞と神経堤細胞の類似性.

第 64 回日本癌学会総会 (2005. 9. 15 札幌)

嶋靖子、岡本健、青山朋樹、西庄功一、石部達也、柴田弘太郎、中山富貴、中村孝志、清野透、戸口田淳也：

骨髄間葉系幹細胞の癌化過程と分化能の関連性について.

第 64 回日本癌学会総会 (2005. 9. 15 札幌)

松原央、足立荘一、今井剛、水嶋康浩、渡部基信、西庄功一、戸口田淳也、中畑龍俊：

Depsipeptide 耐性株の樹立と PI3K inhibitor による耐性克服.

第 64 回日本癌学会総会 (2005. 9. 16 札幌)

石部達也、中山富貴、長山聡、青山朋樹、中村孝志、戸口田淳也：

滑膜肉腫細胞の多分化能は神経堤細胞起源を示唆する.

第 20 回日本整形外科学会基礎学術集会

(2005. 10. 20 伊勢)

嶋靖子、岡本健、中山富貴、中村孝志、清野透、戸口田淳也：

骨髄間葉系幹細胞の癌化と分化の関連性について.

第 20 回日本整形外科学会基礎学術集会

(2005. 10. 20 伊勢)

中山富貴、戸口田淳也：

分子遺伝学的診断と今後の課題.

第 43 回日本癌治療学会総会 (2005. 10. 25 名古屋)

Ishibe, T., Nakayama, T., Aoyama, T., Nishijo, K., Shibata, K.R., Shima, Y., Otsuka, S., Nagayama, S., Nakamura, T., Toguchida, J. Gene-expression pattern and differentiation potential of synovial sarcoma suggest its cellular origin as neural crest-derived cell. 11th CTOS (2005.11.29 Boca Raton)

Otsuka, S., Aoyama, T., Ishibe, T., Shibata, K.R., Shima, Y., Fukiage, K., Nakayama, T., Nakamura, T., Otsuka, T., Toguchida, J.

Differentiation potency and plasticity as mesenchymal stem cells of osteosarcomas.

11th CTOS (2005.11.29 Boca Raton)

Nishijo, K., Nakayama, T., Aoyama, T., Ishibe, T., Shima, Y., Shibata, K.R., Nakamura, T., Toguchida, J.

Involvement of Wnt-b-catenin pathway in the de-differentiation process of murine osteosarcomas.

11th CTOS (2005.11.29 Boca Raton)

光野芳樹、石部達也、長山聡、西庄功一、青山朋樹、中山富貴、中村孝志、戸口田淳也：

滑膜肉腫における上皮構造形成に関するクローゼイン遺伝子群の解析.

第 28 回日本分子生物学会年会 (2005. 12. 7 福岡)

大塚聖視、青山朋樹、柴田弘太郎ロバーツ、吹上謙一、中山富貴、中村孝志、大塚隆信、戸口田淳也：

骨肉腫細胞の分化能の可塑性とその制御機構について.

第 28 回日本分子生物学会年会 (2005. 12. 7 福岡)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

軟部肉腫の予後因子としての Decorin 発現の検討

分担研究者 内田 淳正 三重大学医学部整形外科教授

研究要旨 軟部腫瘍における decorin 遺伝子の発現と予後との関連について調べるために、77 患者より採取した 85 検体について検討した。Decorin の発現量は半定量的 real-time PCR 法および、パラフィン切片を免疫組織学的染色することにより評価した。免疫組織学的染色では、decorin タンパクは腫瘍細胞には発現せず、腫瘍内の間質組織に発現していることが明らかとなった。また、Decorin 低発現群では高発現群に比べて、無病生存率、累積 5 年生存率が有意に低下していた ( $p < 0.05$ ) おり、多変量解析では decorin 発現量は無病生存率に関して唯一の独立した予後因子であることが判明した。さらに、再発もしくは遠隔転移した腫瘍での decorin 発現量を原発巣と比較したところ、再発または転移巣では decorin の発現は減少していた。今回の我々の検討で decorin 発現の低下は、軟部悪性腫瘍患者の予後を規定するバイオマーカーとなりうることが明らかとなった。

A. 研究目的

軟部肉腫の最大の予後決定因子である肺転移成立のメカニズムを明らかにすることは、患者の予後改善にとって非常に重要である。これまでに我々は、Dunn マウス骨肉腫細胞株およびその高肺転移亜株である LM8 骨肉腫細胞株の遺伝子発現を differential gene expression 法を用いて解析し、骨肉腫の肺転移関連遺伝子として small leucine-rich proteoglycan である Decorin を同定し、LM8 骨肉腫細胞株において DCN 遺伝子発現量が、Dunn 骨肉腫細胞株の約 30% に減少していることを報告してきた。本研究では、軟部腫瘍における decorin 遺伝子の発現と予後との関連について検討した。

B. 研究方法

1998 年から 2001 年に当科で治療を行った 77 患者より、切開生検または手術時に採取した 85 検体を対象とした。組織型は、神経線維腫 9 例、脂肪腫 7 例、悪性腫瘍では、脂肪肉腫 18 例、悪性線維性組織球腫 18 例、滑膜肉腫 11 例、悪性末梢神経鞘腫瘍 7 例、明細胞肉腫 3 例、横紋筋肉腫 2 例、平滑筋肉腫 2 例であった。凍結標本より mRNA を抽出し、Oligo(dT) プライマーを用いて cDNA とした後、real time PCR 法にて DCN 遺伝子発現を定量化した。またパラフィン切片を免疫組織学的染色することにより、DCN タンパクの発現も検討した。なおこの研究は三重大学倫理委員会の承認の後、そのガイドラインに従い患者よりインフォームド・コンセントを得て行われた。

C. 研究結果

脂肪腫と脂肪肉腫、神経線維腫と悪性末梢神経鞘腫瘍を各々比較すると、脂肪肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍において decorin 遺伝子発現が有意に低下していた ( $P < 0.05$ )。免疫組織学的染色では decorin タンパクは腫瘍細胞には発現しておらず、腫瘍内間質組織中の Myofibroblast に発現していた。次に、高悪性度軟部腫瘍 31 例において、Kaplan-Meier 法により生存解析を行ったところ、decorin 低発現群では高発現群に比べて、無病生存率、累積 5 年生存率が有意に低下していた ( $p < 0.05$ )。また Cox proportional hazards regression model にて多変量解析したところ、decorin 発現量は無病生存率に関して唯一の独立した予後因子であることが判明した。さらに、腫瘍原発巣と再発もしくは転移巣の間での decorin 発現量を比較したところ、再発もしくは遠隔転移した腫瘍での decorin 発現量は原発巣と比較して明らかに減少していた。

D. 考察

軟部肉腫の発生頻度は全悪性腫瘍中約 1% にすぎないが、発見時には微少肺転移を来していることが多いために、累積 5 年生存率は約 40% と非常に悪いのが現状である。従って患者の予後を予測できるバイオマーカーは個々の患者の治療戦略を構築する際、非常に有用となりうる。今回の我々の検討で decorin 発現の低下は、軟部悪性腫瘍患者の予後を規定するバイオマーカーとなりうることが明らかとなった。また、decorin タンパクは間質内の

Myofibroblastic cell より、腫瘍の浸潤に対する Host 側の防御反応として分泌されていると考えられた。そのメカニズムとしては TGF- $\beta$ 、EGFR/Erb-B family receptor、や VEGF を介している可能性が考えられるが、今後 in vitro の実験で明らかにする必要がある。

#### E. 結論

軟部悪性腫瘍における decorin 発現の減少は、患者の予後を規定するバイオマーカーとなりうる。

#### F. 健康危険情報

この研究により特に患者または研究者に健康危機を与えることはない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Matsumine A, Kusuzaki K, Hirata H, Fukutome K, Maeda M, Uchida A.

Intraaneural metastasis of a synovial sarcoma to a peripheral nerve.

J Bone Joint Surg (Br) 87: 1553-1555, 2005

Kosaka N, Maeda M, Uematsu H, Matsumine A, Koshimoto Y, Itoh H.

Solitary plasmacytoma of the sacrum Radiologic findings of three cases.

Clin Imaging. 29: 426-429, 2005

Kusuzaki K, Murata H, Matsubara T, Miyazaki S, Okamura A, Seto M, Matsumine A, Hosoi H, Sugimoto T, Uchida A.

Clinical trial of photodynamic therapy using acridine orange with/without low dose radiation as new limb salvage modality in musculoskeletal sarcomas. Anticancer Res. 25: 1225-1235, 2005

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: 295-7, 2005

Niimi R, Matsumine A, Kusuzaki K, Okamura A, Fukutome K, Uchida A.

Soft tissue sarcoma mimicking large hematoma: Report of two cases and review of the literature.

J Orthop Surg. 14: 211-6, 2006.

Matsumine A, Kusuzaki K, Matsubara T, Okamura A, Okuyama N, Miyazaki S, Shintani K, Uchida A.

Calcium Phosphate Cement In Musculoskeletal Tumor Surgery. J Surg Oncol. In press.

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.

松峯昭彦 ほか. 整形外科プライマリケアに必要な画像の評価—読影の落とし穴、骨軟部腫瘍. NEW MOOK 整形外科 17 巻、7-15

松峯昭彦 他. 骨軟部腫瘍領域におけるリン酸カルシウム骨ペースト使用例の治療成績. バイオアクティブペースト研究会記録集、119-123.

須藤啓広 他. 腫瘍用人工関節置換術後感染の治療. 関節外科 24: 86-91, 2005.

松峯昭彦 他. 悪性骨軟部腫瘍切除後の患肢機能評価と QOL. 関節外科 24: 811-816, 2005.

川喜田英司 他. 形状記憶合金髓内釘を用いた大腿骨骨幹部骨折の治療. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 48: 41-42, 2005.

松峯昭彦 他. インフォームドコンセントのポイント骨・軟部腫瘍外科の要点と盲: 116, 2005

##### 2. 学会発表

Matsumine et al.

Expression of Decorin, a Small Leucine-Rich Proteoglycan, as a Biomarker of Outcome in Soft Tissue Tumor. 6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS), January, Chiang Mai.

Nakazora S et al.

Extraskelatal Myxoid Chondrosarcoma Arising at the Periosteum of the Clavicle. 6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS), January, Chiang Mai.

Nakamura T et al.

Four Cases of Foreign Body Granuloma Needed to Distinguish from Malignant Soft Tissue Tumors. 6th

Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS), January, Chiang Mai.

Niimi R.

Primary osteosarcoma of the lung. 6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS), January, Chiang Mai.

Kusuzaki K. et al

Clinical outcome of a novel photodynamic therapy technique using acridine orange for synovial sarcomas. 6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS), January, Chiang Mai.

Matsumine A et al.

Novel Hyperthermia for Metastatic Bone Tumor with Ferromagnetic Materials by Generating an Extracorporeal Electromagnetic Field. 6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS), January, Chiang Mai.

Matsumine A et al.

Calcium phosphate cement in musculoskeletal tumor surgery. 13th International Symposium on Limb Salvage (ISOLS), September, Seoul.

Kusuzaki K et al.

Photo and radiodynamic therapies with acridine orange for reduction surgery in musculoskeletal sarcoma. 13th International Symposium on Limb Salvage (ISOLS), September, Seoul.

Matsubara T et al.

Relationship between acridine orange (photosensitizer) affinity and extracellular Ph in malignant musculoskeletal tumors. 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, January, Washington,D.C.

Miyazaki S et al.

Selective chemotherapy targeting methylthioadenosine phosphorylase in osteosarcoma. 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, January, Washington,D.C.

Tomoda R et al.

Low dose methotrexate inhibits lung metastasis and lengthens survival in rat osteosarcoma. 51st Annual

Meeting of the Orthopaedic Research Society, January, Washington,D.C.

Matsumine A et al.

Expression of decorin, a small leucine-rich proteoglycan, as a biomarker of outcome in soft tissue tumor. 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, January, Washington,D.C.

松峯昭彦 他.

骨腫瘍におけるリン酸カルシウム骨ペーストの有用性。奈良バイオセラミックス研究会、2月、奈良

楠崎克之 他.

骨肉腫：標準的外科治療と今後の展望。第43回日本癌治療学会、10月、名古屋

松峯昭彦 他.

体外交流磁場発生装置を用いた転移性骨腫瘍に対する磁性体温熱療法。第43回日本癌治療学会、10月、名古屋

新美壘 他.

悪性顆粒細胞種の2例。第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、7月、横浜。

新美壘 他.

悪性褐色脂肪肉腫が疑われた大腿部再発性軟部腫瘍の一例。第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、7月、横浜。

松原孝夫 他.

横紋筋肉腫に対するアクリジンオレンジ光線力学的療法の有用性についての基礎的および臨床的研究。第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、7月、横浜。

松峯昭彦 他.

神経線維腫と悪性末梢神経鞘腫の鑑別におけるMRIの有用性。第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、7月、横浜。

新谷健 他.

骨・軟部腫瘍におけるBrachytherapy併用の有用性。第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、7月、横浜。

中村智樹 他.

甲状腺癌骨転移症例の臨床像の検討. 第38回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会、7月、横浜.

奥山典孝 他.

ヒト乳癌細胞 (MDA-MB-231) の骨転移における Matrix Metalloproteinases (MMPs) の発現. 第20回日本整形外科学会基礎学術集会、10月、三重県伊勢市.

新谷健 他.

軟部肉腫における Hypoxia-inducible Factor (HIF)-1 $\alpha$  発現の検討. 第20回日本整形外科学会基礎学術集会、10月、三重県伊勢市.

松原孝夫 他.

軟部腫瘍における腫瘍組織 pH と予後の検討.  
第20回日本整形外科学会基礎学術集会、10月、三重県伊勢市.

松峯昭彦 他.

骨・軟部腫瘍の分子標的としての Small Leucine-rich Proteoglycan; Decorin の同定.  
第20回日本整形外科学会基礎学術集会、10月、三重県伊勢市.

中村智樹 他.

悪性軟部腫瘍と鑑別を要した異物肉芽腫の4例. 第105回中部日本整形外科災害外科学会、10月、米子市.

中空繁登 他.

鎖骨骨膜から発生した骨外性粘液軟骨肉腫の一例.  
第105回中部日本整形外科災害外科学会、10月、米子市.

中村智樹 他.

長期に持続する著名な高ビリルビン血症患者に生じた大腿骨病的骨折の成因についての臨床病理学的検討. 第105回中部日本整形外科災害外科学会、10月、米子市.

松峯昭彦 他.

体外交流電磁場発生装置を用いた転移性骨腫瘍に対する磁性体温熱療法. 第43回日本癌治療学会、10月、名古屋.

中空繁登 他.

術後インターフェロンの局所投与を試みた clear cell sarcoma の2例. 第104回中部日本整形外科災害外科学会、4月、大阪.

新美壘 他.

自家骨移植による再建を行った第1中手骨軟骨肉腫の1例. 第104回中部日本整形外科災害外科学会、4月、大阪.

新谷健 他.

多発性神経鞘腫に隆起性皮膚線維肉腫を合併した一例. 第104回中部日本整形外科災害外科学会、4月、大阪.

松峯昭彦 他.

単純性骨嚢腫 (SBC) に対するステロイド注入法の術後長期治療成績. 第104回中部日本整形外科災害外科学会、4月、大阪.

松原孝夫 他.

転移性骨腫瘍に対する低侵襲手術の開発.  
第104回中部日本整形外科災害外科学会、4月、大阪.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

高悪性度軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究

分担研究者 吉川 秀樹 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（整形外科）教授

研究要旨 骨・軟部悪性腫瘍に対する WT1 ペプチドを用いた腫瘍特異的免疫療法の開発

A. 研究目的

骨・軟部悪性腫瘍（肉腫）に対する WT1 遺伝子産物を分子標的とした腫瘍特異的免疫療法の有効性を検討すること。

B. 研究方法

我々はこれまでに、種々の骨・軟部悪性腫瘍において正常軟部組織に比し WT1 遺伝子の過剰発現を高率に認める（36 例中 27 例（75%））ことを明らかにし、免疫組織染色でも腫瘍細胞に WT1 蛋白の発現がみられることを確認した。さらには、WT1 が正常組織では生殖器、腎、造血前駆細胞および中皮組織など限局性にしか発現していないことから、WT1 遺伝子産物を分子標的とした腫瘍特異的免疫療法の可能性が示唆される。本学の杉山らは、HLA 拘束性に細胞傷害性 T 細胞を誘導し WT1 発現癌細胞を傷害する WT1 ペプチドを用いた腫瘍ワクチン療法を開発した。平成 16 年 1 月より、「WT1 ペプチドを用いた悪性固形腫瘍に対する免疫療法の第 I/II 相臨床試験」（骨・軟部肉腫を含む）が本学医学倫理委員会の承認を経て本格的に開始され、今年度も継続施行した。本臨床試験を通じて、これまで難治性の疾患であった骨・軟部悪性腫瘍に対する新規の治療戦略である腫瘍特異的免疫療法の有効性につき評価・検討を行った。

（倫理面への配慮）

各患者に本臨床試験の概要につき十分説明し文書による同意を得た上で、参加してもらっている。また臨床試験実施の際には、その安全性に十分配慮の上遂行している。

C. 研究結果

現在まで、骨・軟部悪性腫瘍症例の本臨床試験へのエントリーは 12 例である。組織診断別の内訳は、軟部肉腫が 10 例（PNET2 例、MFH2 例、DSRCT2 例、MPNST1 例、線維肉腫 1 例、横紋筋肉腫 1 例、明細胞肉腫 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、効果判定は SD2 例、PD8 例、中止 2 例であった。比較的進行例が多く、臨床

的に WT1 ペプチド療法の有効性を明らかに示した症例は未だ認めていないが、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

高悪性度骨・軟部腫瘍の治療成績は、外科的手術療法に加え、化学療法と放射線療法併用による集学的治療の進歩により改善してきたが、肺を中心に遠隔転移を来し易く、未だ十分に予後良好な疾患とは言い難い。今後さらなる予後改善のためには、遠隔転移の制御が不可欠の課題である。そこで従来の全身化学療法に加え、遠隔転移の制御を目的とした腫瘍特異的免疫療法は有効な治療手段となる可能性があると考えられる。そこで今回我々は、骨・軟部悪性腫瘍を含む種々の悪性腫瘍に共通して高率に過剰発現している WT1 遺伝子産物を標的とした、WT1 ペプチド腫瘍ワクチン療法の臨床試験を開始した。骨・軟部悪性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、脳腫瘍や白血病・乳癌の一部で有効と思われる症例が見られることから、今後さらに症例を増やし（30 例を予定）、骨・軟部悪性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したい。

E. 結論

- 1) 骨・軟部悪性腫瘍に対する WT1 ペプチドを用いた腫瘍特異的免疫療法の第 II 相臨床試験を継続施行した。
- 2) 現在まで、12 例の骨・軟部悪性腫瘍症例がエントリーされ、SD2 例、PD8 例、中止 2 例であった。安全性に関しては、皮内投与局所の発赤・腫脹以外はとくに見られなかった。

F. 健康危険情報

大阪大学において、WT1 ペプチドを用いた白血病・肺がん・乳がんに対する腫瘍特異的免疫療法の第 I 相臨床試験が実施され、副作用等を含めた臨床データが集積されたが、WT1 ペプチド投与に伴う重篤な

副作用はとくに認められなかった。さらに今回の第II相臨床試験においても、現時点で重篤な副作用は認めていない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hamada, K., Ueda, T., Higuchi, I., Inoue, A., Tamai, N., Myoi, A., Tomita, Y., Aozasa, K., Yoshikawa, H., Hatazawa J.:

Peripheral nerve schwannoma: two cases exhibiting increased FDG uptake in early and delayed PET imaging. *Skeletal Radiology*, 34:52-57, 2005.

Hamada, K., Myoi, A., Ueda, T., Higuchi, I., Inoue, A., Tamai, N., Yoshikawa, H., Hatazawa, J.:

FDG-PET imaging for chronic expanding hematoma in pelvis with massive bone destruction. *Skeletal Radiology*, 34:807-811, 2005.

Hashimoto, N., Ueda, T., Joyama, S., Araki, N., Beppu, Y., Tatezaki, S., Matsumoto, S., Nakanishi, K., Tomita, Y., Yoshikawa, H.:

Extraskeletal mesenchymal chondrosarcoma: an imaging review of ten new patients. *Skeletal Radiology*, 34:785-792, 2005.

Hoshi, M., Araki, N., Naka, N., Koizumi, M., Hashimoto, N., Onishi, M., Sugiyasu, K., Kimura, N., Mori, S., Nishiyama, K., Yoshikawa, H.:

Bone metastasis of intracranial meningeal hemangiopericytoma. *International Journal of Clinical Oncology*, 10:208-213, 2005.

Hosono, N., Ueda, T., Tamura, D., Aoki, Y., Yoshikawa, H.:

Prognostic relevance of clinical symptoms in patients with spinal metastases. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 436:196-201, 2005.

Naka, N., Joyama, S., Tsukamoto, Y., Yoshioka, K., Hashimoto, N., Ujiye, T., Hayashi, T., Kawase, M., Mano, M., Ishiguro, S., Myoi, A., Ueda, T., Yoshikawa, H., Araki, N., Itoh, K.:

Quantification of SXX mRNA expression in human bone and soft tissue tumors using nucleic acid sequence-based amplification (NASBA). *Journal of Molecular Diagnosis*, 7:187-197, 2005.

吉川秀樹:

原発性良性骨腫瘍、整形外科学・外傷学、文光堂、p. 451-460, 2005.

吉川秀樹:

骨腫瘍と鑑別を要する疾患、骨軟部腫瘍外科の要点と盲点、文光堂、p. 30-35, 2005.

吉川秀樹:

骨・軟部腫瘍外科の変遷、骨・軟部腫瘍、NEW MOOK18 巻、金原出版、p. 1-7, 2005.

名井陽、上田孝文、吉川秀樹:

良性骨腫瘍に対する人工骨移植、骨・軟部腫瘍、NEW MOOK18 巻、金原出版、p. 81-90, 2005.

荒木信人、吉川秀樹、内田淳正:

術中体外放射線照射自家骨移植による患肢温存手術、骨・軟部腫瘍、NEW MOOK18 巻、金原出版、p. 108-117, 2005.

上田孝文、岡芳弘、尾路祐介、坪井昭博、川上学、外堀司、角永茂樹、名井陽、吉川秀樹、杉山治夫: 骨軟部悪性腫瘍に対するWT1ペプチドを用いた腫瘍特異的免疫療法、関節外科、24:1105-1110, 2005.

吉川秀樹:

癌骨転移治療の update, リウマチ病セミナー、XVI:247-253, 2005.

##### 2. 学会発表

濱田健一郎、上田孝文、名井陽、樋口一郎、富田裕彦、畑澤順、吉川秀樹:

FDG-PETによる悪性骨・軟部腫瘍の化学療法効果判定 (第38回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 7.21.2005)

上田孝文、吉川秀樹、大塚隆信:

骨・軟部悪性腫瘍に対する術前化学療法効果判定の有用性と限界— 日本整形外科学会骨・軟部腫瘍委員会多施設共同研究— (第38回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 7.21.2005)

久田原郁夫、上田孝文、名井陽、荒木信人、倉都滋之、青木康彰、吉川秀樹:

四肢発生骨肉腫の長期治療成績 (第38回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 7.21.2005)

名井陽、菅野伸彦、小山毅、山梨亘、玉井宣行、  
上田孝文、越智隆弘、吉川秀樹：  
ナビゲーションを利用した骨盤類骨骨腫の低侵襲  
切除術の試み（第 38 回日本整形外科学会 骨・軟  
部腫瘍学術集会 7. 21. 2005）

竹中聡、中紀文、荒木信人、橋本伸之、久田原郁夫、  
青木康彰、松峰昭彦、中山富貴、家口尚、馬場一郎、  
名井陽、上田孝文、戸口田淳也、内田淳正、  
吉川秀樹：  
SYT-SSX Fusion Type は滑膜肉腫患者の予後と相関  
するか？—関西骨軟部腫瘍研究会多施設共同研究  
結果—（第 38 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学  
術集会 7. 22. 2005）

中紀文、荒木信人、橋本伸之、上田孝文、吉川秀樹、  
伊藤和幸：  
SYT-SSX の SSX 部分は滑膜肉腫細胞株の造腫瘍能を  
抑制する（第 20 回日本整形外科学会 基礎学術集会  
10. 20. 2005）

外堀司、吉岡潔子、上田孝文、名井陽、吉川秀樹、  
伊藤和幸：マウス骨肉腫細胞における BMP  
Signaling の機能解析（第 20 回日本整形外科学会  
基礎学術集会 10. 20. 2005）

橋本伸之、外堀司、中紀文、伊藤和幸、荒木信人、  
吉川秀樹：  
Zoledronic Acid による Doxorubicin 抗腫瘍効果の  
増強作用—Dunn 骨肉腫細胞を用いて—（第 20 回日  
本整形外科学会 基礎学術集会 10. 20. 2005）

大坪英則、中田研、片貝大輔、藤江裕道、中村憲正、  
吉川秀樹：Scaffold を用いてヒト滑膜由来幹細胞よ  
り作製した三次元培養組織における力学的特性の  
検討（第 20 回日本整形外科学会 基礎学術集会  
10. 20. 2005）

名井陽、岸田友紀、浅井達哉、富田裕彦、青笹克之、  
吉川秀樹：  
骨肉腫高肺転移株 LM8 の肺転移能を規  
定する分子機構—VCP/NF $\kappa$ B 経路（第 20 回日本整  
形外科学会 基礎学術集会 10. 21. 2005）

岸田友紀、名井陽、吉川秀樹：  
骨肉腫肺転移における NF $\kappa$ B の役割と天然 NF $\kappa$ B 抑  
制剤による抗転移療法の可能性（第 20 回日本整形  
外科学会 基礎学術集会 10. 21. 2005）

海渡貴司、小島秀人、名井陽、上田孝文、吉川秀樹：  
Ewing 肉腫に対する TK-HSV/GCV による新規遺伝子  
治療（第 20 回日本整形外科学会 基礎学術集会  
10. 21. 2005）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

高悪性度軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に関する研究

分担研究者 尾崎敏文 岡山大学整形外科教授

研究要旨 我々は比較ゲノムハイブリダイゼーション（CGH）法に加えマイクロアレイ CGH 法を用いて、軟部肉腫の遺伝子・染色体変異の研究を行ってきた。今年度は、これまでの解析で得られたデータを基に研究を継続した。滑膜肉腫のマイクロアレイ CGH 法による解析で、RASSF1A 遺伝子の loss が高率に認められる。RASSF1A は近年発見された遺伝子で、癌抑制遺伝子と考えられており、多くの癌種でプロモーターメチル化による抑制が報告されている。滑膜肉腫症例について RASSF1A 遺伝子のメチル化と発現量を検討したところ、RASSF1A 遺伝子のメチル化と発現量の低下が認められた。RASSF1A 遺伝子のメチル化、発現量の低下は滑膜肉腫の腫瘍化に関与していると考えられた。これらのことより滑膜肉腫の腫瘍化の解明や新しい治療につながる可能性が期待される。

A. 研究目的

我々は、比較ゲノムハイブリダイゼーション（CGH）法を用い、軟部肉腫症例の遺伝子・染色体変異の研究を行い、多数の軟部肉腫の遺伝子・染色体変異の解析を重ねる事によって新しい知見が得られてきた。マイクロアレイ CGH 解析により、滑膜肉腫において高頻度に RASSF1A 遺伝子の loss が認められた。RASSF1A 遺伝子は近年発見された癌抑制遺伝子であり、多くの癌腫においてプロモーター領域のメチル化による発現抑制が報告されているが、骨軟部腫瘍領域では報告は少ない。今回、RASSF1A 遺伝子のプロモーター CpG 領域のメチル化を解析し、RASSF1A 遺伝子の発現を定量した。

B. 研究方法

-80℃に保存されている悪性軟部腫瘍を対象とし DNA、RNA を抽出した。Methylation specific PCR (MSP) 法を用いて RASSF1A 遺伝子のプロモーター CpG 領域のメチル化を解析した。次に、滑膜肉腫症例、および滑膜肉腫細胞株を用いて real-time PCR 遺伝子法にて RASSF1A 遺伝子発現の定量を行った。得られた結果と、腫瘍の病理組織学的特徴や臨床経過等を比較検討した。

（倫理面への配慮）本研究を施行するにあたっては、施設内の倫理委員会の了承を得た。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、個人情報の保護を徹底し、同意の撤回は随時可能と明記し患者・家族の利益を守るようにした。

C. 研究結果

MSP 法では滑膜肉腫 10/21 例（約 47%）に RASSF1A 遺伝子のプロモーター CpG 領域のメチル化を認めた。滑膜肉腫細胞株 2 細胞株ともにメチル化を認めた。Real-time PCR 法では 12/21 例（約 57%）に発現量の低下を認めた。また滑膜肉腫細胞株 2 細胞株では RASSF1A 遺伝子の発現を認めなかった。プロモーターメチル化の見られた 10 例中 5 例で発現の低下を認めた。Array-CGH で loss のあった症例では 4/6 例で発現の低下を認め、loss のない症例では 2/7 例で発現低下していた。臨床サンプルではメチル化と発現低下は相関しなかった。

D. 考察

RASSF1A 遺伝子のプロモーターメチル化は約 47% であり、他の癌腫の報告と同様であった。また、発現の低下は約 57%に見られ、滑膜肉腫においても RASSF1A 遺伝子が腫瘍化に関与している可能性が示唆された。臨床サンプルではプロモーターメチル化と発現の低下は相関しなかったが、細胞株においてはメチル化の見られた 2 例とも RASSF1A 遺伝子の発現は見られなかった。臨床サンプルについては、正常細胞が混入していることが考えられるため、その影響と考えた。

E. 結論

滑膜肉腫において RASSF1A 遺伝子のメチル化の頻度と発現量を調べた。RASSF1A 遺伝子のメチル化、発現の低下が約半数の症例に見られた。RASSF1A 遺伝子は滑膜肉腫の腫瘍化に関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報  
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakagawa Y, Yoshida A, Numoto K, Kunisada T, Wai D, Ohata N, Takeda K, Kawai A, Ozaki T. Chromosomal imbalances in malignant peripheral nerve sheath tumor detected by metaphase and microarray comparative genomic hybridization. *Oncol Rep.*, 15: 297-303, 2006.

Koshima I, Ozaki T, Gonda K, Okazaki M, Asato H. Posterior tibial adiposal flap for repair of wide, full-thickness defect of the Achilles tendon. *J Reconstr Microsurg.*, 21: 551-554, 2005.

Kawai A, Kadota H, Yamaguchi U, Morimoto Y, Ozaki T, Beppu Y. Blood loss and transfusion associated with musculoskeletal tumor surgery. *J Surg Oncol.*, 92: 52-8. 2005.

Kawai A, Umeda T, Wada T, Ihara K, Isu K, Abe S, Ishii T, Sugiura H, Araki N, Ozaki T, Yabe H, Hasegawa T, Tsugane S, Beppu Y; JMOG Group. Alternating sequential chemotherapy with high-dose ifosfamide and doxorubicin/cyclophosphamide for adult non-small round cell soft tissue sarcomas. *J Orthop Sci.*, 10: 258-263, 2005.

Shen ZN, Nishida K, Doi H, Oohashi T, Hirohata S, Ozaki T, Yoshida A, Ninomiya Y, Inoue H. Suppression of chondrosarcoma cells by 15-deoxy-Delta 12,14-prostaglandin J2 is associated with altered expression of Bax/Bcl-xL and p21. *Biochem Biophys Res Commun.*, 328:375-382, 2005.

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 Lett.*, 224:311-319, 2005.

尾崎敏文, 土井英之, 国定俊之, 小野敦. ここまでわかる骨・軟部腫瘍画像診断 最近のMRIの進歩. *日本整形外科学会雑誌*, 79: 439-444, 2005

武田健, 尾崎敏文. 【肩関節総合画像診断マニュアル】核医学と肩腫瘍 肩周囲の骨軟部腫瘍における核医学検査の有用性 特に骨シンチグラフィ, タリウムシンチグラフィについて. *Orthopaedics*, 18: 67-73, 2005.

尾崎敏文, 国定俊之. 【骨・軟部腫瘍】治療 腫瘍用人工関節による患肢温存手術. *NEW MOOK 整形外科*, 18:97-107, 2005.

伊藤達男, 尾崎敏文, 大内田守. 【整形外科疾患でのヒストンデアセチラーゼ阻害剤の有用性】滑膜肉腫細胞株に対するHDAC抑制剤FK228のin vivo, in vitroにおける抗腫瘍効果の検討. *医学のあゆみ*, 213: 1041-1046, 2005.

庄隆宏, 国定俊之, 川上直明, 尾崎敏文, 井上一. 骨軟部病変におけるタリウムシンチ(thallium-201)の定量評価. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 48: 625-626, 2005.

井谷智, 尾崎敏文, 中田英二, 国定俊之, 田中雅人. 仙尾骨脊索腫の治療成績. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 48: 121-122, 2005.

中田英二, 尾崎敏文, 国定俊之, 大畑範英, 中川寧子. 下腿の悪性軟部腫瘍の治療成績. *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, 48: 109-110, 2005.

2. 学会発表

沼本邦彦, 国定俊之, 吉田晶, 中川寧子, 武田健, 尾崎敏文. 滑膜肉腫におけるMethylation Specific PCR法によるRASSF1Aプロモーターメチル化の解析. *日本整形外科学会雑誌*, 79: S768, 2005

尾崎敏文, 沼本邦彦, 中川寧子, 吉田晶, 武田健, 国定俊之.  
骨・軟部腫瘍の分子生物学 骨軟部腫瘍の遺伝子・染色体変異.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S743, 2005

国定俊之, 尾崎敏文, 中田英二, 沼本邦彦, 橋詰博行  
前腕-手部悪性腫瘍の治療法 軟部組織再建を行った手, 前腕の悪性骨・軟部腫瘍.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S569, 2005

井谷智, 尾崎敏文, 国定俊之, 中田英二, 沼本邦彦, 舘崎慎一郎, 鎌田正.  
重粒子線治療を行った骨・軟部腫瘍の5例.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S685, 2005.

中田英二, 尾崎敏文, 国定俊之, 井谷智.  
悪性末梢神経鞘腫の治療成績.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S680, 2005.

沼本邦彦, 尾崎敏文, 国定俊之, 大畑範英, 中川寧子, 武田健, 井谷智.  
iVAC 療法が著効した成人手部発生胞巣型横紋筋肉腫の2例.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S674, 2005.

生熊久敬, 田中雅人, 杉本佳久, 橋詰博行, 三澤治夫, 瀧川朋亨, 尾崎敏文.  
当科における頸髄腫瘍の手術成績.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S604, 2005.

国定俊之, 尾崎敏文, 中田英二, 沼本邦彦, 武田健, 井谷智.  
骨・軟部腫瘍に対する画像診断の現状と今後の展望 骨・軟部腫瘍に対する画像診断の有用性とその限界.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S557, 2005.

尾崎敏文, 国定俊之, 大畑範英, 中川寧子, 沼本邦彦, 武田健.  
骨盤部悪性骨腫瘍に対する患肢温存手術 骨盤部悪性骨・軟部腫瘍の治療.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S551, 2005.

中田英二, 尾崎敏文, 国定俊之, 大畑範英  
仙骨部の骨軟部腫瘍の治療成績.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S198, 2005.

沼本邦彦, 尾崎敏文, 国定俊之, 大畑範英, 中川寧子, 武田健, 井谷智, 橋詰博行.  
悪性軟部腫瘍に対する追加広範切除術.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S195, 2005.

国定俊之, 尾崎敏文, 沼本邦彦, 武田健, 井谷智.  
術前放射線温熱化学療法を行った高悪性度軟部肉腫症例の長期成績.  
日本整形外科学会雑誌, 79: S65, 2005.

杉本佳久, 生熊久敬, 田中雅人, 尾崎敏文.  
胸髄に生じた軟膜下脂肪腫の2例.  
中部日本整形外科災害外科学会雑誌, 48 Suppl.: 137, 2005.

武田健, 尾崎敏文, 沼本邦彦, 井谷智, 国定俊之.  
軟部腫瘍に類似した炎症型悪性線維性組織球腫の4例.  
日本骨・関節感染症研究会, 28 回抄録集: 52, 2005.

米田泰史, 中田英二, 井谷智, 沼本邦彦, 武田健, 国定俊之, 尾崎敏文.  
大腿骨病変を呈した SAPHO 症候群の1例.  
中国・四国整形外科学会雑誌, 17: 397, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし