

ったこと、長期化療症例で死亡にいたる毒性が出現したことなどが挙げられる。しかし化療の反応性は予後との関連に重要であると考えられ、高齢者においても neoadjuvant chemotherapy の効果は十分期待できる。毒性・QOL の点から、まず術前に ADM を標準量の 80-85% で投与し、反応を確認することが reasonable と思われるが、さらに多施設による症例集積を行うことが必要である。

E. 結論

1. 60 歳以上で入院化学療法を行った骨軟部肉腫 18 例に対し、投与量、重篤な有害事象、治療効果、生存統計を検討した。

2. 18 例の総化療コースは 115 で、標準投与量に対する投与量%の中央値は 88% であった。

3. 重篤な有害事象としては、ADM による心毒性、VP-16 による骨髄異形成症候群が原因とみられる死亡をそれぞれ 1 例ずつ認めた。

4. 18 例の奏効率は 44.4%、27 治療シリーズでは 33.3% であった。

5. 18 例の転帰は CDF 1, NED 1, AWD 5, DOD 11 であり、生存統計では、治療開始時転移がなく、化療が有効であったものは予後が良好であった。

6. 以上より、高齢者においても neoadjuvant chemotherapy の効果が十分期待でき、毒性・QOL の点から、まず術前に ADM の 80-85% 投与で反応を確認することが reasonable と思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

比留間徹, 櫛田和義, 竹山昌伸 :

抗癌剤化学療法を施行した高齢骨軟部肉腫症例 (60 歳以上) の治療成績. 東日本整災誌, in press

2. 学会発表

比留間徹, 櫛田和義, 他 :

脛骨近位部骨肉腫の治療成績.

第 39 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会.

2006 年 7 月 6 日.

上條晃, 比留間徹, 他 :

骨巨細胞腫に対する電気メス焼灼法の治療成績.

第 39 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会.

2006 年 7 月 7 日.

竹山昌伸, 櫛田和義, 比留間徹, 他 :
胸椎転移性脊椎腫瘍に対する palliative surgery
後方固定の有無による比較.
第 79 回日本整形外科学会学術総会.
2006 年 5 月 20 日.

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 岡山大学大学院整形外科学教授

研究要旨 新しい光感受性物質 ATX-S10·Na(II)を用いた光線力学的療法(以下 PDT)の滑膜肉腫に対する有用性について検討した。in vitro の実験では、培養ヒト滑膜肉腫細胞株に対する PDT の抗腫瘍効果を認め、ATX-S10·Na(II)濃度、レーザー強度と殺細胞効果に正の相関を認めた。また、高濃度の ATX-S10·Na(II)を用いた PDT では、壊死が優位となり、低濃度では、アポトーシスが優位となると考えられた。in vivo の実験では、ヌードマウスに移植した滑膜肉腫細胞に対する抗腫瘍効果を認めた。さらに、辺縁切除術後に補助的に PDT を用いることにより、局所再発を優位に抑制することが確認された。これらの結果から、PDT は滑膜肉腫の治療における新しい補助療法となる可能性が示唆され、腫瘍切除縁の縮小が可能となれば、術後患肢機能の温存が期待される。

また、我々はこれまで骨軟部肉腫を対象に比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)法による解析を行い、ゲノム DNA の量的異常について網羅的に解析を行ってきた。これまでの研究より DNA の量的な変化だけではその後の転写・翻訳の変化を説明できないことがわかってきた。近年、クロマチン修飾などのエピジェネティックな変化が遺伝子の転写活性に強く関与していることが報告されている。クロマチンの構造的変化を網羅的に検出する方法として、クロマチン免疫沈降法(ChIP)とメタファーゼ CGH 法を組み合わせた ChIP-CGH 法の基礎的検討を行った。ChIP-CGH 法で染色体変異が観察可能であった。

I. ヒト滑膜肉腫細胞(SYO-1)に対する光感受性物質 ATX-S10·Na(II)を用いた光線力学的治療の抗腫瘍効果の検討

A. 研究目的

骨軟部肉腫の治療では、周囲の正常組織を含めて腫瘍を切除する広範切除術が、根治性を高めるために必要である。しかし、周囲の神経、血管などを含めて切除した場合、術後患肢機能の重篤な障害が生じる。今回、光感受性物質 ATX-S10·Na(II)を用いた光線力学的治療の抗腫瘍効果および、切除縁縮小手術のための補助療法としての PDT の可能性を検討した。

B. 研究方法

ヒト滑膜肉腫細胞株(SYO-1)を用い、レーザー装置は浜松ホトニクス社製ダイオード・レーザー(波長670nm)を使用した。

A) in vitro

1. ATX-S10·Na(II)の細胞内の局在を確認するため培養細胞に ATX-S10·Na(II)を暴露させライソゾーム染色を行い蛍光顕微鏡で観察した。2. 培養細胞に24時間 ATX-S10·Na(II)を暴露させ暴露濃度、レーザーの強度を変化させ MTT assay にて殺細胞効果を検討した。3.

アポトーシスについて検討するため、PDT 後にヘキスト染色、TUNEL 染色を行い蛍光顕微鏡で PDT による細胞形態の変化を観察した。同様に電子顕微鏡による観察を施行した。4. さらに、PDT 後 caspase assay を施行した。

B) in vivo

1. ヌードマウス皮下に SYO-1 を移植し、担癌モデルを作成した。担癌ヌードマウスに ATX-S10·Na(II)を経静脈投与し、3時間後に PDT 施行し15日間の腫瘍サイズの変化を観察し、組織学的検討を行なった。2. 担癌ヌードマウスに ATX-S10·Na(II)を経静脈投与し、3時間後に腫瘍の辺縁切除術を行った。補助的に PDT を施行し、8週間、腫瘍再発の有無を観察した。

(倫理面の配慮)

岡山大学自然生命科学研究支援センター動物実験指針に基づき、適正な飼育管理、施設・環境管理を行い、動物実験の苦痛を最小限にとどめ、動物実験を行った。

C. 研究結果

A) in vitro

1. ATX-S10·Na(II)は、ライソゾーム染色と一致し細胞質に取り込まれていた。2. ATX-S10·Na(II)濃度、レーザ

一強度と殺細胞効果に正の相関を認めた。3. PDT 後、核の濃縮、形態の変化がみられ TUNEL 陽性細胞の増加を認めた。電顕下では、ATX-S10・Na(II)が低濃度の群でアポトーシス様の細胞が、高濃度の群で壊死様の細胞が観察された。4. ATX-S10・Na(II)が低濃度の群で caspase 活性の上昇が見られた。

B) *in vivo*

1. PDT 施行群では腫瘍の増大抑制効果が認められた。
2. PDT 施行群では、腫瘍辺縁切除のみの群と比べて局所再発率が低下した。

D. 考察

ATX-S10・Na(II)は、組織代謝、排泄時間が短く PDT の副作用である日光過敏症を起こしにくいことが期待される。さらに、励起波長が 670nm と組織透過性にも優れる。様々な癌への PDT の有効性が報告されているが、骨軟部肉腫への報告は少ない。本研究で、PDT は SYO-1 細胞に対し *in vitro*、*in vivo* で抗腫瘍効果を示した。

in vitro において、高濃度の ATX-S10・Na(II)を用いた PDT では、壊死が優位となり、低濃度では、アポトーシスが優位となると考えられた。*in vivo* において抗腫瘍効果を認めたが、軟部肉腫は深部発生することが多い点や、しばしば腫瘍サイズが巨大となることなどから、PDT のみでの腫瘍の根治は困難と考えられる。今回、辺縁切除術を施行後に PDT を補助的に追加することにより局所再発率が低下し、切除縁縮小手術における PDT の補助療法としての可能性が示された。

E. 結論

PDT が滑膜肉腫の新しい治療法となる得る可能性が示唆され、PDT を利用することにより切除縁縮小が可能となれば術後患肢機能の温存につながると考えられた。

II. ChIP-CGH 法の基礎的検討

A. 研究目的

我々が今まで行ってきた CGH 法の手技をもとに、クロマチン免疫沈降法(ChIP)とメタファーゼ CGH 法を組み合わせた ChIP-CGH 法の基礎的検討を行い、染色体変異領域の検出を目的とした。

B. 研究方法

本研究では、滑膜肉腫細胞株 SYO-1 を用いて、HDAC 阻害剤 FK228 によりヒストンのアセチル化を誘導した後に ChIP を行い、CGH 法で染色体変異を検出可能か検討した。ヒストンアセチル化 H3 抗体を用いて

ChIP を行い、得られた DNA を DOP-PCR で増幅後、Cy5 でラベリングし、Cy3 でラベリングした Input DNA とハイブリダイズさせた。メタファーゼを CGH 解析ソフト CW4000 (Leica Microsystems 社)で解析し、蛍光比 1.2 以上を gain (高アセチル化)、0.8 以下を loss (低アセチル化)と判定した。

(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

HDAC 阻害剤 FK228 投与前は8箇所のみで高アセチル化領域が認められたが、投与後ではほとんどの染色体領域で高アセチル化が認められた。このことにより、FK228 によってアセチル化が誘導されたと考えられ、ChIP-CGH 法を用いて FK228 投与前後のヒストンアセチル化による染色体変異領域の検出が観察された。

D. 考察

ChIP-CGH 法の利点として、従来の CGH と同様の方法で行うことができること、CGH の結果と比較検討できること、全染色体網羅的な解析であることがあげられる。手技上の問題点として、ChIP により回収できる DNA 量が極めて少量であり、DOP-PCR による増幅が必要となること、また得られた染色体異常から直接遺伝子を特定するための方法がないのが CGH 法の弱点である。

E. 結論

ChIP-CGH 法を用いて FK228 投与前後のヒストンアセチル化による染色体の変化を検討した。CGH 法の弱点はあるが、ChIP-CGH 法は網羅的に遺伝子変化を観察できる有用なツールになりうると考えられた。今回の検討では、ゲノムワイドにヒストンのアセチル化している部位と脱アセチル化している部位を検出可能であった。この方法を用いて骨軟部腫瘍の発生、悪性化に関わるエピジェネティクスな変化をゲノム全体に渡ってとらえ、蓄積してきた CGH データとも比較検討することで標的遺伝子に関する新たな知見が効率的に得られると考える。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ohata N, Ozaki T, et al. Highly frequent allelic loss of chromosome 6q16-23 in osteosarcoma: involvement of cyclin C in osteosarcoma.

Int J Mol Med. 18:1153-8, 2006

Mitsuyoshi G, Ozaki T, et al. Accurate diagnosis of musculoskeletal lesions by core needle biopsy.

J Surg Oncol., 94:21-7, 2006

Nakagawa Y, Ozaki T, et al. Chromosomal and genetic imbalances in synovial sarcoma detected by conventional and microarray comparative genomic hybridization.

J Cancer Res Clin Oncol., 132:444-50, 2006

Tanaka M, Ozaki T, et al. Surgical results of sacral perineural (Tarlov) cysts. Acta Med Okayama., 60:65-70, 2006

Doi H, Ozaki T, et al. Magnetic resonance angiography without contrast enhancement medium in bone and soft tissue tumors. Oncol Rep., 15:681-5, 2006

Obata H, Ozaki T, et al. Clinical outcome of patients with Ewing sarcoma family of tumors of bone in Japan: the Japanese Musculoskeletal Oncology Group cooperative study. Cancer, 109(4):767-775, 2007

尾崎敏文, 他 【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切除後の再建方法. 整形・災害外科. 49:227-234, 2006

尾崎敏文. 骨軟部腫瘍診断と治療における近年の進歩. 岡山医学会雑誌. 117:211-217, 2006

杉原進介, 尾崎敏文. 【骨粗鬆症診療に必要な画像診断】腫瘍性病変の画像診断 骨粗鬆症性病変との鑑別. 骨粗鬆症治療. 5:231-236, 2006

武田健, 尾崎敏文, 他 経験と考察 軟部膿瘍に類似した炎症型悪性線維性組織球腫の治療経験. 整形外科. 57:1704-1706, 2006

沼本邦彦, 尾崎敏文.
Vocabulary 胞巣型横紋筋肉腫.
整形外科. 57: 672, 2006

尾崎敏文, 他 血管柄付き骨軟部組織を用いて再建した骨軟部肉腫の治療経験. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 49:679-680, 2006

生熊久敬, 尾崎敏文, 他

胸椎に発生した Ewing 肉腫/PNET の 1 例. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 49:767-768, 2006

2. 学会発表

武田健, 尾崎敏文, 他 滑膜肉腫細胞株に対する ATX-S 10 Na(II)を用いた光線力学的治療. 日本整形外科学会雑誌. 80:S946, 2006

沼本邦彦, 尾崎敏文, 他 滑膜肉腫細胞株 SYO-1 における脱メチル化剤 5-aza-2-deoxycytidine の抗腫瘍効果. 日本整形外科学会雑誌 80:S843, 2006

森本裕樹, 尾崎敏文, 他 骨肉腫に関する基礎的研究:臨床応用への関門 骨肉腫におけるゲノム解析と臨床応用. 日本整形外科学会雑誌. 80:S1031, 2006

吉田晶, 尾崎敏文, 他 ChI-CGH 法の基礎的検討. 日本整形外科学会雑誌. 80:S949, 2006

尾崎敏文. 軟部腫瘍の診断と治療. 日本整形外科学会雑誌 80:S548, 2006

沼本邦彦, 尾崎敏文, 他 術後 QOL・装具 DASH・SF-36 を用いた上腕骨悪性骨腫瘍切除後の機能評価. 日本整形外科学会雑誌. 80:S677, 2006

杉原進介, 尾崎敏文, 他 悪性骨・軟部腫瘍治療における術後感染の問題点と対策 骨・軟部腫瘍広範切除後の創部感染. 日本整形外科学会雑誌 80:S661, 2006

国定俊之, 尾崎敏文, 他 融合遺伝子を用いた骨・軟部腫瘍診断. 日本整形外科学会雑誌 80:S639, 2006

伊原公一郎, 尾崎敏文, 他 上肢遠位部発生 Ewing 肉腫の治療成績. 日本整形外科学会雑誌 80:S635, 2006

川上直明, 尾崎敏文, 他 タリウムシンチを用いた軟部腫瘍の良悪性診断. 日本整形外科学会雑誌 80:S691, 2006

国定俊之, 尾崎敏文, 他 タリウムシンチおよび DMSA シンチによる軟骨系腫瘍の悪性度分類と治療方針. 日本整形外科学会雑誌 80:S223, 2006

杉原進介, 尾崎敏文.他 転移性脊椎腫瘍 転移性脊椎腫瘍の外科的治療について. 日本整形外科学会雑誌 80:S621, 2006

吉田晶, 尾崎敏文.他 Metaphase-Comparative Genomic Hybridization(CGH)における悪性線維性組織球腫(MFH)の各亜型の特徴. 日本整形外科学会雑誌 80:S709, 2006

武田健, 尾崎敏文.他 骨・軟部腫瘍に対する経皮的針生検法の有用性と限界. 日本整形外科学会雑誌 80:S718, 2006

米田泰史, 尾崎敏文.他 遺伝子解析で診断が確定した膝関節内滑膜肉腫の2例. 日本整形外科学会雑誌 80:S775, 2006

中西徹, 尾崎敏文.他 網羅的プロテオーム解析による疾患早期診断新規バイオマーカーの探索. 日本薬学会 126 年会講演要旨集:152, 2006

三澤治夫, 尾崎敏文.他 hTERT-TKを用いたES細胞由来の奇形腫形成の抑制. Organ Biology13:389, 2006

尾崎敏文. 悪性骨腫瘍の治療 最近の進歩. 岡山医学会雑誌 118:185, 2006

尾崎敏文. 転移性骨腫瘍への対応. 運動療法と物理療法. 17:81, 2006

尾崎敏文. 最近行っている腫瘍再建治療について. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 春季学会:19, 2006

尾崎敏文.他 悪性骨軟部腫瘍切除後の再建法の適応 血管柄付き骨軟部肉腫を用いて再建した骨軟部肉腫の治療経験. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 春季学会:33, 2006

門田康孝, 尾崎敏文. 他 当科における原発性骨軟部肉腫手術例の年齢分布構成の変化. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 秋季学会 :61, 2006

中田英二, 尾崎敏文.他 術中アルコール処理にて患肢温存を行った再発MFHの1例. 中部日本整形外科災害外科学会雑誌. 秋季学会:156, 2006

田中雅人, 尾崎敏文. 他 頸椎神経鞘腫の手術成績. 日本脊椎脊髄病学会雑誌. 17:644, 2006

瀧川朋亨, 尾崎敏文. 他 神経鞘腫 86 例の手術成績. 日本脊椎脊髄病学会雑誌:17:628, 2006

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 吉田 行弘 日本大学整形外科講師

研究要旨 非円形細胞肉腫に対する化学療法の有効性を確立するために、化学療法のプロトコルを作成し、世界的にも未だ確立していない標準的治療法を開発する目的で、多施設でその有効性を検討する。

A. 研究目的

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的化学療法のプロトコルの確立。

pilot studyにより、一定のプロトコルに沿った術前化学療法で多数例の解析を行うことにより、世界的標準の化学療法の指針が得られるものと考えられる。

B. 研究方法

当施設および関連施設において経験する高悪性骨軟部腫瘍に対して、ADR、IFO、CDDPなどの化学療法を術前に行い、施行した化学療法の効果を日本整形外科学会の評価基準により評価し、さらに術後の切除標本より、その組織学的有効度を調査し、また長期的予後調査を行う。

E. 結論

ADRとIFOおよびCDPPは術前化学療法としての評価に値する有効な薬剤であり、今後のプロトコルに組み入れられるべき薬剤と考えた。

C. 研究結果

現時点までに当施設においては1994年から2006年までの間に16例の悪性軟部腫瘍を経験した。内訳は平滑筋肉腫3例、脂肪肉腫2例、平滑筋肉腫3例、MFH2例、MPNST、横紋筋肉腫、血管上皮種、滑膜肉腫1例ずつであり、13例について上記の薬剤を使用したMAID療法を術前、術後に施行した。術前化学療法施行回数は1回から3回までであった。5例に術前放射線療法も追加した。術前化学療法施行の効果はそれぞれPR3例、PD1例、NC9例であった。切除標本は生存細胞が見られ、臨床的評価と同様であった。長期的予後調査ははまだ経過観察期間が短いため評価は不可能である。さらに、今回3例の悪性軟部腫瘍に対しては、JCOG0304のプロトコルを使用した。滑膜肉腫の1例のみプロトコルを完了したが、他の2例は術前化学療法の段階で、患者の希望により断念し手術療法を行ない終了した。術前化学療法効果は、NC、PR、PDがそれぞれ1例ずつであった。術後約6ヶ月であるが再発、転移はない。

（倫理的にはプロトコル要旨患者に配布し、承諾を得ている）

D. 考察

高悪性度非円形細胞肉腫は一般にその頻度は少なく、一施設あたりの治療経験数はきわめて少なく、現時点では各施設が各々のプロトコルに沿った化学療法を行い、成績が一定していない。今回の

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

吉田行弘、大幸俊三、大幸英至、杉田秀幸、龍順之助：腫瘍型人工関節術後感染症とその対策。第39回日本整形外科学会学骨軟武腫瘍術集会、札幌、2006、7（パネルディスカッション）

杉田秀幸、大幸俊三、大幸英至、松崎英剛、吉田行弘、龍順之助：肋骨合併切除を行った背部再発性脱分化型脂肪肉腫の1例。第39回日本整形外科学会学骨軟武腫瘍術集会、札幌、2006、7

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 守田哲郎 新潟県立がんセンター新潟病院整形外科部長

研究要旨 脂肪腫は成人で最も発生頻度の高い良性軟部腫瘍であるが脂肪腫と高分化型脂肪肉腫は類似していて病理組織学的にも鑑別診断が困難なことが多い。臨床的には高分化型脂肪肉腫は局所再発しやすいため両者の鑑別を適切に行うことが重要である。近年、脂肪腫に染色体異常があることが明らかになってきた。新潟県立がんセンター新潟病院整形外科にて過去2年間に手術した脂肪腫30例についてHMGIC/LPP, HMGIC/RDC, HMGIC/LHFP 融合遺伝子の有無を調査し、臨床像との比較を行った。30例中LPPは4例(13.3%)、RDCは2例(6.7%)で陽性であった。LHFPの陽性例はなかった。融合遺伝子陽性例と陰性例で画像所見、組織像、年齢、コレステロール値に明らかな相違はなかった。融合遺伝子を持つ脂肪腫では、肥満度と腫瘍の大きさに因果関係がある可能性が示唆された。

A. 研究目的

脂肪腫は成人で最も発生頻度の高い良性軟部腫瘍であるが脂肪腫と高分化型脂肪肉腫は、肉眼所見やCT, MRI 画像が類似しており、病理組織学的にも鑑別診断が困難なことが多い。臨床的には、高分化型脂肪肉腫は局所再発しやすいため、広範切除や放射線治療の併用が必要になる場合があり、両者の鑑別を適切に行うことが重要である。脂肪腫の成因として肥満、糖尿病、コレステロール値との関連が示唆されているが、最近では、脂肪腫の約60%に染色体異常があることが明らかになってきた。この染色体異常の50-60%は第12染色体に発生し、第3染色体との相互転座の頻度が高い。この染色体の相互転座によって遺伝子の一部が他の遺伝子と入れ替わり融合遺伝子が生じる。脂肪腫の場合、近年HMGIC遺伝子とLPP, LHFP, RDC 遺伝子などの遺伝子との間に生じる融合遺伝子の存在が明らかになり、その診断における意義が注目されている。しかし、どのような脂肪腫に融合遺伝子が存在するのか、また、融合遺伝子の種類による臨床像の違いなど明らかになっていないことも多い。

脂肪腫におけるHMGIC/LPP, HMGIC/RDC, HMGIC/LHFP 融合遺伝子の有無を調査し、臨床像との比較を行った。

B. 研究方法

対象は、新潟県立がんセンター新潟病院整形外科にて過去2年間に手術し、遺伝子検査に同意し、病理組織学的に脂肪腫と診断された30例で平均年齢

49.6歳、単発:28例、多発:2例、単発例での発生部位は体幹10例、腋窩～上肢9例、頸部5例、鼠径部～下肢4例、大きさは平均8.6cmである。組織型はordinary lipoma 28例、osteolipoma 1例、angioliipoma 1例、再発例はなかった。

新鮮凍結材料からRNAを抽出、Nested-PCRで融合遺伝子の発現の有無とタイプを検討した。プライマーは報告されているものを使用した。

次に融合遺伝子の発現の有無での臨床像の差異を年齢、大きさ、body mass index (BMI), 総コレステロール値にて比較した。

(倫理面への配慮)

本研究については当院倫理委員会の承諾を得ている。また十分なインフォームドコンセントを行い患者の個人情報保護の徹底に務めた。

C. 研究結果

30例中LPPは4例(13.3%)で陽性、RDCは2例(6.7%)で陽性、LHFPの陽性例はなかった。

30例をLPP陽性群、RDC陽性群、融合遺伝子の発現なしの3群に分けて臨床像を比較したが、この3群間では年齢、大きさ、BMI、総コレステロール値に差は認められなかった。また、浅在性か深在性か、あるいは、capsuleのありなしで検討したが差はなかった。

次に、脂肪腫では腫瘍の大きさと肥満度との関係が示唆されているため、融合遺伝子発現群と非発現群に分けてBMIと大きさの関係を検討した。融合遺伝子非発現群ではBMIと大きさに相関関係は認めら

れなかったが、融合遺伝子発現群ではBMI と大きさに中等度の相関関係が認められた。ただし、症例数が少なく相関係数に有意差はなかった。

D. 考察

融合遺伝子を持つ軟部腫瘍では融合遺伝子のタイプによって clinical behavior に相違があることが知られている。例えば滑膜肉腫では SYT-SSX1 と SSX2 の 2 種類が知られているが SYT-SSX1 を発現する腫瘍では組織学的に monophagic, biphagic が約半数づつで予後は *ssx 2* よりは不良、SYT-SSX 2 では monophagic がほぼ 100% で予後は SSX1 よりも良好であることがわかってきている。今回の検討で融合遺伝子をもつ脂肪腫は大きさと肥満度に因果関係が存在する可能性が示唆された。一方融合遺伝子を持たない脂肪腫では大きさと肥満度とは相関していなかった。したがって、脂肪腫における融合遺伝子は肥満の影響をより受けやすく、肥満に関わる因子が増殖を促進しやすくなるのではないかと考えられた。

脂肪腫では数種類の融合遺伝子(遺伝子転座)が報告されており、これらの組み合わせによって、診断精度が向上することが期待される。今後、脂肪腫における融合遺伝子(遺伝子転座)の分子生物学的な役割を含めて検討することが必要である。

E. 結論

脂肪腫における融合遺伝子の発現を調査し、臨床病理所見と比較を行なった。画像所見、組織像、年齢、コレステロール値に明らかな相違はなかった。融合遺伝子を持つ脂肪腫では、肥満度と腫瘍の大きさに因果関係がある可能性が示唆された。まだ症例数が少ないため今後さらに症例数を増やしての検討が必要である。

F. 健康危険情報

この研究により特に患者または研究者の健康に危険を与えることはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hatano H, Morita T, et al.: Focal lymphoid hyperplasia in a lipoma, mimicking liposarcoma. *Skeletal Radiology* 35: 613- 618, 2006.

守田哲郎: 転移性骨腫瘍の外科的治療. 吉川秀樹編, 整形外科学大系, 20 巻, 骨軟部腫瘍および関連疾患. pp. 451-457, 中山書店, 東京, 2007 年.

2. 学会発表

Morita T, et al.: Operative management of metastatic spinal diseases from the viewpoint of prognosis and quality of life. 6th meeting of the Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society, 2006/01/18, Chiang Mai, Thailand

Segawa H, Morita T, et al.: Proximal femoral replacement for metastatic bone tumor : influence of pathological fracture. 73rd Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2006/03/22-24, Chicago, USA

Segawa H, Morita T, et al.: Proximal femoral replacement for metastatic bone tumor : influence of estimated survival. 73rd Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2006/03/22-24, Chicago, USA

Hotta T, Morita T, et al.: Post Operative Radiation Therapy after Conservative Surgery of Soft Tissue Sarcomas. 73rd Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2006/03/22-24, Chicago, USA

小林宏人、守田哲郎、畠野宏史、瀬川博之、内山徹、岩淵泰宏: 前腕骨・軟部肉腫に対する治療. 第 9 回新潟骨軟部腫瘍研究会. 2006/03/11, 新潟市

畠野宏史、守田哲郎、小林宏人、瀬川博之、内山徹、佐藤豊二: 骨肉腫患者の MTX 大量療法における尿中 carbonic anhydrase II の検出. 第 9 回新潟骨軟部腫瘍研究会. 2006/03/11, 新潟市

畠野宏史、守田哲郎、小林宏人、瀬川博之、内山徹: 原発不明癌骨転移の原発巣検索. 第 39 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会, 2006/07/06-7, 札幌市

生越章、川島寛之、堀田哲夫、工藤尚子、遠藤直人、梅津哉、畠野宏史、守田哲郎: 腫瘍用人工関節術後感染の検討. 第 39 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会, 2006/07/06-7, 札幌市

畠野宏史、守田哲郎、小林宏人、瀬川博之、内山徹、本間慶一、根本啓一、太田玉紀: 右上腕骨近位部骨腫瘍. 第 13 回東北地区骨軟部腫瘍研究会, 2006/10/28, 仙台市

守田哲郎：転移性骨腫瘍の治療選択。一予後予測と手術適応一，第10回多摩骨軟部腫瘍研究会，2007/01/27，三鷹市

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

整理番号：DA-03949

特願 2006-075781

提出日：2006.3.20

国際特許分類：G01N 33/50

項目名：カルボニックアンヒドラーゼIIからなる腎機能判定用または制癌剤の効果もしくは影響判定用マーカー

発明者：

大橋健也、佐藤豊二、畠野宏史、佐藤康仁、佐藤善郎、小島良、守田哲郎、金子拓志、片山勝博、片桐健

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

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 JCOG0304 臨床研究の次期研究を念頭に、組織亜型の多様性、悪性度の幅を理解して高悪性度の脱分化脂肪肉腫、MFH、粘液型脂肪肉腫、粘液型 MFH、進行再発性悪性軟部腫瘍に対する IFM、DXR、CDDP、VP16、GEM、DOCETAXEL、DTIC 併用療法などの化学療法の有用性を検討した。

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。また、
過去の臨床研究が、再発進行症例を対象とし
た第 2 相臨床試験がほとんどで、初発症例を
対象にした臨床試験、特に術前化学療法をデ
ザインした臨床試験は、現在進行中の
JCOG0304 はじめ、欧米で行われている IFM と
DXR 併用療法の臨床試験の結果が待たれると
ころである。第 2 相試験の結果を直接応用で
きない問題点は、多様な組織亜型の存在と病
理悪性度の予測性の低さによる。組織亜型を
超えた悪性度判定を目指しているにも関わら
ず、多形性の判定、細胞密度の判定が主観的
で、細胞形態、間質基質によって大きく印象
が変化するなどの、原因が推測されている。
MIB1、PCNA などによる滑膜肉腫の悪性度判
定の客観性を高める研究でも結論はえられて
いない。

進行再発例の化学療法は、実地臨床として
古くから行われ、その有用性の結論は得られ
ていない。多くの第 2 相臨床試験や、比較試
験が組まれたが、推奨される薬剤を決定する
結論が得られず、EORTC では DXR 単独、米国
では DXR と DTIC との併用療法ないし MAID 療
法が推奨されている。結論が得られなかった
原因として、多様な組織型を超える強力な薬
剤は、ADR 以外認められないことと、安定し
たシスプラチンの有用性を確認できなかった
ために、研究早期に候補薬剤から排除され
たことにある。骨肉腫において非常に強い抗
腫瘍効果を示す本薬剤が、悪性軟部腫瘍に
対して奏効しないと結論された一方、幾つか
の第 2 相臨床試験で DXR 誘導体との併用効果
が確認され、臨床実践でも経験してきた。巨
大な腫瘍塊を形成しやすい骨軟部腫瘍に
対して、

病勢を鎮静するだけでなく高い抗腫瘍効果
が達成できるレジメンとして CDDP を併用
した治療を検討した。

この観点から、組織亜型別、悪性度、腫瘍
量を考慮した研究が不可欠であり、その効果
スペクトラムを慎重に検討することは重要であ
る。

B. 研究方法

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、多形型脂肪肉腫の進行症
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。

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 クールで行った。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。

(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G-CSF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かと類推された。IAP療法(IFM2g/m², DXR20mg/m², CDDP20mg/m²x2-3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 及び D. 考察

1) 粘液型脂肪肉腫に対する化学療法
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16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。

化学療法のスケジュールは、2002年までと2003年以降で異なり、用量を明記すると下記の通りである。

1998-2002

- IFO IFO 14g/m²/5day
- CPM/ADR CPM 1200mg/m²/2days
ADR 60mg/m²/2days

2003-

- IFO/VP16 IFO 9g/m²/5days
VP16 500mg/m²/5days
- CDDP/ADR
CDDP 100-120mg/m²/1day
ADR 60mg/m²/2days

2-11コース(中間値5コース)

表1. 奏効率

Drugs	IFO CPM/ADR n=8	IFO/VP16 CDDP/ADR n=8
Response rate	CR 0	CR 1
	PR 2	PR 3
	MR 2	MR 2
	NC 3	NC 1
	PD 1	PD 1
	2/8 = 25%	4/8 = 50%

Response Rate of Chemotherapy

All cases: 6/16 = 37.5%

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grade3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。

血液毒性は、CDDP群の方が強い傾向があった。70歳以上は2例であり、2例ともCDDPを含むレジメンを行っており、約80mg/m², 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回以上の投与が可能であった(表2)。

図1. 47歳 男性例 (大腿部原発切除し6年後肺転移)

化学療法後、右肺中葉切除、無病12ヶ月

CDDP/ADMx3

IFO/VP16x3

でCR

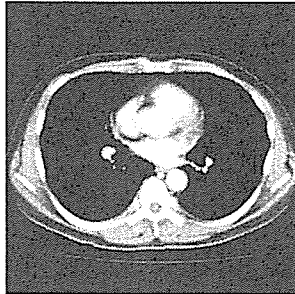
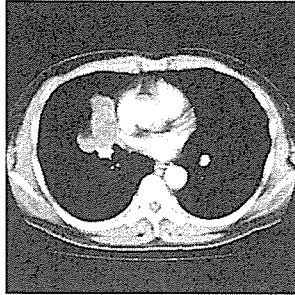


表2. 治療が行われた治療プロトコル別の症例と臨床、組織効果、有害事象の結果

薬剤	症例数	年齢	組織型 grade	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)	Gr1 1 Gr2 5 Gr3 2	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 (4-55)	Gr3 4 Gr4 4
IFO/VP CDDP/ADM	8	50 (23-74)	Gr1 3 Gr2 4 Gr3 1	6.4 (4-11)	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 (4-33)	Gr3 1 Gr4 7
IFO/VP	2	55 (49-60)	Gr1 0 Gr2 0 Gr3 2	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

組織亜型別の化学療法スケジュールの検討

当科で、IFM/VP16(IE療法)、IFM/ADR(IA療法)、IFM/VP16とCDDP/DXR交互療法の化学療法が行われた悪性軟部腫瘍進行、局所進行症例数は、JCOG0304症例を含めて、53例。脂肪肉腫16例、MFH、未分化肉腫17例、滑膜肉腫6例、平滑筋肉腫4例、血管肉腫、淡明細胞肉腫、骨外性軟骨肉腫各2例、MPNST、線維肉腫、神経芽腫1例の組織亜型であり、各組織型の奏効率は、粘液型脂肪肉腫6/8、脱分化多形型脂肪肉腫2/8さらに長期不変3/8、MFH未分化肉腫6/17、その他平滑筋肉腫、淡明細胞肉腫、MPNST各1例と滑膜肉腫2例で5/20の奏効性が確認された(表3)。

表3. 組織亜型と奏効率

組織型	例数	有効(LN)数
脂肪肉腫粘液型	8	6(1)
脂肪肉腫(脱、多)	8	2(3)
MFH、未分化肉腫	17	6(3)
平滑筋肉腫	4	1
滑膜肉腫	5	2(1)
血管肉腫	2	0(1)
淡明細胞肉腫	2	1
骨外性軟骨肉腫	2	0(1)
悪性末梢神経鞘腫	1	1
線維肉腫	1	0
神経芽腫(副腎)	1	0(1)

LN:長期間NC、MR症例

プロトコール別の結果を見ると、脱分化、多形型脂肪肉腫IE/CAで3例、粘液型脂肪肉腫IA療法1例、IE/CA5例、MFH、未分化肉腫IA3例、IE/CA3例が有効であった(表4、5)。IE療法は、滑膜肉腫2例、平滑筋肉腫、MPNST各1例、淡明細胞肉腫でC/A療法で有効性が確認された。

表4. 脂肪肉腫(括弧内は粘液型)

	PR	MR/NC	PD
IE	0	1	1
IA	1(1)	2(0)	
IE/CA	8(5)	3(2)	

表5. MFH、多形型肉腫

	PR	NC、MR	PD
IE		5	1
IA	3	1	
IE/CA	3	1	
ADTIC		1	1

今後の問題点

- 1) シスプラチンの併用方法
- 2) IEの適応方法(奏効性の高い組織亜型が存在する。MPNST、滑膜肉腫、平滑筋肉腫)
- 3) 初期、導入化学療法に最も有効な治療
- 4) 緩和的目的では、長期コントロールと低副作用が重要
- 5) 有用性は第2相試験による報告に基づいて選択されている。

E. 結論

CDDPは、粘液型脂肪肉腫のみならず、脱分化、多形型脂肪肉腫、MFH、Myxofibrosarcomaにも奏効性を示すことが予測され、淡明細胞肉腫に奏効することが明らかとなった。滑膜肉腫や悪性末梢神経鞘腫では、IFM/VP16併用療法が奏効し、IFMがキーとなる薬剤と考えられた。

F. 健康危険情報

JCOG0304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、GCSF、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

Endo M, Chuman H, et al.: Cyclooxygenase-2 overexpression associated with a poor prognosis in chondrosarcomas. Hum Pathol. 37(4): 471-476, 2006

Ishiguro S, Chuman H, et al.: A Case of Resected Huge Ileocolonic Mesenteric Liposarcoma which Responded to Pre-operative Chemotherapy using Doxorubicin, Cisplatin and Ifosfamide. Jpn J Clin Oncol. 2006 Nov;36(11):735-8. Epub 2006 Sep 25.

Endo M, Chuman H, et al.: Solitary intramuscular myxoma with monostotic fibrous dysplasia as a rare variant of Mazabraud's syndrome. Skeletal Radiol. jn press

Tateishi U, Chuman H, et al.: Primary bone tumours. Imaging of the sterno- costoclavicular region. p207-228, ed. by Anne Grethe Jurik, Springer 2006

Tateishi U, Chuman H, et al.: Other malignant disorders. Imaging of the sterno- costoclavicular region. p229-243, ed. by Anne Grethe Jurik, Springer 2006

中馬広一 悪性軟部腫瘍の化学療法- 現状と実践 - p149-157 整形外科学大系、中山書店 2007

2. 学会発表

Nakatani F, Chuman H, et al.
Surgical management of soft tissue sarcomas of the groin The 13th International Symposium on Limb Salvage (Sep 7-10, 2005, Seoul, Korea)

Endo M, Chuman H, et al.
Concomitant use of vascularized fibular graft and pasteurized autologous bone graft in surgery for bone and soft tissue sarcoma of lower extremity
The 13th International Symposium on Limb Salvage (Sep 7-10, 2005, Seoul, Korea)

Morimoto Y, Chuman H, et al.
Negative pressure dressing systems help management of chronic wound after bone and soft tissue tumor resection
The 13th International Symposium on Limb Salvage (Sep 7-10, 2005, Seoul, Korea)

Yamaguchi U, Chuman H, et al.
Short-term outcome and complications of long fusions for patients with metastatic disease involving the spine
The 13th International Symposium on Limb Salvage (Sep 7-10, 2005, Seoul, Korea)

Kawai A, Chuman H, et al.
Blood loss associated with musculoskeletal tumor surgery The 41st Annual Meeting of American Society of Clinical Oncology (May 13-17, 2005, Orlando, USA)

Nakatani F, Chuman H, et al.
Surgical management of soft tissue sarcomas of the groin The 12th Annual Connective Tissue Oncology Society (Nov. 2-4, 2006, Venice, Italy)

中谷文彦、中馬広一、他
血行再建を行った単径部軟部肉腫の治療成績
第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

川井章、中馬広一、他
原発性仙骨悪性腫瘍の治療成績
第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

小林英介、中馬広一、他
肺転移のない両側副腎転移の診断にPETが有用であった悪性線維性組織球症の1例
第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

森本裕樹、中馬広一、他
骨軟部腫瘍術後における手術部位感染の傾向と対策 第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

小林英介、中馬広一、他
左股関節軟部腫瘍
第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

中山ロバート、中馬広一、他
DNA修復関連遺伝子の多型と悪性骨・軟部腫瘍の易罹患性との関連 第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

遠藤誠、中馬広一、他
粘液／円形細胞型脂肪肉腫に対する化学療法の治療成績 第39回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2006. 7. 6～7 札幌市)

中馬広一
骨・軟部肉腫の化学療法について- ガイドライン
第79回日本整形外科学会 学術総会 (2005. 5. 18～21 東京)

森本裕樹、中馬広一、他
骨肉腫肺転移に対する手術療法の意義
第79回日本整形外科学会 学術総会 (2005. 5. 18～21 東京)

中馬広一
骨軟部悪性腫瘍に対する化学療法の治療成績と今後の展開
第44回日本癌治療学会 総会 (2006. 10. 18～20 東京)

中馬広一

骨転移に対する手術治療の位置付けと今後の展開
第44回日本癌治療学会 総会
(2006.10.18～20 東京)

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 内田 淳正 三重大学医学部整形外科教授

研究要旨 Hypoxia-inducible factor (HIF) は、悪性腫瘍の急速な増殖により引き起こされる腫瘍内低酸素環境での、腫瘍悪性形質の進展に関与していると考えられている。今回、低酸素マーカーである HIF1 α 発現と予後との相関を軟部肉腫において検討した。当科および関連病院において得られた生検もしくは手術時のパラフィン包埋組織に対して免疫組織化学染色を行った。染色の評価は negative、weak、moderate、strong の 4 段階で評価し、Kaplan-Meier 法により生存解析を行い、予後との関係について検討した。対象症例の年齢は 12~85 歳（平均 52.9 歳）、経過観察期間は 5~132 ヶ月（平均 44 ヶ月）で、組織学的な内訳は、Malignant fibrous histiocytoma (MFH) 29 例、滑膜肉腫 12 例、平滑筋肉腫 4 例、Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) 4 例で合計 49 例、うち 7 例は M1 症例であった。

免疫組織化学の染色像は、組織型における一定の傾向は認められず、全体で negative 14 例、weak 9 例、moderate 17 例、strong 9 例であった。Kaplan-Meier 法における 5 年累積生存率は HIF1 α 低発現群 75.4%、高発現群 52.9% であり HIF1 α 高発現群において有意に予後が不良であった。

HIF1 α 高発現群において予後が悪く、予後マーカーとして有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

腫瘍細胞の急速な増殖により固形腫瘍の内部では低酸素状態が生じていると考えられている。近年、低酸素に対する酸素濃度を感知するセンサーとして、Hypoxia-inducible factor (HIF) が同定された。HIF は、酸素分圧の低下により発現する α サブユニットと恒常的に発現している β サブユニットが存在している。通常の状態において、HIF1 α はプロリルヒドロキシラーゼによるリン酸化を受け、同部に von Hippel Lindau 病の原因遺伝子である pVHL が結合することによりプロテアソームにより分解される。しかし、低酸素状態になると HIF1 α はプロリルヒドロキシラーゼによるリン酸化が阻害されると分解が起こらず、核内へと移行し HIF1 β と 2 量体を形成し、転写因子として VEGF など様々な遺伝子に影響を与えると報告されている。そこで、今回われわれは HIF1 α 発現と予後との相関を軟部肉腫において検討した。

B. 研究方法（倫理面の配慮）

当科および関連病院において得られた生検もしくは手術時のパラフィン包埋組織を用いた。対象症例の年齢は 12~85 歳（平均 52.9 歳）、経過観察期間は 5~132 ヶ月（平均 44 ヶ月）であった。組織学

的な内訳は、悪性線維性組織球腫が 29 例、滑膜肉腫 12 例、平滑筋肉腫 4 例、悪性末梢神経鞘腫瘍 4 例で合計 49 例、うち 7 例は初診時 M1 症例であった。HIF-1 α タンパクの発現は、マウスモノクローナル抗 HIF-1 α 抗体 (clone Mab H1 α 67, NB 100-105; Novus Biologicals, Littleton, Colo., USA) を用いた免疫組織化学染色で検討した。その評価法は、子宮頸癌、乳癌など他の癌腫でこれまでに報告されている評価法に準じて行った。核染色の割合を 4 段階に、核染色の濃度を 4 段階にそれぞれスコア化して評価した後、トータルスコアをもちいて negative、weak、moderate、strong の 4 段階で評価した。これを negative、weak の低発現群と moderate、strong の高発現群に分け、Kaplan-Meier 法および logrank test による生存解析、COX 比例ハザードによる相対リスクおよび 95%信頼区間を計算し予後との関係について検討した。

C. 研究結果

各組織型における染色結果は、悪性線維性組織球腫が negative 10 例、weak 5 例、moderate 7 例、strong 7 例で、滑膜肉腫では negative 4 例、weak 2 例、moderate 4 例、strong 2 例、平滑筋肉腫ではそれぞれ weak 1 例、moderate 3 例であった。組織

型における一定の傾向は認められなかった。(Table 1)

Table 1 Expression of HIF-1 α protein in 49 patients with spindle cell sarcoma

Histological diagnosis	Result of immunostaining			
	Negative	Weak	Moderate	Strong
MFH (N=29)	10	5	7	7
Synovial sarcoma (N=12)	4	2	4	2
Leiomyosarcoma (N=4)	0	1	3	0
MPNST (N=4)	0	1	3	0
Total (N=49)	14 (28.6%)	9 (18.4%)	17 (34.7%)	9 (18.4%)

低発現群 (negative/weak : 23 例)、高発現群 (moderate/strong : 26 例) の 2 群に分け、以下の生存解析では M1 症例を除いた低発現群 20 例、高発現群 22 例で計算した。Kaplan-Meier 法における 5 年累積生存率は HIF1 α 低発現群 75.4%、高発現群 52.9% であり HIF1 α 高発現群において有意に予後が不良であった。(Figure 1)

次に年齢、性別、サイズ、深さ、Ki-67 発現、HIF-1 α 発現について、2 群に分け単変量解析を行ったところ、HIF-1 α 発現量のみが予後因子として検出された。さらに、COX 比例ハザードモデルにおける多変量解析をおこなったところ、HIF1 α は 95%信頼区間 1.33~19.88、相対リスクが 5.14 で HIF1 α は独立した予後因子と考えられた。(Table 3)

Table 2. Univariate survival analysis in 42 patients with spindle cell sarcoma

Prognostic factor	No. of the patients	5-year survival rate (%)	p value ¹
Patient's age (years)			
<59	19	73.5	0.055
≥ 60	23	54.4	
Gender			
Male	17	63.7	0.93
Female	25	65.5	
Size (cm)			
<5	9	88.9	0.19
≥ 5	33	59.3	
Depth			
Superficial	7	85.7	0.37
Deep	35	61.7	
Ki-67			
<30%	32	70.9	0.175
$\geq 30\%$	10	42.2	
HIF-1α			
Low	20	75.4	0.029
High	22	52.9	

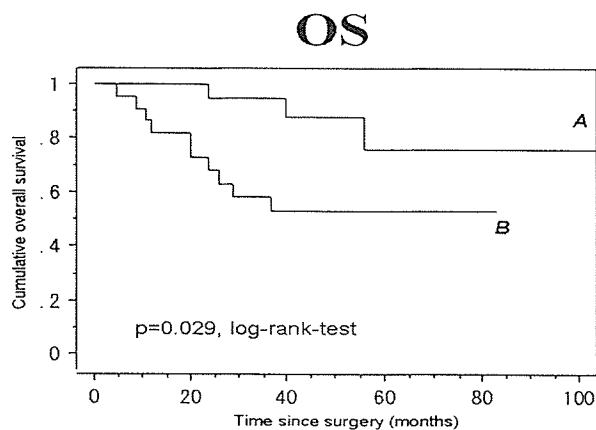
Low means negative/weak; high means moderate/strong

Table 3 Multivariate analysis of overall survival of 42 patients with spindle cell sarcoma

Characteristic	Relative risk	95% confidence interval	P value
Patient's age (years)			
(<59 vs ≥ 60)	-	-	0.080
Tumor size (cm)			
(<5 vs ≥ 5)	-	-	0.188
Ki-67 (%)			
(<30 vs ≥ 30)	-	-	0.456
HIF-1α			
(Low vs High)	5.14	1.33-19.88	0.018

Low means negative/weak; high means moderate/strong

Figure 1 Cumulative overall survival (OS)



The cumulative overall survival (OS) of *A* patients with a negative or weak expression of HIF-1 α , compared with *B* patients with a moderate or strong expression in spindle-cell sarcomas. Kaplan-Meier curves confirmed that the overall survival rates for patients with moderate or strong expression of HIF-1 α were significantly reduced

D. 考察

近年、画像診断法の進歩、外科的手技の改良、化学療法などの進歩により悪性腫瘍の治療成績は向上しつつある。しかしながら、軟部肉腫は、1) 発見時にはすでに病期が進行していることが多いこと 2) 化学療法に抵抗性であること などから、stage IIB 以上の症例の5年生存率は40%に満たない。従ってこれら肉腫の予後決定因子を見いだすことは、臨床上非常に重要である。

HIF1 α 発現は乳癌、子宮頸癌、非小細胞性肺癌などにおいては、予後不良因子として報告されている一方で、大腸がんでは、予後因子として生存率に有意差がなかったとの報告がある。しかし、軟部肉腫におけるHIF1 α 発現の意義についての報告はない。今回の我々の研究で、HIF1 α 発現は軟部肉腫の予後不良因子であることを見いだした。

急速に増大する固形腫瘍内部においては低酸素状態が生じていることが以前より報告されてきた。その発生原因として、1) 酸素需要と供給のアンバランスや腫瘍内の不完全な新生血管により酸素供給効率が悪いこと、2) 腫瘍内の炎症反応などによる微小循環の障害、3) 宿主側の衰弱による貧血、4) 酸素運搬能低下していることなどが考えられる。そして低酸素環境下に置かれた腫瘍細胞では、遺伝子異常の蓄積、嫌気的な解糖系の亢進や血管新生、アポトーシス抵抗性の獲得などにより、悪性形質がさらに進展していくと考えられている。軟部肉腫においても低酸素環境下という腫瘍細胞においては過酷な環境下で増殖出来る腫瘍はHIF-1 α を高発現しているものと考えられた。

E. 結論

軟部肉腫において、HIF1 α 高発現群において予後が悪く、予後マーカーとして有用である可能性が示唆された。

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

Matsubara T, Uchida A, et al. Acridine orange used for photodynamic therapy accumulates in malignant musculoskeletal tumors depending on pH gradient. *Anticancer Res.*26:187-193,2006

Nakazora S, Uchida A, et al. Extraskelatal myxoid chondrosarcoma arising from the clavicle. *Oncol Rep.* 16: 115-118,2006.

Niimi R, Uchida A, et al. Soft-tissue sarcoma mimicking large haematoma: a report of two cases and review of the literature. *J Orthop Sci.*14:90-95,2006.

Matsumine A, Uchida A, et al. Calcium phosphate cement in musculoskeletal tumor surgery. *J Surg Oncol.* 93:212-220,2006.

Shintani K, Uchida A, et al. Expression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α as a biomarker of outcome in soft-tissue sarcomas. *Virchows Arch.*;449:673-81,2006

- Satonaka H, Uchida A, et al.
Extracorporeal Photodynamic Image Detection of Mouse Osteosarcoma in Soft Tissues Utilizing Fluorovisualization Effect of Acridine Orange. *Oncology*.;70:465-473,2007
- Hoki Y, Uchida A, et al. iNOS-dependent DNA damage in patients with malignant fibrous histiocytoma in relation to prognosis. *Cancer Sci*.;98:163-8,2007
- 新美 墨、内田淳正、他
褐色細胞腫様の病理組織像を伴った非定型的脂肪肉腫の1例
骨・関節・靭帯 19(3);253-257,2006
- 松峯昭彦、内田淳正、他
軟部肉腫の遺伝子治療
細胞 38; 20-23,2006
- 楠崎克之、内田淳正、他
ユーイング肉腫の診断のポイント
整形・災害外科 49;1277-1282,2006
- 松峯昭彦、内田淳正、他
軟部腫瘍診断の pitfall
整形・災害外科 49;1283-1288,2006
- 新美 墨、内田淳正、他
悪性顆粒細胞腫の2例
整形・災害外科 49;869-872,2006
- 松峯昭彦、内田淳正
OAの原因遺伝子：アスポリン
リウマチ病セミナー XVII;168-173,2006
- 松峯昭彦、内田淳正
軟部腫瘍の診断—画像診断—
最新整形外科学大系 20;52-56,2007
- 松峯昭彦、内田淳正
骨・軟部腫瘍の治療—良性骨腫瘍の治療—
最新整形外科学大系 20;75-80,2007
2. 学会発表
Matsumine A, Uchida 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(2006 1, Chiang Mai)
- Kusuzaki K Uchida A, et al.
Clinical Outcome of a Novel Photodynamic Therapy Technique Using Acridine Orange for Synovial
6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society(2006 1, Chiang Mai)
- Niimi R Uchida A, et al.
Primary osteosarcoma of the lung
6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (2006 1, Chiang Mai)
- Nakamura T, Uchida A, et al.
Four Cases of Foreign Body Granuloma Needed to Distinguish from Malignant Soft Tissue Tumors
6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society(2006 1,Chiang Mai)
- Nakazora S, Uchida A, et al.
Extraskelatal Myxoid Chondrosarcoma Arising at the Periosteum of the Clavicle
6th Meeting of Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society(2006 1, Chiang Mai)
- Matsumine A, Uchida A, 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(2006 1, Chiang Mai)
- Shintani K, Uchida A, et al.
Decorin supress lung metastases in murine osteosarcoma
52th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006 3, Chicago)
- Asanuma K, Uchida A, et al.
Prevention of bone metastasis by the thrombin inhibitor
52th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2006 3, Chicago)
- Matsumine A, Uchida A, et al.
Calcium Phosphate Cement In Musculoskeletal Tumor Surgery
58th Annual International Congress of the Egyptian Orthopaedic Association (2006 12, Cairo)

- Matsumnie A, Uchida A, et al.
Novel hyperthermia for metastatic bone tumors with magnetic materials by enerating an alternating electromagnetic field
58th Annual International Congress of the Egyptian Orthopaedic Association (2006 12, Cairo)
- 松峯昭彦、内田淳正、他
骨腫瘍切除後に用いた KLS system の早期治療成績
第 106 回中部日本整形外科学会災害外科学会
(2006 年 4 月 大阪)
- 新谷健、内田淳正、他
軟骨肉腫における hypoxia-inducible factor (HIF)-1a 発現と予後の検討
第 106 回中部日本整形外科学会災害外科学会
(2006 年 4 月 大阪)
- 松原孝夫、内田淳正、他
高悪性度軟部肉腫に対する光線および放射線力学療法の治療効果
第 106 回中部日本整形外科学会災害外科学会
(2006 年 4 月 大阪)
- 小畑秀司、内田淳正、他
髄膜播種を来した軟部肉腫の 1 例
第 106 回中部日本整形外科学会災害外科学会
(2006 年 4 月 大阪)
- 松原孝夫、内田淳正、他
アクリジンオレンジ光線力学的療法による骨肉腫の患肢温存療法の試み
第 79 回日本整形外科学会学術集会
(2006 年 5 月 横浜)
- 笠井裕一、内田淳正、他
乳癌と甲状腺癌の転移性脊椎腫瘍例における長期生存例の臨床的特徴第 79 回日本整形外科学会学術集会 (2006 年 5 月 横浜)
- 松峯昭彦、内田淳正、他
針生検にて診断困難であった症例における Jaffe's Triangle の重要性
第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2006 年 7 月 札幌)
- 楠崎克之、内田淳正、他
低侵襲性手術としてのアクリジンオレンジを用いた光線および放射線力学的療法
第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2006 年 7 月 札幌)
- 新美 塁、内田淳正、他
骨軟部腫瘍症例における包括診療導入による診療報酬に対する影響についての検討
第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2006 年 7 月 札幌)
- 松原孝夫、内田淳正、他
悪性骨・軟部肉腫に対するアクリジンオレンジを用いた光線および放射線力学的療法を補助療法とする低侵襲手術 第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2006 年 7 月 札幌)
- 里中東彦、内田淳正、他
悪・軟部肉腫に対するアクリジンオレンジを用いた光線力学的診断の試み 第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2006 年 7 月 札幌)
- 新谷 健、内田淳正、他
マウス骨肉腫に対する Small Leucine-rich Proteoglycan: Decorin の肺転移抑制効果の検討
第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2006 年 7 月 札幌)
- 小畑秀司、内田淳正、他
高 ALP 血症を契機に発見された無症候性播種性骨髄癌症の一例 第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2006 年 7 月 札幌)
- 濱口貴彦、内田淳正、他
臀部に発生した近位型類上皮肉腫の 2 例
第 39 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2006 年 7 月 札幌)
- 松原孝夫、内田淳正、他
脛骨骨髓内浸潤を認めた硬化性類上皮線維肉腫に対しアクリジンオレンジ光線力学療法を施行した 1 例 第 107 回中部日本整形外科学会災害外科学会
(2006 年 10 月 神戸)
- 濱口貴彦、内田淳正、他
上腕骨遠位部転移性骨腫瘍に対する体外交流電磁場発生装置を用いた磁性体温熱療法
第 107 回中部日本整形外科学会災害外科学会
(2006 年 10 月 神戸)