

200717021A

厚生労働科学研究費補助金  
医療技術実用化総合研究事業

高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の  
臨床使用確認試験に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 土屋 弘行

平成20(2008)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カフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験 に関する研究	1
主任研究者 土屋弘行	

### II. 分担研究報告

1. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	15
主任研究者 土屋弘行	
分担研究者 白井寿治	
分担研究者 山内健輔	
分担研究者 全 陽	
2. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	24
分担研究者 帆佐悦男	
3. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	28
分担研究者 家口 尚	
4. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	32
分担研究者 坂山憲史	
5. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	35
分担研究者 田地野崇宏	
6. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	37
分担研究者 折笠秀樹	
7. 高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に 関する研究	40
分担研究者 赤澤宏平	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	43
---------------------	----

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

総括研究報告書

高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に関する研究

主任研究者 土屋 弘行 金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻  
機能再建学講座 准教授

研究要旨：本治療は平成15年12月に高度先進医療に認可され治療を行ってきたが、平成18年10月健康保険法の一部改正により保険外併用療養費を設けるに当たり、従来の高度先進医療については、先進医療に統合した上で、評価療養として保険外併用療養費の対象とすることになった。その際、高度先進医療として定められていた技術のうち、薬事法上の未承認又は適応外使用に該当する薬物又は医療機器を用いたもの（以下、「適応外技術」という。）は、平成19年度末までの経過期間の終了後、先進医療から除外されることとなった。そのため、適応外技術であって、治験等の既存の保険外併用療養の対象とならない医療技術について、保険診療との併用を行うためには、有効性等の一定の要件を満たす医療技術を対象とする「臨床的な使用確認試験」を実施することが必要になり、実施するものである。そこで、本研究は高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験を多施設で実施し、その安全性と有効性を確認するものである。本年度は、各施設のIRBの承認を得て研究を開始する準備を行い、さらに第一回の研究実行委員会を開催し研究の詳細を確認した。そこで、対象集団を、四肢に発生した遠隔転移のない高悪性度骨軟部腫瘍から、体幹と後腹膜発生と初診時転移のある症例も含める方針とした。本年度に研究代表機関である金沢大学医学部附属病院整形外科にて治療した骨腫瘍6例と軟部腫瘍2例を登録し、さらに大阪市立大学から骨腫瘍1例の登録が行われた。今後の年次計画としては、平成20年度は症例集積、モニタリング、中間解析、平成21年度は、登録完遂、結果解析を予定している。

分担研究者

愛媛大学医学附属病院  
整形外科・講師

1. 白井 寿治  
金沢大学大学院医学系研究科  
整形外科・助教
2. 山内 健輔  
金沢大学医学部附属病院  
整形外科・助教
3. 全 陽  
金沢大学医学部附属病院  
病理部・臨床教授
4. 田地野崇宏  
福島県立医科大学附属病院  
整形外科・講師
5. 家口 尚  
大阪市立大学医学部附属病院  
整形外科・助教
6. 帖佐悦男  
宮崎大学医学部附属病院  
整形外科・主任教授
7. 坂山 憲史

8. 折笠 秀樹  
富山大学大学院医学薬学研究部  
バイオ統計学臨床疫学・教授
9. 赤澤 宏平  
新潟大学医歯学総合病院  
医療情報部・教授

A. 研究目的

高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の有効性と安全性を多施設共同研究により確認し、本治療の先進医療としての存続と治療の標準化を目指すことを目的とする。

1. 本研究の必要性

高悪性度骨軟部腫瘍に対して有効とされる薬剤は限られており（アドリアマイシン、イホマイド、シスプラチン、メソトレキセート）、現在はこれらの薬剤を組み合わせた治療が試みられているが、5年生存率は骨腫瘍で約70%（Cancer 2006;106:1154-61）、軟部腫瘍で約60%（Ann Surg 2004;240:686-95）と概ね頭打ちであり、新たな治療が必要である。カフェイン

は、DNA修復阻害作用があり、種々の抗癌剤の作用を増強することから、カフェインを併用した抗癌剤の投与により治療効果が高まることが期待され、金沢大学では1989年より臨床応用している。

期待される成果は①生存率の向上、②患肢機能の温存である。治療効果が向上すれば生存率の改善のみならず縮小手術（周囲の神経や血管などの正常組織を可能な限り温存する）により患肢機能の温存が可能となる。

## 2. 本研究の特色

カフェインの抗腫瘍効果については、種々の実験的な報告より抗癌剤により損傷したDNAの修復を阻害し細胞周期を回転させることで細胞をapoptosisに導くことが示されている。臨床的には膀胱癌に対してカフェイン併用化学療法の実験的報告がされている（Am J Clin Oncol 2003;26:543-9）。また我々は当初悪性骨軟部腫瘍と診断された癌腫に対してカフェイン併用化学療法を施行し、効果が得られた経験がある（Anticancer Res 2005;25:2399-405）。このように他の癌腫に本治療が応用できる可能性も秘めている。今回骨軟部腫瘍に対する本治療の有効性・安全性を多施設共同研究で確立することは、非常に独創的かつ先進的である。

## 3. 分子生物学的解析

本治療をさらに進化させるためには分子生物学的的手法によるカフェインを含めた骨軟部腫瘍の基礎的な研究も重要である。そこで、基礎実験として、以下の検討を行った。

- ①cDNAマクロアレイを用いた骨肉腫細胞株におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺伝子の発現解析
- ②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポソームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究

## B. 研究方法

【研究形式】多施設共同で行う第Ⅱ相臨床試験であり、Primary endpointは術前化学療法の奏効割合、Secondary endpointは2年無増悪生存割合、無病生存期間、全生存期間、有害事象発生割合である。

【研究対象】1. 生検により病理学的診断された悪性骨腫瘍（骨肉腫、悪性線維性組織球腫）と悪性軟部腫瘍（非円形細胞軟部肉腫：悪性線維性組織球腫、線維肉腫、平滑筋肉腫、滑膜肉腫、脂肪肉腫、多形横紋筋肉腫、未分化

肉腫）、2. 組織学的悪性度がFNCLCC (French Federation of Cancer Center) systemのGrade 2-3、3. Performance Statusが(ECOG)が0-1、4. 本試験への参加について患者本人（患者が未成年の場合は保護者）から文書による同意が得られている。

【症例登録】データセンターによる中央登録後に治療を開始する。

【術前化学療法】CDDP(120mg/m<sup>2</sup>/日×1日) + ADM (30mg/m<sup>2</sup>/日×2日) + CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) を1コースとする。3週間ごとに同コースを繰り返し行い、3コース終了後に画像評価をする。有効であれば、同じレジメンで更に2コース施行する。無効であれば、IFO (3g/m<sup>2</sup>/日×3日) + VP16 (60mg/m<sup>2</sup>/日×3日) + CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日)に変更し2コース施行する。

【手術療法】術前化学療法終了後、4週以内に手術を施行する。

【術後化学療法】骨腫瘍：術前化学療法が有効であれば、術前のレジメンと交互にMTX (12g/m<sup>2</sup>/日×1日) + VCR (1.5mg/m<sup>2</sup>/日×1日) をそれぞれ3コース行う。無効であればIFO (3g/m<sup>2</sup>/日×3日) + VP16 (60mg/m<sup>2</sup>/日×3日) + CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) とMTX (12g/m<sup>2</sup>/日×1日) + VCR (1.5mg/m<sup>2</sup>/日×1日) のレジメンと交互にそれぞれ3コース行う。軟部腫瘍：術前化学療法が有効であれば、術前のレジメン3コースの後にCDDP(120mg/m<sup>2</sup>/日×1日) + CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) を3コース行う。無効であればIFO (3g/m<sup>2</sup>/日×3日) + VP16 (60mg/m<sup>2</sup>/日×3日) + CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) を6コース行う。

【予定症例数】有害事象/有害反応の評価にはCTCAE v3.0 日本語訳JCOG/JSCO版を用いる。重篤な有害事象ならびに有効率の評価に必要な症例数を、検定に一標本検定の二項検定（帰無仮説H<sub>0</sub>: P=π<sub>0</sub>、対立仮説H<sub>1</sub>: P=πとした場合）で行うと、有害事象についてはπ<sub>0</sub>=0.10、π=0.30（合併症の予測値を10%とし、30%以上なら試験中止）とした場合、α=0.05、β=0.20でn=30となる。一方、有効率については、骨腫瘍をπ<sub>0</sub>=0.50、π=0.70とすると、α=0.05、β=0.20とすると、n=44となる。軟部腫瘍をπ<sub>0</sub>=0.30、π=0.50とすると、α=0.05、β=0.20とすると、n=47となる。よって、本試験では必要症例数のより大きな有効率の評価に必要な症例数である骨腫瘍44例と軟部腫瘍47例に、10%のプロトコール逸脱等を見込んで、予定登録症例数を骨腫瘍50例、軟部腫瘍50例とする。

【年次計画】平成19年度は、各IRBにおける承認を経て、症例登録開始を予定している。平成20年以降は、症例集積と定期モニタリングを実施していく。

(倫理面への配慮)

本試験に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言(日本医師会：<http://www.med.or.jp/wma/>)および臨床研究に関する倫理指針(厚生労働省告示第255号：<http://www.mhlw.go.jp/topics/2003/07/tp0730-2.html>)に従って本試験を実施する。

担当医は患者本人(患者が未成年者の場合は保護者)に施設のIRB承認が得られた説明文書を渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。①病名、病気、推測される予後、②本試験が臨床試験であること、③治療内容、④本試験により期待される効果、⑤予測される有害事象、合併症、後遺症とその対処法：「予期されない有害事象」が生じた場合、被験者ならびにその家族に可能な限り客観的かつ正確な情報を提供するとともに、医学的に最善と考えられる対処を行う。以後の院内における報告ならびに対処は、各施設の医療安全規定、有害事象報告規定に従う。「重篤な有害事象」については48時間以内に、「予期されない有害事象」については14日以内に研究事務局または研究代表者へ報告し、グループとしての対処を検討する。⑥費用と補償：治療にかかる費用は、カフェイン以外は保険でまかなわれる。カフェインの薬剤費、血中濃度の測定に掛かる費用は、先進医療に準じて被験者本人に請求する。健康被害が生じた場合の補償は一般診療での対処に準ずる。⑦代替治療法：現在の一般的治療法の内容(カフェインを併用しない化学療法)、効果、毒性など、それらを選択した場合の利益と不利益。⑧試験に参加することで患者や予想される利益と可能性のある不利益、⑨病歴の直接閲覧について：「精度管理のため他施設の医療関係者が施設長の許可を得て病歴等を直接閲覧すること」など監査の受け入れに関する説明、⑩同意拒否と同意撤回：試験に対する同意拒否が自由であることや、一旦同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと、⑪人権保護：氏名や個人情報等は守秘されるために最大限の努力が払われること、⑫データの二次利用：研究会が承認した場合に限り、個人識別情報とリンクしない形でデータを二次利用する可

能性があること、⑬質問の自由：担当医の連絡先だけでなく、施設の研究責任者、試験の研究代表者の連絡先を文書で知らせ、試験の治療内容について自由に質問できること。

【分子生物学的解析】

①cDNAマクロアレイを用いた骨肉腫細胞株におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺伝子の発現解析

【実験1】ヒト骨肉腫培養細胞株であるHOS、SaOS2、MG63、OSTおよびシスプラチン耐性株であるOST/Rを用いた。各細胞株の増殖期にシスプラチンを1時間添加後にカフェインを72時間添加し、WST-1アッセイを用いてシスプラチン感受性およびカフェイン併用による殺細胞効果増強作用を検討した。

【実験2】タイプAよりHOSを、タイプBよりOSTを選択し、シスプラチンを1時間添加後にカフェインを48時間添加させた(併用群)。対照はシスプラチン添加後にカフェインを添加させない群とした(非併用群)。この時点で各々の群よりRNAを抽出し、cDNAマクロアレイ法を用いて1176個のヒト癌関連遺伝子(ATLAS Human Cancer 1.2 cDNA Expression Arrays; CLONTECH社)の発現変化について解析した。非併用群と比べ併用群で3倍以上の発現変化を認めた遺伝子をリストアップした。これらの遺伝子のうちOSTにおいてのみ発現変化がみられ、かつカフェインの相乗効果について矛盾しない5遺伝子を選択し、リアルタイムRT-PCRで検証した。定量解析ではOST/Rを対照とし、薬剤添加前、シスプラチン添加後1時間およびカフェイン添加後24、48時間での発現について経時的に検討した。

②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポソームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究

【実験】シスプラチン封入PEG修飾リポソーム(以下、CDDP-L)を作成した。また、動物は、7週齢、体重150~200gのFischer系雄性ラットを用い、細胞としてラット骨肉腫細胞SOSN2を使用した。まず、SOSN2に対するシスプラチンの抗腫瘍効果とカフェインによる増強効果に関する実験を行った。次いで、ラットにおけるCDDP-Lの血中滞留性、SOSN2に対する腫瘍集積性および抗腫瘍効果について検討した。最後にカフェインによるCDDP-Lの抗腫瘍効果増強作用および投与スケジュールによる変化に関して検討した。

### C. 研究結果

本年度は、本研究が厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）として採用されてからすぐに、研究開始の準備を行った。具体的には、実施計画書を作成し第一回の研究実行委員会を開催した。そのときに、以下の点を確認、訂正した。①対象年齢を、5歳から75歳までとする（原案では、Federation of Cancer Center） systemのGrade 2-3、3. Performance Status が（ECOG）が0-1に基づいて判断としていた）。②対象症例の腫瘍占拠部位を四肢のみから、四肢、体幹、後腹膜に変更。手術での切除縁の確保のしづらさなどから四肢のみとしていたが、これまでの治療経験から薬剤の有効性には差がないことなどから、プライマリーエンドポイントの解析には影響しないとの判断より。③対象症例の病期を、Stage III:T2bN0M0(AJCC 6th edition: American Joint Committee on Cancer)までからStage IVまでとすることに。すなわち、初診時に転移を伴う症例でもプライマリーエンドポイントには影響しないとの判断から。④アドリマイシンの投与速度を24時間から1時間以上に変更（施設によっては末梢静脈からの投与となるため静脈炎を防ぐため）。⑤イホマイドの投与速度を1時間から3時間へ変更（症例によっては頭痛などの軽度な副作用を生じることがあるため）。⑥イホマイド投与時のカフェインの投与をイホマイドと同時に開始からイホマイド投与終了後から開始に変更（イホマイドの投与速度が遅くなったことより、イホマイドが作用し始めるまでの時間を待ったほうが良いとの判断にて）。⑦術前化学療法の回数を5コースから3～5コースに変更（プロトコルの逸脱を最小限にするため。またこれまでの治療経験から化学療法が有効な症例では3コースでも、十分効果が得られているため）。⑧術後の化学療法の回数を6回から原則3コース以上に変更（プロトコルの逸脱を最小限とするため）。⑨治療経過中のカフェイン血中濃度の結果から、72時間値の目標が60～80 $\mu$ g/mlであるが、48時間値から、72時間値がこの値を大きく下回ることが予想されるときは、カフェインを増量することが可能と追記することとした。⑩病理診断は中央判定を行うが、その際未染標本10枚を送付としていたが原則10枚送付に変更した（標本の状態によっては10枚作成できない場合があるため）。また、標本の送付時に各施設の病理医の診断を添付することを追記した。以上

を、第一回の研究実行委員会で決定した。また、本試験をUMIN（大学病院医療情報ネットワーク）に、臨床試験として登録を行った（UMIN000001094）。今後は、参加施設を募る予定である。

研究代表機関である金沢大学医学付属病院整形外科では、本治療が平成15年12月に高度先進医療に認可されてから平成18年度末までに、悪性骨腫瘍23例、悪性軟部腫瘍19例を治療しており、それらは本研究に登録しているが、平成19年度には新たに悪性骨腫瘍6例（全例骨肉腫）、軟部腫瘍2例（平滑筋肉腫：1例、横紋筋肉腫：1例）を治療しており、それらを登録することとした。それらの結果は、画像有効率：骨腫瘍6/6（100%）、軟部腫瘍2/2（100%）、組織学的有効率：骨腫瘍4/6（67%）、軟部腫瘍1/1（100%：横紋筋肉腫の1例は解析中）で、有害事象は、Grade 4の有害事象は1例もみとめなかった。さらに、第一回実行委員会終了後に、分担研究グループより骨腫瘍1例、軟部腫瘍2例の登録が行われた。今後の年次計画としては、平成20年度は症例集積、モニタリング、中間解析、平成21年度は、登録完遂、結果解析を予定している。

#### 【分子生物学的解析】

①cDNAマクロアレイを用いた骨肉腫細胞株におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺伝子の発現解析

【結果1】シスプラチン感受性およびカフェイン併用効果のパターンから、3グループに分類できた。タイプA（HOS, SaOS2）はシスプラチン感受性が高く、カフェイン併用による殺細胞効果の増強は有意には認めなかった。タイプB（OST, MG63）はシスプラチン感受性が低いが、カフェイン併用による殺細胞効果の増強を有意に認めた。タイプC（OST/R）はシスプラチン耐性であり、カフェイン併用による殺細胞効果も認めなかった。

【結果2】アレイの結果、ヒト癌関連遺伝子のうちOSTにおいて併用群で8遺伝子に発現比の上昇を、4遺伝子に低下を認めた。これらの遺伝子はHOSにおいて変化は認めなかった。OSTで発現比が上昇したアポトーシス誘導関連遺伝子のGADD153(DNA-damage-inducible transcript 3)およびE1AF(Ets variant gene 4)では、いずれもカフェイン添加後24および48時間において併用群で有意に発現が亢進されることを確認した。一方OST/RではGADD153についてはカフェイン添加による発現変化はみられず、E1AFについては48時間においての

み併用群で発現が亢進された。OSTでアレイの発現比が低下したアポトーシス抵抗関連遺伝子のLEU13(interferon induced transmembrane protein 1, IFITM1)およびIFI27(interferon, alpha-inducible protein 27)についてはカフェイン添加後48時間において併用群で発現が有意に抑制されることを確認した。一方OST/Rではいずれも併用群で発現の亢進を認めた。G1P3(interferon, alpha-inducible protein, IFI-6-16)について有意差は認めなかったが、OSTでは併用群で発現が抑制される傾向であった。

②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポゾームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究

【結果】SOSN2に対しシスプラチンは高い感受性を認め、カフェインによる作用の増強効果を認めた。CDDP-Lを用いた実験では、ラットへのCDDP-L投与群において、シスプラチン投与群よりも有意に良好なプラチナの血中滞留性を認めた。SOSN2移植ラットでは、CDDP-L投与群における腫瘍内プラチナ濃度がシスプラチン投与群よりも有意に高いことがわかった。また、蛍光色素である fluoresceinをPEGリポゾーム内に封入したfluorescein-Lを投与し、リポゾームの腫瘍への集積性が可視的にも証明された。CDDP-L投与群での腫瘍サイズは、コントロール群に比して有意な増殖抑制を認めた。しかし、シスプラチン投与群との有意な差はなかった。カフェインによるCDDP-Lの増強効果に関する実験では、CDDP-L投与後にカフェインを7日間投与した群で、シスプラチン投与後にカフェインを3日間投与した群と7日間投与した群に比して有意な抗腫瘍効果を認めた。

#### D. 考察

本研究は、高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の安全性と有効性を多施設共同研究で確認することを目的としている。最終的には、本治療の先進医療としての存続と治療の標準化を目指すものである。悪性骨軟部腫瘍の治療は、1970年代の化学療法の導入によって飛躍的に向上している。特に骨肉腫においては、化学療法導入以前は5年生存率が10%前後であったのが、化学療法の導入によって50~70%程度まで改善している。これまでの研究によって、数種類の抗癌剤を組み合わせ投与する多剤併用化学療法が、単剤投与よりも有効であることは示されているが、

治療成績は、5年生存率は骨腫瘍で約70%(Cancer 2006;106:1154-61)、軟部腫瘍で約60% (Ann Surg 2004;240:686-95) と概ね頭打ちであり、新たな治療が必要である。カフェインは、DNA修復阻害作用があり、種々の抗癌剤の作用を増強することから、カフェインを併用した抗癌剤の投与により治療効果が高まることが期待され、金沢大学では1989年より臨床応用している。1989年より本治療を高悪性度骨軟部腫瘍に臨床応用し、金沢大学で1989年から2006年までに、89例の骨肉腫に対して施行し局所有効率は90% (以前の治療では20~40%)、5年生存率は90% (以前は約50%)と著しい改善を認めた。また、軟部肉腫は90例に対する局所有効率は70%であった(従来法では20%以下)。これらは、文献的に報告されている他のレジメの治療よりも、良好な成績である。またカフェインを併用した化学療法以外の疾患での報告には、膵癌に対してカフェイン併用化学療法の臨床試験の報告がされている(Am J Clin Oncol 2003;26:543-9)。また我々は当初悪性骨軟部腫瘍と診断された癌腫に対してカフェイン併用化学療法を施行し、効果が得られた経験がある(Anticancer Res 2005;25:2399-405)。このように他の癌腫に本治療が応用できる可能性も秘めている。さらに、本治療により治療効果が向上すれば生存率の向上が期待されるのはもちろんであるが、患肢の機能向上にも貢献できることが期待される。悪性骨軟部腫瘍の手術では広範切除(腫瘍周囲の筋肉や神経を犠牲にし、場合によっては切断術を要する)が一般的で、術後の患肢機能が損なわれれば日常生活に大きな支障をきたし福祉による補助も必要になる。また、骨腫瘍の広範切除後の再建には高価な腫瘍用人工関節を要することも多い。本治療により腫瘍が著明に縮小すれば、縮小手術(周囲の神経や血管などの正常組織を可能な限り温存する)と骨延長術や腫瘍骨液体窒素処理後移植術(H16年11月先進医療承認)などにより高価な腫瘍用人工関節の使用を回避することや患肢機能の温存が可能となる。以上より、本治療が医療費の削減と医療の質の向上に貢献するものと考ええる。今回、骨軟部腫瘍に対する本治療の有効性・安全性を多施設共同研究で確立することは、非常に独創的かつ先進的であると考ええる。

また、分子生物学的解析を用いた、①cDNAマクロアレイを用いた骨肉腫細胞株におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺

伝子の発現解析では、カフェインの相乗効果への関与が示唆される遺伝子をリストアップすることができ、このうちアポトーシス誘導関連遺伝子のGADD153発現亢進およびアポトーシス抵抗関連遺伝子のLEU13およびIFI27の発現抑制が、抗癌剤の殺細胞作用の促進に関与している可能性が示唆された。これらの3遺伝子はカフェイン併用化学療法への感受性を予測する候補因子になりうると考えられ、またカフェインの作用機序解明に役立つものと考えられた。

②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポソームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究では、シスプラチンをリポソームに封入することでより高濃度の抗癌剤を腫瘍組織内に投与することが可能となり、それに応じてカフェインの投与法を工夫することで、より高い抗腫瘍効果を得ることができた。臨床応用可能となれば、現在よりも良好な治療成績を得ることができると考えられた。

今後もカフェインに関する基礎研究を重ねることで、さらに本治療の有効性・安全性を高めることが可能になるのではないかと考えられる。

#### E. 結論

本研究は、2008年3月末現在試験実施中であり、まだ結論は得られていない。

#### F. 健康危険情報

健康危険情報として該当する事項はない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1 Kawai A, Hosono A, Nakayama R, Matsumine A, Matsumoto S, Ueda T, Tsuchiya H, Beppu Y, Morioka H, Yabe H: Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses: a study of 75 patients. *Cancer* 109: 109-116, 2007.
- 2 Obata H, Ueda T, Kawai A, Ishii T, Ozaki T, Abe S, Tanaka K, Tsuchiya H, Matsumine A, Yabe H: Clinical outcome of patients with Ewing sarcoma family of tumors of bone in Japan: the Japanese Musculoskeletal Oncology Group cooperative study. *Cancer* 109: 767-775, 2007.
- 3 Hayashi K, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Amoh Y, Hoffman RM, Bouvet M: Dual-color imaging of angiogenesis and its inhibition in bone and soft tissue sarcoma. *J Surg Res* 140: 165-170,

2007.

- 4 Ji Y, Hayashi K, Amoh Y, Tsuji K, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Bouvet M, Hoffman RM: The camptothecin derivative CPT-11 inhibits angiogenesis in a dual-color imageable orthotopic metastatic nude mouse model of human colon cancer. *Anticancer Res* 27: 713-718, 2007.
- 5 Murakami H, Kawahara N, Tsuchiya H, Demura S, Yamaguchi T, Tomita K: Invasive features of spinal osteosarcoma obtained from whole-mount sections of total en bloc spondylectomy. *J Orthop Sci* 12: 311-315, 2007.
- 6 Takeuchi A, Yamamoto Y, Tsuneyama K, Cheng C, Yonekura H, Watanabe T, Shimizu K, Tomita K, Yamamoto H, Tsuchiya H: Endogenous secretory receptor for advanced glycation endproducts as a novel prognostic marker in chondrosarcoma. *Cancer* 109: 2532-2540, 2007.
- 7 Gong M, Ueda Y, Kanazawa Y, Tsuchiya H, Ma YG: Association of gene FN1 with pulmonary metastasis of human fibrosarcoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 29: 14-6, 2007.
- 8 Watanabe K, Tsuchiya H, Sakurakichi K, Matsubara H, Tomita K: Double-level correction with the Taylor Spatial Frame for shepherd's crook deformity in fibrous dysplasia. *J Orthop Sci* 12: 390-394, 2007.
- 9 Tsuchiya H, Morsy AF, Matsubara H, Watanabe K, Abdel-Wanis ME, Tomita K: Treatment of benign bone tumours using external fixation. *J Bone Joint Surg* 89B: 1077-1083, 2007.
- 10 Watanabe K, Tsuchiya H, Sakurakichi K, Tomita K: Bone transport using hydroxyapatite loaded with bone morphogenetic protein in rabbits. *J Bone Joint Surg* 89B: 1122-1129, 2007.
- 11 Hayashi K, Jiang P, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Moossa AR, Bouvet M, Hoffman RM: Real-time imaging of tumor-cell shedding and trafficking in lymphatic channels. *Cancer Res* 67: 8223-8228, 2007.
- 12 Watanabe K, Tsuchiya H, Sakurakichi K, Yamashiro T, Matsubara H, Tomita K: Treatment of lower limb deformities and limb-length discrepancies with the external fixator in Ollier's disease. *J Orthop Sci* 12: 471-475, 2007.
- 13 Morsy A, Tsuchiya H, Matsubara H, Kabata T, Tomita K: Ilizarov deformity correction of the lower limbs in Ellis-van Vrevelde syndrome. *J Orthop Sci* 12: 505-509, 2007.



- 14 Yamauchi K, Yang M, Hayashi K, Jiang P, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Moossa AR, Bouvet M, Hoffman RM: Imaging of nuclear dynamics during the cell cycle of cancer cells in live mice. *Cell Cycle* 6: 2706-2708, 2007.
- 15 Taki J, Higuchi T, Sumiya H, Tsuchiya H, Minato H, Tomita K, Tonami N: Prediction of final tumor response to preoperative chemotherapy by Tc-99m MIBI imaging at the middle of chemotherapy in malignant bone and soft tissue tumors: Comparison with Tl-201 imaging. *J Orthop Res* 26: 411-418, 2008.
- 16 Takeuchi A, Tsuchiya H, Yamamoto N, Hayashi K, Yamauchi K, Kawahara M, Miyamoto K, Tomita K: Caffeine-potentiated chemotherapy for patients with high-grade soft tissue sarcoma: long-term clinical outcome. *Anticancer Res* 27: 3489-3496, 2007.
- 17 Matsubara H, Tsuchiya H, Kabata T, Sakurakichi K, Watanabe K, Tomita K: Deformity correction for vitamin D-resistant hypophosphatemic rickets of adults. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007.
- 18 Matsubara H, Tsuchiya H, Kawahara N, Kobayashi T, Morinaga T, Tomita K: Ilizarov external fixator for burst fracture of the lumbar spine: a case report. *J Orthop Surg* 15:380-383, 2007.
- 19 Matsubara H, Tsuchiya H, Takato K, Tomita K: Correction of ankle ankylosis with deformity using the taylor spatial frame: a report of three cases. *Foot Ankle Int* 28:1290-1294, 2007.
- 20 松原秀憲, 土屋弘行, 桜吉啓介, 渡邊孝治, 高戸慶, 富田勝郎: 強直変形した足関節に対し Taylor Spatial Frame を用い変形矯正を行った3例. *関節外科* 26:117-121, 2007.
- 21 松原秀憲, 土屋弘行, 加畑多文, 桜吉啓介, 渡邊孝治, 富田勝郎: 低リン血症性ビタミンD抵抗性くる病による著明な下肢内反変形成人例に対する変形矯正術. *整形外科* 58: 147-152, 2007.
- 22 松原秀憲, 土屋弘行, 桜吉啓介, 山城輝久, 渡邊孝治, 富田勝郎: 関節周辺の変形に対する Taylor Spatial Frame を用いた変形矯正. *日本創外固定・骨延長学会誌* 18: 67-70, 2007.
- 23 松原秀憲, 土屋弘行, 桜吉啓介, 山城輝久, 渡邊孝治, 富田勝郎: 骨延長術における各創外固定器の比較. *日本創外固定・骨延長学会誌* 18: 77-80, 2007.
- 24 渡邊孝治, 土屋弘行, 桜吉啓介, 松原秀憲, 富田勝郎: 骨形成タンパク搭載人工骨による bone transport. *日本創外固定・骨延長学会誌* 18: 126, 2007.
- 25 丹沢義一, 土屋弘行, 山本憲男, 山内健輔, 武内章彦, 富田勝郎: 移植6年後に切除された液体窒素処理骨の組織学的検討. *中部整災誌* 50: 9-10, 2007.
- 26 松原秀憲, 土屋弘行, 高戸慶, 富田勝郎: 原発性骨腫瘍による病的骨折に対する創外固定器を用いた治療. *整・災外* 50: 361-365, 2007.
- 27 松原秀憲, 土屋弘行, 山本憲男, 山内健輔, 武内章彦, 富田勝郎: 手術加療を要した原発性骨腫瘍による四肢長管骨病的骨折症例の検討. *中部整災誌* 50: 521-522, 2007.
- 28 高田宗知, 土屋弘行, 山本憲男, 山内健輔, 武内章彦, 富田勝郎: 骨腫瘍の搔爬後におけるリン酸カルシウム骨ペーストの使用経験. *中部整災誌* 50: 625-626, 2007.
- 29 丹沢義一, 土屋弘行, 山本憲男, 山内健輔, 武内章彦, 富田勝郎: 悪性骨腫瘍に対する有茎液体窒素処理自家骨による再建術の検討. *中部整災誌* 50: 703-704, 2007.
- 30 山本憲男, 土屋弘行, 山内健輔, 丹沢義一, 富田勝郎: 筋切離時における LigaSure Atlas™ の有用性. *中部整災誌* 50: 705-706, 2007.
- 31 高木泰孝, 山田泰士, 那須渉, 中村真二, 影近謙治, 土屋弘行: Taylor spatial frame の使用経験. *中部整災誌* 50:1045-1046, 2007.
- 32 高戸慶, 土屋弘行, 松原秀憲, 高田宗知, 富田勝郎: Taylor spatial frame を用いた下肢長幹骨回旋変形の治療経験. *中部整災誌* 50:1047-1048, 2007.
- 33 松原秀憲, 土屋弘行, 高戸慶, 富田勝郎: 小児に対する Taylor Spatial Frame による治療. *中部整災誌* 50:1049-1050, 2007.
- 34 山内健輔, 土屋弘行, 山本憲男, 丹沢義一, 武内章彦, 富田勝郎: 下肢悪性軟部腫瘍に対する神経温存と腫瘍再発についての検討. *中部整災誌* 50:1121-1122, 2007.
- 35 西田英司, 土屋弘行: セファランチン内服中に消失した腫瘍型筋サルコイドーシスの1例. *中部整災誌* 50:1133-1134,

- 2007.
- 36 高木泰孝, 山田泰士, 影近謙治, 土屋弘行: 高齢者の下腿感染性偽関節に対して Ilizarov 創外固定器を用いて治療した1例. 日本創外固定・骨延長学会雑誌 18: 7-11, 2007.
  - 37 帖佐悦男 股関節疾患の画像診断 整形外科, 58203-215(2007)
  - 38 帖佐悦男 徒手筋力テストの実際 整形外科, 3030-33(2007)
  - 39 帖佐悦男, 山本恵太郎, 河原勝博, 園田典生 エビデンスに基づいたアキレス腱断裂の診断手順 臨床スポーツ医学, 241 057-1064(2007)
  - 40 高村徳人, 徳永仁, 帖佐悦男, 川井恵一, 藤田健一 薬剤師に必要なタンパク結合置換術(総説), 有森和彦薬学雑誌(0031-69 03)127巻11号 Page1805-1811(2007.11)
  - 41 福田一, 帖佐悦男, 久保紳一郎, 黒木浩史, 花堂祥治, 濱中秀昭, 桐谷力, 黒木修司, 甲斐糸乃, 河野勇泰喜, 菅田耕 MRIにて腫瘍性病変が疑われた胸腰椎圧迫骨折の一例 整形外科と災害外科(0037-1033) 56巻3号 Page394-398(2007.09)
  - 42 菅田耕, 久保紳一郎, 黒木浩史, 花堂祥治, 濱中秀昭, 上通一師, 桐谷力, 黒木修司, 甲斐糸乃, 福田一, 河野勇泰喜, 帖佐悦男, 佛坂正幸 直腸肛門内圧測定が予後予測に有用であった仙骨骨折の1例 整形外科と災害外科(0037-1033)56巻3号 Page357-361(2007.09)
  - 43 石田康行, 帖佐悦男, 矢野浩明, 山本恵太郎, 河原勝博, 田島卓也, 小牧ゆか, 樋口誠二, 酒井健, 海田博志 肩関節脱臼後に腋窩神経麻痺を伴った腱板広範囲断裂の治療経験 整形外科と災害外科(0037-1 033)56巻4号 Page525-528(2007.09)
  - 44 帖佐悦男, 山本恵太郎, 河原勝博, 園田典生 アスリーートのアキレス腱断裂をめぐる エビデンスに基づいたアキレス腱断裂の診断手順 臨床スポーツ医学(0289 -3339)24巻10号 Page1057-1064(2007.10)
  - 45 鳥取部光司, 帖佐悦男 整形外科的基本技術 処置編 徒手骨折整復法 Journal of Clinical Rehabilitation(0918-5259)16 巻8号 Page734-737(2007.08)
  - 46 桐谷力, 久保紳一郎, 黒木浩史, 濱中秀昭, 花堂祥治, 甲斐糸乃, 帖佐悦男 腰部脊柱管狭窄症に対する顕微鏡視下拡大開窓術の術後成績 西日本脊椎研究会誌(0287 -1092)33巻2号 Page158-162(2007.06)
  - 47 久保紳一郎, 黒木浩史, 花堂祥治, 桐谷力, 黒木修司, 帖佐悦男 椎弓根スクリューを用いた頸椎後方固定術の経験 西日本脊椎研究会誌(0287-1092)33巻1号 Page65-70(2007.06)
  - 48 濱中秀昭, 久保紳一郎, 黒木浩史, 花堂祥治, 桐谷力, 黒木修司, 帖佐悦男 棘突起縦割式脊柱管拡大術の術後成績とHAスパーサーの改良 西日本脊椎研究会誌(02 87-1092)33巻1号 Page29-34(2007.06)
  - 49 中村嘉宏, 帖佐悦男, 山本恵太郎, 河原勝博, 田島卓也, 吉川大輔, 吉川教恵 ラグビー競技における宮崎大学式大会安全度評価について ラグビー現場におけるAEDの必要性も含め 九州・山口スポーツ医・科研究会誌(1345-8736)19巻 Page144-149(2007.06) 1 4) 吉川大輔, 帖佐悦男, 山本恵太郎, 濱中秀昭, 河原勝博, 田島卓也, 中村嘉宏, 黒木修司 ラグビー競技中に四肢不全麻痺を呈した1例 九州・山口スポーツ医・科研究会誌(1345-8736)19 巻 Page138-143(2007.06)
  - 50 河野勇泰喜, 帖佐悦男, 山本恵太郎, 河原勝博, 田島卓也, 中村嘉宏, 吉川大輔 医学部ラグビー部員引退後の頸椎変化 九州・山口スポーツ医・科研究会誌(1345-8 736)19巻 Page133-137(2007.06)
  - 51 Taguchi S, Namikawa T, Ieguchi M, Takaoka K. Reconstruction of bone defects using rhBMP-2-coated devitalized bone. Clin Orthop Relat Res 461:162-9:2007.
  - 52 星学, 家口尚, 田口晋, 井上郁里, 中田信昭, 高岡邦夫. 骨軟部腫瘍を疑われて紹介受診した3例の骨関節結核 東日本整災会誌 19: 466-470 2007.
  - 53 田口晋, 家口尚, 星学, 佐々木康介, 井上郁里, 高岡邦夫 MRIにて特徴的な画像所見を来たした筋サルコイドーシスの3例 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 50: 1131-1132: 2007.
  - 54 星学, 家口尚, 田口晋, 高見勝次, 青野勝成, 高岡邦夫自然退縮した類骨骨腫の1例 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 50 :1123-1124 : 2007.
  - 55 星学, 家口尚, 田口晋, 佐々木康介, 若狭研一, 高岡邦夫 下肢に発生した顆粒細胞腫の1例 臨整外 42: 825-830: 2007.
  - 56 Kenshi Sakayama, Yoshifumi Sugawara, T eruki Kidani, Taketsugu Fujibuchi, George Miyawaki, Junichi Aizawa, Setsuya Kam ei, Haruyasu Yamamoto : Diagnostic and therapeutic problems of giant cell tumor i n the proximal femur. Arch Orthop Trau ma Surg. 2007 Dec;127(10):867-72.
  - 57 Kenshi Sakayama, Naohiko Mashima, Ter uki Kidani, Tatsuhiko Miyazaki, Haruyasu

- Yamamoto, Hiroshi Masuno : Effect of cortisol on cell proliferation and the expression of lipoprotein lipase and vascular endothelial growth factor in human osteosarcoma cell line. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008 Mar;61(3):471-9.
- 58 Tetsuhiro Ikeda, Akiko Yamaguchi, Kenji Shimamoto, Nozomu Tanji, Masayoshi Yokoyama, Kenshi Sakayama : Infectious spondylitis secondary to transurethral resection of bladder tumor. *Nishinippon J. Urol* 69, 439-442 (2007)
- 59 Kenshi Sakayama, Haruyasu Yamamoto : Case report : Hip fracture in a 104 year old patient who has lived to be 110 years old. *Injury Extra* 38, 312-313 (2007)
- 60 Makoto Kajihara, Yoshifumi Sugawara, Kenshi Sakayama, Keiichi Kikuchi, Teruhito Mochizuki, Kenya Murase : Evaluation of tumor blood flow in musculoskeletal lesions: dynamic contrast-enhanced MR imaging and its possibility when monitoring the response to preoperative chemotherapy - work in progress. *Radiat Med* 25, 94-105 (2007)
- 61 Akira Kawai, Ako Hosono, Robert Nakayama, Akihiko Matsumoto, Seiichi Matsumoto, Takafumi Ueda, Hiroyuki Tsuchiya, Yasuo Beppu, Hideo Morioka, Hiroo Yabe, the Japanese Musculoskeletal Oncology Group (Kenshi Sakayama, et al.) : Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses. A study of 75 patients. *Cancer* 109, 109-116 (2007)
- 62 Yoshifumi Sugawara, Kenya Murase, Keiichi Kikuchi, Kenshi Sakayama, Tatsuhiko Miyazaki, Makoto Kajihara, Hitoshi Miki, Teruhito Mochizuki : Measurement of tumor blood flow using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging and deconvolution analysis: A preliminary study in musculoskeletal tumors. *J Comput Assist Tomogr* 30, 983-990 (2007)
- 63 Hakozaki, M., Hojo, H., Tajino, T., Yamada, H., Kikuta, A., Ito, M., Sano, H., Mochizuki, K., Akaihata, M., Kikuchi, S., Abe, M. Periosteal Ewing sarcoma family of tumors of the femur confirmed by molecular detection of EWS-FL11 fusion gene transcripts: A case report and review of the literature *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 29 (8), pp. 561-565, 2007.
- 64 Okada, K., Hasegawa, T., Tajino, T., Hotta, T., Yanagisawa, M., Osanai, T., Nishida, J., Seki, K., Itoi, E. Clinical relevance of pathological grades of malignant peripheral nerve sheath tumor: A multi-institution TMTS study of 56 cases in northern Japan. *Annals of Surgical Oncology* 14 (2), 597-604, 2007.
- 65 Nishida, J., Morita, T., Ogose, A., Okada, K., Kakizaki, H., Tajino, T., Hatori, M., Orui, H., Ehara, S., Satoh, T., Shimamura, T. Imaging characteristics of deep-seated lipomatous tumors: Intramuscular lipoma, intermuscular lipoma, and lipoma-like liposarcoma. *Journal of Orthopaedic Science* 12 (6), 533-541, 2007.
- 66 田地野崇宏, 菊地臣一, 紺野慎一, 山田仁, 武田明 : イホスファミド脳症に対するメチレンブルーの治療的・予防的効果 骨軟部肉腫に対する化学療法での検討. *臨床整形外科* 42(2): 107-114, 2007.
- 67 田地野崇宏: X線診断 Q&A 左脛骨 Brodie 膿瘍. *整形外科* 58 (12), 1613-1614, 2007.
- 68 Yokoyama M, Origasa H, et al: Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet*, 369: 1090-1098, 2007.
- 69 The J-MELODIC Program Committee (Origasa H to be a trial statistician): Rationale and design of a randomized trial to assess the effects of diuretics in heart failure - Japanese Multicenter Evaluation of Lung- vs short-acting Diuretics in Congestive heart failure (J-MELODIC). *Circulation Journal*, 71: 1137-1140, 2007.
- 70 Chen X, Origasa H, et al: Reliability and validity of the Pediatric Quality of Life Inventory™ (PedsQL™) short form 15 generic core scales in Japan. *Quality of Life Research*, 16: 1239-1249, 2007.
- 71 折笠秀樹: コホート研究を計画する時に考えるべき統計学的事項 - REACH, J-TRACE, MAGIC スタディの経験を通じて - *日本統計学会誌*, 36(2): 93-101, 2007.
- 72 折笠秀樹: QOL研究のための計量心理学及び統計学の知識. *臨床看護*, 33(12): 1692-1700, 2007.
- 73 Ajiro J, Alchi B, Narita I, Omori K, Kondo D, Sakatsume M, Kazama JJ, Akazawa K, Gejyo F. Mortality predictors after 10 years of dialysis: a prospective study of Japanese hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007 Jul; 2(4):653-60.
- 74 Sakai S, Kobayashi K, Nakamura J, Toyabe S, Akazawa K. Accuracy in the Diagnostic Prediction of Acute Appendicitis Based on the Bayesian Network Model. *Meth*

- ods of information in medicine. 2007 ;46 (6):723-6.
- 75 Hiyama E, Iehara T, Sugimoto T, Fukuzawa M, Hayashi Y, Sasaki F, Sugiyama M, Kondo S, Yoneda A, Yamaoka, H Tajiri T, Akazawa K, Ohtaki M. Effectiveness of screening for neuroblastoma at 6 months of age: a retrospective population-based cohort study. *The Lancet* (in press)
  - 76 Nakamura J, Toyabe SI, Aoyagi Y, Akazawa K. Economic impact of extended treatment with peginterferon alpha-2a and ribavirin for slow hepatitis C virologic responders. *J Viral Hepat*. 2008 Apr;15(4):293-9.
  - 77 Kitamura N, Akazawa K, Toyabe SI, Miyashita A, Kuwano R, Nakamura J. Sample-size properties of a case-control association analysis of multistage SNP studies for identifying disease susceptibility genes. *J Hum Genet*. 2008 Feb 21. [Epub ahead of print]
  - 78 Wakai T, Shirai Y, Tsuchiya Y, Nomura T, Akazawa K, Hatakeyama K. Combined Major Hepatectomy and Pancreaticoduodenectomy for Locally Advanced Biliary Carcinoma: Long-Term Results. *World J Surg*. 2008 Jan 30. [Epub ahead of print]
  - 79 Toyabe S, Mtsuto T, Ushiki T, Akazawa K. Image Database and Image Analysis of Chromosome Information. *Chromosome Nanoscience and Technology*. 2007 :245-57.
  80. Akazawa K, Toyabe S, Sakata N, Murase S, Iguchi S, Kaidu M. Telemedicine and Distance Education in the Medical Field in Japan. *Distance Education Issues and Challenges*. Nova Science Publishers, Inc. 2007: 65-91.
2. 学会発表
1. Takeuchi A, Yamamoto Y, Tsuchiya H, Yamamoto N, Tomita K, Myint KM, Harashima A, Shimizu K, Yamamoto H. Low molecular weight heparin inhibits RAGE-induced human fibrosarcoma cell growth and metastasis. American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) 74<sup>rd</sup> Annual Meeting (San Diego, CA) (2007.2.14-18)
  2. Tsuchiya H, Yamamoto Y, Hayashi K, Nishida H, Takeuchi A, Kanazawa Y, Tanzawa Y, Yamauchi K, Tomita K. Massive autograft containing tumor treated by liquid nitrogen for limb-saving surgery. American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) 74<sup>rd</sup> Annual Meeting (San Diego, CA) (2007.2.14-18)
  3. Takeuchi A, Yamamoto Y, Tsuchiya H, Yamamoto N, Tomita K, Myint KM, Harashima A, Shimizu K, Yamamoto H. Low molecular weight heparin inhibits RAGE-induced human fibrosarcoma cell growth and metastasis. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  4. Takeuchi A, Tsuchiya H, Yamamoto N, Yamauchi K, Watanabe K, Matsubara H, Tanzawa Y, Takato K, Takata M, Tome T, Tomita K. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  5. Tsuchiya H, Takeuchi A, Niu X, Ueda T, Jeon DG, Asavamongkolkul A, Kususaki K, Sakayama K, Tomita K, Kang YK. The fate of the recurrent Giant Cell Tumor of Bone: The East Asia Musculo-skeletal Oncology Group (EAMOG) cooperative study. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  6. Nishida H, Tsuchiya H, Yamamoto N, Hayashi M, Tomita K. Anti-tumor effect of destructive tumor tissue treated by liquid nitrogen on mouse osteosarcoma. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  7. Yamauchi K, Tsuchiya H, Yamamoto N, Tanzawa Y, Tome Y, Tomita K, Hoffman RM. Real-time multicolor imaging of two different micrometastases formations of sarcoma cells in live mice. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  8. Matsubara H, Tsuchiya H, Sakurakichi K, Yamashiro T, Watanabe K, Tomita K. Correction and lengthening for deformities of the forearm in multiple cartilaginous exostoses. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  9. Tanzawa Y, Tsuchiya H, Yamamoto N, Shirai T, Yamauchi K, Takeuchi A, Kimura H, Tome Y, Tomita K. Histological examination of frozen autograft containing tumor treated by liquid nitrogen removed after implantation 6 case study. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  10. Matsubara H, Tsuchiya H, Watanabe K,

- Takeuchi A, Takato K, Tomita K. Gene therapy using Hepatocyte Growth Factor to promote fracture repair in rabbit. 17<sup>th</sup> The Limb Lengthening and Reconstruction Society: ASAMI-North America (Chicago, IL) (2007.7.20-22)
11. Shirai T, Tsuchiya H, Shimizu T, Tomita K. Prevention of pin track infection with Titanium-Copper Alloys: In vitro and in vivo studies using stainless steel as a control. 17<sup>th</sup> The Limb Lengthening and Reconstruction Society: ASAMI-North America (Chicago, IL) (2007.7.20-22)
  12. Shirai T, Tsuchiya H, Shimizu T, Tomita K. Prevention of pin track infection with Titanium-Copper Alloys: In vitro and in vivo studies using stainless steel as a control. 2<sup>nd</sup> World Congress on External Fixation (Cairo, Egypt) (2007.10.17-19)
  13. Takata M, Tsuchiya H, Sakurakichi K, Shirai T, Matsubara H, Takato K, Tomita K. Deformity correction followed by bone transport using frozen autograft for recurrent osteofibrous dysplasia. 2<sup>nd</sup> World Congress on External Fixation (Cairo, Egypt) (2007.10.17-19)
  14. Takata M, Tsuchiya H, Sakurakichi K, Shirai T, Matsubara H, Takato K, Tomita K. Gradual closed correction of equinus contracture using external fixation. 2<sup>nd</sup> World Congress on External Fixation (Cairo, Egypt) (2007.10.17-19)
  15. Takeuchi A, Tsuchiya H, Yamamoto N, Hayashi K, Yamauchi K, Tanzawa Y, Takata M, Tome Y, Tomita K. Long-term follow-up of caffeine-potentiated chemotherapy for high-grade soft tissue sarcoma. 第54回日本整形外科学会学術集会 (神戸) 5月24-27日
  16. 武内章彦, 土屋弘行, 川原範夫, 山本憲男, 村上英樹, 山内健輔, 丹沢義一, 高田宗知, 當銘保則, 富田勝郎. 再発をきたした骨巨細胞腫の治療経過の検討. 第40回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (山梨) 7月12-13日
  17. 丹沢義一, 土屋弘行, 白井寿治, 山内健輔, 武内章彦, 木村浩明, 當銘保則, 富田勝郎. Reconstruction using a pedicle frozen autograft for malignant bone tumor. 第40回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (山梨) 7月12-13日
  18. 西田英司, 土屋弘行, 山本憲男, 富田勝郎. マウス骨肉腫に対する液体窒素処理による抗腫瘍効果の増強. 第40回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (山梨) 7月12-13日
  19. 山内健輔 土屋弘行 山本憲男 ヤン=メン ホフマン=ロバート 富田勝郎. 生きたマウスにおける癌細胞の血管外脱出と微小転移巣の画像解析. Sub-cellular imaging of extravasation and micrometastasis of cancer cells in live mice. 第40回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (山梨) 7月12-13日
  20. Yamauchi K, Yang M, Hayashi K, Jiang P, Xu M, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Moossa AR, Bouvet M, Hoffman RM. Pretreatment with Cyclophosphamide increases intravascular proliferation of HT1080 human fibrosarcoma cells in nude mice. 第66回 日本癌学会 (横浜) 10月3-5日
  21. 武内章彦, 土屋弘行, 山本靖彦, 富田勝郎, 清水克時, 山本 博. 内在性分泌型RAGE (esRAGE) の軟骨肉腫における新たな悪性度判定, 予後予測因子としての有用性. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会 (浜松) 10月25-26日
  22. 松原秀憲, 土屋弘行, 渡邊孝治, 武内章彦, 高戸慶, 富田勝郎. ウサギ骨折モデルに対する肝細胞増殖因子を用いた骨折の遺伝子治療. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会 (浜松) 10月25-26日
  23. 山内健輔 土屋弘行 山本憲男 丹沢一義 武内章彦 當銘保則 富田勝郎. マウス生体内での免疫反応や化学療法における癌細胞死のリアルタイム画像解析. 第22回日本整形外科学会基礎学術集会 (浜松) 10月25-26日
  24. 坂本武郎, 帖佐悦男. 整形外科領域の腫瘍 宮崎市郡癌研究会 (2008年2月25日)
  25. 坂本武郎 帖佐悦男 渡邊信二 関本朝久 濱田浩朗 野崎正太郎 前田和徳 中村嘉宏 船元太郎 MX-2000ステムの検討 MX研究会 (2007年7月21日)
  26. 比嘉 聖, 帖佐悦男, 坂本武郎, 渡邊信二, 関本朝久, 濱田浩朗, 野崎正太郎, 前田和徳, 中村嘉宏, 船元太郎 骨線維性異形成(OFD)に対し巨大骨欠損をβ-TCPのみにて補填した3例 西日本整形・災害外科学会 (2007年6月)
  27. 坂本武郎, 帖佐悦男, 渡邊信二, 関本朝久, 濱田浩朗, 野崎正太郎, 前田和徳, 中村嘉宏, 船元太郎 特発性関節唇骨化症の特徴 第34回日本股関節学会 (2007年10月)

28. 坂本武郎、帖佐悦男、渡邊信二、関本朝久、濱田浩朗 遠位横止め式再置換用システムを用いた人工関節再置換術 第37回日本人工関節学会 (2007年2月)
29. 坂本武郎、帖佐悦男、渡邊信二、関本朝久、濱田浩朗、野崎正太郎、前田和徳、中村嘉宏、船元太郎 股関節の手術的脱臼法(Surgical dislocation of the hip) 西日本整形・災害外科学会 (2007年6月)
30. 関本朝久、帖佐悦男、坂本武郎、渡邊信二、濱田浩朗、野崎正太郎、前田和徳、中村嘉宏、船元太郎 手術療法を施行したペルテス症例の検討 第80回日本整形外科学会学術総会 (2007年5月)
31. 関本朝久、帖佐悦男、坂本武郎、渡邊信二、濱田浩朗、野崎正太郎、前田和徳、中村嘉宏、船元太郎 臼蓋形成不全におけるSNP 解析 第34回日本股関節学会学術集会 (2007年10月)
32. 渡邊信二、帖佐悦男、坂本武郎、関本朝久、濱田浩朗、前田和徳、野崎正太郎、中村嘉宏、船元太郎 股関節前方アプローチ時の神経障害予防法 第34回日本股関節学会 (2007年10月)
33. 渡邊信二、帖佐悦男、坂本武郎、関本朝久、濱田浩朗、野崎正太郎、前田和徳、中村嘉宏、船元太郎、崎濱智美、梅崎哲矢 指趾短縮に対し4か所の指(趾)骨延長を行った一症例 第24回九州小児整形外科集談会 (2008年1月)
34. Makoto Ieguchi, Manabu Hoshi, Susumu Taguchi, Kohsuke Sasaki, Kaori Inoue, Kunio Takaoka Navigation system in bone tumor surgery -Point registration using the skin fiducial marker (2007.8.28-9.1) 5th. SICOT/SIROT Annual International Conference (マラケシュ).
35. Makoto Ieguchi, Manabu Hoshi, Susumu Taguchi, Kohsuke Sasaki, Kaori Inoue, Kunio Takaoka 14th ISOLS (International Society of Limb Salvage) Navigation system in bone tumor surgery -Point registration using the skin fiducial marker-(hamburg 2007.9.12-14).
36. 星学、家口尚、田口晋、高見勝次、青野勝成、高岡邦夫. 自然退縮した類骨骨腫の1例 第108回 中部日本整形外学会 (広島2007.04.13-4)
37. 井上郁里、星学、家口尚、田口晋、高岡邦夫 二相性パターンを呈した脂肪肉腫 第108回中部日本整形外学会 (広島2007.04.13-4)
38. 田口晋、家口尚、星学、佐々木康介、井上郁里、高岡邦夫MRIにて特徴的な画像所見をきたした筋サルコイドーシスの3例 第108回中部日本整形外学会 (広島2007.04.13-4)
39. 井上郁里、星学、家口尚、橋本祐介、金田国一、高岡邦夫 第109回中部日本整形外科災害外科学会 (奈良2007.10.4-5)
40. 安田宏之、家口尚、星学、田口晋、青野勝成、高岡邦夫 自然退縮した脛骨遠位外骨腫の1例 第109回中部日本整形外科災害外科学会 (奈良2007.10.4-5)
41. 星学、田口晋、家口尚、高見勝次、青野勝成、高岡邦夫超音波化学療法によるマウス骨肉腫細胞に対する抗癌剤増強作用 第40回 日本整形外科骨軟部腫瘍学術集会 (山梨2007.07.12-3)
42. 家口尚、星学、田口晋、佐々木康介、井上郁里、高岡邦夫 Navigation system in bone tumor surgery -Point registration using the skin fiducial marker 第40回 日本整形外科骨軟部腫瘍学術集会 (山梨2007.07.12-3)
43. 井上郁里、星学、田口晋、家口尚、高岡邦夫 二相性パターンを呈した脂肪肉腫 第40回日本整形外科骨軟部腫瘍学術集会 (山梨2007.07.12-3)
44. 田口晋、多田昌弘、家口尚、鈴木亨暢、星学、高岡邦夫.マウス骨肉腫モデルにおけるMulti-direction Impulseを用いた電気刺激化学療法の抗腫瘍効果 第40回日本整形外科骨軟部腫瘍学術集会 (山梨2007.07.12-3)
45. 高見勝次、家口尚、星学、田口晋、青野勝成.悪性腫瘍に対するラジオ波治療の経験 第40回日本整形外科骨軟部腫瘍学術集会 (山梨2007.07.12-3)
46. 新美墨、松峯昭彦、楠崎克之、松原孝夫、青木康彰、上田孝文、荒木信人、久田原郁夫、倉都滋之、名井陽、家口尚、橋本伸之、吉川秀樹、内田淳正下腿遠位に発生した骨・軟部肉腫に対する患肢温存手術の有用性 第40回日本整形外科骨軟部腫瘍学術集会 (山梨2007.07.12-3)
47. 星学、田口晋、家口尚、高岡邦夫 骨肉腫細胞に対する超音波化学療法による抗腫瘍効果 第66回日本癌学会日本癌学会総会 (横浜2007.10.03)
48. 星学、家口尚、田口晋、青野勝成、高見勝次、高岡邦夫前医で不適切切除された骨軟部肉腫の受診状況 第45回日本癌治療学会日本癌治療学会 (京都2007.10.24-26)
49. 家口尚、星学、田口晋、佐々木康介、井上郁里、高岡邦夫 コンピューターナビゲーションシステムを用いた悪性骨軟

- 部腫瘍手術 第45回日本癌治療学会日本癌治療学会 (京都2007.10.24-26)
50. 青野勝成, 高見勝次, 家口 尚, 星 学, 田口 晋 癌治療におけIVR(Interventional Radiology)の役割 転移性骨腫瘍に対する経皮的ラジオ波焼灼療法 第45回日本癌治療学会日本癌治療学会 (京都2007.10.24-26)
  51. Takahiro Tajino, Akira Takeda, Hitoshi Yamada, Hakozaki Michiyuki, Shin-ichi Kikuchi The effect of additional administration of sodium bicarbonate for metabolic acidosis complications of ifosfamide therapy in musculoskeletal sarcomas. 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
  52. 田地野崇宏, 菊地臣一, 山田仁, 紺野慎一 肺転移に先行して肺外遠隔転移を生じた軟部肉腫 臨床病理学的検討. 日本整形外科学会雑誌 81 (6), S753, 2007.
  53. 岡田恭司, 長谷川匡, 田地野崇宏, 堀田哲夫, 柳澤道朗, 小山内俊久, 西田淳, 関邦彦: 悪性末梢神経鞘腫瘍56例の治療成績と予後因子の検討. 日本整形外科学会雑誌 81 (4), S584, 2007
  54. 山田仁, 菊地臣一, 田地野崇宏, 紺野慎一. 前腕皮下埋め込み型中心静脈カテーテルを用いた骨・軟部肉腫に対する化学療法. 日本整形外科学会雑誌 81 (6) S687, 2007.
  55. 武田明, 菊地臣一, 鹿山悟, 荒井至, 近内泰伸, 上杉和秀, 福田宏成, 田地野崇宏: 整形外科受診で癌と診断された症例 癌を見逃さないための注意点. 日本整形外科学会雑誌 81 (6) S685, 2007.
  56. 岡田恭司, 生越章, 小山内俊久, 田地野崇宏, 西田淳, 羽鳥正仁, 柳澤道朗骨・軟部腫瘍を対象とした共同研究の実際 東北地区骨軟部腫瘍研究会12年の経験から. 日本整形外科学会雑誌 81 (6), S658, 2007.
  57. 箱崎道之, 田地野崇宏, 山田仁, 菊地臣一, 箱崎道之, 北條洋, 阿部正文: 大腿骨に生じた骨膜性Ewing肉腫 1例報告. 東北整形災害外科学会雑誌 51 (1), 122, 2007.
  58. 山田仁, 菊地臣一, 田地野崇宏, 紺野慎一: 未分化神経外胚葉性腫瘍に合併した多中心性細網組織球症 1例報告北整形災害外科学会雑誌 51 (1), 122, 2007.
  59. 江尻荘一, 菊地臣一, 矢吹省司, 田地野崇宏, 川上亮一: 腓骨頭を含む遊離血管柄付き腓骨移植術を用いた上腕骨近位部の再建 6例報告. 日本マイクロサージャリー学会会誌 20 (2), 234, 2007.
  60. Hatta M, Joho S, Inoue H, Origasa H: Validation of a newly developed Japanese version of the MRF-28 for respiratory problems. 14<sup>th</sup> Annual Conference of the International Society for Quality of Life Research, Toronto, October 10-13, 2007.
  61. Hatta M, Origasa H: Factor validation by cluster analysis and structural equation modeling. 14<sup>th</sup> Annual Conference of the International Society for Quality of Life Research, Toronto, October 10-13, 2007.
  62. 赤澤 宏平: イブニングセミナー 「医学研究の統計解析におけるPitfallsとその解決策」 第107回日本外科学会定期学術大会 2007年4月11日
  63. 赤澤 宏平: 臨床研究セミナー 座長 「臨床研究の基礎講座」 第107回日本外科学会定期学術大会 2007年4月12日
  64. 瀧井康公, 山崎俊幸, 船越和博, 太田宏信, 谷達夫, 岡田貴幸, 酒井靖夫, 須田武保, 赤澤宏平, 畠山勝義: 進行・再発大腸癌に対する2nd lineとしてのTS-1/CPT-11併用療法の第I/II相臨床試験 日本癌治療学会誌 42巻2号 Page850 (2007年9月)
  65. 丸山聡, 瀧井康公, 山崎俊幸, 古川浩一, 須田武保, 岡本春彦, 飯合恒夫, 赤澤宏平, 畠山勝義: 術前リンパ節転移陽性大腸癌に対するTS-1/CPT-11併用術前化学療法の検討 (NCCSG-03) 日本癌治療学会誌 42巻2号 Page486 (2007年9月)
  66. 谷達夫, 瀧井康公, 太田宏信, 古川浩一, 酒井靖夫, 須田武保, 岡本春彦, 山崎俊幸, 赤澤宏平, 畠山勝義: 高度進行大腸癌に対するTS-1/CPT-11併用術前化学療法の検討 (NCCSG-03) 日本癌治療学会誌 42巻2号 Page483 (2007年9月)
  67. 萬代望, 赤澤 宏平: ヒヤリ・ハット情報を活用した処方オーダーミス防止システムの提案 医療情報学連合大会論文集 27回 Page998-999 (2007年11月)
  68. 中村潤一郎, 小林太一朗, 鳥谷部真一, 赤澤宏平: C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン, リハビリン併用療法について, Genotype, ウイルス量及び早期ウイルス陰性化に着目した費用対効果分析

医療情報学連合大会論文集 27 回  
Page943-946 (2007年11月)

69. 小葉祐子、吉田保子、中村潤一郎、鳥谷部真一、赤澤宏平：外来看護師の適正人員配置に関する定量的評価 医療情報学連合大会論文集 27 回 Page733-735 (2007年11月)
70. 松戸隆之、牛木辰男、赤澤宏平、岡田正彦：走査型電子顕微鏡画像の立体化 医療情報学連合大会論文集 27 回 Page411-412 (2007年11月)
71. 安藤清宏、大平美紀、尾崎俊文、小出佳代子、景山肇、中川温子、赤澤宏平、上條岳彦、村上義則、中川原章：神経芽腫における11q23のがん抑制候補遺伝子TS LC1の解析 小児がん44巻プログラム・総会号 Page227 (2007年12月)
72. Koichiro Ihara, Hiroki Yabe, Akira Kawai, Toshifumi Ozaki, Kenshi Sakayama, Susumu Tandai, Keiichi Muramatsu, Hiroo Yabe Chondrosarcoma of the Distal Upper Extremity: Multicenter Study by Japanese Musculoskeletal Oncology Group 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
73. Junichi Aizawa, Kenshi Sakayama, Teruki Kidani, Joji Miyawaki, Setsuya Kamei, Haruyasu Yamamoto, Hiroshi Masuno Effect of cortisol on cell proliferation and the expression of lipoprotein lipase and vascular endothelial growth factor in a human osteosarcoma cell line 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
74. Setsuya Kamei, Kenshi Sakayama, Teruki Kidani, Joji Miyawaki, Junichi Aizawa, Haruyasu Yamamoto Effect of ketoprofen in topical formulation on pulmonary metastases in nude mice with human osteosarcoma 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)
75. Kenshi Sakayama, Hiroshi Masuno, Joji Miyawaki, Taihoh Shibata, Haruyasu Yamamoto Increased lipoprotein lipase activity in subcutaneous adipose tissue of patients with musculoskeletal sarcoma 14<sup>th</sup> International Symposium On Limb Salvage (14<sup>th</sup> ISOLS) (Hamburg, Germany) (2007.9.11-14)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

む)

1. 特許取得：特記すべき事項なし。
2. 実用新案登録：特記すべき事項なし。
3. その他：特記すべき事項なし。



分担研究報告書

高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験に関する研究

主任研究者 土屋 弘行 金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻  
機能再建学講座 准教授  
分担研究者 白井 寿治 金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻  
機能再建学講座 助教  
分担研究者 山内 健輔 金沢大学医学部附属病院整形外科 助教  
分担研究者 全 陽 金沢大学医学部附属病院病理部 臨床教授

研究要旨:本治療は平成15年12月に高度先進医療に認可され治療を行ってきたが、平成18年10月健康保険法の一部改正により保険外併用療養費を設けるに当たり、従来の高度先進医療については、先進医療に統合した上で、評価療養として保険外併用療養費の対象とすることになった。その際、高度先進医療として定められていた技術のうち、薬事法上の未承認又は適応外使用に該当する薬物又は医療機器を用いたもの(以下、「適応外技術」という。)は、平成19年度末までの経過期間の終了後、先進医療から除外されることとなった。そのため、適応外技術であって、治験等の既存の保険外併用療養の対象とならない医療技術について、保険診療との併用を行うためには、有効性等の一定の要件を満たす医療技術を対象とする「臨床的な使用確認試験」を実施することが必要になり、実施するものである。そこで、本研究は高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の臨床使用確認試験を多施設で実施し、その安全性と有効性を確認するものである。本年度は、各施設のIRBの承認を得て研究を開始する準備を行い、さらに第一回の研究実行委員会を開催し研究の詳細を確認した。そこで、対象集団を、四肢に発生した遠隔転移のない高悪性度骨軟部腫瘍から、体幹と後腹膜発生と初診時転移のある症例も含める方針とした。本年度に研究代表機関である金沢大学医学部附属病院整形外科にて治療した骨腫瘍6例と軟部腫瘍2例を登録し、さらに大阪市立大学から骨腫瘍1例の登録が行われた。今後の年次計画としては、平成20年度は症例集積、モニタリング、中間解析、平成21年度は、登録完遂、結果解析を予定している。

A. 研究目的

高悪性度骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法の有効性と安全性を多施設共同研究により確認し、本治療の先進医療としての存続と治療の標準化を目指すことを目的とする。

1. 本研究の必要性

高悪性度骨軟部腫瘍に対して有効とされる薬剤は限られており(アドリマイシン、イホマイド、シスプラチン、メソトレキセート)、現在はこれらの薬剤を組み合わせた治療が試みられているが、5年生存率は骨腫瘍で約70%(Cancer 2006;106:1154-61)、軟部腫瘍で約60%(Ann Surg 2004;240:686-95)と概ね頭打ちであり、新たな治療が必要である。カフェインは、DNA修復阻害作用があり、種々の抗癌剤の作用を増強することから、カフェインを併用した抗癌剤の投与により治療効果が高まることが期待され、金沢大学では1989年より臨床応用している。

期待される成果は①生存率の向上、②患肢

機能の温存である。治療効果が向上すれば生存率の改善のみならず縮小手術(周囲の神経や血管などの正常組織を可能な限り温存する)により患肢機能の温存が可能となる。

2. 本研究の特色

カフェインの抗腫瘍効果については、種々の実験的な報告より抗癌剤により損傷したDNAの修復を阻害し細胞周期を回転させることで細胞をapoptosisに導くことが示されている。臨床的には膀胱癌に対してカフェイン併用化学療法の臨床試験の報告がされている(Am J Clin Oncol 2003;26:543-9)。また我々は当初悪性骨軟部腫瘍と診断された癌腫に対してカフェイン併用化学療法を施行し、効果が得られた経験がある(Anticancer Res 2005;25:2399-405)。このように他の癌腫に本治療が応用できる可能性も秘めている。今回骨軟部腫瘍に対する本治療の有効性・安全性を多施設共同研究で確立することは、非常に独創的かつ先進的である。

3. 分子生物学的解析

本治療をさらに進化させるためには分子生物学的的手法によるカフェインを含めた骨軟部腫瘍の基礎的な研究も重要である。そこで、基礎実験として、以下の検討を行った。

- ①cDNAマクロアレイを用いた骨肉腫細胞株におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺伝子の発現解析
- ②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポソームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究

## B. 研究方法

【研究形式】多施設共同で行う第Ⅱ相臨床試験であり、Primary endpointは術前化学療法の奏効割合、Secondary endpointは2年無増悪生存割合、無病生存期間、全生存期間、有害事象発生割合である。

【研究対象】1. 生検により病理学的診断された悪性骨腫瘍（骨肉腫、悪性線維性組織球腫）と悪性軟部腫瘍（非円形細胞軟部肉腫：悪性線維性組織球腫、線維肉腫、平滑筋肉腫、滑膜肉腫、脂肪肉腫、多形横紋筋肉腫、未分化肉腫）、2. 組織学的悪性度がFNCLCC (French Federation of Cancer Center) systemのGrade 2-3、3. Performance Status が (ECOG) が0-1、4. 本試験への参加について患者本人（患者が未成年の場合は保護者）から文書による同意が得られている。

【症例登録】データセンターによる中央登録後に治療を開始する。

【術前化学療法】CDDP (120mg/m<sup>2</sup>/日×1日) +ADM (30mg/m<sup>2</sup>/日×2日) +CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) を1コースとする。3週間ごとに同コースを繰り返し行い、3コース終了後に画像評価をする。有効であれば、同じレジメンで更に2コース施行する。無効であれば、IFO (3g/m<sup>2</sup>/日×3日) +VP16 (60mg/m<sup>2</sup>/日×3日) +CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) に変更し2コース施行する。

【手術療法】術前化学療法終了後、4週以内に手術を施行する。

【術後化学療法】骨腫瘍：術前化学療法が有効であれば、術前のレジメンと交互にMTX (12g/m<sup>2</sup>/日×1日) +VCR (1.5mg/m<sup>2</sup>/日×1日) をそれぞれ3コース行う。無効であればIFO (3g/m<sup>2</sup>/日×3日) +VP16 (60mg/m<sup>2</sup>/日×3日) +CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) とMTX (12g/m<sup>2</sup>/日×1日) +VCR (1.5mg/m<sup>2</sup>/日×1日) のレジメンと交互にそれぞれ3コース行う。軟部腫瘍：術前化学療法が有効であれば、術前のレジメン3コースの後にCDDP (120mg/m<sup>2</sup>/日×1日) +CAF (1

500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) を3コース行う。無効であればIFO (3g/m<sup>2</sup>/日×3日) +VP16 (60mg/m<sup>2</sup>/日×3日) +CAF (1500mg/m<sup>2</sup>/日×3日) を6コース行う。

【予定症例数】有害事象/有害反応の評価にはCTCAE v3.0 日本語訳JCOG/JSCO版を用いる。重篤な有害事象ならびに有効率の評価に必要な症例数を、検定に一標本検定の二項検定(帰無仮説H<sub>0</sub>: P=π<sub>0</sub>、対立仮説H<sub>1</sub>: P=πとした場合)で行うと、有害事象についてはπ<sub>0</sub>=0.10、π=0.30（合併症の予測値を10%とし、30%以上なら試験中止）とした場合、α=0.05、β=0.20でn=30となる。一方、有効率については、骨腫瘍をπ<sub>0</sub>=0.50、π=0.70とすると、α=0.05、β=0.20とすると、n=44となる。軟部腫瘍をπ<sub>0</sub>=0.30、π=0.50とすると、α=0.05、β=0.20とすると、n=47となる。よって、本試験では必要症例数のより大きな有効率の評価に必要な症例数である骨腫瘍44例と軟部腫瘍47例に、10%のプロトコル逸脱等を見込んで、予定登録症例数を骨腫瘍50例、軟部腫瘍50例とする。

【年次計画】平成19年度は、各IRBにおける承認を経て、症例登録開始を予定している。平成20年以降は、症例集積と定期モニタリングを実施していく。

### (倫理面への配慮)

本試験に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言（日本医師会：<http://www.med.or.jp/wma/>）および臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省告示第255号：<http://www.mhlw.go.jp/topics/2003/07/tp0730-2.html>）に従って本試験を実施する。

担当医は患者本人（患者が未成年者の場合は保護者）に施設のIRB承認が得られた説明文書を渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。①病名、病気、推測される予後、②本試験が臨床試験であること、③治療内容、④本試験により期待される効果、⑤予測される有害事象、合併症、後遺症とその対処法：「予期されない有害事象」が生じた場合、被験者ならびにその家族に可能な限り客観的かつ正確な情報を提供するとともに、医学的に最善と考えられる対処を行う。以後の院内における報告ならびに対処は、各施設の医療安全規定、有害事象報告規定に従う。「重篤な有害事象」については48時間以内に、「予期されない有害事象」については14日以内に研究事務局または研究代表者へ報告し、グループと

しての対処を検討する。⑥費用と補償：治療にかかる費用は、カフェイン以外は保険でまかなわれる。カフェインの薬剤費、血中濃度の測定に掛かる費用は、先進医療に準じて被験者本人に請求する。健康被害が生じた場合の補償は一般診療での対処に準ずる。⑦代替治療法：現在の一般的治療法の内容（カフェインを併用しない化学療法）、効果、毒性など、それらを選択した場合の利益と不利益。⑧試験に参加することで患者や予想される利益と可能性のある不利益、⑨病歴の直接閲覧について：「精度管理のため他施設の医療関係者が施設長の許可を得て病歴等を直接閲覧すること」など監査の受け入れに関する説明、⑩同意拒否と同意撤回：試験に対する同意拒否が自由であることや、一旦同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと、⑪人権保護：氏名や個人情報を守秘されるために最大限の努力が払われること、⑫データの二次利用：研究会が承認した場合に限り、個人識別情報とリンクしない形でデータを二次利用する可能性があること、⑬質問の自由：担当医の連絡先だけでなく、施設の研究責任者、試験の研究代表者の連絡先を文書で知らせ、試験の治療内容について自由に質問できること。

#### 【分子生物学的解析】

①cDNAマイクロアレイを用いた骨肉腫細胞株におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺伝子の発現解析

【実験1】ヒト骨肉腫培養細胞株であるHOS、SaOS2、MG63、OSTおよびシスプラチン耐性株であるOST/Rを用いた。各細胞株の増殖期にシスプラチンを1時間添加後にカフェインを72時間添加し、WST-1アッセイを用いてシスプラチン感受性およびカフェイン併用による殺細胞効果増強作用を検討した。

【実験2】タイプAよりHOSを、タイプBよりOSTを選択し、シスプラチンを1時間添加後にカフェインを48時間添加させた（併用群）。対照はシスプラチン添加後にカフェインを添加させない群とした（非併用群）。この時点で各々の群よりRNAを抽出し、cDNAマイクロアレイ法を用いて1176個のヒト癌関連遺伝子（Atlas Human Cancer 1.2 cDNA Expression Arrays; CLONTECH社）の発現変化について解析した。非併用群と比べ併用群で3倍以上の発現変化を認めた遺伝子をリストアップした。これらの遺伝子のうちOSTにおいてのみ発現変化が

みられ、かつカフェインの相乗効果について矛盾しない5遺伝子を選択し、リアルタイムRT-PCRで検証した。定量解析ではOST/Rを対照とし、薬剤添加前、シスプラチン添加後1時間およびカフェイン添加後24、48時間での発現について経時的に検討した。

②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポソームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究

【実験】シスプラチン封入PEG修飾リポソーム（以下、CDDP-L）を作成した。また、動物は、7週齢、体重150～200gのFischer系雄性ラットを用い、細胞としてラット骨肉腫細胞SOSN2を使用した。まず、SOSN2に対するシスプラチンの抗腫瘍効果とカフェインによる増強効果に関する実験を行った。次いで、ラットにおけるCDDP-Lの血中滞留性、SOSN2に対する腫瘍集積性および抗腫瘍効果について検討した。最後にカフェインによるCDDP-Lの抗腫瘍効果増強作用および投与スケジュールによる変化に関して検討した。

#### C. 研究結果

本年度は、本研究が厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）として採用されてからすぐに、研究開始の準備を行った。具体的には、実施計画書を作成し第一回の研究実行委員会を開催した。そのときに、以下の点を確認、訂正した。①対象年齢を、5歳から75歳までとする（原案では、Federation of Cancer Center）systemのGrade 2-3、3. Performance Status が（ECOG）が0-1に基づいて判断とされていた）。②対象症例の腫瘍占拠部位を四肢のみから、四肢、体幹、後腹膜に変更。手術での切除縁の確保のしづらさなどから四肢のみとされていたが、これまでの治療経験から薬剤の有効性には差がないことなどから、プライマリーエンドポイントの解析には影響しないとの判断より。③対象症例の病期を、Stage III:T2bNOMO（AJCC 6th edition: American Joint Committee on Cancer）までからStage IVまでとすることに。すなわち、初診時に転移を伴う症例でもプライマリーエンドポイントには影響しないとの判断から。④アドリアマイシンの投与速度を24時間から1時間以上に変更（施設によっては末梢静脈からの投与となるため静脈炎を防ぐため）。⑤イホマイドの投与速度を1時間から3時間へ変更（症例によっては頭痛などの軽度な副作用を生じることがあるため）。⑥イホマイド投与時のカフェインの投与をイホマイ

ドと同時開始からイホマイド投与終了後から開始に変更(イホマイドの投与速度が遅くなったことより、イホマイドが作用し始めるまでの時間を待ったほうが良いとの判断にて)。  
⑦術前化学療法の回数を5コースから3~5コースに変更(プロトコルの逸脱を最小限にするため。またこれまでの治療経験から化学療法が有効な症例では3コースでも、十分効果が得られているため)。  
⑧術後の化学療法の回数を6回から原則3コース以上に変更(プロトコルの逸脱を最小限とするため)。  
⑨治療経過中のカフェイン血中濃度の結果から、72時間値の目標が60~80 μg/mlであるが、48時間値から、72時間値がこの値を大きく下回ることが予想される時は、カフェインを増量することが可能と追記することとした。  
⑩病理診断は中央判定を行うが、その際未染標本10枚を送付としていたが原則10枚送付に変更した(標本の状態によっては10枚作成できない場合があるため)。また、標本の送付時に各施設の病理医の診断を添付することを追記した。以上を、第一回の研究実行委員会で決定した。

その後、当施設のIRBの審査を3月26日に受け、承認を得た。さらに、本試験をUMIN(大学病院医療情報ネットワーク)に、臨床試験として登録を行った(UMIN000001094)。今後は、参加施設を募る予定である。

当施設では、本治療が平成15年12月に高度先進医療に認可されてから平成18年度末までに、悪性骨腫瘍23例、悪性軟部腫瘍19例を治療しており、それらは本研究に登録しているが、平成19年度には新たに悪性骨腫瘍6例(全例骨肉腫)、軟部腫瘍2例(平滑筋肉腫:1例、横紋筋肉腫:1例)を治療しており、それらを登録することとした。それらの結果は、画像有効率:骨腫瘍6/6(100%)、軟部腫瘍2/2(100%)、組織学的有効率:骨腫瘍4/6(67%)、軟部腫瘍1/1(100%:横紋筋肉腫の1例は解析中)で、有害事象は、Grade 4の有害事象は1例もみとめなかった。さらに、第一回実行委員会終了後に、分担研究グループより骨腫瘍1例の登録が行われた。

今後の年次計画としては、平成20年度は症例集積、モニタリング、中間解析、平成21年度は、登録完遂、結果解析を予定している。

#### 【分子生物学的解析】

①cDNAマクロアレイを用いた骨肉腫細胞株

におけるカフェインの化学療法増強作用に関連する遺伝子の発現解析

【結果1】シスプラチン感受性およびカフェイン併用効果のパターンから、3グループに分類できた。タイプA(HOS, SaOS2)はシスプラチン感受性が高く、カフェイン併用による殺細胞効果の増強は有意には認めなかった。タイプB(OST, MG63)はシスプラチン感受性が低い、カフェイン併用による殺細胞効果の増強を有意に認めた。タイプC(OST/R)はシスプラチン耐性であり、カフェイン併用による殺細胞効果も認めなかった。

【結果2】アレイの結果、ヒト癌関連遺伝子のうちOSTにおいて併用群で8遺伝子に発現比の上昇を、4遺伝子に低下を認めた。これらの遺伝子はHOSにおいて変化は認めなかった。OSTで発現比が上昇したアポトーシス誘導関連遺伝子のGADD153(DNA-damage-inducible transcript 3)およびE1AF(Ets variant gene 4)では、いずれもカフェイン添加後24および48時間において併用群で有意に発現が亢進されることを確認した。一方OST/RではGADD153についてはカフェイン添加による発現変化はみられず、E1AFについては48時間においてのみ併用群で発現が亢進された。OSTでアレイの発現比が低下したアポトーシス抵抗関連遺伝子のLEU13(interferon induced transmembrane protein 1, IFITM1)およびIFI27(interferon, alpha-inducible protein 27)についてはカフェイン添加後48時間において併用群で発現が有意に抑制されることを確認した。一方OST/Rではいずれも併用群で発現の亢進を認めた。GIP3(interferon, alpha-inducible protein, IFI-6-16)について有意差は認めなかったが、OSTでは併用群で発現が抑制される傾向であった。

②ラット骨肉腫に対するシスプラチン封入PEG修飾リポゾームの抗腫瘍効果およびカフェインによる抗腫瘍効果増強作用に関する研究

【結果】SOSN2に対しシスプラチンは高い感受性を認め、カフェインによる作用の増強効果を認めた。CDDP-Lを用いた実験では、ラットへのCDDP-L投与群において、シスプラチン投与群よりも有意に良好なプラチナの血中滞留性を認めた。SOSN2移植ラットでは、CDDP-L投与群における腫瘍内プラチナ濃度がシスプラチン投与群よりも有意に高いことがわかった。また、蛍光色素である fluoresceinをPEGリポゾーム内に封入した fluorescein-Lを投与し、リポゾームの腫瘍への集積性