

高悪性度骨軟部腫瘍の再発例に対する標準的治療法の確立に関する研究

研究分担者 高橋 満 静岡県立静岡がんセンター整形外科 副院長

研究要旨 本研究では、骨軟部肉腫の再発後生存期間の現状を把握し、再発症例に対する標準的治療法を検討することを目的とした。高悪性度骨軟部腫瘍の再発後生存は、転移巣切除の可否で有意な差が見られた。またこれは再発までの無病期間に関連するが、化学療法追加に関しての意義は確認できなかった。

A. 研究目的

日常診療においては、骨軟部肉腫の再発症例には、延命を目的として“エビデンス”が確立していない化学療法を行うことも稀ではない。分子標的薬剤の開発ラッシュに伴い、今後は骨軟部腫瘍においても新規薬剤による化学療法が試みられることが予想される。しかし現時点では生存期間のかなりの部分は supportive care の質に依存しているため、稀少症である骨軟部肉腫に対する化学療法の効果を統計的に評価することはきわめて困難である。本研究の目的は、骨軟部肉腫再発症例がどのくらい生きられるのかを共通認識すること、そして現行の adjuvant chemotherapy あるいは palliative chemotherapy とされるものが、長期生存のために現在の supportive care のレベルをこえてどのくらいの価値があるのかを検証するところにある。

B. 研究方法

対象は、他院での初回治療症例を含め、初回再発あるいは転移後に当院で2002年9月から2007年12月までに治療し、経過観察した high grade 骨軟部腫瘍の再発 52 症例である。初回再発が他院で明らかになっていた場合には、その時点から起算し、再発後生存率を Kaplan-Meier 法にて算定した。

（倫理面への配慮）

本研究には、個人を特定可能な情報は含まれない。また、個々の治療経過を提示することはない。

C. 研究結果

① high grade 腫瘍症例の再発後生存

全体では、再発後2年生存率は55%、5年生存率は28%であった。肺転移初発例32例と肺外転移初発例20例の間での生存率には差がなかった。骨肉腫肺転移例では再発後2年生存率は68%であったが、3年以後急速に低下した。滑膜肉腫肺転移例の再発後2年生存率は68%、5年生存率は45%で長期生存があった。

② 再発巣切除の生存期間に対する意義

52例中、再発巣の完全切除（2ndCR）にいたったものは28例（54%）であった。肺転移初発例では、2nd CR 獲得15例の3年生存率72%、5年生存率は40%であった。骨肉腫・滑膜肉腫に限ると、肺転移切除後2ndCRを獲得した10例の3年生存率は70%、5年生存率は43%であった。肺外転移初発例については2nd CR 獲得13例の3年生存率は65%、5年生存率は52%であった。すなわち、2nd CR 獲得例では肺転移初発、肺外転移初発の間には差がなかった。

一方、2nd CR にいたらなかった24例では、50%生存期間10ヵ月、2年生存率は15%で、5年生存者はいなかった。

③ 化学療法の効果について

high grade 腫瘍の肺転移症例では、手術までに2-3ヶ月間の観察を行った。大部分の症例に IFM/ADR あるいは ICE による全身化学療法を行ったが、この間に明らかな腫瘍縮小を見ることが多かった。しかし肺転移切除後に補助化学療法を行ったものは少数例であった。

一方、手術適応にはまらない症例については、緩和的化学療法を行ったものと、対症療法だけに専念したものが含まれる。前者には治療開始時の全身状態が比較的良好な症例がより多く含まれていた可能性があり、化学療法が生存期間に寄与するかについては selection bias が大きい。施行例で再発後の50%生存が17ヶ月、非施行例では7ヶ月であり、有意差はなかったが、治療によって生存が延長する傾向が見られた。また化学療法により一時的とはいえ腫瘍が縮小し、症状が緩和される症例が見られたことから、QOLの維持に関しては有効であった。

D. 考察

今回の検討においては、再発例の長期生存のためには切除の可否が重要で、特に肺転移症例では他の

報告と同様、2nd CR が必須であった。当院では、局所再発については、日整会切除線判定基準に従い、初回手術痕もクリアした広範切除が可能な症例を手術適応とする。一方、肺転移症例については、単発あるいは数個の再発巣を確認したのち、通常2-3ヶ月の経過観察を行い、(この間に化学療法を併用することもしないこともあるが)新規病変の出現のないことが確認された症例に限って転移巣切除の適応としている。こうした厳格な適応のため、術後に比較的長期の生存が得られたものとする。しかも今回検討した骨肉腫・滑膜肉腫症例については、初回再発・転移までの disease free interval が2年以上あるケースが多かった(DFIの中央値:骨肉腫19ヶ月、滑膜肉腫26ヶ月)。こうした場合の再発・転移は単発か少数病巣で切除可能なことが多いため、2ndCR後に高い長期生存率が得られたものとする。

肺転移手術に先立って化学療法を行うか、またどれくらいの観察期間をおくべきであるかは、前述のごとくDFIを考慮する必要があり、今後多数例を集積しての検討課題である。術後化学療法については、今回の検討症例からは有用性は確認できなかった。

E. 結論

high grade の骨軟部腫瘍においても、再発巣の切除が行われた症例では長期生存が得られた。これは特に骨肉腫と滑膜肉腫に強い傾向が見られ、特に再発までの無病期間が長い症例で良好であった。しかしこれらに化学療法を追加することの意義について明らかにはできなかった。また切除不能症例に対する緩和的外来化学療法では、生存期間の延長効果については有意の差は得られなかったが、一定期間腫瘍の縮小と症状緩和が得られた症例があり、今後有効性を検証する価値がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Katagiri H, Takahashi M, et al.:

Osteosarcoma of the talus treated successfully with limb-sparing surgery. A case report.

J Bone Joint Surg Am, 90(4): 869-874, 2008

Mizumoto M, Takahashi M, et al.:

Prognostic factors and a scoring system for survival after radiotherapy for metastases to the spinal column: a review of 544 patients at Shizuoka Cancer Center Hospital. Cancer, 113(10): 2816-2822, 2008

村田秀樹, 高橋満, 他:

股関節近傍の石灰化病変で腫瘍が疑われた偽痛結節の1例 中部整災誌, 51(1): 91-92, 2008

2. 学会発表

なし

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

進行再発軟部腫瘍症例に対する緩和化学療法の意義と
最適化学療法レジメンについての研究

研究分担者 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 有用性について議論が多い進行再発悪性軟部腫瘍の化学療法の緩和化学療法の適応と実践戦略を検討するために、過去6年間に化学療法を行なった症例の再発、進行例の後ろ向き検討を行った。2002年から2008年末までに156例の緩和的化学療法が行われ（骨肉腫(OS)28例やユーイングファミリー(EFT)15例）、評価項目として生存期間、予後と化学療法による有害事象の発生を調査した。外科治療、緩和のみを行った進行再発症例46例(OS10、EFT1)との比較で、緩和群の生存中央値12ヶ月に比較して、化学療法群15ヶ月で生命改善の傾向が得られ、OSやEFTを除いても差がなかった。組織亜型別予後は、軟骨肉腫12ヶ月、脂肪肉腫15ヶ月、滑膜肉腫17ヶ月、MFH16ヶ月で、化学療法群で、3ヶ月程度の予後の改善が認められた。奏効性検討では(2009年までを追加)、脂肪肉腫51%、平滑筋肉腫42%に対して、MFH等の多形型、紡錘型細胞組織亜型(約25%)で奏効性に乏しかった。化学療法レジメン別検討では、脂肪肉腫粘液型では、IFO、VP16(IE)併用療法、IEとCDDP/ADR(IE/CA)交互療法でほぼ同等、平滑筋肉腫ではIA療法やIE療法に高は、AI療法10%、IE療法28.5%、IE/CA療法18%、MRを含めると各40%、50%、46%と、治療スケジュールによる差は確認できなかった。今だ、微小転移撲滅力は不十分で、一部、平滑筋肉腫切除可能な肺転移で化学療法が奏効した場合を除いて、3年以上の長期コントロールや手術、放射線治療によるサルベージ効果は確認できず、緩和化学療法の継続が必要であった。

A. 研究目的

進行、再発肉腫に行われる治療のモダリティーは、切除技術の進歩による肺切除や骨転移巣切除術、除痛緩和を目的とした放射線治療、化学療法と多様であるが、緩和治療と比較した有用性は議論が多い。特に化学療法の適応、最適レジメンについての結論は得られておらず、予後改善効果が確認できていないものの化学療法が奏功すると高いQOLが維持できるとの理由で化学療法が実践されている。悪性軟部腫瘍は、多様な組織亜型に分類される緩和化学療法の適応、組織亜型別の最適レジメンを探索するために、後ろ向き調査を継続して行った。

B. 研究方法

過去5年間(2002年4月から2007年12月)に行なわれた進行、再発軟部腫瘍に対する化学療法の後ろ向き集積研究結果と2008年の症例を加えた6年間の集積で治療プロトコル別の奏効性解析も追加した。調査項目は、組織亜型、PSや病状、評価病変の状態、治療期間、無増悪期間、予後により化学療法の有用性を検討した。

進行再発症例で何らかの化学療法を試みた159例

と緩和群52例、更に2008年の症例を加えて解析した。薬剤プロトコルは、IFO/VP(IE)療法、IFO/ADR(IA)療法、IFO/VP16とCDDP/ADR(IE/CA)交互療法が主に行われた。化学療法後、肺転移は手術切除、骨転移や後腹膜に対する緩和的手術、放射線治療のサルベージ治療も積極的に行なわれた。

(倫理的配慮)

悪性骨・軟部腫瘍に対する化学療法は、すべて保険承認された薬剤で、治療に際しては骨・軟部腫瘍全般に対する化学療法のエビデンスを説明し、文書で同意を得て治療が行なわれた。

C. 背景と研究結果

化学療法の有用性が高い若年者発生の骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫の初診時進行症例では原発限局症例と同様に寛解導入、根治を目指した治療が行われ、化学療法の奏効性と残存腫瘍の外科、放射線治療のサルベージ治療の完遂度が、有意な予後因子であることが証明されている。

その他の悪性骨軟部腫瘍の再発例に対する標準的な治療薬剤は存在せず、多発転移、切除困難な場合は緩和的な治療として化学療法が実践されてい

るが、成人、高齢者の進行再発悪性軟部腫瘍例では真の緩和効果が得られるのか批判も多い。悪性軟部腫瘍、成人の骨肉腫、MFH、高悪性度の軟骨肉腫に対する化学療法についてのエビデンスレベルは低く、奏効性が確認されている ADR、IFO、CDDP 等の薬剤を単剤、併用で治療を試みているのが現状である。最近、骨盤、婦人科領域発生の平滑筋肉腫に対しては、gemcitabine/docetaxel 併用療法が有効で、有害事象が低く外来治療も可能であるものの巨大な腫瘍塊を形成した進行例に対する縮小効果は低い。

緩和的化学療法はエンドポイントのない実験的治療であるとの批判も考慮しながら、より高いエビデンスが得られる質の高い臨床研究へと発展させることが急務である。

1) 全生存期間について

生存、観察期間は、緩和群 0-120 ヶ月、中間値 12 ヶ月、化学療法群 1-72 ヶ月、中間値 15 ヶ月であった。緩和治療群は、低悪性度軟部腫瘍で長期間生存した例も含まれていたが、2年を超える生存例は少なく 5 例のみ（骨肉腫、ユーイング肉腫を含めた場合 7 例）であった。一方、化学療法群では、生存中央値 15 ヶ月で、骨肉腫、ユーイングファミリー腫瘍を除いた解析でも同じ結果であり、化学療法で生命予後改善効果は確認できなかった（表 1）。

表 1. 調査全体、化学療法群、緩和群の生存中央値

	観察期間			
	症例	最低	最高	中央値
調査症例	203	0	120	15 ヶ月
化学療法群	157	0.4	72	15 ヶ月
OS, EFT を除いて	105	0.4	72	15 ヶ月
緩和群	46	0	120	12 ヶ月
OS, EFT を除いて	36	0	120	12 ヶ月

骨肉腫 (OS)、ユーイングファミリー腫瘍 (EFT)

再発、抵抗性骨肉腫、ユーイングファミリー腫瘍

骨肉腫、ユーイングファミリー、横紋筋肉腫は、化学療法の奏効性に大きく左右され、初診時進行症例、再発例であれ、奏効性の高い抗がん剤を投与すると病状、症状ともに改善する。根治は望めないものの、1年以上の無増悪期間を観察することができ

た。導入化学療法後晩期再発の単発、少数個の転移は手術療法が標準治療で、化学療法の必要性は不明である。切除不能な症例、多回再発例、多数個再発例に関しては、5年以上の無病生存は認められなかった。単剤で長期コントロールが達成できた症例は皆無であり、併用療法、治療強度維持が必要であった。

軟骨肉腫

進行再発軟骨肉腫や脱分化、間葉系軟骨肉腫においても IFO/VP、CDDP/ADR の奏効効果が確認された。通常型の軟骨肉腫も、長い経過中に急激な増大を認めた 2 例に化学療法を行い、進行抑制効果 (Long NC) が得られ、新たなエビデンスを模索しなければならない(表 2)。

成人型悪性軟部腫瘍

生命予後は、緩和群で 12 ヶ月、化学療法群で 15 ヶ月と差を認め、組織型別に結果を整理した。

表 2. 組織型別の生存中央値

	症例	最低	最高	中央値
脂肪肉腫	21	2	56	15 ヶ月
滑膜肉腫	19	2	60	17 ヶ月
紡錘型	56	1	72	15 ヶ月
軟骨肉腫	6	1	24	12 ヶ月
その他	14	1	72	10 ヶ月

2) 脂肪肉腫に対する化学療法の検討

脂肪肉腫は、後腹膜発生、遠隔転移再発例に対して IFO/VP16 もしくは IFO/VP16 と CDDP/DXR 交互療法が行われた。無症状の場合もあるが、腹水、腹部膨満、疼痛、麻痺などの症状を有する患者が多く、放射線治療や緩和療法では症状緩和さえも困難な状況の症例も多数含まれていた。奏効率は、粘液/円形細胞型 47%、脱分化、未分化型 20%で、治療途中の進行 6.5%で、ほとんどの症例で治療中の増悪を抑制することができ、無増悪期間中の高い QOL 維持、疼痛コントロール軽減し、通常生活を可能とすることが確認できた (表 3)。化学療法レジメン別の検討では、脱分化・未分化脂肪肉腫は、IE/CA 交互療法のみで奏効し、粘液型・円形細胞型では、IE ないし IE/CA 併用療法で奏効率 50%が観察され、IE 療法と CA 併用療法共に奏効することが観察された (表 4.)

表3. 脂肪肉腫：組織亜型別奏効率

総数	CR PR	NC MR	PD	奏効
脱分化・未分化 15 例	3	11	1	20%
粘液型・円形細胞型 16 例	8	7	1	50%
	35.5%		6.5%	

表4. 脂肪肉腫：組織亜型別、レジメン別の奏効性

総数	IA	IE	IE/CA	奏効率
脱分化・未分化 15 例	0/4 0%	0/2 0%	3/9 33%	20%
粘液型・円形細胞型 15 例	0/1 0%	1/2 50%	6/12 50%	47%
16 例	0/1	2/3*	6/12	50%

放射線治療併用を含む*

奏効期間は約 12 ヶ月で、化学療法の中断や 2 ヶ月を超える休薬時に再燃を起こす症例も多く、中断の理由は、化学療法の有害事象、切除、放射線治療のサルベージ治療への変更のためであった。生存中央値 15 ヶ月で、奏効性が向上したにもかかわらず悪性軟部腫瘍の生存中央値を超えなかった(表 1, 2)。

後腹膜進行、骨髄進展例の予後は非常に不良で、緩和療法で数ヶ月であることを勘案すると緩和化学療法としての有用性は確認できるものの、完全寛解や微小転移撲滅効果は得られておらず、化学療法によるダウンステージ効果、外科、放射線療法で完全寛解を達成することで、根治や長期生存へ結びついていない。

2) 平滑筋肉腫に対する奏効性検討

平滑筋肉腫は、低悪性度から高悪性度平滑筋肉腫まで幅の広く、遠隔転移や局所再発を繰り返す経過の長い症例も多い。グリベックの治療が国内に導入以降の症例を集積したので、本集計には GIST の症例は含まれていない。

使用薬剤は、IFO を中心に IFO/VP16 (IE) 併用、IFO/DXR (IA) 併用、GEM/DOTAX 併用、IE/CA 交互併用が実施された。IFO の Dose-Dense なプロトコール、小肺転移病巣を対象にした症例で奏効し、長期生存例も観察されて、奏効率 40% であった。IFO の Dose-dense な IA 併用療法、IE 併用に奏効し、後

腹膜巨大腫瘍は抵抗性で、NC、MR の奏効性は低かったが化学療法の続行で長期コントロールも可能であった(表 5,6)。単発限局再発や肺転移症例に対する強化治療とサルベージ手術治療による完全寛解導入治療と緩和的化学療法の違いで原因と考えられた。

表5. 平滑筋肉腫、多形・紡錘形細胞肉腫の奏効性

総数	CR PR	NC MR	PD	奏効率
平滑筋肉腫 18 例	7	12	0	39%
多形、紡錘型 37 例	7	24	6	19%

表6. 化学療法レジメン別の奏効性

	IA	IE	IE/C A		奏効
平滑筋肉腫 18 例	2/2 100%	3/7 43%	1/3 33%	1/4*	39%
多形、紡錘型奏効 37 例	1/10 10%	4/14 28.5%	2/11 18%	0/2*	19%
奏効・不変 37 例	4/10 40%	7/14 50%	5/11 46%	1/2*	46.7%

GEM/DTX*, ADR**

3) 紡錘形細胞肉腫に対する奏効性の検討

平滑筋肉腫、悪性線維性組織球腫、脂肪肉腫の病理診断に異論が多く、病理学的に平滑筋肉腫や脂肪肉腫と診断される典型例から、未分化肉腫、多形型肉腫、MFH と診断される非常に多形性に富んだ腫瘍群が存在する。臨床的にも平滑筋系肉腫ないし脂肪系肉腫由来で差を認めず、病理学における今後の研究解析結果を待たなければならぬ。病理学的に診断可能な典型的な平滑筋肉腫、脂肪肉腫、MPNST を除いた紡錘形細胞、多形型肉腫として一括して考えてみると、生存中央値 16 ヶ月と予後不良で(表 2)、平滑筋肉腫 24 ヶ月、MPNST 26 ヶ月に比較して、紡錘形細胞、多形細胞型肉腫は 15 ヶ月で(表 3、4)、短命であった。

化学療法の奏効性は低く、19%、レジメン別に差を認める傾向があったが、軽度縮小 MR 例を含めた長期コントロール可能であった臨床有用性はほぼ半数で、レジメン別の有用性は認められなかった(表 5,6)。

2007 年までの集計では、悪性線維性組織球腫(25)、線維肉腫(2)、紡錘型肉腫(4)、MPNST(8)では、MFH で 6 例、線維肉腫 0 例、紡錘型肉腫 1 例、MPNST 2

例で PR となる奏効性を観察したが、多くが NC、PD で症状緩和の効果も薄い。サルベージ治療可能な症例はほとんどなく、すべて再燃を起し、有害事象の多く入院を必要とする現行の化学療法での緩和効果は少ない。血管肉腫、淡明細胞肉腫では既存の化学療法では抵抗性で、症状緩和さえも実現しえなかった。

表 4. 組織亜型別の生存中間値
観察期間

	症例数	最低	最高	中間値
LMS	12	5	72	24ヶ月
MFH	28	1	64	15ヶ月
MPNST	8	6	36	26ヶ月
Angio	3	0.4	36	10ヶ月
ASPS	3	3	16	12ヶ月
CS	6	1	24	12ヶ月
ECS	4	6	27	10ヶ月
EPS	3	8	24	9ヶ月
ESC	1	1		26ヶ月

LMS (leiomyosarcoma),
MFH (Malignant fibrous histiocytoma),
MPNST(malignant perherial nerve sheath tumor),
Angio (angiosarcoma),
ASPS (alveolar soft part sarcoma),
CSB (chondrosarcoma of bone),
CCS (clear cell sarcoma),
EPS (epithelial sarcoma),
ESC (extraskkeletal chondrosarcoma)

D. 考察

切除可能な肺転移に限局された病期の平滑筋肉腫症例では、導入化学療法が著効した場合にサルベージ切除の治療戦略、その他の組織亜型による局所、再発進行例の化学療法は、緩和目的であり、長期コントロールには薬物療法の継続が必須である。耐性、有害事象による薬剤変更を前提とした薬物開発が必要である。

E. 結論

今後の臨床試験の課題は、奏効性の高い脂肪肉腫に関しては長期治療可能な二次治療の開発、初期治療の奏効性が不十分な多形型、紡錘形細胞軟部悪性腫瘍に対する奏効性の高い一次治療の開発研究と組織亜型に分けた臨床研究が必要である。

F. 健康危険情報

後ろ向き研究で、有害事象に伴う関連死は観察されずに安全性は確保できた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yonemori K, Chuman H, et al.: Prediction of response and prognostic factors for Ewing family of tumors in a low incidence population. J Cancer Res Clin Oncol. 134(3): 389-95, 2008

Nakayama R, Chuman H, et al.: Association of a missense single nucleotide polymorphism, Cys1367Arg of the WRN gene, with the risk of bone and soft tissue sarcomas in Japan. Cancer Sci, 99(2): 333-9, 2008

中馬広一: Current organ topic; 骨軟部腫瘍. 癌と化学療法, 35(3): 406, 2008

中馬広一: (分担執筆)

がん看護 実践シリーズ 12 骨軟部腫瘍.

野村和宏・平出朝子(監修), 中馬広一・別府保男(編集) pp104-115, メジカルフレンド社, 2008

中馬広一: 外科手術のトピックス Cancer Treatment Navigator 中川和彦(編集) pp70-71, メディカルビュー社, 2008

2. 学会発表

中馬広一, 他: 再発骨・軟部腫瘍症例に対する緩和的化学療法についての後ろ向き研究
第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.07 浜松)

川井章, 中馬広一, 他: 成人型軟部肉腫に対する ifosfamide(IFO)+etoposide(VP16)化学療法
第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.07 浜松)

宮城光晴, 中馬広一, 他:
胸骨骨・軟部腫瘍に対する皮弁再建の治療成績
第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.07 浜松)

武田健, 中馬広一, 他:
腫瘍切除後に brachytherapy を施行した軟部肉腫の治療成績 第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.07 浜松)

中山ロバート, 中馬広一, 他:
DNA 修復関連遺伝子の多型悪性骨・軟部腫瘍の易罹患性との関連

第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2008.07 浜松)

末原義之, 中馬広一, 他：
骨肉腫の化学療法感受性予測マーカーの開発を目的としたプロテオミクスの検討
第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2008.07 浜松)

末原義之, 中馬広一, 他：
消化管間質腫瘍(GISTs)の予後予測マーカーの開発を目的としたプロテオミクスの検討
第41回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2008.07 浜松)

末原義之, 中馬広一, 他：
骨・軟部腫瘍の予後・組織マーカーの開発を目的としたプロテオーム解析
日本整形外科学会基礎学術集会(2008.10 京都)

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

抗癌剤化学療法を施行した高齢軟部肉腫症例（60歳以上）の検討

研究分担者 比留間 徹 神奈川県立がんセンター骨軟部腫瘍外科 部長

研究要旨 60歳以上で入院化学療法を行った軟部肉腫18例の治療成績を検討した。全化学療法95コースで、標準投与量に対する投与量%の中央値は87%であり、奏効率は38.9%であった。生存統計では、治療開始時転移がなく、化療の有効例で予後が良好であった。過去に報告した症例群から原発性悪性骨腫瘍を除き、軟部肉腫症例を対象としたが、症例の集積とともにさらに高齢化する傾向があった。しかし軟部肉腫に限っても、高齢症例で neoadjuvant chemotherapy の意義はあると考えられる。

A. 研究目的

他の癌腫に比べ骨軟部肉腫は、発生頻度が少なく、一般的に治療対象年齢も低いことから、高齢症例に対する治療は標準化されていない。特に手術に併用する全身的な抗癌剤化学療法（以下化療）の位置付けに関する報告は少ない。今回は特に本研究の対象である軟部肉腫に焦点をあて、60歳以上で化療を施行した症例において、投与量・有効性・有害事象・生存割合を調査・検討した。

B. 研究方法

1987年～2007年に当科で治療した60才以上の軟部肉腫は171例であった。そのうち入院し静脈投与の化療を行った18例を対象とした。男性11、女性7例、治療開始時年齢は57～84（平均66.2）歳、治療開始時年齢は59～85（平均67.4）歳であり、治療開始後の追跡期間は5～106（平均43.5）カ月であった。なお治療開始時年齢が60歳未満の症例でも、化療中に60歳を越えたものは対象とした。病理組織診断はMFH 8、滑膜肉腫3、平滑筋肉腫2、脂肪肉腫2、その他3例で、発生部位は大腿8、下腿4、後腹膜・臀部各2、上腕・前胸壁筋肉内各1例ずつであった。

全例に切除術を行っているが、広範切除以上が10例であり、原発病巣・転移病巣いずれかに放射線治療を行っているものは7例であった。治療開始時M0は13例

治療開始時に遠隔転移なし（M0）が13例、遠隔転移あり（M1）が5例で、化療開始の目的は、「術前の adjuvant」が5例、「初期治療後遠隔転移に対する palliative」が13例であった。使用した抗癌剤は、Ifosfamide (IFO), Etoposide (VP16), Adriamycin (ADM) / Pirarubicin (THP), Cis-platinum (CDDP) などで、これらを単剤ないしは併用にて投与した。

症例ごとに施行した化療は1～16（中央値4）コースであった。全18例では95コースで、IFO・VP16併用が37、ADM/THP23、IFO大量22、CDDP・ADM併用6、IFO・ADM併用6、その他1コースであった。

これらに対して、1. 化療コースごとの標準投与量に対する投与量割合（%）、2. 重篤な有害事象、3. 化療の有効性、4. 生存率とそれに影響を及ぼす因子（治療開始時M0 vs M1・化療効果の有無・64歳以下 vs 65歳以上・adjuvant vs palliative）を検討した。

C. 研究結果

1. 標準投与量に対する投与量割合

全例95コースの標準投与量に対する実際の投与量割合（%）は42～113%で、中央値は87%であった。初期投与を75～95%に抑え反応をみてから増量する傾向があった。

2. 重篤な有害事象

重篤な有害事象としては、VP16によると思われる骨髄異形成症候群による死亡を2例に認めた。

3. 化療の有効性

全18例の治療効果はPRを7例に認め、奏効率38.9%であった。

4. 生存率とそれに影響を及ぼす因子

全18例の転帰はCDF 1, NED 1, AWD 3, DOD 13であり、3年生存率は53.6%、5年生存率は45.9%であった。治療開始時M0の15例では、それぞれ3年生存率65.0、5年生存率55.7%であった。PRを認めた化療有効例7例では3生率71.4、5生率53.6%で、治療開始時M0でかつ化療有効の6例ではそれ

ぞれ 83.3, 62.5%と良好であった。治療開始 64 歳以下と 65 歳以上の比較では、前者の方が、予後良好な傾向であったが、化療コース数、実投与量割合とも両群に差はなかった。

D. 考察

今回原発性悪性骨腫瘍を除いた軟部肉腫症例を対象としたが、症例の集積とともにさらに高齢化する傾向があった。80 歳以上の超高齢ともいふべき 2 症例に対しては、adjuvant 的に行う化療はためらわれ、両症例とも遠隔転移出現に対して、適応およびインホームドコンセントを十分に確認して行った。臨床的には局所再発部の疼痛軽減などある程度の効果がみられたが、PR までは得られなかった。生存統計においては、骨原発腫瘍を含んでいた前回報告同様、治療開始時 M0 でかつ化療有効例では予後良好であり、やはり切除術前に化療を行い、効果と有害事象を確認する意義はあると考えられる。65 歳を cut off とした検討では、64 歳以下でやや予後良好の傾向があったが、化療コース数、実投与量割合に差はなく、年齢補正によって収斂される範囲内の予後の差と思われる。主研究の年齢上限を 70 歳以下としたが、われわれの今回の報告でも 65 歳に境界をおく根拠が乏しく、70 歳まで含める整合性はある。しかし身体的予備機能が 20 歳台、30 歳台とは明らかに異なるため、60 歳以上の症例では注意を要することは従来通り必要であろう。

E. 結論

1. 60 歳以上で入院化学療法を行った軟部肉腫 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 95 で、標準投与量に対する投与量%の中央値は 87% であった。
3. 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 2 例認めた。
4. 18 例の奏効率は 38.9% であった。
5. 18 例の転帰は CDF 1, NED 1, AWD 3, DOD 13 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る。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamashita T, Hiruma T, et al.: Changes in physical function after palliative surgery for metastatic spinal tumor: association of the revised Tokuhashi score with neurologic recovery. Spine: 33(21): 2341-2346, 2008

2. 学会発表

比留間徹, 他: 抗癌剤化学療法を施行した高齢軟部肉腫症例 (60 歳以上) の治療成績. 第 41 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2008.7.17)

竹山昌伸, 比留間徹, 他: 滑膜肉腫の治療成績—化学療法の意義—. 第 41 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術総会 (2008.7.17)

日塔寛昇, 比留間徹, 他: 熱傷治療 26 年後に血管肉腫, 41 年後に悪性線維性組織球腫を発症した 1 例. 第 41 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2008.7.17)

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

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準的治療法の確立に対する研究

研究分担者 尾崎 敏文 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科整形外科学 教授

研究要旨 本邦における70歳以上の高齢者軟部肉腫の治療成績について調査し、術後遠隔転移（以下転移）、術後局所再発（以下再発）に影響を及ぼす因子について検討を行った。累積5年生存率は83%であり、転移率は23%、再発率は19%であった。転移に関しては組織学的悪性度（高悪性度）が統計学的に有意な危険因子であった。再発に関しては腫瘍発生部位（体幹部発生）、手術切除縁（inadequate margin）が統計学的に有意な危険因子であった。放射線療法併用なしの条件下でadequate margin群とinadequate margin群とを比較するとinadequate群で有意に再発が多かったが、放射線療法併用のinadequate群と放射線療法併用なしのadequate群とを比較すると再発に関して有意差が消失した。放射線療法は局所コントロールに有効であることが示唆された。高齢者軟部肉腫における転移、再発の危険因子は、過去に報告されているものと同様であった。つまり高悪性度軟部肉腫は転移のリスクが高く、頻回な胸部部CT検査などの厳重な術後経過観察が重要である。また不十分な切除や広範切除困難な体幹部発生腫瘍においては再発のリスクが高く、wide 2cm以上の広範切除が局所コントロールには重要であることが分かった。化学療法については併用された症例が4例のみであり、全身状態や合併症等の問題により高齢者に対しては、施行困難であることが同われた。放射線療法は局所コントロールに有効であり、切除縁の厳しくなった症例には考慮すべきと思われた。

また、近年、造血器腫瘍患者を対象としたHDAC阻害剤とDNA脱メチル化剤併用の臨床試験結果が報告されている。本研究では、滑膜肉腫細胞株を用いて経口投与可能なHDAC阻害剤valproic acid(VPA)とDNA脱メチル化剤zebularine(Zeb)による抗腫瘍効果を検討した。in vitroでVPAとZebの併用群では単剤に比べ低濃度で増殖抑制効果を認めた。In vivoのマウス担癌モデルにおいて、VPA、Zeb単剤投与群に比べ、VPA+Zeb併用群において著明な抗腫瘍効果を認めた。HDAC阻害剤と脱メチル化剤の併用は、DNAのエピジェネティックな変化を調節による新たな滑膜肉腫治療の可能性を示した。

＜高齢者軟部肉腫治療後における遠隔転移と局所再発に関する検討
骨・軟部肉腫治療研究会（JMOG）多施設共同研究＞

A. 研究目的

近年、高齢者の人口は増加しており、高齢者に発生した軟部肉腫を治療する機会も増えてきた。しかしながら、高齢者では全身状態や合併症等の問題により根治的手術や補助化学療法を行うことが困難なことがある。これまで高齢者に限定した軟部肉腫に関する報告はほとんどされておらず、日本における70歳以上の高齢者軟部肉腫の術後における転移、再発の危険因子について検討を行った。

B. 研究方法

1995年1月から2006年8月までにJMOG参加施設

設を受診した70歳以上の軟部肉腫症例を対象とした。アンケート方式による多施設共同後ろ向き調査研究を実施し、計11施設より289症例の回答が得られた。術前M1症例を除く手術施行例で術後1年以上経過観察できた155例に対して年齢（80歳未満vs80歳以上）、性、組織型（MFH vs 脂肪肉腫 vs その他）、悪性度（高悪性度 vs low 低悪性度）、原発部位、腫瘍サイズ、腫瘍深度、前医手術の有無、切除縁（adequate margin (wide 2cm 以上) vs inadequate margin)、放射線療法の併用、化学療法の併用について解析を行った。

（倫理面への配慮）

原則として本人または親族に腫瘍データベース登録に関する同意をいただき、データ管理、データ解析、報告において個人情報の流出がないよう厳重に注意を払った。

C. 研究結果

男 81 例、女 74 例、初診時年齢は 70-91 歳 (中央値 75 歳)、経過観察期間 (生存者) は 13-144 ヶ月 (中央値 38 ヶ月) であった。川口の分類で wide 2cm 以上 (adequate margin) の症例が 103 例、放射線療法併用例が 34 例、全身化学療法併用例が 4 例であった。累積 5 年生存率は 83% であった。術後再発率は 19% (29/155)、術後転移率は 23% (35/155) であった。最終転帰は CDF または NED が 114 例、AWD18 例、DOD18 例、DOA5 例であった。転移に関しては組織学手悪性度 (高悪性度) が有意な危険因子であった ($p < 0.001$)。再発に関しては腫瘍発生部位 (体幹部発生)、手術切除縁 (inadequate margin) が統計学的に有意な危険因子であった ($p < 0.001$)。放射線療法併用なしの条件下で adequate margin 群と inadequate margin 群とを比較すると inadequate 群で有意に再発が多かったが ($p < 0.01$)、放射線療法併用の inadequate 群と放射線療法併用なしの adequate 群とを比較すると再発に関して有意差が消失した ($p = 0.55$)。

D. 考察

高齢者においても組織学的高悪性度は転移の強力な危険因子であり、頻回な胸部 CT 検査などの厳重な術後経過観察が重要であると思われた。また局所コントロールのためには wide 2cm 以上の広範切除が重要な因子であったが、高齢者の場合、全身状態、合併症等の問題により、広範切除を行うことが困難な場合も予想される。そこで切除縁の厳しい症例に対しては放射線療法の併用も考慮すべきであると思われた。化学療法に関しては施行例が少なく、その効果については検討不能であった。

E. 結論

70 歳以上の高齢者軟部肉腫症例においても組織学的高悪性度の症例は、頻回な胸部 CT 検査などの厳重な術後経過観察が重要である。局所コントロールのためには wide 2cm 以上の広範切除が重要であり、切除縁の厳しい症例に対しては放射線療法の併用も考慮すべきであると思われた。

<滑膜肉腫における HDAC 阻害剤 Valproic acid と DNA 脱メチル化剤 Zebularine の併用による抗腫瘍効果>

A. 研究目的

滑膜肉腫細胞株を用いて経口投与可能な HDAC 阻害剤 valproic acid (VPA) と DNA 脱メチル化剤

zebularine (Zeb) による抗腫瘍効果を検討した。

B. 研究方法

滑膜肉腫細胞株 SYO-1 を使用し、in vitro では VPA と Zeb の細胞増殖抑制および細胞傷害活性、ヒストンアセチル化、DNA メチル化 (Methylation specific-PCR 法) を調べた。

in vivo ではヌードマウス腫瘍担癌モデルを作製し、(A) VPA、(B) Zeb (high; 175mg/kg)、(C) VPA + Zeb (low; 80mg/kg)、(D) VPA + Zeb (high)、(E) vehicle の 5 群に分けた。(B)、(C)、(D) 群は Zeb を 1 日 3 回 3 日間連続腹腔内注射、また (A)、(C)、(D) 群は VPA を 1 日 1 回 4mg/kg 経口投与しさらに 0.4% VPA を飲料水に混合し自由摂取させた。(E) 群は対照として PBS 腹腔注射を行った。腫瘍体積と体重を測定し、3 週間後腫瘍摘出を行った。摘出腫瘍においてヒストンアセチル化、アポトーシスを組織学的に評価した。

(倫理面の配慮)

動物実験では、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、実験を行った。

C. 研究結果

in vitro において、VPA、Zeb 単独投与で濃度依存性に細胞増殖抑制を認めた。二剤併用群では、より低濃度で増殖抑制が見られた。また濃度依存性に TUNEL 陽性細胞の増加を認めた。VPA 投与群において、添加後 24 時間でヒストンアセチル化の亢進を認め、Zeb 添加群では添加後 72 時間で DNA 脱メチル化を認めた。

in vivo では (D)、(C)、(B)、(A) 群の順に抗腫瘍効果を認め、day14 では (A) 群に比べ (C)、(D) 群ではそれぞれ 71%、61% の腫瘍体積の縮小を認めた ($p < 0.01$)。 (D) 群では Zeb 投与開始後から著明な体重減少が見られたが、投与終了以降は回復した。摘出腫瘍において、濃度依存性にヒストンアセチル化の亢進、TUNEL 陽性細胞の増加を認めた。

D. 考察

滑膜肉腫細胞において in vitro で VPA と Zeb の併用群では単剤に比べ低濃度で増殖抑制効果を認めた。これらの薬剤の投与により、DNA のヒストンアセチル化の亢進、メチル化の抑制が見られた。その結果、細胞増殖抑制、アポトーシスの亢進を誘導していた。in vivo においても二剤併用群で強い細胞増殖抑制効果を示した。二剤併用群では急激な体重

減少を認めたため、今後更に安全に投与可能な各薬剤の濃度を検討する必要がある。

E. 結論

滑膜肉腫細胞株を用いて経口投与可能な HDAC 阻害剤 valproic acid(VPA)と DNA 脱メチル化剤 zebularine(Zeb)による抗腫瘍効果を検討した。in vitro, in vivo において VPA、Zeb 単独投与に比べ、二剤併用群では、より低濃度で増殖抑制が見られた。HDAC 阻害剤と DNA 脱メチル化剤併用療法は、新たな滑膜肉腫治療の可能性を示唆している。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Takenaka S, Ozaki T, et al.:

Prognostic implication of SYT-SSX fusion type in synovial sarcoma: a multi-institutional retrospective analysis in Japan. *Oncol Rep*, 19(2): 467-476, 2008

Takeda K, Ozaki T, et al.:

Photodynamic therapy with ATX-S10.Na(II) inhibits synovial sarcoma cell growth.

Clin Orthop Relat Res, 466(7): 1726-1733, 2008

佐々木剛, 尾崎敏文, 他:

シスプラチン投与後に低 Na 血症 (SIADH) をきたした骨肉腫の 4 症例。

中部整災誌, 51(1): 77-78, 2008

杉本佳久, 尾崎敏文, 他:

MRI において転移性脊椎腫瘍と鑑別を要した再生不良性の貧血の 1 例。

整形外科, 59(5): 489-496, 2008

杉原進介, 尾崎敏文, 他:

ダイナミック MRI による骨・軟部腫瘍の診断。関節外科, 27(10 月増刊号): 158-168, 2008

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

軟骨系骨腫瘍における悪性度評価 -タリウムシンチグラフィと DMSA シンチグラフィを用いて-。関節外科, 27(10 月増刊号): 190-196, 2008

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

骨腫瘍 気をつける MRI 所見。Monthly Book

Orthopaedics, 21(9): 20-24, 2008

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

頰骨骨腫に対する経皮的 CT ガイド下ラジオ波焼灼術 (RFA) の治療経験。

中部整災誌, 51(5): 911-912, 2008

米田泰史, 尾崎敏文, 他:

胸椎原発 Ewing 肉腫の 2 例。

中部整災誌, 51(5): 1021-1022, 2008

佐々木剛, 尾崎敏文, 他:

無輸血治療を希望する骨肉腫患者の治療経験。

中部整災誌, 51(6): 1083-1084, 2008

雑賀建多, 尾崎敏文, 他:

股関節滑膜炎性軟骨腫瘍の 1 例。

Hip Joint, 34: 796-800, 2008

森本裕樹, 尾崎敏文, 他:

大腿に発生した desmoplastic fibroblastoma の 2 例の経験。中部整災誌, 51(5): 851-852, 2008

杉原進介, 尾崎敏文, 他:

見逃さないための骨軟部腫瘍診断 ABC :

転移性骨腫瘍を見逃さないために。

Monthly Book Orthopaedics, 21(9): 75-82, 2008

2. 学会発表

Kunisada T, Ozaki T, et al.:

Perforator Flap for Reconstruction Following Resection of Bone and Soft Tissue Tumors. 75th American Academy of Orthopaedics Surgeons (AAOS). (2008.3.5-9)

Kunisada T, Ozaki T, et al.:

Assessment of The Response of Osteosarcoma Patients to Preoperative Chemotherapy Using Thallium Scan. 21th EMSOS (European Musculo-Skeletal Oncology Society) Annual Meeting. (2008.5.14-16)

Ozaki T, et al.:

Clinical Outcome of Soft Tissue Sarcoma in Elderly Patients : The Japanese Musculoskeletal Oncology Group (JMOG) Study. 21th EMSOS (European Musculo-Skeletal Oncology Society) Annual Meeting. (2008.5.14-16)

Yoshida A, Ozaki T, et al.:

Anti-Proliferative Effect of Histone Deacetylase Inhibitor, Valproic Acid on Bone and Soft tissue Sarcoma Cells in vitro and in vivo. 21th EMSOS (European Musculo-Skeletal Oncology Society) Annual Meeting. (2008.5.14-16)

Morimoto Y, Ozaki T, et al.:

Antitumorigenic Effect of the Combination Therapy with Histone Deacetylase Inhibitor and DNA Methylation Inhibitor in Synovial Sarcoma Cell. An AACR Special Conference in Cancer Research Cancer Epigenetics. (2008.5.28-31)

Numoto K, Ozaki T, et al.:

Low Expression of RASSF1A Correlated with Poor Survival in the Patient with Synovial Sarcoma. An AACR Special Conference in Cancer Research Cancer Epigenetics. (2008.5.28-31)

Morimoto Y, Ozaki T, et al.:

Single nucleotide polymorphism in reduced folate carrier-1 gene and methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with osteosarcoma. 20th Meeting of the European Association for Cancer Research (EACR). (2008.7.5-8)

Kunisada T, Ozaki T, et al.:

Assessment of the response of osteosarcoma patients to preoperative chemotherapy using thallium scan. 7th Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society, (Beijing, China, 2008.9.26-28)

Sasaki T, Ozaki T, et al.:

Prosthetic knee reconstruction for distal femoral osteosarcoma in Jehovah's Witnesses without blood products support. 7th Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society, (Beijing, China, 2008.9.26-28)

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

類骨骨腫に対する経皮的 CT ガイド下ラジオ波焼灼術 (RFA) の治療経験. 第 110 回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会 (2008.4.11-12)

米田泰史, 尾崎敏文, 他:

胸椎原発 Ewing 肉腫の 2 例. 第 110 回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会 (2008.4.11-12)

大畑範英, 尾崎敏文, 他:

無輸血治療を希望する骨肉腫患者の治療経験. 第 110 回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会 (2008.4.11-12)

森本裕樹, 尾崎敏文, 他:

大腿に発生した desmoplastic fibroblastoma の 2 例の経験. 第 110 回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会 (2008.4.11-12)

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

遠隔転移を生じた悪性軟部腫瘍の治療成績. 第 81 回日本整形外科学会学術集会 (2008.5.22-25)

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

タリウムシンチ, DMSA シンチを用いた長管骨発生軟骨系骨腫瘍の悪性度診断. 第 41 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.7.17-18)

森本裕樹, 尾崎敏文, 他:

RECIST WHO 基準を用いた悪性軟部腫瘍に対する化学療法効果判定の検討. 第 41 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.7.17-18)

米田泰史, 尾崎敏文, 他: 高齢者軟部肉腫の治療と予後 (中間報告): 骨・軟骨肉腫治療研究会 (JMOG) 多施設共同研究. 第 41 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.7.17-18)

佐々木剛, 尾崎敏文, 他:

学童期以前の軟部腫瘍の経験. 第 41 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2008.7.17-18)

吉田晶, 尾崎敏文, 他: 滑膜肉腫細胞株 SYO-1 初代培養細胞からの新しい細胞株の樹立. 第 41 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会. (2008.7.17-18)

佐々木剛, 尾崎敏文, 他:

大腿骨遠位部悪性骨腫瘍に対する腫瘍用人工関節. 第 111 回中部日本整形外科学会災害外科学会学術集会. (2008.10.17-18)

森本裕樹, 尾崎敏文, 他:

骨肉腫患者における葉酸代謝関連遺伝子の一塩基多型の検討. 第 23 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2008.10.23-24)

佐藤千明, 尾崎敏文, 他: ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤と DNA 脱メチル化剤の併用による滑膜肉腫細胞株に対する抗腫瘍効果の検討.
第 23 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2008.10.23-24)

米田泰史, 尾崎敏文, 他: 滑膜肉腫関連蛋白の細胞内局在に影響を与える薬剤および蛋白に関する検討. 第 23 回日本整形外科学会基礎学術集会
(2008.10.23-24)

植村享裕, 尾崎敏文, 他: 血管柄付広背筋皮弁の有用であった左下腿腫瘍の 1 例.
第 167 回岡山山外科会 (2008.10.25)

森本裕樹, 尾崎敏文, 他:
骨膜性軟骨腫の 5 例の治療成績.
第 41 回中国・四国整形外科学会
(2008.11.15-16)

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

マウス骨肉腫モデルにおける液体窒素処理による抗腫瘍効果の増強に関する研究

研究分担者 土屋 弘行 金沢大学大学院医学系研究科機能再建学(整形外科) 准教授

研究要旨 今回我々は原発性悪性骨腫瘍でもっとも頻度の高い骨肉腫に対し新たな治療体系の確立を目指し基礎実験を行った。マウス骨肉腫モデルを用いて液体窒素を用いた凍結手術で免疫反応の活性と転移の抑制を引き起こされないか検討を行った。方法 C3H マウス、メス、6～8週を用い、マウス骨肉腫細胞(LM8)を用いた。LM8細胞(1×10^6 個)をPBS 0.2mlに混和させてマウスの右背部の皮下に接種し、2週間後に腫瘍組織を1)腫瘍切除群、2)腫瘍切除+OK-432群、3)液体窒素処理群、4)液体窒素処理+OK-432群の4つに分けて治療を行った。液体窒素処理は腫瘍広範切除後に腫瘍組織を液体窒素内に20分間挿入し凍結させ同じマウスに移植した。OK-432は非特異的免疫賦活剤で治療直後、治療後1週間、2週間の合計3回、マウスの腹腔内に注射した。治療後3週目に各群のマウスを安楽死させ評価を行った。脾臓より単核細胞を採取しLM8の溶解物質を混入し培養を行い72時間後に上清を採取しIFN- γ とIL-12をELISA法を用いて測定した。細胞傷害活性として脾細胞をエフェクター細胞とし、LM8を標的細胞として 51Cr 放出試験を行った。肺転移は肺臓器を採取し肉眼的に肺転移数を測定した。腹部転移は転移巣の長径を測定した。結果 サイトカイン測定ではIFN- γ は液体窒素処理+OK-432群が腫瘍切除群に比べて有意に値が上昇していた。IL-12は液体窒素処理+OK-432群が腫瘍切除群および腫瘍切除+OK-432群に比べて有意に値が上昇していた。細胞傷害活性では液体窒素処理群と腫瘍切除群を比べると液体窒素処理群のほうが各比率において有意に細胞傷害活性が上昇していた。また、液体窒素処理にOK-432を加えた群では相乗的に細胞傷害活性が上昇していた。肺転移数では液体窒素処理+OK-432群が腫瘍切除群に比べて有意に減少していた。腹部転移の大きさでも液体窒素処理+OK-432群が腫瘍切除群に比べて有意に縮小していた。結語 腫瘍組織を液体窒素処理し体内に戻すことで免疫反応の活性と転移の抑制を認め、OK-432を併用することでその効果は相乗的に増加した。これらの反応は悪性骨腫瘍に対し液体窒素処理骨を用いた再建術を行った患者に新たな利益をもたらすものと考えられる。

A. 研究目的

骨肉腫は原発性悪性骨腫瘍の中でもっとも頻度の多い腫瘍である。術前後の化学療法に腫瘍広範切除を行う標準的な治療方法の確立により5年生存率が60～90%と各段に改善した。しかし、いくつかの患者でこれらの治療に抵抗性で、肺転移などをきたし死に至っている。これらの患者にはより効果的で全身的な治療方法が求められている。

凍結手術(Cryosurgery)は液体窒素などを用いて組織を凍結破壊させる手術で、これまでに主に凍結プローブを通して直接腫瘍組織に接触させる方法で肝癌、前立腺癌、腎癌、乳癌などに使われ良好な結果を得ている。我々は悪性骨腫瘍に対し、広範切除した腫瘍罹患骨を一塊として液体窒素内に20分間挿入し凍結させ、その後緩やかに融解させる液体窒素処理で、腫瘍細胞を死滅させたうえで再び体

戻して欠損部を再建する患肢温存手術を行ない、これまで良好な成績をおさめている。一方で凍結手術は腫瘍細胞の壊死をきたすだけでなく、凍結壊死した腫瘍組織から遊離される腫瘍抗原に刺激されて全身的な抗腫瘍免疫反応を引き起こすことが報告されている。もし、液体窒素処理骨による再建法で生体内に抗腫瘍免疫反応が引き起こされ遠隔転移が抑制されれば、他の再建法と比べて液体窒素処理骨による再建法が選りすぐれたものと考えられる。本研究ではマウス骨肉腫モデルを用いて液体窒素を用いた凍結手術で免疫反応の活性と転移の抑制を引き起こされないか検討を行った。

B. 研究方法

C3H マウス、メス、6～8週を用い、マウス骨肉腫細胞(LM8)を用いた。腫瘍組織の作成のため

LM8 細胞(1×10^6 個)を PBS 0.2ml に混和させてマウスの右背部の皮下に接種した。接種 2 週間後に腫瘍組織を 4 つに分けて治療を行った。

1) 腫瘍切除群、2) 腫瘍切除+OK-432 群、3) 液体室素処理群、4) 液体室素処理+OK-432 群。

1)、2) の腫瘍切除は腫瘍広範切除を行った。3)、4) の液体室素処理は腫瘍広範切除後に腫瘍組織を摘出し液体室素内に一塊として 20 分間挿入し凍結させ、その後室温、蒸留水内でそれぞれ 15 分間かけて溶解させた。凍結溶解させた腫瘍処理組織を同じマウスの左背部の皮下に移植した。2)、4) の OK-432 (ピシパニール®) は連鎖球菌をペニシリン処理し凍結乾燥させた免疫賦活剤で治療直後、治療後 1 週間、2 週間の合計 3 回、マウスの腹腔内に 1 KE 注射した。治療後 3 週目に各群のマウスを安楽死させ評価を行った。〈サイトカイン測定〉脾臓より単核細胞を採取し LM8 の溶解物質を 10:1 の割合で混入し培養を行った。培養 72 時間後に上清を採取し IFN- γ と IL-12 を ELISA 法を用いて測定した。〈細胞傷害活性〉脾臓細胞を LM8 溶解物質を加え培養したのち 5 日目に採取しエフェクター細胞とした。また、標的細胞として LM8 を ^{51}Cr 標識した。それぞれを混合培養させ培養上清より γ カウンターで放射能をカウントする ^{51}Cr 放出試験を行った。〈肺および腹部転移〉肺転移は肺臓器を採取し肉眼的に肺転移数を測定した。腹部転移は転移巣の長径を測定した。ELISA 法と ^{51}Cr 放出試験のデータは対応のないスチューデント t 検定を肺および腹部転移はマン・ホイットニ検定を行い、 $P < 0.01$ を有意水準として検討した。

(倫理面への配慮)

本試験は対象が動物であり学内の動物実験倫理委員会で承認を得られている。また、本試験(動物実験)を行うにあたり学内規程を遵守し対策・措置を講じた上で研究を実施している。

C. 研究結果

〈サイトカイン測定〉IFN- γ は液体室素処理+OK-432 群が腫瘍切除群に比べて有意に値が上昇していた。また、液体室素処理群は腫瘍切除群に比べて IFN- γ の値が高い傾向であった。IL-12 は液体室素処理+OK-432 群が腫瘍切除群および腫瘍切除+OK-432 群に比べて有意に値が上昇していた。〈細胞傷害活性〉液体室素処理群と腫瘍切除群を比べると液体室素処理群のほうがエフェクター細胞と標的細胞の各比率において有意に細胞傷害活性が上昇していた。また、液体室素処理に OK-432 を加えた群では相乗的に細胞傷害活性が上昇してい

た。〈肺および腹部転移〉肺転移数では液体室素処理+OK-432 群が腫瘍切除群に比べて有意に減少していた。また、腫瘍切除群および腫瘍切除+OK-432 のすべてのマウスに肺転移が認められたが、液体室素処理群と液体室素処理+OK-432 群の 6 匹中 2 匹(33%)にまったく転移をきたしていないものを認めた。腹部転移の大きさでも液体室素処理+OK-432 群が腫瘍切除群に比べて有意に縮小していた。また、腫瘍切除群および腫瘍切除+OK-432 のすべてのマウスに腹部転移が認められたが、液体室素処理群の 6 匹中 3 匹(50%)液体室素処理+OK-432 群の 7 匹中 4 匹(57%)にまったく転移をきたしていないものを認めた。

D. 考察

今回の検討で液体室素処理を行なった腫瘍組織を生体内に移植すると、免疫反応の活性化と転移抑制を引き起こすことがわかった。まず液体室素処理に OK-432 を併用すると腫瘍切除群に比べサイトカインの上昇を認めた。これまでに凍結組織から出されて壊死組織がさまざまなサイトカインを産生させ、炎症反応を引き起こす。そしてそのサイトカインの種類により生体の反応が決まってくるといわれている。今回の結果で IFN- γ と IL-12 の Th1 サイトカインの上昇を認めた。このサイトカインの上昇は液体室素処理された腫瘍組織内の腫瘍抗原が生体内で感作され細胞性免疫の活性を引き起こしたと考えられた。さらに腫瘍細胞である LM8 に特異的な細胞傷害活性を測定した。凍結手術では宿主の免疫組織反応が凍結破壊された腫瘍組織によって感作され、生体内に腫瘍組織に対する免疫活性が引き起こされると報告されている。今回の結果においても腫瘍細胞である LM8 に対して液体室素処理したマウスの脾臓細胞は腫瘍切除のみのマウスの脾臓細胞に比べて腫瘍特異的な細胞傷害活性の上昇を認めた。また、液体室素処理に OK-432 を併用すると腫瘍切除群に比べて肺および腹部転移を抑制した。さらに OK-432 の投与にかかわらず腫瘍切除群のすべてに転移をきたしたのに比べて、液体室素処理のみの 50%、OK432 併用の 30%で転移をまったくきたしていないマウスを認めた。このことから、液体室素処理した腫瘍組織を生体内にもどすと腫瘍特異的な免疫活性が上昇し腫瘍の転移を抑制したと考えられ、免疫賦活剤の OK-432 は非特異的な免疫活性の上昇を起すもので腫瘍の転移を完全には抑制できなかったと考えられた。

これまでに凍結手術後の全身的な免疫活性の上昇の報告はいくつかある。Ablin らは臨床症例にお

いて転移を認める前立腺がん患者に対し原発巣に凍結手術を行なったところ転移巣が消失した症例を報告している。また、実験モデルにおいて凍結手術後に転移を抑制した報告や、同一腫瘍を拒絶し、TNF- α 、IFN- γ 、IL-12 のサイトカインの上昇を認め、細胞傷害活性や、NKT 活性の上昇を認めた報告がある。これらの報告から凍結手術は腫瘍組織を破壊するだけでなく、凍結壊死した腫瘍組織から溶出した腫瘍抗原が感作され腫瘍特異的な免疫反応を惹起させる。さらに腫瘍特異的な免疫反応が腫瘍の増殖や転移の抑制を生体内で引き起こされている。しかしこれまでの報告の凍結方法は液体窒素などを凍結プローブやバーを通して皮膚や前立腺や肝臓の生体内の腫瘍組織に接触させ凍結させていた。今回の実験ではこれまでの方法とは異なりわれわれが臨床で行っているように腫瘍組織を一塊として取り出し液体窒素内に体外で凍結させ再び生体内に戻す方法を行った。この方法においても抗腫瘍効果を引き起こすことが確認された。

悪性腫瘍患者の体内には腫瘍細胞の表面に提示されている腫瘍抗原が存在しており、この抗原を特異的に認識したT細胞が存在している。しかし、現実には腫瘍の進展とともに腫瘍抗原が減少し、腫瘍細胞が宿主の免疫活性を抑制するなど腫瘍は増大する。今回の腫瘍組織を液体窒素処理して体内に戻す方法はこれらの免疫抑制に傾くことを取り除く。すなわち、腫瘍組織を広範切除することで腫瘍細胞による免疫活性の抑制を解除し、腫瘍組織を液体窒素処理することで大量の腫瘍抗原が作られ、生体内に戻すことでこの大量の腫瘍抗原が多くの免疫系細胞に取り込まれる。その結果、今回の検討のごとく免疫活性の増強と転移の抑制が働いたと考えられた。

E. 結論

腫瘍組織を液体窒素処理し体内に戻すことで免疫反応の活性と転移の抑制を認め、OK-432 を併用することでその効果は相乗的に増加した。これらの反応は悪性骨腫瘍に対し液体窒素処理骨を用いた再建術を行った患者に他の再建術にはない新たな利益をもたらすものと考えられる。

F. 健康危険情報

本研究を行うにあたり特に健康に危害を与えることはなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamaguchi T, Tsuchiya H, et al.: Distinguishing benign notochordal cell tumors from vertebral chordoma. *Skeletal Radiol*, 37(4): 291-299, 2008

Taki J, Tsuchiya H, et al.: 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(3): 411-418, 2008

Yamauchi K, Tsuchiya H, et al.: Induction of cancer metastasis by cyclophosphamide pretreatment of host mice: an opposite effect of chemotherapy. *Cancer Res*, 68(2): 516-520, 2008

Hayashi K, Tsuchiya H, et al.: Functional outcome in patients with osteosarcoma around the knee joint treated by minimised surgery. *Int Orthop*, 32(1): 63-68, 2008

Kanazawa Y, Tsuchiya H, et al.: Down-regulation of plakoglobin in soft tissue sarcoma is associated with a higher risk of pulmonary metastasis. *Anticancer Res*, 28(2A): 655-664, 2008

Ii S, Tsuchiya H, et al.: Identification of novel genes involved in the synergistic antitumor effect of caffeine in osteosarcoma cells using cDNA microarray. *Anticancer Res*, 28(2A): 645-653, 2008

Karita M, Tsuchiya H, et al.: The antitumor effect of liposome-encapsulated cisplatin on rat osteosarcoma and its enhancement by caffeine. *Anticancer Res*, 28(3A): 1449-1457, 2008

Tanzawa Y, Tsuchiya H, et al.: Histological examination of frozen autograft treated by liquid nitrogen removed 6 years after implantation. *J Orthop Sci*, 13(3): 259-264, 2008

Tsuchiya H, et al.: Safety of external fixation during postoperative chemotherapy. *J Bone Joint Surg Br*, 90(7): 924-928, 2008

Kawahara M, Tsuchiya H, et al.: Caffeine dose-dependently potentiates the antitumor effect of cisplatin on osteosarcomas. *Anticancer Res*, 28(3A): 1681-1685, 2008

Ueda T, Tsuchiya H, et al.: Validation of radiographic response evaluation criteria of preoperative chemotherapy for bone and soft tissue sarcomas: Japanese Orthopaedic Association Committee on Musculoskeletal Tumors Cooperative Study. *J Orthop Sci*, 13(4): 304-312, 2008

Nishida H, Tsuchiya H, et al.: Re-implantation of tumour tissue treated by cryotreatment with liquid nitrogen induces anti-tumour activity against murine osteosarcoma. *J Bone Joint Surg Br*, 90(9): 1249-1255, 2008

木村浩明, 土屋弘行, 他 :
肺転移出現期別に見た骨肉腫肺転移症例の検討.
中部整災誌, 51(1): 47-48, 2008

武内章彦, 土屋弘行, 他 : 骨延長術による骨腫瘍切除後の患肢機能温存手術の長期成績.
中部整災誌, 51(1): 69-70, 2008

西田英司, 土屋弘行, 他 : 悪性骨腫瘍に対する液体窒素処理骨再建後の免疫増強の臨床学的検討.
中部整災誌, 51(1): 81-82, 2008

白井寿治, 土屋弘行, 他 : 悪性腫瘍と鑑別を要する ischemic fasciitis. 中部整災誌, 51(1): 87-88, 2008

武内章彦, 土屋弘行, 他 : 単発性骨嚢腫に対するハイドロキシアパタイト製中空ピンを用いた小浸襲手術. 中部整災誌, 51(5): 907-908, 2008

高田宗知, 土屋弘行, 他 : 骨盤腫瘍に対する液体窒素処理自家骨を用いた再建術の中期成績.
中部整災誌, 51(6): 1081-1082, 2008

高木泰孝, 土屋弘行, 他 : ノバリスによる定位放射線治療が有用であった頸椎ユーイング肉腫の 1 例.
中部整災誌, 51(1): 57-58, 2008

木村浩明, 土屋弘行, 他 : 整形外科疾患の治療 (2) 腫瘍, 骨軟骨腫, 内軟骨腫, 孤立性骨嚢腫.
医学と薬学, 59(2): 137-142, 2008

土屋弘行 : 挑む医療—進歩を実感に—
整形外科, 59(2): 120, 2008

土屋弘行, 他 : 骨盤腫瘍に対する instrumented reconstruction. OS NOW Instruction No.6 Spinal Instrumentation—最良のQOL向上をめざしたコツ&トラブルシューティング, *Medical View*, pp164-176, 2008

2. 学会発表

Tsuchiya H

Application of external fixation to benign bone tumors
5th Meeting of the ASAMI International
(St. Petersburg, Russia, May 28-30, 2008)

Tsuchiya H

- #1 Distraction osteogenesis for tumor reconstruction
- #2 Massive frozen autograft treated by liquid nitrogen
- #3 Application of external fixation for benign bone tumors
- #4 Innovative bone transport for future
Oncologia Ortopedica, VI Congresso Brasileiro De Oncologia Ortopedica
(Maceio, Brazil, March 20-23, 2008)

Tsuchiya H

The role of distraction osteogenesis in tumor surgery
5th Meeting of the ASAMI International
(St. Petersburg, Russia, May 28-30, 2008)

Tsuchiya H

Biological reconstruction: Kanazawa experience
8th International Conference of the Asian Clinical Oncology Society
(Manila, Philippines, 9.21-24 2008)

Tsuchiya H

- #1 Revolutionary impacts of caffeine-potentiated chemotherapy on osteosarcoma treatment
- #2 Cryoimmunology induced after reimplantation of malignant bone tumor treated with liquid nitrogen
2nd World Conference on Magic Bullets (Ehrlich II)
Paul Ehrlich ノーベル賞受賞 100 周年記念学術講演会 (Nurnberg, Germany, 10.3-5 2008)

Tsuchiya H

- #1 Tumor reconstruction using distraction osteogenesis
- #2 Frozen autograft treated by liquid nitrogen after

tumor resection

#3 Biological reconstruction: Kanazawa experience
第 28 回ポルトガル整形外科学会 (Vilamoura, Portugal, 10.29-31, 2008)

Tsuchiya H

#1 Fracture management by Ilizarov method
#2 Ilizarov method for pilon fracture
#3 骨欠損への治療戦略
#4 Introduction to the Taylor Spatial Frame
#5 TSF web
#6 Rings first total residual method
Ilizarov & Taylor Spatial Frame 百万石セミナー
(金沢, 2008.11.16)

土屋弘行

ここまでできた骨腫瘍の治療—KANAZAWA EXPERIENCE 第 42 回西横浜整形外科学会
(横浜市, 2008.2.21, 2008)

土屋弘行

実は怖い骨折—骨を伸ばして治す
北国健康生きがい支援事業—金沢大学プログラム
「腰痛から骨のがんまで—整形の挑戦」
(金沢市, 2008.3.15)

土屋弘行

悪性骨軟部腫瘍に対するカフェイン併用化学療法
の基礎 宮崎大学大学院特別セミナー
(宮崎, 2008.6.16)

土屋弘行

骨腫瘍切除後の生物学的再建術
骨腫瘍 Expert Meeting (宮崎, 2008.6.16)

土屋弘行

ディベート: 患肢温存手術—腫瘍用人工関節の代替
法 (生物学的再建術)
第 41 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会
(浜松, 2008.7.17-18)

土屋弘行

骨腫瘍の治療
第 41 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会
(浜松, 2008.7.17-18)

土屋弘行

カフェイン併用化学療法と患肢温存縮小手術の開
発 第 6 回次世代医療システム産業化フォーラム
2008 (大阪, 2008.9.10)

土屋弘行

創外固定を応用した治療: Arts and Science
第 111 回中部日本整形外科学会災害外科学会教育研修講
演 (金沢, 2008.10.17-18)

土屋弘行

創外固定を応用した治療とその発展性
第 6 回埼玉整形外科トピック・リエゾンセミナー
(うらわ, 2008.10.18)

土屋弘行

骨腫瘍治療への挑戦
福井県臨床整形外科学会教育研修講演
(福井, 2008.11.6)

土屋弘行

カフェインによる薬剤感受性増強
日本婦人科腫瘍学会 (金沢, 2008.11.22-23)

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

中高年者骨肉腫における化学療法実行可能性の検討

研究分担者 井須 和男 北海道がんセンター整形外科 手術部長

研究要旨 40才以上の骨肉腫患者に対する化学療法の有害事象、治療成績を検討した。若年者と同じプロトコルを実施し完遂し得た例は少なかった。プロトコル中断の主な原因は有害事象でありMTX大量療法の腎不全、IFOおよびDOX-CDDP併用療法での骨髄抑制が重要であった。治療成績は若年者と同等であり、中高年齢に適したプロトコル作成が必要と考えられた。

A. 研究目的

骨肉腫の発生年齢は10代を中心とした若年者に多いとされている。しかし、近年の我が国の高齢化に伴い中高年者の割合が増加しつつある。北海道がんセンターの経験でも1985年以後の骨肉腫患者のうち約30%は40才以後であった。骨肉腫の治療成績は化学療法の導入により大きく改善されたが、その対象となったのは主として若年者の患者であった。中高年の患者における化学療法において有害事象の頻度と特徴に違いがあるのか、若年者と同程度に実施可能であるか、その成績は若年者と同等であるかなどの疑問は明らかにされていない。中高年の化学療法施行骨肉腫患者のデータを検討してこれらの点を評価した。

B. 研究方法

北海道がんセンターで1985年から2005年までに扱った骨肉腫患者128例中、40才以上は39例みられた。化学療法は25例に実施された。化学療法が未施行であった例は、70才以上9例、低悪性度2例、進行例2例、診断困難例1例であった。プロトコル治療の実施数、完遂率、使用薬剤の種類、投与量、有害事象、化学療法中止に至った理由を調査した。毒性の評価にはCTCAE v3.0を用いた。初診時に転移のみられないhigh gradeの新鮮例29例でKaplan-Meier法を用いてoverall survival、disease free survival以下を算出した。

C. 研究結果

25例中若年者と同様のプロトコルを開始したものは15例であった。このうち、ほぼ完遂できたものは7例で、2例は投与計画を変更、6例は中断にした。中断は有害事象によるもの4例、患者の希望によるもの2例であった。MTX大量療法は20例に行われgrade3の腎不全が2例にみられた。いずれも

60才以上でクレアチニンが1.0以上の例であった。DOX単独は12例に行われ危険な不整脈(PVC5連発)1例、クレアチニンクリアランス低下が1例にあった。Grade4の好中球減少が53.8%にあった。CDDP単独投与は7例に行われ特に重篤な副作用はなかった。IFOは6例でgrade4の好中球減少が77.8%にみられた。8例のDOX-CDDP併用ではgrade4の好中球減少が92.3%、grade4の血小板減少が21.1%みられた。またクレアチニンクリアランス低下が3例にあった。初診時肺転移のみられない化学療法施行例の5年overall survivalは71%、disease free survivalは62%であった。化学療法未施行例では30%、21%であった。

D. 考察

A. 40才以上の例において若年者と同様のプロトコルは完遂困難な例が多かった。しかし、その治療成績は若年者の成績と同様であった。有効性の証明にはさらに検討が必要であるが、中高年においても化学療法が必要なことが示唆された。MTX大量療法は60才以上、クレアチニン値正常上限例に注意を要する。IFOは骨髄抑制が高度であり投与量を検討する必要がある。DOX、CDDPは単独投与では比較的投与しやすい。しかし、併用療法では骨髄抑制、血液外毒性とも高度で投与に困難なことが多い。これらのデータを踏まえて中高年骨肉腫に対するプロトコルの検討が必要となる。今回、主に70才以上化学療法未施行例の治療成績は不良であったが、これらの例に化学療法が可能かどうかの検討も必要である。

E. 結論

中高年の骨肉腫においても化学療法による治療成績の改善は期待できるが、若年者のプロトコルを変更することが必要である。