

Susa M, Morioka H, et al.:

Surgical treatment of preadolescent osteosarcoma patients

9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Anazawa U, Morioka H, et al.:

CT-guided percutaneous resection of osteoid osteoma combined with thermocoagulation using a standard electrosurgical generator

9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Nakayama R, Morioka H, et al.:

Clinical outcome of recurrent myxofibrosarcoma

9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Nakayama R, Morioka H, et al.:

Detection of HEY1-NCOA2 fusion by fluorescence in situ hybridization in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues as a possible defining diagnostic tool in mesenchymal chondrosarcoma

9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Mori T, Morioka H, et al.:

Treatment of tibial adamantinoma; a study of 4 cases

9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Hirozane T, Morioka H, et al.:

Clinical features of osteoid osteoma arising from the femoral neck

9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Susa M, Morioka H, et al.:

Clinical outcome after hemipelvectomy for malignant bone tumors of the pelvic girdle

The 17th Annual Meeting of the Connective Tissue Oncology Society(CTOS)  
(2012.11.14-17 Prague, Czech Republic)

Anazawa U, Morioka H, et al.:

Malignant peripheral nerve sheath tumors: clinical study of 37 cases

The 17th Annual Meeting of the Connective Tissue Oncology Society(CTOS)  
(2012.11.14-17 Prague, Czech Republic)

Kikuta K, Morioka H, et al.:

Proteomic study on myxofibrosarcoma to develop invasion and recurrence related biomarkers

The 17th Annual Meeting of the Connective Tissue Oncology Society(CTOS)  
(2012.11.14-17 Prague, Czech Republic)

Kobayashi E, Morioka H, et al.:

MicroRNA expression and functional profiles of osteosarcoma

The 17th Annual Meeting of the Connective Tissue Oncology Society(CTOS)  
(2012.11.14-17 Prague, Czech Republic)

湊本康史, 森岡秀夫, 他:

小児固形腫瘍における腫瘍幹細胞に関する研究  
第49回日本小児整形外科学会 (2012.5.14-16 横浜)

森岡秀夫, 他:

難治性良性骨・軟部腫瘍治療の創意 単純性骨嚢腫  
に対する治療法の工夫

第 85 回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)

早乙女進一, 森岡秀夫, 他:

整形外科におけるトランスレーショナルリサーチ  
多孔質ハイドロキシアパタイト・コラーゲン複合  
(HAp/Col)の開発 基礎研究から臨床応用へ

第 85 回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)

須佐美智郎, 森岡秀夫, 他:

患肢温存手術を行った思春期前骨肉腫症例の治療  
経験

第 85 回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)

菊田一貴, 森岡秀夫, 他:  
粘液線維肉腫の浸潤再発に関わるバイオマーカー  
開発を目指したプロテオーム解析  
第 85 回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)

早乙女進一, 森岡秀夫, 他:  
多孔質ハイドロキシアパタイト・コラーゲン複合体  
(HAp/Col)の臨床応用  
第 85 回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)

森岡秀夫, 他:  
体幹部(脊椎を除く)悪性骨・軟部腫瘍への治療戦略  
胸壁発生悪性骨腫瘍の治療  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

堀内圭輔, 森岡秀夫, 他:  
基礎研究の現状と展望 分子標的治療の現状と展望  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

稲葉尚人, 森岡秀夫, 他:  
著明な石灰化を伴った腸骨筋内発生近位型類上皮  
肉腫の 1 例  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

須佐美智郎, 森岡秀夫, 他:  
片側骨盤切除または離断術を施行した骨盤発生悪  
性骨腫瘍の治療成績  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

穴澤卯圭, 森岡秀夫, 他:  
悪性末梢性神経鞘腫瘍(malignant peripheral nerve  
sheaths tumor:MPNST)の臨床像および治療成績の検  
討  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

中山ロバート, 森岡秀夫, 他:  
粘液線維肉腫の治療成績  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

保坂聖一, 森岡秀夫, 他:  
淡明細胞肉腫の治療成績  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

森智晃, 森岡秀夫, 他:  
脛骨原発アダマンチノーマ4例の治療成績  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

中山ロバート, 森岡秀夫, 他:  
中高齢者(40歳以上)骨肉腫の治療成績  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

須佐美智郎, 森岡秀夫, 他:  
患肢温存手術を行った思春期前悪性骨腫瘍の治療  
経験  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

須佐美智郎, 森岡秀夫, 他:  
良性骨軟部腫瘍に対する治療法 私の工夫  
大腿骨近位病変を伴う多骨性線維性骨異形成症の  
治療経験  
第 61 回東日本整形災害外科学会  
(2012.9.21-22 高崎)

弘實透, 森岡秀夫, 他:  
大腿骨頸部に発生した類骨骨腫の 4 例  
臨床的特徴について  
第 61 回東日本整形災害外科学会  
(2012.9.21-22 高崎)

渡部逸央, 森岡秀夫, 他:  
類骨骨腫に対する CT ガイド下経皮手術  
第 61 回東日本整形災害外科学会  
(2012.9.21-22 高崎)

中山ロバート, 森岡秀夫, 他:  
間葉性軟骨肉腫の病理診断における FISH 法を用い  
た腫瘍特異的融合遺伝子 HEY1-NCOA2 検出の有  
用性  
第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
(2012.10.26-27 名古屋)

福田慎介, 森岡秀夫, 他:

CTガイド下に治療を行った仙骨類骨骨腫の1例  
第665回整形外科集談会東京地方会(2012.11 東京)

大久保寿樹, 森岡秀夫, 他:

腸骨に生じた脱分化型軟骨肉腫の1例  
第665回整形外科集談会東京地方会(2012.11 東京)

中川瑠美, 森岡秀夫, 他:

神経線維腫症1型に発症した悪性末梢神経鞘腫瘍の  
手術治療経験  
第4回日本レックリングハウゼン病学会  
(2012.11.4 東京)

G. 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

悪性骨軟部腫瘍における予後予測因子としての血清 d-dimer 値

研究分担者 望月 一男 杏林大学医学部整形外科 教授

研究要旨 原発性骨軟部悪性腫瘍 85 例を対象とし、血清 d-dimer が予後因子となりうるかを解析した。血清 d-dimer 値および既知の臨床病理学的因子を独立変数とし、局所再発、転移および腫瘍死をエンドポイントとして生存分析を行った。転移および腫瘍死に関して d-dimer 値の亢進は独立した危険因子であることが判明した。

A. 研究目的

担癌状態では凝固能が亢進することが知られており、実際に種々の癌において凝固能の指標である血清 d-dimer 値の亢進と腫瘍の進行度や腫瘍学的予後が相関すると報告されている。骨軟部腫瘍患者においても凝固能の亢進を示唆する報告がなされているが、血清 d-dimer 値と腫瘍学的予後の関係を解析した研究はなされていない。今回血清 d-dimer 値が骨軟部腫瘍の予後予測因子となりうるかを解析したので報告する。

B. 研究方法

凝固能異常を呈する合併症をもたない原発性骨軟部悪性腫瘍 85 例を対象とした。血清 d-dimer 値は、生検、化学療法、放射線療法および切除などを施行する前に測定された値を用いた。血清 d-dimer 値および既知の臨床病理学的因子を独立変数とし、局所再発、転移および腫瘍死をエンドポイントとして生存分析を行った。D-dimer 値のカットオフ値の設定には受信者操作特性曲線解析を、生存分析には Kaplan-Meier 法 log-rank テストおよび Cox 比例ハザードモデルを用いた。

（倫理面への配慮）

施設の IRB で研究に先だって研究計画および内容の発表に関して承認を得た。また患者個人に関するデータは個々人が特定できないように慎重に扱った。

C. 研究結果

D-dimer 値は 0.2 から 8.3  $\mu\text{g/ml}$  (平均 0.84 $\mu\text{g/ml}$ 、中央値 0.42 $\mu\text{g/ml}$ )であった。局所再発、転移および腫瘍死に関する受信者操作特性曲線解析での曲線下面積は 0.437、0.712 および 0.749 であったため、今回局所再発をエンドポイントから除いた。また本解析結果に従い転移および腫瘍死における血清

d-dimer 値のカットオフ値を 0.41 および 0.80 $\mu\text{g/ml}$  とした。生存分析において、転移に関する有意な予後予測因子は血清 d-dimer 値の亢進 ( $p=0.003$ ) と組織学的悪性度 ( $p=0.01$ )であり、腫瘍死に関する有意な予後予測因子は血清 d-dimer 値の亢進 ( $p=0.004$ )、組織学的悪性度 ( $p=0.01$ )およびコンパートメント外への伸展 ( $p=0.04$ )であった。

D. 考察

悪性骨軟部腫瘍においても担癌状態では凝固能が亢進していることが本結果の背景にあると推測された。

E. 結論

治療前血清 d-dimer 値の亢進は骨軟部腫瘍における転移および生命予後の予後予測因子となりうると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Morii T, Mochizuki K, et al.:

Surgical site infection in malignant soft tissue tumors  
J Orthop Sci, 17:51-7, 2012

Morii T, Mochizuki K, et al.:

Reply to “Comment on Morii et al.: Surgical site infection in malignant soft tissue tumors”  
J Orthop Sci, 17:337, 2012

2. 学会発表

森井健司, 望月一男, 他:

悪性骨・軟部腫瘍における予後予測因子としての血清 D-dimer 値  
第 85 回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)

望月一男:

悪性軟部腫瘍の初回手術における **unplanned resection** の問題点  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

森井健司, 望月一男, 他:

血清 **d-dimer** 値は悪性骨・軟部腫瘍の予後予測因子である  
第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
(2012.10.26-27 名古屋)

森井健司, 望月一男, 他:

**BH-3 mimetic** を用いた軟骨肉腫に対する新規補助療法の開発  
第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会  
(2012.10.26-27 名古屋)

G. 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

骨・軟部悪性腫瘍の肺転移を制御する機能分子の探索

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

研究要旨 骨肉腫は青少年期に発生する骨原発悪性腫瘍の中で最も頻度が高い疾患である。近年の集学的治療により生命予後は改善しているが、肺転移を認める症例の5年生存率は3割と極めて不良で、肺転移機構の解明、治療法の開発が骨肉腫症例の更なる生命予後改善に必須である。我々はこれまで骨肉腫肺転移機構解明のため、マウス骨肉腫細胞株Dunnより *in vivo selection* にて高肺転移株LM8を樹立し解析を行ってきた。LM8では恒常的にNF- $\kappa$ Bが活性化されており、NF- $\kappa$ Bによって制御されるVEGF、ICAM-1などの転移関連遺伝子の発現が上昇し、NF- $\kappa$ B阻害剤投与により肺転移が抑制されることより、肺転移成立にNF- $\kappa$ Bの活性化が関与していることを報告してきた。しかしNF- $\kappa$ Bの活性化機序は十分には明らかではなかった。最近HOIP/HOIL-1L/SHARPINよりなる新規ユビキチンリガーゼLinear Ubiquitin chain-Assembly Complex（LUBAC）が、従来にない直鎖状ポリユビキチン修飾によりNF- $\kappa$ B活性化を制御することを明らかとなった。本研究では、LM8骨肉腫肺転移モデルを用い、未だ疾患との関連が知られていないLUBACが肺転移を制御する機能分子として作用するか検討し、LUBACシグナル伝達路において治療標的となりうる分子を探索した。

A. 研究目的

Linear ubiquitin chain assembly complex(LUBAC)は従来にない直鎖状ユビキチン修飾によりNF- $\kappa$ B活性化を制御するが、疾患への関与は不明である。骨肉腫肺転移モデルにおけるLUBACの関与を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

マウス骨肉腫細胞株Dunn及びその高肺転移亜株LM8のLUBACのタンパク発現を解析した。次にLUBACを定常的にノックダウンしNF- $\kappa$ B活性を抑制したLM8亜株を樹立し、増殖能、浸潤能を評価した。*in vivo*では肺転移能について組織学的に評価した。更に肺への接着・浸潤能を評価するため尾静脈注射後の腫瘍細胞の肺での停留を経時的に評価した。

（倫理面への配慮）

本研究で使用する動物の飼養保管、福祉および倫理的な取り扱いに関して該当する法律、法令、規則およびガイドライン（厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）を含む）をすべて遵守することに合意し、さらに、「3R」原則—動物使用数を削減する、可能な限り動物以外の代替法を用いる、利用する研究

手法を改善する—に従うことを約束し研究を実施した。

C. 研究結果

LM8は親株と比較しHOIL-1L/HOIP/SHARPINいずれの発現も亢進し、NF- $\kappa$ B活性は亢進していた。

LM8の高肺転移能がLUBACを介したNF- $\kappa$ B活性化に依るものであるかを明らかにするため、HOIL-1Lを定常的にknockdown(KD)しNF- $\kappa$ B活性を抑制したLM8亜株を樹立し解析を行った。LUBACを介したNF- $\kappa$ B抑制により、足場非依存性増殖の抑制を認め、MMP2活性、ICAM-1の発現量、浸潤細胞数の抑制を認めた。*in vivo*では皮下腫瘍移植モデルでの肺転移能について組織学的に検討し、HOIL-1L KDにより有意な肺転移の抑制を認めた。さらにLUBACを介したNF- $\kappa$ B活性化が転移初期における腫瘍細胞の肺への接着・浸潤に与える影響を評価するため尾静脈注射後の腫瘍細胞の肺での停留を *In vivo imaging system* を用いて経時的に評価した。尾静脈注射後の肺に停留する腫瘍細胞の経時的評価では、HOIL-1L KDによるLUBACの発現抑制によりコントロールと比較し投与後1時間では変化を認めないが、24時間後では有意な集積抑制を認め、1週間後の肺転移も抑制された。LUBAC発現抑制により肺への接着・浸潤が強く抑制された原因

として ICAM-1 に着目した。ICAM-1 は種々の癌で転移に関連することが報告されている膜タンパクで、HOIL-1L KD で発現が抑制されており、HOIL-1L KD した細胞に ICAM-1 を過剰発現させると尾静脈注射後 24 時間での肺への集積と 1 週間後の肺転移が回復した。

#### D. 考察

LUBAC 発現抑制により肺への接着、浸潤が強く抑制された。ICAM-1 は HOIL-1L KD で発現が抑制されており、HOIL-1L KD した細胞に ICAM-1 を過剰発現させると肺への初期接着と最終的な肺転移巣形成能が回復した。LM8 細胞の肺への接着・浸潤に LUBAC を介した NF- $\kappa$ B 活性化による ICAM-1 の発現上昇が関与しており、細胞表面に存在する膜タンパクである ICAM-1 は骨肉腫肺転移を制御する治療標的因子となる可能性が示唆された。

#### E. 結論

LM8 マウス骨肉腫肺転移における NF- $\kappa$ B 活性化は LUBAC を介している事が明らかとなった。本研究の成果は、新規骨肉腫肺転移治療薬の開発に応用されることが期待される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Emori M, Yoshikawa H, et al.:

Surgery with vascular reconstruction for soft-tissue sarcomas in the inguinal region: oncologic and functional outcomes

Annals of Vascular Surg, 26:693-9, 2012

Hiraga T, Yoshikawa H, et al.:

Bone-derived IGF mediates crosstalk between bone and breast cancer cells in bony Metastases

Cancer Research, 72:4238-49, 2012

Suzuki K, Yoshikawa H, et al.:

Variation in myxoid liposarcoma: Clinicopathological examination of four cases with detectable TLS-CHOP or EWS-CHOP fusion transcripts whose histopathological diagnosis was other than myxoid liposarcoma

Oncology Letters, 3:293-6, 2012

Tomonaga M, Yoshikawa H, et al.:

Activation of nuclear factor-kappa B by linear ubiquitin chain assembly complex contributes to lung metastasis of osteosarcoma cells

Int J Oncol, 40:409-17, 2012

渡辺真生, 吉川秀樹, 他:

坐骨神経痛で発症し FDG-PET/CT にて特徴的な所見を有した neurolymphomatosis の 1 例

臨整外, 47:695-9, 2012

中紀文, 吉川秀樹, 他:

滑膜肉腫の治療成績と新規治療法の提案

日整会誌, 86:654-9, 2012

##### 2. 学会発表

吉川秀樹:

整形外科医が誤診しやすい骨軟部腫瘍

関西 SKR 研究会(2012.3 大阪)

竹中聡, 吉川秀樹, 他:

原発不明がん予後不良群の診断と治療

第 118 回中部日本整形外科災害外科学会学術集会 (2012.4.6-7 大阪)

濱田健一郎, 吉川秀樹, 他:

大腿骨骨幹部に発生した転移性骨腫瘍に対する大腿骨人工骨幹置換術

第 118 回中部日本整形外科災害外科学会学術集会 (2012.4.6-7 大阪)

吉川秀樹:

整形外科の歴史と最先端治療

大阪大学学友会和歌山支部講演会

(2012.7 和歌山)

若松透, 吉川秀樹, 他:

滑膜肉腫に対する VEGF 分子標的療法

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2012.7.14-15 東京)

角永茂樹, 吉川秀樹, 他:

表在性骨肉腫の治療成績

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 (2012.7.14-15 東京)

衣笠和孝, 吉川秀樹, 他:

ホスホグリセリド結晶沈着症の臨床像とその遺伝子異常

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

田中太晶, 吉川秀樹, 他:

マウス骨肉腫細胞株Dunnと高肺転移株LM8における血中循環腫瘍細胞(CTCs)の動的・経時的解析

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

吉川秀樹:

整形外科医が誤診しやすい骨軟部腫瘍

吹田臨床カンファレンス

(2012.10.6 大阪)

吉川秀樹:

骨軟部腫瘍診断のピットフォール- 誤診例を中心に

第 30 回福岡運動器カンファレンス

(2012.10.27 福岡)

G. 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



1. 高分化型脂肪肉腫における新規原因遺伝子の探索
2. リンパ節転移のある軟部肉腫患者の長期予後
3. 高分化型脂肪肉腫における術前針生検の正診率
4. 軟部粘液線維肉腫の治療成績

研究分担者 松本 誠一 がん研有明病院整形外科 部長

研究要旨 網羅的かつ高密度な DNA 解析を通じて、高分化型脂肪肉腫の腫瘍マーカーとして応用しうる新規原因遺伝子の同定を試みた。

## 1. 高分化型脂肪肉腫における新規原因遺伝子の探索

### A. 研究目的

高分化型脂肪肉腫と脂肪腫の鑑別診断において、病理学的な差異はわずかであり、診断に難渋することが多い。

近年の分子生物学的手法により、高分化型脂肪肉腫においてはリング染色体が診断に有用であることがわかってきた。また遺伝子の一次構造である DNA 解析からは、12 番染色体 q14-15 領域の増幅が特徴の一つであることが判明し、この領域に存在する MDM2,CDK4 の発現が鑑別に有用ことが示唆されている。

これまでに我々は、約 10 年以上前から患者同意が得られた手術材料を凍結保存してきた。同時にマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を初めとした様々な分子生物学的アプローチに取り組んでいる。これまでに脂肪肉腫や軟骨肉腫などの悪性度や発育伸展に寄与していると考えられる遺伝子を同定してきた。

今回我々は、網羅的かつ高密度な DNA 解析を通じて、これまで言われている分子生物学的所見の再確認と、高分化型脂肪肉腫における新規の DNA 一次構造異常の同定、ならびに鑑別に有用な新規分子の同定を本研究の目的とした。

### B. 研究方法

研究対象は、がん研有明病院整形外科において治療が行われた高分化型脂肪肉腫 37 症例、脂肪腫 30 例を対象とした。対象である 67 例の凍結保存されている材料を用いて、DNA 一次構造解析を行った。AFFYMETRIX 500KMAPPING ARRAY を利用して、凍結保存されている対象症例の材料から DNA を抽出し蛍光色素で標識した後ハイブリダイズ反応さ

せ、網羅的かつ高密度な DNA コピー数の解析を行った。

（倫理面への配慮）

尚、今回の研究に用いた症例全例に対して、手術材料の遺伝子解析研究利用、材料提供は自由意志であること、不参加の場合不利益はないこと、人権擁護の配慮などの説明を行っておりかつ同意が全例から得られた。また実際の研究に際しては全例匿名化を行い個人情報の保護に務めた。

### C. 研究結果

解析の閾値として、DNA コピー数が 2 倍以上かつ発生頻度が 20%以上の DNA 増幅を設定した。

脂肪腫 30 例の解析から、30 例中 25 例が正常な DNA 型もしくは単独領域の増幅という特徴的を有していた。

その詳細は、正常 DNA 型が 13 例と多数を占めており、他に 6 番染色体長腕領域の単独増幅が 12 例において認められた。他の構造異常は、1 番染色体短腕、2 番染色体短腕、12 番染色体短腕の増幅を認めた。高分化型脂肪肉腫 37 症例において特徴的であった一次構造異常は、全例が複数個所領域の増幅を認めることであった。既知の領域の 12 番染色体 q14-15 の増幅が 33 例と最も多く認められた。次に 1 番染色体短腕の増幅が 14 例、6 番染色体長腕の増幅が 13 例、2 番染色体短腕の増幅が 11 例において認められた。

### D. 考察

高分化型脂肪肉腫において、特異的な DNA 領域の増幅の同定は、鑑別に有用な分子につながることを期待できる。また将来的には治療標的分子の同定も期待でき、後腹膜発生の難治性病変の治療への応用につながることを期待できる。

過去の報告において12番染色体短腕q14-15が特異的であることが報告されているが、今回の解析からもその特異性は高いことが判明した。新しい発見としては、1番、2番、6番染色体の特定部位の増幅も多く認められたことであり、かつこれら増幅のパターンにより3つの大きなクラスターに高分化型脂肪肉腫が大別されたことである。

病理学的には同様な形態を示しても、遺伝学的にはいくつか異なる背景を有していることが予想される結果であった。新規領域増幅領域に存在する遺伝子は、鑑別に有用な遺伝子として予想されるだけでなく、多段階発癌のセオリーと照らし合わせると、高分化型脂肪肉腫において最も問題となる脱分化という現象を紐解くヒントとして捉えることもできる。

#### E. 結論

今回の解析から、高分化型脂肪肉腫の鑑別に有用な新規のDNA一次構造異常を同定した。同定された新規増幅領域に局在する遺伝子群は、鑑別に有用と考える。しかし定量的解析が必須であり、今後定量的解析を通じて、有用な分子の選定を予定している。

## 2. リンパ節転移のある軟部肉腫患者の長期予後

### A. 研究目的

リンパ節転移のある軟部肉腫患者の特徴と生命予後について明かにする。リンパ節切除が生命予後を改善するかを検討する。

### B. 研究方法と症例

リンパ節転移の検索は、触診、画像、および組織診断によって行った。解析した要素は、リンパ節以外の転移、初診時リンパ節転移の有無、腫瘍の大きさと深さと悪性度、組織診断、手術、補助療法である。対象は、1983年から2008年にがん研有明病院にて治療を行った軟部肉腫871例である。

### C. 研究結果

871例中49例にリンパ節転移を認めた。組織型別のリンパ節転移の頻度は、明細胞肉腫:37.5%、横紋筋肉腫:36.8%、類上皮肉腫:30.05%、血管肉腫:20.0%であった。リンパ節転移のある患者の5年生存率は27%であり、リンパ節切除を行った患者の5年累積生存率は、30%であった。生存曲線を比較するとリンパ節切除は短期(5年以下)の予後を改善する可能性が示唆されたが、長期予後は変わらなかった

( $p=0.12$ )。横紋筋肉腫と非横紋筋肉腫のリンパ節転移患者の予後は、横紋筋肉腫が有意に( $p=0.006$ )に予後が不良であった。リンパ節転移の出現時期は予後と有意差はなかった。

### D. 結論

リンパ節転移出現には、組織型に特徴が見られた。リンパ節転移切除により、短期の予後は改善される傾向があったが、長期成績の改善はなかった。

## 3. 高分化型脂肪肉腫における術前針生検の正診率

### A. 研究目的

術前針生検の正診率を調べ、術前診断の場合分けに応じた治療方針を立てる。

### B. 研究方法と対象

1979年から2011年に手術を行い、最終診断が高分化型脂肪肉腫(WDLS)であった136例。同期間に細胞診を行った脂肪腫についても検討した。

### C. 研究結果

針生検の施行率は、細胞診が66.1%(90/136)、病理診断が57.3%(78/136)であった。細胞診の正診率は、クラスIV以上を正診とすると84.4%、III以上を正診とすると94.4%であった。また、クラスIIIと診断された脂肪性腫瘍の71.7%(27/36)は最終診断が脂肪腫であった。クラスI、IIと診断された脂肪性腫瘍392例では、98.7%が脂肪腫であり、残り1.3%がWDLSであった。一方、病診断の正診率は、atypical lipomatous lesion以上を正診とすると80.8%、WDLSとの診断のみを正診とすると47.4%であった。以上より、細胞診は正診率84%、陰性的中率98%であり信頼性が高かった。

### D. 結論

細胞診は正診率84%、陰性的中率98%であり信頼性が高かった。病理診断もatypicalを含めれば細胞診に劣らない正診率であった。これらを併用すれば長径3cmのADLSでも正確に術前診断が可能であった。

## 4. 軟部粘液線維肉腫の治療成績

### A. 研究目的

粘液線維肉腫(MFS)を悪性線維性組織球腫(MFH)と治療方針を立てる上で分けて扱う必要があるか否かについて検討した。

## B. 症例と方法

1978年から2009年1月までに治療したMFS:49例を対象とした。対象は同時期に治療したMFH:237例である。

## C. 研究結果

MFSの悪性度は、G1:16%, G2:63%, G3:20%であった。浸潤性発育を示した症例は、53%であった。当院で初回治療した33例中9例が局所再発し、その中で8例が浸潤性発育例であった。再発受診した12例では、4例が局所再発し、その中で3例が多数回再発例であった。遠隔転移は、G1:0%, G2:15%, G3:40%であり、FNCLCC分類と一致した。MFHと比較すると、転移率では、MFS:18%, MFH:32%, 再発率はMFH17%, MFS:29%であった。この理由としては、G3の割合がMFHでは52%, MFSでは20%であったことによる。MFSもMFHも浸潤性発育有群の局所制御率は50%以下であり、浸潤性発育無群の再発率は80%を越えており同様の傾向を示した。

## D. 結論

MFHとMFSは、悪性度分類と予後、局所浸潤性発育と再発率が相関することより、同一の方針で治療に当たることができる疾患である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Ichikawa J, Matsumoto S, et al.:

Intraneural metastasis of gastric carcinoma leads to sciatic nerve palsy  
BMC Cancer, in press 2012

Sawamura C, Matsumoto S, et al.:

Lymphadenectomy and Histologic Subtype Affect Overall Survival of Soft Tissue Sarcoma Patients With Nodal  
Clin Orthop Relat Res, in press 2012

Sawamura C, Matsumoto S, et al.:

Indications for and surgical complications of rotationplasty  
J Orthop Sci, in press 2012

Koyanagi H, Matsumoto S, et al.:

Long-term results from use of pasteurized bone、J Orthop Sci, Long-term results from use of pasteurized bone  
J Orthop Sci, in press 2012

松本誠一 :

骨腫瘍の診断の一般指針  
運動器診療 最新ガイドライン  
総合医学社, 東京, 280-3, 2012

松本誠一 :

日常生活で骨・軟部腫瘍を見落とさないための工夫  
整形外科, 63(6):576-82, 2012

松本誠一, 他 :

運動器腫瘍の超音波診断  
運動器の超音波診断  
関節外科, 31(4):134-40, 2012

松本誠一 :

骨悪性線維性組織球腫(骨MFH)  
研修医のための見逃すと困る整形外科疾患  
関節外科, 31:186-7, 2012

松本誠一 :

類骨骨腫  
研修医のための見逃すと困る整形外科疾患  
関節外科, 31:188-9, 2012

松本誠一 :

骨血管腫  
研修医のための見逃すと困る整形外科疾患  
関節外科, 31:190-1, 2012

谷澤泰介, 松本誠一, 他 :

仙尾骨発生脊索腫の治療成績  
日整会誌, 86:9-14, 2012

松本誠一, 他 :

外科医の視点からの軟部悪性線維性組織球腫  
日整会誌, 86:1112-6, 2012

松本誠一, 他 :

軟部悪性線維性組織球腫の診断と治療—浸潤性発育の定義に関する考察—  
日整会誌, 86:1195-200, 2012

中山隆之, 松本誠一, 他 :

色素性絨毛結節性滑膜炎と腱鞘巨細胞腫の臨床像と治療成績  
臨整外, 47(6):527-31, 2012

- 齊籐正徳, 松本誠一, 他:  
Spindle cell lipoma (紡錘形細胞脂肪種) の治療経験  
臨整外, 47(7):685-90, 2012
- 四宮謙一, 松本誠一, 他:  
第Ⅲ相他施設共同無作為割付け並行群間比較試験:  
自己組織化したハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体 vs  $\beta$  リン酸三カルシウム  
整形外科, 63(9):921-6, 2012
- 松本誠一, 他:  
骨軟部肉腫の切除範囲縮小  
整形外科サージカルテクニック, 2(4):86-8, 2012
- 松本誠一:  
軟部悪性腫瘍の診断と治療  
日本運動器看護学会誌, 7:3-8, 2012
- 鈴木亘, 松本誠一, 他:  
抗がん薬連日投与におけるアプレピタント3日間  
服用レジメンの制吐効果についての評価  
医療薬学, 38(3):163-9, 2012
2. 学会発表  
Matsumoto S, et al.:  
Limb preservation surgery in the locally advanced soft  
tissue sarcoma of the elbow joint region  
25<sup>th</sup> Annual Meeting of European Musculoskeletal  
Oncology Society(2012.5.14-16 Bologna, Italy)
- Takashi S, Matsumoto S, et al.:  
Exploration of the therapeutic target in musculoskeletal  
sarcoma  
9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society  
Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)
- Hayakawa K, Matsumoto S, et al.:  
Dermatofibrosarcoma Protuberans with Metastatic tumor  
9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society  
Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)
- Ae K, Matsumoto S, et al.:  
Local Control By The Barrier Structure In The Surgical  
Margins For High Grade Soft Tissue Sarcomas  
64<sup>th</sup> Annual International Conference of The Egyptian  
Orthopaedics Association  
(2012.12.14-20 Cairo, Egypt)
- Gokita T, Matsumoto S, et al.:  
Desmoid tumor:clinical review of 157patients treated at  
a single institution in Japan  
The 17th Annual Meeting of the Connective Tissue  
Oncology Society(CTOS)  
(2012.11.14-17 Prague, Czech Republic)
- Matsumoto S, et al.:  
Long Term Results of "In Situ Preparation" for Soft  
Tissue Sarcoma  
Evolution of bone tumor in PMK hospital  
(2012.11 Bangkok, Thailand)
- 下地尚, 松本誠一, 他:  
骨・軟部肉腫における標的分子の探索  
第85回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)
- 青木薫, 松本誠一, 他:  
片側骨盤離断術の適応  
第85回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)
- 澤村千草, 松本誠一, 他:  
リンパ節転移のある軟部肉腫患者の長期予後  
第85回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)
- 阿江啓介, 松本誠一, 他:  
軟部肉腫に対する化学療法と安全な切除縁  
第85回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)
- 眞鍋淳, 松本誠一, 他:  
パストール(加温)処理骨を用いた患肢温存術—問  
題点と今後の課題—  
第85回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)
- 尾崎敏文, 松本誠一, 他:  
日常診療に生かす軟部腫瘍診療ガイドライン  
第85回日本整形外科学会学術総会  
(2012.5.17-20 京都)
- 谷澤泰介, 松本誠一, 他:  
骨軟部腫瘍における外来診療における細胞診の役  
割  
第53回日本臨床細胞学会総会(2012.6.1-3 幕張)

阿江啓介, 松本誠一, 他 :  
骨盤部悪性腫瘍の切除縁からみた外科治療  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

下地尚:  
再発しやすい良性軟部腫瘍  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

青木薫, 松本誠一, 他 :  
腫瘍用人工膝関節再置換の問題点  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

市川二郎, 松本誠一, 他 :  
メッシュを用いた腫瘍用人工膝関節置換における  
膝伸展機構の再建  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

蛭田啓之, 松本誠一, 他 :  
骨・軟部腫瘍における組織学的治療評価の実績と問題点  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

下地尚:  
ISP を用いた縮小手術への挑戦  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

早川景子, 松本誠一, 他 :  
当院における myxofibrosarcoma の治療成績  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

伊奈沙織, 松本誠一, 他 :  
多発性の神経鞘腫  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

下地尚, 松本誠一, 他 :  
軟部肉腫における追加広範切除例では、侵襲がより  
大きい再建を要する  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

阿江啓介, 松本誠一, 他 :  
悪性骨腫瘍に対する新しい切除縁分類  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

五木田茶舞, 松本誠一, 他 :  
高分化型脂肪肉腫における術前針生検の正診率  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

阿江啓介:  
すぐに専門施設に紹介すべき軟部腫瘍  
第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.14-15 東京)

松本誠一:  
骨軟部腫瘍診療システムの理想像  
第 13 回埼玉整形外科学研究会(2012.7.28 埼玉)

下地尚:  
縮小手術における新規技術の展望  
第 50 回日本癌治療学会学術集会  
(2012.10.25-27 横浜)

G. 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

軟部腫瘍における anaplastic lymphoma kinase 蛋白と遺伝子の発現について

研究分担者 平岡 弘二 久留米大学医学部整形外科 准教授

研究要旨 Anaplastic lymphoma kinase(ALK)（未分化リンパ腫キナーゼ）は、これまで anaplastic large cell lymphoma(ALCL)と inflammatory myofibroblastic tumor(IMT)の診断の際に特異的なマーカーとして知られており、治療においても ALK 阻害剤(crizotinib)は、EML4-ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌に有効であることが報告されている。今回我々は、様々な軟部腫瘍における診断や今後の治療への応用を調査するため ALK 蛋白と遺伝子発現に関して病理学的検討を行った。軟部腫瘍 107 例に対し intercalated antibody-enhanced polymer(iAEP)法による免疫染色および FISH 法にて ALK 蛋白と遺伝子発現を病理学的に検討した。免疫染色陽性は 6 例みられた。3 例が横紋筋肉腫、IMT、類上皮肉腫、滑膜肉腫各 1 例であった。FISH では 25 例に増幅を認めたが、転座は認めなかった。横紋筋肉腫と他の軟部腫瘍全てを比較した場合、免疫染色陽性であった症例の割合、遺伝子増幅の症例の割合ともに高値を示していたことより、ALK 発現は横紋筋肉腫の診断をする際の補助的因子となる可能性がある。

A. 研究目的

Anaplastic lymphoma kinase(ALK)は anaplastic large cell lymphoma(ALCL)と inflammatory myofibroblastic tumor(IMT)の診断において特異的なマーカーとして考えられている。この 2 疾患以外にも近年間葉系腫瘍の中で ALK の発現を示す症例の報告が散見される。我々は軟部腫瘍、主に軟部肉腫における ALK の発現を鋭敏な検出方法である iAEP 法を用いて組織ごとの発現の傾向を確認し診断的意義につき検討した。

B. 研究方法

2000-2011 に当大学で採取された軟部腫瘍 107 例に対し ALK 蛋白と遺伝子発現を調査するため、免疫染色及び Interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) を行った。免疫染色は竹内らの報告から、より感度の上昇を計るため Anti-ALK antibody [clone: 5A4] (NICHIREI)を使用し iAEP 法でおこなった。FISH は ALK FISH DNA Probe, Split signal Code Y5417 (Dako)を使用した。免疫染色は ALK 肺癌を陽性コントロール(強陽性)として、陰性(0)から強陽性(6+)の 7 段階評価し、中等度(4+)以上の染色強度のものが腫瘍細胞中 30%以上占めるものを免疫染色陽性例とした。FISH は 30 細胞中、転座が 3 細胞以上に認められた場合に転座陽性とし、一つの細胞中に 2 シグナル以上もつものが 3 細胞以上に認められた場合に増幅陽性とした。免疫染色陽性と FISH の相

関をみるために  $\chi^2$  検定を行った。

C. 研究結果

免疫染色では、染色強度に違いはあるが、どの腫瘍も均一に染色されていた。免疫染色陽性例は 6 例みられた。3 例が横紋筋肉腫、IMT、類上皮肉腫、滑膜肉腫各 1 例であった。FISH では 25 例に増幅を認めたが、転座は認めなかった。免疫染色陽性であった症例の割合と遺伝子で増幅がみられた症例の割合の相関は、全症例では  $p=0.0248$ 、横紋筋肉腫において  $p=0.002$  と有意に相関関係を認めていた。また、横紋筋肉腫と他の軟部腫瘍全てを比較した場合、免疫染色陽性であった症例の割合  $42.9\% / 3.2\%$  ( $p=0.002$ )、遺伝子増幅の症例の割合  $57.1\% / 22.3\%$  ( $p=0.0572$ )ともに高値を示した。

D. 考察

ヒトの正常組織において、免疫染色で検出可能な量の ALK 蛋白を発現している組織は殆どないため（神経系組織のごく一部に発現）、抗 ALK 抗体による免疫染色で神経系以外の細胞で陽性所見が認められれば、その時点で異常細胞であることが示唆される。抗 ALK 抗体による免疫染色はリンパ腫の組織型を区別する際に、ALCL のマーカーとして用いられてきた。SAB 法やポリマー法など、これまでのルーチン検査で使用されている染色方法で染色することが可能であるが、同様の染色方法では肺癌

の EML4-ALK 融合遺伝子陽性例の ALK 蛋白は検出ができないことが報告されている。そこで、非特異的な反応が起こらずに適度な感度の上昇を実現できる増感法として、iAEP 法が考案されている。肺腺癌における iAEP 法による ALK 蛋白の免疫染色は、RT-PCR 法と FISH 法の結果と完全一致することが報告されている。最近の報告では、FISH 法による遺伝子検査に先行して免疫染色法によるスクリーニングを行う方が、汎用性、検査時間の短縮やコストの削減等の面から ALK 陽性肺癌の検査方法として推奨されることが述べられている。今後横紋筋肉腫の診断においても iAEP 法による ALK 発現の確認は補助的因子となりうる可能性があると思われる。また 2010 年に報告された crizotinib の臨床試験では、FISH(split assay) 法で ALK 融合遺伝子陽性と判定された肺非小細胞癌 82 例において、奏効率は 57.3% であり、さらに FISH 法に加えて免疫染色法あるいは RT-PCR 法が実施されて陽性と判定された 27 例に限定すると、奏効率は 22 例、81.5%と報告されている。今後は横紋筋肉腫における治療の標的因子となる可能性を検証していきたい。

#### E. 結論

横紋筋肉腫において、免疫染色により ALK 陽性であった症例の割合と FISH 法による遺伝子の増幅の症例の割合がともに高値を示すことより、ALK 発現は横紋筋肉腫の診断をする際の補助的因子となる可能性がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kondo K, Hiraoka K, et al.:

Malignant diffuse-type tenosynovial giant cell tumor of the buttock

Pathol Int, 62:559-64, 2012

白石絵里子, 平岡弘二, 他:

関節痛を初発症状とリンパ増殖性疾患の 1 例  
整・災外, 55:1703-6, 2012

##### 2. 学会発表

Nagata S, Hiraoka K, et al.:

Apparent Diffusion Coefficient (ADC) Map for the Assessment in tumor margin of Soft-Tissue Sarcomas: MR characteristics and pathological correlative analysis  
20<sup>th</sup> ISMRM (2012. 5. 5-11 Melbourne, Australia)

白濱正博, 平岡弘二, 他:

広範囲骨欠損を再建し患肢温存できた脛骨骨肉腫の 1 例

第 25 回日本創外固定・骨延長学会  
(2012.1.13-14 東京)

上野明菜, 平岡弘二, 他:

Mazabraud 症候群の 1 例

第 123 回西日本整形・災害外科学会学術集会  
(2012.6.2-3 北九州)

猿渡敦子, 平岡弘二, 他:

転移性脊椎腫瘍に対する保存的治療における自然経過

第 21 回日本がん転移学会学術集会・総会  
(2012.7.12-13 広島)

濱田哲矢, 平岡弘二, 他:

骨巨細胞腫に対する搔爬術と電気焼灼併用療法の成績

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.13-15 東京)

長田周治, 平岡弘二, 他:

Apparent diffusion coefficient map を用いた軟部肉腫における反応層の評価

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会  
(2012.7.13-15 東京)

Ishibashi Y, Hiraoka K, et al.:

Expression and gene status of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors(107 cases)

第 71 回日本癌学会学術総会 (2012.9.19-21 札幌)

#### G. 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

高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準治療確立のための研究

研究分担者 下瀬 省二 広島大学病院整形外科 准教授

研究要旨 骨吸収抑制剤として臨床応用されているビスフォスフォネートを化学的および分子生物学的な視点からアプローチし、強力な癌治療薬としての新規ビスフォスフォネートを開発、*in vitro* および *in vivo* における強力な抗腫瘍効果、免疫細胞賦活作用を確認した。さらに新しいコンセプトからなる抗癌剤としてバナジウム・ビスフォスフォネート複合体の開発も着手した。

A. 研究目的

転移性骨腫瘍の最近の研究から、ビスフォスフォネートの骨痛や *skeletal-related events* に対する効果が破骨細胞の抑制によるものだけではないことが分かってきていた。ビスフォスフォネートの作用機序は開発当初に考えられていたものより複雑で、その作用は多岐にわたり、癌治療薬としてのポテンシャルが非常に高いことが分かってきた。しかし、基礎研究においては多くの良好な結果が報告されているが、既存のビスフォスフォネートでは癌治療薬としての効果は十分でなかった。そこで、われわれはイリノイ大学と共同で化学的および分子生物学的な視点からアプローチし、強力な癌治療薬としての新規ビスフォスフォネートの開発を計画した。

B. 研究方法

(1) 動物モデルの作製:

ネブタール麻酔下に生後 7 週令 SCID マウスにルシフェラーゼ発現ヒト前立腺癌細胞(PC3M-luc-C6) ( $1 \times 10^7$ ) を移植し、骨転移動物モデルを作成、経時的に X 線および超微弱発光 *in vivo* イメージングシステム (WinLight32, Berthold) にて病巣を確認した。

(2) ビスフォスフォネートの免疫細胞誘導効果: 健常人末梢血から Ficoll-Paque 遠心分離法を用いて単核球を分離後、各種ビスフォスフォネートを加え 1 週間培養後、抗  $\gamma\delta$ TCR 抗体を用い Flow Cytometer で  $\gamma\delta$ T 細胞を分離評価した。 $\gamma\delta$ T 細胞を Magnetic Activated Cell Sorting system (MACS, Miltenyi Biotec, Germany) で濃縮採取し、PC3M に対する  $\gamma\delta$ T 細胞の殺細胞効果を Cell-mediated cytotoxicity assay (L7010, Molecular Probes, Eugene) で確認した。

(3) 新規ビスフォスフォネートおよびバナジウム・ビスフォスフォネート複合体の *in vitro* 抗腫瘍効果: ヒト前立腺癌細胞に各種ビスフォスフォネートおよびバナジウム・ビスフォスフォネート複合体治療を行い、cytotoxicity assay を行い、強力な新規ビスフォスフォネートを選択し、動物実験用薬剤の候補とした。

(4) 新規ビスフォスフォネートおよびバナジウム・ビスフォスフォネート複合体の *in vivo* 抗腫瘍効果: 担癌マウスに新規ビスフォスフォネートおよびバナジウム・ビスフォスフォネート複合体治療を行い腫瘍移植後 4 週でコントロール群と抗腫瘍効果を比べた。

C. 研究結果

(1) 動物モデルの作製:

ルシフェラーゼ発現ヒト前立腺癌細胞の動物モデルの作製を行った。

(2) ビスフォスフォネートの免疫細胞誘導効果: 新規ビスフォスフォネート(BPH1218)による強力な  $\gamma\delta$ T 細胞賦活作用が見られた。

① PC3M 癌細胞に対する  $\gamma\delta$ T 細胞の殺細胞効果 Effector to Target cell ratio (E/T ratio) 依存性の癌細胞傷害活性がみられた。

(3) 新規ビスフォスフォネートおよびバナジウム・ビスフォスフォネート複合体の *in vitro* 抗腫瘍効果: ヒト前立腺癌細胞に各種ビスフォスフォネート治療を行い、cytotoxicity assay を行い、強力な 2 種の新規ビスフォスフォネート (BPH1215, BPH1260) を選択した。



#### D. 考察

本研究目的である化学的および分子生物学的な視点からアプローチした強力な癌治療薬としての新規ビスフォスフォネートの開発を順調に遂行することができた。当初の計画以上に進展した成果として、近年、制癌剤として注目されている金属錯体であるバナジウムを利用したバナジウム・ビスフォスフォネート複合体を新規抗癌剤として開発し得た。

#### E. 結論

強力な癌治療薬としての新規ビスフォスフォネートの開発を行った。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Matsuo T, Shimose S, et al.:

Correlation between p38 mitogen-activated protein kinase and human telomerase reverse transcriptase in sarcomas

J Exp Clin Cancer Res, in press 2012

##### 2. 学会発表

Kubo T, Shimose S, et al.:

Cancer Immunotherapy with Novel Bisphosphonates for Bone Metastasis

2012 Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons

(2012.2.7-11 San Francisco, USA)

久保忠彦, 下瀬省二, 他:

オーバーロードによる腫瘍用人工膝関節破損の2例

第 118 回中部日本整形外科災害外科学会

(2012.4.6-7 大阪)

下瀬省二, 他:

患肢温存術の現状と展望 血管柄付き腓骨を用いた患肢温存術

第 85 回日本整形外科学会学術総会

(2012.5.17-20 京都)

久保忠彦, 下瀬省二, 他:

骨肉腫における glucose transporter protein 1 発現と予後

第 85 回日本整形外科学会学術総会

(2012.5.17-20 京都)

久保忠彦, 下瀬省二, 他:

悪性骨腫瘍に対するバナジウム・ビスフォスフォネート複合体の開発

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

松尾俊宏, 下瀬省二, 他:

骨・軟部肉腫における肺転移症例の予後解析(会議録)

第 45 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

#### G. 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

悪性骨・軟部腫瘍に対するパストゥール処理自家骨移植を用いた再建術

研究分担者 保坂 正美 東北大学大学院医学系研究科整形外科 講師

研究要旨 悪性骨・軟部腫瘍の切除後の広範な骨欠損に対し、当施設でパストゥール処理自家骨移植を行なった症例について retrospective に検討した。偽関節、関節軟骨部での骨吸収、感染といった合併症がみられたが、強固な内固定、自家骨移植との併用、筋皮弁を用いた血行の豊富な軟部組織の被覆を行なうことにより合併症を低減することが可能となると思われた。パストゥール処理自家骨移植は簡便であり、低いコストで bone stock を増やすことができることが大きな利点であり、有用な生物学的骨再建法と考えられた。

#### A. 研究目的

悪性骨・軟部腫瘍の摘出後の骨欠損に対し、我が国では、同種骨よりも自家処理骨を用いた生物学的再建が行なわれることが多い。生物学的再建法として様々な方法が開発されているが、当施設では過去20年にわたり、腫瘍広範切除の際に大きな骨欠損が生じ、切除材料中に正常な骨が多く残存している場合、コストが低く簡便な方法であるパストゥール処理自家骨移植を行なってきた。過去当科で行なったパストゥール処理自家骨移植について retrospective に検討した。

#### B. 研究方法

当科で1994年以降にパストゥール処理骨を用いて再建を行なった悪性骨・軟部腫瘍9例のうち3年以上経過観察を行なった8例を対象とした。対象患者の臨床情報（手術時年齢、性、部位など）、病理診断、移植術式（intercalary graft, osteoarticular graft, composite graft, pelvic graft）、経過（画像上の移植骨の状態含め）、予後について検討した。パストゥール処理は摘出骨から腫瘍および不要な軟部組織を搔爬ののち、60℃の生理食塩水で30分間加温処理を行なった。

（倫理面への配慮）

本研究は臨床情報の利用と公表について、患者本人または代諾者に対し、治療時に包括的同意を取得している。また本研究は本学の倫理規定に基づく後ろ向き臨床研究であり、研究による患者への不利益は発生しないものと考えられる。

#### C. 研究結果

対象症例は男性5例、女性3例であり、骨腫瘍が4例（軟骨肉腫2例、骨膜性ユーイング肉腫1例、

アダマンチノーマ1例）で部位は上腕骨近位、大腿骨骨幹部、脛骨近位、骨盤（Enneking分類でP1-3）が各1例だった、軟部腫瘍が4例（滑膜肉腫1例、多形型脂肪肉腫1例、粘液型脂肪肉腫1例、悪性線維性組織球腫1例）で部位は上腕近位が2例、骨盤部1例、大腿中央部1例だった。経過観察期間は36～260ヶ月だった。2例（骨盤、上腕近位）に術前照射（骨盤部：40Gy、上腕近位：30Gy）が行なわれた。骨盤の2例は再発例（他医で初回手術）であった。長管骨でosteoarticular graftが3例、intercalary graftが2例、composite graft(HMRSと併用)が1例、骨盤は2例ともP1-3の部位で、骨盤半載術ののちパストゥール処理骨により骨盤輪の再建を行なった。パストゥール処理骨の長さは長管骨で4-21cmだった。移植骨の内固定は2例（上腕骨近位、大腿骨骨幹部）で髓内釘を用い、その他はプレートを用いた。軟部組織の再建として遊離筋皮弁が2例、有茎筋皮弁が2例に行なわれた。

結果はパストゥール処理骨と既存骨との接合部での偽関節が2例に生じ、うち1例は追加手術（プレート抜去、髓内釘固定、自家骨移植）を行った。Osteoarticular graftのうち1例は関節部での骨吸収が著しかった。Intercalary graftを行なった2例（大腿骨骨幹部）では、明らかな骨吸収はみられず良好な骨再生が得られた。Composite graftでは軽度の骨吸収がみられた。パストゥール処理骨の感染は4例（骨盤部2例、上腕近位2例）にみられ、2例（骨盤、上腕近位各1例）は術前照射を行なっていた。骨盤部症例は2例とも処理骨を摘出し、上腕部症例において1例は保存的に治療し、1例は金属プレートの抜去を行なった。感染症例についてはパストゥール処理骨自体の感染というよりはフラップの血行障害による壊死と二次的感染が大きな要因と思われた。

予後について腫瘍学的には全例局所再発はみられず、CDFが5例、DODが2例(多発転移)、不明が1例だった。機能的には下肢症例において、全例歩行可能(うち2例は装具着用、2例は1本杖使用)であるが、骨盤部(骨盤半載)では義足と松葉杖を使用している。上肢(osteoarticular graft)においては挙上困難を呈している。

#### D. 考察

悪性骨・軟部腫瘍の摘出後の骨欠損に対する自家骨の再利用による生物学的再建法として、現在、体外照射処理、液体窒素処理、パストゥール処理が代表的な方法とされる。当施設で過去行われたパストゥール処理自家骨移植については、偽関節、骨吸収、感染といった合併症が過去の報告より多く見られた。合併症が多い原因としては、当施設では大きな骨欠損、特に長管骨については全周性の大きな欠損に対して本再建法を採用していること、およびinlay graftを行っていないことが挙げられた。

偽関節については固定方法が不十分であることが大きい原因と考えられた。特にintercalary graftにおいては、通常のプレートより強固な髓内釘を考慮する必要があると思われた。また骨接合部において、自家骨移植(遊離、有茎、血管柄付き遊離)の併用が有用と思われた。当施設でも現在、有茎あるいは血管柄付き遊離骨移植の併用を行なう方向である。

骨吸収についてはosteoarticular graftにおいて、特に関節部での吸収が著明であった。軟骨および軟部組織については本術式での組織再生が積極的には期待できないことから、関節の再建を伴う骨移植については表面置換型の人工関節と併用したcomposite graftを考慮する必要があると思われた。

感染については、4例中2例に術前照射を行っており、2例は骨盤症例であった。いずれも処理骨自体の感染ではなく、フラップの血行障害による壊死と二次的感染が大きな原因と思われた。感染を少なくするためには血行の良好なフラップ、特に筋皮弁(遊離、有茎)での被覆が必要と思われた。

#### E. 結論

パストゥール処理自家骨移植は簡便であり低いコストでbone stockを増やすことができることが大きな利点であり、有用な生物学的骨再建法と考えられる。当施設では合併症が多くみられたが、強固な内固定、遊離あるいは有茎自家骨移植との併用、遊離あるいは有茎筋皮弁を用いた血行の豊富な軟部組織の被覆により合併症を低減し、より安全な手術が可能となると思われた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hatta T, Hosaka M, et al.:

Myositis ossificans of the rotator cuff muscle  
J Orthop Sci, in press 2012

Inoue T, Hosaka M, et al.:

Sex steroid synthesis in human skin in situ: the roles of aromatase and steroidogenic acute regulatory protein in the homeostasis of human skin  
Mol Cell Endocrinol, 362(1-2):19-28, 2012

##### 2. 学会発表

Hosaka M, et al.:

Transarterial Embolization and Intravenous Bisphosphonate Injection for Primary Locally Aggressive Pelvic Tumor  
9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Watanuki M, Hosaka M, et al.:

Preoperative Anemia Was Seen More Frequently in Atypical Lipoma Patients Than Lipoma Patients  
9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Dohi O, Hosaka M, et al.:

Pain-related Histological Features of Angioleiomyoma  
9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Suzuki K, Hosaka M, et al.:

Mesenchymal Chondrosarcoma Arising From The Thoracic Spine Treated With A Combination of Heavy Ion Radiotherapy and Chemotherapy, A Case Report  
9<sup>TH</sup> Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (2012.9.6-9 Kuala Lumpur, Malaysia)

Watanuki M, Hosaka M, et al.:

Preoperative Anemia Was Seen More Frequently in Atypical Lipoma Patients Than Lipoma Patients  
The 17th Annual Meeting of the Connective Tissue Oncology Society(CTOS)  
(2012.11.14-17 Prague, Czech Republic)

林耕宇, 保坂正美, 他:

CT ガイド下ラジオ波焼灼術が有効であった類骨骨腫の2例

第10回宮城小児整形外科研究会(2012.4.14 仙台)

保坂正美, 他:

難治性良性骨・軟部腫瘍治療の創意  
動脈瘤様骨嚢腫に対する治療法の工夫

第85回日本整形外科学会学術総会

(2012.5.17-20 京都)

綿貫宗則, 保坂正美, 他:

一般血液検査から脂肪系腫瘍の組織型予測は可能か

第85回日本整形外科学会学術総会

(2012.5.17-20 京都)

鈴木堅太郎, 保坂正美, 他:

CTによる三次元有限要素法を用いた骨強度シミュレーションの骨・軟部腫瘍手術への応用

第109回東北整形災害外科学会(2012.6.22-23 盛岡)

保坂正美, 他:

骨ランゲルハンス組織球症の臨床像および画像所見の検討

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

松田倫治, 保坂正美, 他:

ガイディングマーカースystemを用い切除を行った中臀筋内発生非触知軟部肉腫の1例

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

鈴木堅太郎, 保坂正美, 他:

前腕に発生した childhood hemangiopericytoma の1例

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

小池洋一, 保坂正美, 他:

肘関節の滑膜性軟骨腫症に対し関節鏡視下手術を行った1例

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

綿貫宗則, 保坂正美, 他:

高分化型脂肪肉腫は二次性貧血の原因となるか

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

林耕宇, 保坂正美, 他:

中手骨初発の骨肉腫の1例

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

衛藤俊光, 保坂正美, 他:

鎖骨に発生した骨肉腫の1例

第45回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2012.7.14-15 東京)

大泉樹, 保坂正美, 他:

右大腿骨骨腫瘍の1例

第19回東北地区骨・軟部腫瘍研究会

(2012.10.6 盛岡)

G. 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