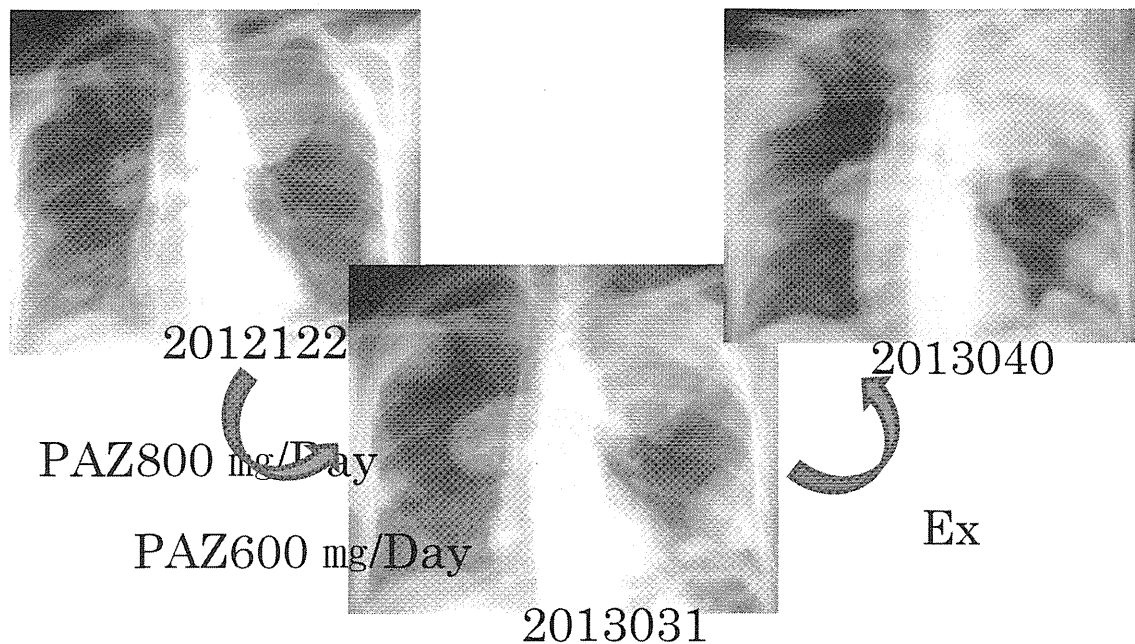


症例 2

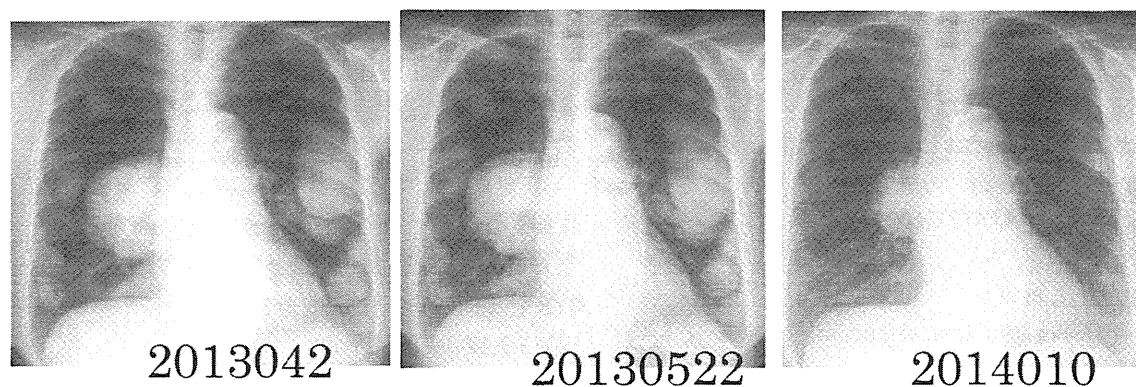
高齢者の滑膜肉腫で、肺転移増悪に伴い、PAZを開始、2カ月半で、腫瘍の再燃、血痰の為に、経口エンドキサン 100 mg/day を開始した。腫瘍の増大は停止したが、血痰の増悪に伴う帯状疱疹のため、エンドキサンを中止して、緩和に移行した。



73 才 滑膜肉腫 PAZ800 mg (2012 年 12 月 27 日~2013 年 01 月 15 日)、PAZ600 mg (2013 年 01 月 16 日-2013 年 03 月 12 日)、Ex 100mg (2013 年 03 月 13 日-2013 年 04 月 01 日)

症例 3

86 才、肺転移、右腋窩胸壁腫瘍、生検で、未分化多形細胞肉腫 (UPS) と診断された。胸壁には、放射線治療 50Gy を実施し、原発巣はほとんど消滅した。放射線治療が著効したので、肺転移の増悪に対して、エンドキサンの経口を開始した。2カ月の経口で、縮小を確認され、現在、縮小を維持している。



86 才 未分化多形細胞肉腫 2013 年 05 月 8 日より Ex50 mg/Day 4 日投、3 日休で投与継続。骨髄障害、肝障害等を認めず、経口を継続している。

(転移性骨腫瘍)

骨転移の治療研究では、転移発症に対する薬物療法が注目され、抗 RANKL 抗体のデノスマブ関連の知見の集積が進み、骨転移の治療に関心が高まっている。担癌患者の長期生存、長期薬物治療例では QOL 確保が極めて重要で、骨転移制御、骨塩量維持、最適骨転移手術方法などの治療方法の整備を目指した臨床研究を準備している。

転移性骨腫瘍研究では、最適骨代謝薬物療法、がん患者の骨基質維持する予防治療の整備が不可欠であり、長期生存がん患者 QOL 維持の重要性が増している。四肢骨転移に伴う骨折の治療も、長期生存例で高い QOL を確保する最適手術方法に関するエビデンス集積が不可欠である。大腿骨骨幹部の骨転移に対する最適手術方法（骨接合術、人工関節との比較試験）の臨床研究を準備中である。

D. 考察

高齢者の増加に伴い、高齢者発生の悪性骨・軟部腫瘍、がん骨転移における最適治療の整備が極めて重要である。治療体系の整備に向けて、前向きに知見を集積する研究体制整備や臨床試験の実施が必要である。

E. 結論

骨軟部腫瘍に対するセカンドライン薬物療法に関するエビデンスの高い臨床研究や生命予後や患者 QOL が高まっているがん骨転移症例に対する外科治療の妥当性や安全性に関する準備的研究で、骨軟部腫瘍治療グループが実施すべき研究内容が明確となった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hiramoto N, Chuman H, et al.:

Ewing sarcoma arising after treatment of diffuse large B-cell lymphoma

Jpn J Clin Oncol, 43(4):417-21, 2013

Lin F, Chuman H, et al.:

Minimally invasive solid long segmental fixation combined with direct decompression in patients with spinal metastatic disease

Int J Surg, 11(2):173-7, 2013

Kikuta K, Chuman H, et al.:

An analysis of factors related to recurrence of myxofibrosarcoma

Jpn J Clin Oncol, 43(11):1093-104, 2013

Lin F, Chuman H, et al.:

Massive ossification around the prosthesis after limb salvage treatment for osteosarcoma

J Orthop Sci, 18(4):667-70, 2013

Yamaguchi U, Chuman H.:

Overview of medical device regulation in Japan as it relates to orthopedic devices

J Orthop Sci, 18(5):866-8, 2013

中馬 広一:

骨・軟部腫瘍 Current Organ Topics
癌と化学療法, 40(3):296-298, 2013

中馬 広一:

転移性骨腫瘍への治療戦略（脊椎・骨盤・四肢）：
B P s 導入後のがん骨転移に対する診療の変遷について

日整会誌, 87:871-7, 2013

中馬 広一:

消化器癌骨転移に対する外科的治療とその予後
大腸癌Frontier, 6 (1):26-31, 2013

滑川陽一, 中馬 広一, 他:

後頸部両側に発生し、異なるMRI所見を呈した
Spindle cell lipomaの1例

中部整災誌, 56:865-6, 2013

2. 学会発表

中馬 広一:

骨軟部腫瘍の診断と治療

佐世保整形外科研究会(2013.6.21 佐世保)

中馬 広一:

悪性軟部腫瘍：治療の進歩

TOCG 第 14 回臨床夏期セミナー
(2013.7.18-19 東京)

中馬 広一:

臨床腫瘍学講義

聖路加国際病院(2013.9 東京)

中馬 広一:

悪性骨・軟部腫瘍に対する標準治療と新規薬物研究
の最新動向

第 51 回日本癌治療学会学術集会
(2013.10.24-26 京都)

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的治療確立のための研究

研究分担者 戸口田 淳也 京都大学再生医科学研究所教授

研究要旨 滑膜肉腫(Synovial sarcoma、以下 SS)における融合遺伝子である SS18-SSX 遺伝子の機能解析を目指して、*in vitro* の研究を行った。下流遺伝子として Frizzled homologue 10 (FZD10) 遺伝子を選択し、同定した転写制御領域でのエピゲノムの解析を行い、更に多能性幹細胞に発現誘導型ベクターを導入したシステムを用いて、SS18-SSX の機能が分化段階毎に異なり、神経堤由来細胞が前駆細胞の候補となることを明らかにした。

A. 研究目的

SS は成人発生の稀な軟部肉腫であるが、SS18-SSX 融合遺伝子という特異的な遺伝子変異を有していること、複数の細胞株が樹立されていること等より、多くの基礎的な研究が進められている。SS18-SSX 融合タンパクの機能としては、クロマチン修飾を改変することで、遺伝子発現を制御することが提唱されているが、その詳細は明らかにされていない。下流遺伝子を同定し、それぞれに対する発現制御機構を明らかにすることは、SS18-SSX 融合タンパクの腫瘍発生における役割を解明すると同時に、新規の治療法の開発にも結びつく可能性がある。そこで本研究では、これまでに我々が下流遺伝子として同定した WNT 蛋白の受容体の一つである Frizzled homologue 10 (FZD10) 遺伝子に関して、その発現制御機構における SS18-SSX 融合タンパクの関与を解析した。

B. 研究方法

1) FZD10 遺伝子発現制御領域の同定とエピゲノム解析： FZD10 遺伝子の発現制御領域の同定し、FZD10 陽性及び陰性細胞での同領域の DNA メチル化及びヒストンアセチル化及びメチル化を解析した。

2) FZD10 遺伝子発現に対する SS18-SSX の作用の解析： これまでの研究から得られた SS が神経堤に由来する細胞であるとの仮説のもとに、多能性幹細胞から神経堤細胞、そして神経堤由来の間葉系幹細胞を分化誘導するシステムにおいて、各段階で SS18-SSX を発現させ、それぞれの細胞における FZD10 遺伝子の発現及び遺伝子制御領域におけるヒストン修飾の状態を解析した。

(倫理面への配慮)

ヒト肉腫組織からの RNA 抽出及び発現解析実験

は、京都大学医学部医の倫理委員会により承認された実験として行った。

C. 研究結果

1) FZD10 遺伝子発現制御領域の同定： FZD10 遺伝子発現遺伝子のプロモーター領域において、特定の転写因子の結合部位を含む転写活性領域を同定した。エピゲノムの修飾に関しては、発現陽性、陰性に関わらず、DNA は低メチル化状態であり、その関与は低いと考えられた。一方、ヒストンのアセチル化及びメチル化に関しては、SS 細胞株では活性型であり、皮膚線維芽細胞では抑制型であった。興味深いことに胚性幹細胞では両者が共存する両価型となっていた。

2) SS18-SSX の作用の解析： 薬剤発現誘導ベクターを用いて、多能性幹細胞および神経堤細胞の段階で発現を誘導すると FZD10 遺伝子の発現は誘導されたが、更に間葉系幹細胞の段階まで分化誘導すると、発現は誘導されなかった。それらの細胞間での解析で、前 2 者の段階では SS18-SSX が発現制御領域に結合するが、後者では結合しないことが判明し、同一遺伝子であっても、細胞の分化状態によって SS18-SSX の機能が大きく異なることが明らかになった。

D. 考察

SS18-SSX が標的遺伝子の転写制御領域に結合してヒストンアセチル化を亢進型に改変することで下流遺伝子の発現を誘導する機構が明らかになった。同時に、標的遺伝子への結合は細胞の分化状態に依存することも明らかになり、至適な細胞を用いて解析を行う必要性が示された。

E. 結論

SS18-SSX 蛋白のヒストン修飾を改変する機能は細胞の分化状態により異なり、神経堤由来細胞が前駆細胞の候補であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamada K, Toguchida T, et al.:

EWS/ATF1 expression induces sarcomas from neural crest-derived cells in mice

J Clin Invest, 123(2): 600-10, 2013

Okita Y, Toguchida J, et al.:

Characteristics of flexed knee gait and functional outcome of a patient who underwent knee reconstruction with a hingeless prosthesis for bone tumor resection: a case report with gait analysis and comparison with healthy subjects

Eur J Phys Rehabil Med, in press, 2013

Okita Y, Toguchida J, et al.:

Compensation by nonoperated joints in the lower limbs during walking after endoprosthetic knee replacement following bone tumor resection

Clin Biomech (Bristol, Avon), 28(8): 898-903, 2013

2. 学会発表

岡本健, 戸口田淳也, 他:

上腕骨悪性骨腫瘍切除後の処理骨再建の長期成績

第 86 回日本整形外科学会学術総会

(2013.5.23-26 広島)

早川和男, 戸口田淳也, 他:

多能性幹細胞を用いた融合遺伝子標的遺伝子の同定

第 46 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2013.7.11-12 東京)

玉置さくら, 戸口田淳也, 他:

SYT-SSX による滑膜肉腫関連遺伝子 FZD10 のエピジェネティック制御機構について

第 46 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2013.7.11-12 東京)

岡本健, 戸口田淳也, 他:

当科における脊椎原発悪性骨腫瘍の治療成績

第 46 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会

(2013.7.11-12 東京)

金永輝, 戸口田淳也, 他:

日本人の軟骨腫瘍における IDG 遺伝子の突然変異スペクトラム

第 72 回日本癌学会総会(2013.10.-5 横浜)

福田誠, 戸口田淳也, 他:

iPS 細胞技術を用いた肉腫研究: 滑膜肉腫の起源細胞解明を目指して

第 72 回日本癌学会総会(2013.10.-5 横浜)

加藤友久, 戸口田淳也, 他:

滑膜肉腫原因融合遺伝子産物 SS18-SSX の相互作用因子の同定によるエピジェネティクス制御破綻の分子基盤の解明

第 72 回日本癌学会総会(2013.10.-5 横浜)

玉置さくら, 戸口田淳也, 他:

細胞背景は滑膜肉腫特異的融合タンパク SYT-SSX はエピジェネティック制御において重要な因子である

第 72 回日本癌学会総会(2013.10.-5 横浜)

戸口田淳也, 他:

肉腫発生機構に関する多能性幹細胞からのアプローチ

第 72 回日本癌学会総会(2013.10.-5 横浜)

Fukuta M, Toguchida J, et al.:

Application of iPS cell for sarcoma research: investigation for the cell-of-origin of synovial sarcoma
8th Combined Meeting of Orthopaedic Research Societies

(2013.10.13-16 Venice, Italy)

福田誠, 戸口田淳也, 他:

iPS 細胞技術を用いた滑膜肉腫起源の同定への試み

第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会

(2013.10.17-18 千葉)

Tamaki S, Toguchida J, et al.:

SS18-SSX is a cell-context-dependent epigenetic regulator: implication for cell-of-origin of synovial sarcomas

18th CTOS(2013.10.30-11. New York, USA)

Fukuta M, Toguchida J, et al.:

Establishment and differentiation of pluripotent stem cells containing drug-inducible SS18-SSX gene.

18th CTOS(2013.10.30-11. New York, USA)

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

骨肉腫に対する新たな治療法の確立に対する研究

分担研究者 尾崎 敏文 岡山大学大学院整形外科学 教授

研究要旨 骨肉腫に対する新たな治療法の確立を目的とした。骨肉腫において化学療法に対する抵抗性獲得は予後を規定する重要な因子である。我々はテロメラーゼ依存性腫瘍融解アデノウイルス(OBP-301)を開発し、骨肉腫細胞に対する有効性を確認した。本研究では骨肉腫細胞株に対する OBP-301 の化学療法感受性亢進作用とその分子機序について検討した。抗がん剤と OBP-301 の併用により相加・相乗効果とアポトーシスの増強を認めた。OBP-301 は抗アポトーシス蛋白 Mcl-1 の発現を著明に抑制した。OBP-301 は化学療法感受性を改善し、両者の併用は骨肉腫の有効な治療法となり得る可能性が示唆された。

A. 研究目的

骨肉腫に対しては主に化学療法と外科的切除による集学的治療が行われるが、化学療法に対する抵抗性獲得は重要な予後規定因子であり、化学療法感受性の改善は重要な課題である。我々はテロメラーゼ活性に依存して増殖する腫瘍融解アデノウイルス(OBP-301)を開発し、骨肉腫細胞株に対する有効性を確認した。OBP-301 は米国での第 I 相臨床試験を終了し、日本での頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する第 I/II 相臨床試験が進行中である。将来的に骨肉腫に対して OBP-301 を臨床応用するにあたり、現在の標準的治療で用いられる化学療法との併用効果は明らかとなっていない。我々は化学療法と OBP-301 の併用による骨肉腫細胞株への抗腫瘍効果とその分子機構の解析を行った。

B. 研究方法

4 種類のヒト骨肉腫細胞株(HOS, MNNG/HOS, 143B, SaOS-2)を用いて検討を行った。抗がん剤は Doxorubicin および Cisplatin を使用し、併用効果は CalcuSyn software により評価した。アポトーシスの誘導について、PARP の切断や Bcl-2 ファミリー蛋白(Bax, Bak, Bim, Bcl-2, Mcl-1, Bcl-x_L)の発現をウエスタンブロット法により評価した。さらに siRNA を用いて OBP-301 による抗がん剤感受性増強効果の分子機構を解析した。最後にマウス背部皮下 MNNG/HOS 移植腫瘍モデルを作成し、抗がん剤と OBP-301 の併用による抗腫瘍効果について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究において動物実験を行うにあたり、「岡山

大学における動物実験規則」に従い、詳細な動物実験に関する計画書を作成・提出し、所定の手続きは完了しており、その規定に従っている。動物実験の際には、「実験動物の飼育及び保管並びに苦痛軽減に関する基準」に従い、外科的な処置を行う際には適切な麻酔を行い、動物に無用な苦痛を与えないように最大限の注意を払った。

C. 研究結果

すべての骨肉腫細胞株において抗がん剤と OBP-301 の併用は相加・相乗の抗腫瘍効果を認めた。OBP-301 は抗がん剤のアポトーシス誘導を増強した。OBP-301 は抗アポトーシス蛋白である Mcl-1 の発現を著明に抑制したが、他の Bcl-2 ファミリー蛋白の発現に変化は認めなかった。Mcl-1 siRNA は Mcl-1 の発現を抑制し、OBP-301 と同様に抗がん剤によるアポトーシスの誘導を増強した。マウス背部移植腫瘍モデルでは抗がん剤と OBP-301 の併用群は単独群と比較して有意に腫瘍増殖を抑制した。

D. 考察

悪性腫瘍において抗アポトーシス蛋白の発現増強は化学療法抵抗性に寄与しており、骨肉腫細胞における Mcl-1 の発現増強も報告されている。OBP-301 は抗アポトーシス蛋白 Mcl-1 の発現抑制を介して抗がん剤の感受性を亢進させる可能性が示唆された。本研究により化学療法と OBP-301 の併用が、骨肉腫に対する新しい治療戦略となることが期待される。

E. 結論

骨肉腫細胞株において OBP-301 は化学療法感受性を増強し、両者の併用は良好な結果を示した。将来的に化学療法と OBP-301 の併用が骨肉腫に対する有効な治療手段になると期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sasaki T, Ozaki T, et al.:

A simple detection system for adenovirus receptor expression using a telomerase-specific application-competent adenovirus
Gene Ther, 20(1):112-8, 2013

Hasei J, Ozaki T, et al.:

Dual programmed cell death pathways induced by p53 transactivation overcome resistance to oncolytic adenovirus in human osteosarcoma cells
Mol Cancer Ther, 12(3):314-25, 2013

Otani Y, Ozaki T, et al.:

A case of synovial sarcoma with brain metastasis treated with surgical resection and stereotactic radiosurgery
No Shinkei Geka, 41(3):255-62, 2013

Yoneda Y, Ozaki T, et al.:

Truncated SSX Protein Suppresses Synovial Sarcoma Cell Proliferation by Inhibiting the Localization of SS18-SSX Fusion Protein
PloSOne, 9(10):008, 2013

武田健, 尾崎敏文, 他:

達人はこうみる
四肢関節画像診断「悪性骨腫瘍の画像診断」
MB Orthop, 26:51-8, 2013

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

外来で見逃さない軟部腫瘍: 軟部腫瘍と分子生物学的解析の臨床応用
関節外科, 32:656-61, 2013

2. 学会発表

Uehara T, Ozaki T, et al.:

Factors Influencing of Postoperative Wound Complication in Bone and Soft-Tissue Tumors : Comparing Skin Sutures with Staples
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Takeda K, Ozaki T, et al.:

Surgical Treatment Of Giant Cell Tumor Of Bone In Extremity
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Kunisada T, Ozaki T, et al.:

Early Rehabilitation Using Temporal External Fixation Following Resection of Pelvic Sarcoma
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Yamakawa Y, Ozaki T, et al.:

Combined effect of zoledronic acid and telomerase-specific oncolytic for human osteosarcoma cellsvirotherapy
The 8th tri- annual Combined Meeting of Orthopaedic Research Societies
(2013.10.13-16 Venice, Italy)

長谷井嬢, 尾崎敏文, 他:

p53 武装化腫瘍融解アデノウイルスは OBP-301 抵抗性骨肉腫細胞株に microRNA を介し高率にアポトーシスを誘導する
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

尾崎修平, 尾崎敏文, 他:

骨肉腫に対する腫瘍融解ウイルス製剤と化学療法の併用療法
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

国定俊之, 尾崎敏文, 他:

切除縁評価法の問題点: 悪性骨腫瘍
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

国定俊之, 尾崎敏文, 他:
悪性骨盤骨腫瘍切除術の術後機能訓練 一時的創外
固定法の有用性
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

国定俊之, 尾崎敏文:
骨腫瘍切除後の骨移植: 最近の人工骨の特徴
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

上原健敬, 尾崎敏文, 他:
長期生存が得られた胸椎原発 Ewing 肉腫の 2 例
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

武田健, 尾崎敏文, 他:
上腕三頭筋切除を要した軟部肉腫の術後患肢機能
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

松本衣未, 尾崎敏文, 他:
ROCK 阻害剤はヒト関節軟骨細胞の MMP-3 発現
を抑制し、アグリカン産生を維持する
第 32 回日本運動器移植・再生医学研究会
(213.9.28 神戸)

武田健, 尾崎敏文, 他:
骨線維性異形成の治療成績
第 121 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会
(2013.10.3-4 名古屋)

国定俊之, 尾崎敏文, 他:
高齢者軟部肉腫の治療成績: JMOG 多施設共同研
究
第 121 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会
(2013.10.3-4 名古屋)

長谷井嬢, 尾崎敏文, 他:
p53 で誘導される 2 種類のプログラム細胞死はヒト
骨肉腫細胞の腫瘍融解アデノウイルスへの耐性を
克服する
第 121 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会
(2013.10.3-4 名古屋)

国定俊之, 尾崎敏文:
配向連通気孔構造を有する新しい人工骨の使用経
験

第 33 回整形外バイオマテリアル研究会
(2013.12.7 橿原市)

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

難治性骨・軟部悪性腫瘍に対するゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法

研究分担者 米本 司 千葉県がんセンター整形外科 部長

研究要旨 難治性骨・軟部悪性腫瘍 33 例（骨肉腫 12 例を含む骨悪性腫瘍 15 例および軟部悪性腫瘍 18 例）に対して、ゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法を施行した。3-4 週間ごとに、Day 1 で gemcitabin 675mg/m² を経静脈的に投与、続く Day 8 で gemcitabin 675mg/m² を投与した後 docetaxel 75mg/m² を投与した。治療開始時年齢は中央値 44 歳で、合計 179 コース（中央値 4 コース）の治療を行った。無増悪生存期間の中央値は 4.5 か月、全生存期間の中央値は 9 か月であった。効果判定ができた 30 例では、CR 0 例、PR 6 例、SD 14 例であった。有害事象は Grade 3-4 neutropenia、thrombopenia がそれぞれ 65%、8%と比較的軽妙であったが、1 例に Grade 4 infection が見られた。治療関連死はなかった。ゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法は難治性骨・軟部悪性腫瘍に有効であり、その安全性も許容できるものであった。

A. 研究目的

骨肉腫、ユーイング肉腫ファミリー腫瘍、滑膜肉腫などの骨・軟部悪性腫瘍の治療成績は化学療法、手術療法、放射線療法からなる multimodal therapy の導入により改善傾向にあるが、切除不能の局所進行例や遠隔転移例は現時点で治癒が得られる例は少なく、また従来行われてきた標準的治療後の再発あるいは治療抵抗例には有効な薬剤が存在しないのが現状である。

近年、ゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法は、さまざまな癌種においてその治療効果が報告されており、軟部悪性腫瘍に対するこの 2 剤の併用療法の有効性が、2004 年以降米国を中心として報告されている。しかしながら本レジメンの本邦における報告はほとんど無く、また難治性骨悪性腫瘍、とりわけ骨肉腫に対する有効性に関するまとまった報告もこれまでに無い。

本研究の目的は、難治性骨・軟部悪性腫瘍に対するゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法の有効性と安全性を検証することである。

B. 研究方法

本試験は非盲検、非無作為化、非対照第 II 層臨床試験としてデザインされた。

対象患者は組織学的に骨・軟部悪性腫瘍と診断され、かつ原発巣治療後に転移もしくは再発を生じ、各組織型の標準的治療とされる化学療法に抵抗性を示した患者とした。

治療は、1 コースを 3-4 週間とし、Day 1 で

gemcitabin 675mg/m² を経静脈的に投与、続く Day 8 で gemcitabin 675mg/m² を経静脈的に投与した後、docetaxel 75mg/m² を経静脈的に投与した。原疾患の進行または許容できない毒性の発現等の中止基準に該当しない限り、患者は上記治療を継続した。抗腫瘍効果は 2 コース（6 週間±7 日）ごとに、RECIST ガイドラインに従って評価した。

主要評価項目は 6 ヶ月後の無増悪率（6 ヶ月 PFSR）、副次的評価項目は無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）、客観的奏効率（ORR）とした。有害事象は CTCAE v4.0 に従って記録した。

（倫理面への配慮）

本研究の実施に当たり、院内の倫理審査委員会の承認を得た。また、本研究に参加した患者からは書面による同意を得た。個人情報保護にも十分注意した。

C. 研究結果

骨肉腫 12 例を含む骨悪性腫瘍 15 例および軟部悪性腫瘍 18 例の合計 33 例が約 2 年間で本試験に登録され、全例が解析対象となった。治療開始時年齢は 8-79 歳（中央値 44 歳）であった。

合計 179 コース（1-13 コース、中央値 4 コース）の治療が行われ、dose intensity は 100-50%（中央値 95%）であった。

全症例における 6 ヶ月 PFSR は 53.1%（95%CI 35.3-70.2%）であり、PFS の中央値は 4.5 か月（0.4-15.8 か月）、OS の中央値は 9 か月（2-26 か月）であった。画像効果判定が可能であった 30 例中、

CR 0例、PR 6例（UPS 2例、骨肉腫 2例、軟部平滑筋肉腫および骨線維肉腫各1例）、SD 14例であり、ORRは20%であった。

骨肉腫患者12例の6ヶ月PFSRは63.6%であり、紡錘形細胞軟部肉腫のそれより（44.7%）良好であったが、有意差は見られなかった（ $P=0.35$ ）。

有害事象はGrade3-4 neutropenia、thrombopeniaがそれぞれ65%、8%と比較的軽妙であったが、1例にGrade 4 infection（肺炎）が見られた。治療関連死は認められなかった。

D. 考察

これまでの過去の骨肉腫患者に対するゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法の散発的な結果をまとめると、ORRは31%（13例中4例でPR）であり、本試験のこれまでの結果と合わせ考えても、本レジメンの難治性骨肉腫患者に対しても有効性が期待されると言える。

また本レジメンの有害事象は、骨肉腫再発後に一般的に用いられている他のレジメンと比較し、比較的軽妙・低頻度と言える。このことは、すでにアドリアマイシンを中心とした濃厚な化学療法を施行済みの再発患者にも比較的低リスクに施行可能であることを意味している。

E. 結論

ゲムシタビン・ドセタキセル併用化学療法は難治性軟部悪性腫瘍のみならず、骨肉腫を始めとする難治性骨悪性腫瘍に対しても有効であり、またその安全性も許容できるものであった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Akita S, Yonemoto T, et al.:

Inclusion of the perforating branch of the tenth intercostal artery in the distal skin paddle of the divided latissimus dorsi flap

Plast Reconstr Surg, 132(5): 886e-7e, 2013

Iwata S, Yonemoto T, et al.:

Efficacy of carbon-ion radiotherapy and high-dose chemotherapy for patients with unresectable Ewing's sarcoma family of tumors

Int J Clin Oncol, 18:1114-8, 2013

Iwata S, Yonemoto T, et al.:

Prognostic factors in elderly osteosarcoma patients: A multi-institutional retrospective study of 90 cases

Ann Surg Oncol, 21: 263-8, 2014

Hagiwara Y, Yonemoto T, et al.:

Rotational valgus osteotomy for shepherd's crook deformity: a case report

J Orthop Sci, in press 2013

2. 学会発表

Yonemoto T, et al.:

Osteosarcoma occurring as second malignancy of childhood cancers (HOPES006)

18th Annual meeting of Connective Tissue Oncology Society

(2013.10.30-11.2 New York, USA)

米本司, 他:

小児がんの二次がんとして発生した骨肉腫の臨床像について

第46回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会

(2013.7.11-12 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

高齢者の悪性骨軟部腫瘍における肺転移病巣に対するラジオ波焼灼術の有用性に関する研究

研究分担者 松峯昭彦 三重大学大学院医学系研究科整形外科学 准教授

研究要旨 悪性骨軟部腫瘍における肺転移病巣に対しては化学療法の効果は一般的には期待できず、外科的切除が標準的治療である。しかし、高齢者では心肺機能の低下やそれに伴う全身麻酔の合併症や残存する肺機能の懸念、また内科的合併症の存在があり、多発する肺転移や繰り返す肺転移の出現に対しては外科的切除に限界がある。そこでわれわれは局所麻酔で可能で低侵襲なラジオ波焼灼術(RFA)を外科的切除に加えて行っている。そこで今回、高齢者（65歳以上）と若年者（20歳から64歳）における、悪性骨軟部腫瘍肺転移に対して外科的切除とRFAを用いて治療をおこなった症例を比較することにより、高齢者におけるRFAの安全性と有効性を検討した。その結果、高齢者でもRFAを行うことにより若年者と同等の生命予後が期待でき、また安全性も若年者と比較して差を認めなかった。

RFAは低侵襲であり高齢者の肺転移に対して有効な治療方法になりうると考えられる。

A. 研究目的

高齢化社会の到来により悪性骨軟部腫瘍症例は今後増加していくと考えられる。約30%の頻度で肺転移を生じるが、化学療法の効果は一般的には期待できず、外科的切除が標準的治療である。しかし、高齢者では心肺機能の低下やそれに伴う全身麻酔の合併症や残存する肺機能の懸念、また内科的合併症の存在があり、多発する肺転移や繰り返す肺転移の出現に対しては外科的切除に限界がある。そこでわれわれは局所麻酔で可能で低侵襲なラジオ波焼灼術(RFA)を外科的切除に加えて行っている。今回われわれは高齢者におけるRFAの有効性、安全性を検討した。

B. 研究方法

2001年から2010年までに悪性骨軟部腫瘍と診断され、その後肺転移を生じた症例を対象とした。高齢者では25例で肺転移を生じていたが、12例で治療を行っていた(A群)。一方若年者では41例で肺転移を生じており、20例で治療を行った(B群)。A群とB群における生命予後、合併症などを比較した。

なお、本研究は介入のない、試料を用いた後ろ向き研究であり、特別な倫理的な問題は存在しない。

C. 研究結果

A群では12例中4例で外科的切除を行っていた。平均切除回数は1.3回であった。また全例でRFAを行っており、平均3.7セッションであった。B群で

は16例で外科的切除を行っており、平均切除回数は1.4回であった。また、14例でRFAを行っており、平均3.8セッションであった。A群の肺転移初回治療後の生命予後は1年、2年、3年でそれぞれ81.8%、51.1%、38.4%であり、B群は94.7%、63.2%、47.4%であり、両群で有意差は認めなかった($p=0.36$)。A群、B群ともに外科的肺切除における合併症は認めなかった。A群ではRFA後に気胸を62%で認め、23%でChest tubeを挿入していた。B群では56%で認め、50%にtubeを挿入していた。これらの頻度に有意差は認めなかった。また、致死的な合併症は両群ともに認めなかった。

D. 考察

悪性骨軟部腫瘍における肺転移は約30%程度の頻度で生じる。肺転移後の生命予後は3年で20-50%と報告されており、今回の研究では高齢者でも積極的に治療を行えば、同等の生命予後が期待できる可能性を示唆している。本研究では、高齢者に対してRFAを平均3.7セッション行っており、繰り返し治療が可能であること、RFA後に致死的な合併症も生じていないこと、若年者と比較して生命予後に有意差を認めなかったことが判明した。

E. 結論

後ろ向き研究であるためバイアスの存在を考慮する必要があり、今後さらなる研究を要するが、本研究結果より、RFAは安全にかつ有効に肺転移に対

する治療方法のひとつとして積極的に考える選択肢であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kudawara I, Matsumine A, et al.:

Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy with high-dose ifosfamide, doxorubicin, cisplatin and high-dose methotrexate in non-metastatic osteosarcoma of the extremities: a phase II trial in Japan
J Chemother, 25:41-8, 2013

Sakurai N, Matsumine A, et al.:

Novel p53 splicing site mutation in Li-Fraumeni-like syndrome with osteosarcoma
Pediatr Int, 55:107-11, 2013

Matsubara T, Matsumine A, et al.:

Can a less radical surgery using photodynamic therapy with acridine orange be equal to a wide-margin resection?
Clin Orthop Relat Res, 471:792-802, 2013

Yamakado K, Matsumine A, et al.:

Radiofrequency ablation for the treatment of recurrent bone and soft-tissue sarcomas in non-surgical candidates
Int J Clin Oncol, in press 2013

Nakamura T, Matsumine A, et al.:

Clinical outcomes of Kyocera Modular Limb Salvage system after resection of bone sarcoma of the distal part of the femur: the Japanese Musculoskeletal Oncology Group study
Int Orthop, in press 2013

Nakamura T, Matsumine A, et al.:

The combined use of the neutrophil-lymphocyte ratio and C-reactive protein level as prognostic predictors in adult patients with soft tissue sarcoma
J Surg Oncol, 108:481-5, 2013

Yamaguchi T, Matsumine A, et al.:

Deep-vein thrombosis after resection of musculoskeletal tumours of the lower limb
Bone Joint J, 95-B:1280-4, 2013

Niimi R, Matsumine A, et al.:

Ewing's sarcoma with an uncommon clinical course: A case report
Oncol Lett, 6:9-12, 2013

Niimi R, Matsumine A, et al.:

Efficacy of the dynamic radiographs for diagnosing acute osteoporotic vertebral fractures
Osteoporos Int, in press 2013

Atsumi S, Matsumine A, et al.:

Prognostic significance of CD155 mRNA expression in soft tissue sarcomas
Oncol Lett, 5:1771-6, 2013

Niimi R, Matsumine A, et al.:

An algorithm using the early changes in PINP to predict the future BMD response for patients treated with daily teriparatide
Osteoporos Int, 25:377-84, 2014

Niimi R, Matsumine A, et al.:

Soluble Neural-cadherin as a novel biomarker for malignant bone and soft tissue tumors
BMC Cancer, 13(1):309, 2013

Nakamura T, Matsumine A, et al.:

Clinical significance of radiofrequency ablation and metastasectomy in elderly patients with lung metastases from musculoskeletal sarcomas
J Cancer Res Ther, 9(2):219-23, 2013

Asanuma K, Matsumine A, et al.:

The thrombin inhibitor, argatroban, inhibits breast cancer metastasis to bone
Breast Cancer, 20(3):241-6, 2013

松峯昭彦, 他:

軟部肉腫に対するアクリジンオレンジ療法
先端医療シリーズ44 臨床医のための最新整形外科
先端医療技術研究所, 174-6, 2013

塚本正, 松峯昭彦, 他:

橈骨遠位骨巨細胞腫による骨変形で生じた長母指伸筋腱断裂の1例
中部日本整形外科災害外科学会雑誌
56(3):601-2, 2013

浅沼邦洋, 松峯昭彦, 他:
骨軟部腫瘍手術でFondaparinuxを使用した13例の検討
中部日本整形外科災害外科学会雑誌
56(2):497-8, 2013

天白宏典, 松峯昭彦, 他:
転移性肺腫瘍の外科治療—骨・軟部悪性腫瘍肺転移例に対する治療
胸部外科, 66(4):311-4, 2013

2. 学会発表

Asanuma K, Matsumine A, et al.:
The expression of Tissue Factor mRNA in bone and soft tissue sarcoma patients
26th European Musculoskeletal Oncology Society Meeting
(2013.5.29-31 Gothenburg, Sweden)

Ooi T, Matsumine A, et al.:
Clinical outcomes in the oldest old patients (85 years or old) with musculoskeletal sarcomas
26th European Musculoskeletal Oncology Society Meeting
(2013.5.29-31 Gothenburg, Sweden)

Goto M, Matsumine A, et al.:
Granular cell tumors of soft tissue :A report of five cases
26th European Musculoskeletal Oncology Society Meeting
(2013.5.29-31 Gothenburg, Sweden)

Matsubara T, Matsumine A, et al.:
Less Radical Resection for Tissue Sarcomas Combined with Chemotherapy and Acridine Orange Photodynamic Therapy Produced Excellent Local Control
26th European Musculoskeletal Oncology Society Meeting
(2013.5.29-31 Gothenburg, Sweden)

Matsumine A, et al.:
New hyperthermic treatment with magnetic materials for metastatic bone tumor.
26th European Musculoskeletal Oncology Society Meeting
(2013.5.29-31 Gothenburg, Sweden)

Matsumine A, et al.:
Clinical outcomes of revision surgery for failed tumor prostheses
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Nakamura T, Matsumine A, et al.:
Clinical outcome of the KLS total Knee system after resection of bone sarcomas of the distal part of the femur: Japanese musculoskeletal oncology group (JMOG) study
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

伊東直也, 松峯昭彦, 他:
コンパートメント症候群様症状で発症した悪性リンパ腫の1例
第120回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2013.4.5-6 和歌山)

松原孝夫, 松峯昭彦, 他:
化学療法感受性腫瘍に対するアクリジンオレンジ療法の検討
第120回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2013.4.5-6 和歌山)

後藤幹伸, 松峯昭彦, 他:
肋骨原発悪性骨腫瘍の治療成績
第120回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2013.4.5-6 和歌山)

浅沼邦洋, 松峯昭彦, 他:
骨軟部肉腫に他悪性腫瘍を合併した多重癌の検討
第120回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2013.4.5-6 和歌山)

中村知樹, 松峯昭彦, 他:
腫瘍切除後に自家処理骨を用いて再建を行った大腿骨骨幹部 Ewing 肉腫の治療成績
第120回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2013.4.5-6 和歌山)

大井徹, 松峯昭彦, 他:
上腕骨近位原発性骨悪性腫瘍に対する治療成績
第120回中部日本整形外科災害外科学会学術集会
(2013.4.5-6 和歌山)

西村明展, 松峯昭彦, 他:
地域在住高齢者に対するロコモ 25 とロコモティブ
シンドロームとの関係
第 86 回日本整形外科学会学術総会
(2013.5.23-26 広島)

松原孝夫, 松峯昭彦, 他:
高悪性軟部腫瘍に対するアクリジンオレンジ療法
の検討
第 86 回日本整形外科学会学術総会
(2013.5.23-26 広島)

松峯昭彦, 他:
骨腫瘍に対する磁性体温熱療法
第 86 回日本整形外科学会学術総会
(2013.5.23-26 広島)

楠崎克之, 松峯昭彦, 他:
アクリジンオレンジ治療法
第 86 回日本整形外科学会学術総会
(2013.5.23-26 広島)

加藤俊宏, 松峯昭彦, 他:
脊椎椎体骨折の追跡調査—既存骨折に対する新規
骨折の発生様式—
第 86 回日本整形外科学会学術総会
(2013.5.23-26 広島)

後藤幹伸, 松峯昭彦, 他:
血清可溶性 CD155 量は、悪性骨・軟部腫瘍患者の
予後予測に有用である
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

浅沼邦洋, 松峯昭彦, 他:
骨・軟部腫瘍手術で DVT 予防の抗凝固療法は必要
か
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

大井徹, 松峯昭彦, 他:
超高齢発症の悪性骨・軟部腫瘍の治療成績
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

松峯昭彦, 他:
腫瘍用人工関節再置換の手技的問題点—感染症例
に対する治療を中心に—
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

松峯昭彦, 他:
がん治療における整形外科医の重要性—Tumor
Board での検討症例から—
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

松原孝夫, 松峯昭彦, 他:
軟部肉腫に対するアクリジンオレンジ療法および
術前化学療法兼用療法の治療成績
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

中村知樹, 松峯昭彦, 他:
多発肺転移に対してラジオ波焼灼術を行い長期生
存が得られている軟骨肉腫の 1 例
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

松峯昭彦, 他:
膝蓋骨-膝蓋腱-脛骨近位の術中加温/放射線処理に
より膝伸張機構を再建した膝前面軟部肉腫の 3 例
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

中村知樹, 松峯昭彦, 他:
軟部肉腫における血清 CRP の臨床的意義
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

中塚豊真, 松峯昭彦, 他:
転移性骨・軟部腫瘍に対する CT 透視下凍結療法の
初期経験
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
(2013.7.11-12 東京)

横山弘和, 松峯昭彦, 他:
右胸壁に生じた放射線皮膚潰瘍に対して対側の内
胸動脈穿通枝皮弁で加療した 1 例
日本マイクロサージャリー学会 40 周年記念学術集
会
(2013.9.26-27 盛岡)

萩智仁, 松峯昭彦, 他:
放射線処理脛骨の近位骨端線離開に対して逆行性
血管柄付き大腿骨内顆骨弁を施行した1例
日本マイクロサージャリー学会 40周年記念学術集
会
(2013.9.26-27 盛岡)

中村知樹, 松峯昭彦, 他:
肺転移に対してラジオ波焼灼術を行った高齢者(65
歳以上) 骨軟部肉腫の治療成績
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

大井徹, 松峯昭彦, 他:
超高齢発症の四肢悪性軟部腫瘍の治療成績
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

後藤幹伸, 松峯昭彦, 他:
肋骨を合併切除した胸壁発生軟部肉腫5例の治療成
績
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

奥野一真, 松峯昭彦, 他:
骨外病変を伴った大腿骨近位悪性骨腫瘍における
腫瘍用人工関節置換術後の患肢機能の検討
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

松原孝夫, 松峯昭彦, 他:
長管骨難治性骨巨細胞腫の治療成績
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

宮村岳, 松峯昭彦, 他:
骨腫瘍と鑑別を要した特発性大腿骨頭壊死症の一
例
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

浅野貴裕, 松峯昭彦, 他:
上腕皮下に発生した骨外性骨肉腫の1例
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

浅沼邦洋, 松峯昭彦, 他:
軟部腫瘍における血中 fibrinogen 値の検討
第121回中部日本整形外科災害外科学会学術集
会
(2013.10.3-4 名古屋)

大井徹, 松峯昭彦, 他:
薬物ライブラリを用いた骨肉腫に対する新規治療
薬の探索
第28回日本整形外科学会基礎学術集
会
(2013.10.17-18 千葉)

飯野隆大, 松峯昭彦, 他:
悪性骨・軟部腫瘍における血清中 EXT1 タンパクの
意義
第28回日本整形外科学会基礎学術集
会
(2013.10.17-18 千葉)

後藤幹伸, 松峯昭彦, 他:
肉腫細胞において CD155 は細胞外に分泌されてお
り、悪性骨・軟部腫瘍患者の有用なバイオマーカー
となりうる
第28回日本整形外科学会基礎学術集
会
(2013.10.17-18 千葉)

松峯昭彦:
悪性軟部腫瘍に対するパゾパニブの治療効果
第51回日本癌治療学会学術集
会
(2013.10.24-26 京都)

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

Ewing 肉腫における分泌膜小胞の解析と診断への応用に関する研究

研究分担者 大野 貴敏 岐阜大学大学院医学系研究科整形外科学 准教授

研究要旨 Ewing 肉腫のあらたな診断方法を開発する目的で、分泌膜小胞 (MV s : microvesicles) に着目し解析を行った。細胞から分泌される MV s は径が 50 nm~1000nm で、その小胞内に、mRNA、miRNA、蛋白などの遺伝情報物質を含み、細胞間コミュニケーションツールとして機能していることが明らかとなってきた。特に腫瘍細胞から産生される MVs には腫瘍特異的な分子や遺伝情報が含まれており、癌の診断や治療への応用が期待されている。

Ewing 肉腫の約 90% に、t(11;22)(q24;q12) に起因する *EWS/FLI-1* 融合遺伝子の発現を認めるが、今回我々は、Ewing 肉腫細胞から分泌される MV s を filter システムを用いて分離し、MV s から *EWS/Fli-1* の遺伝子情報を検出することに成功した。MV s 中の癌遺伝子情報が、Ewing 肉腫をはじめとする様々な肉腫の腫瘍マーカーとして活用できる可能を示唆された。

A. 研究目的

約 90% の Ewing 肉腫には 11 番染色体と 22 番染色体の相互転座による融合遺伝子 *EWS/FLI-1* が発現しており、融合蛋白質 *EWS/FLI-1* が異常な転写活性を引き起こすことで、発がんを誘発していると考えられている。Ewing 肉腫細胞から分泌される MV s を採取し、MV s から *EWS/FLI-1* 融合遺伝子情報を検出し得るか検証した。

B. 研究方法

1. MVs の分離には ExoMir kit (Bioo Scientific Corp. USA) を用いた。細胞培地およびマウス血漿から遠心分離により細胞成分を沈殿させた。その上清を 0.45 μ m のフィルターに通した後、ExoMir kit の 2 種類の pore size のフィルター (Top : 0.22 μ m、Bottom : 0.02 μ m) に通すことで、サイズ依存的に MV s を分離した。Top フィルターを通過した培地に含まれる分泌物のサイズを Nanoparticle tracking analysis (NTA) で調べた。
2. Ewing 肉腫の細胞株である TC135, A673, SKES1、さらに *EWS/ATF1* 融合遺伝子をもつ明細胞腫 MP-CCS-SY の培地から上述の ExoMir kit を用いて MV s を分離抽出した。フィルターにキャプチャーされた MV s から RNA を抽出し、RTqPCR によって *EWS/FLI-1* および *EWS/ATF1* mRNA の発現を検証した。
3. Click-iT Nascent RNA Capture Kit

(Invitrogen, Carlsbad, CA) を用い、Ewing 肉腫細胞から分泌された MV s が同じ Ewing 肉腫細胞の中に取り込まれるかを検証した。

4. Ewing 肉腫細胞株である TC135, A673 をヌードマウスの皮下に移植し、腫瘍が発育した後、血漿を採取した。血漿より ExoMir kit を用いて MVs を分離後、MVs から RNA を抽出し RTqPCR を行い、マウス血漿中の MV s に *EWS/Fli-1* mRNA の発現を認めるか検証した。

C. 研究結果

1. NTA の結果から Top フィルターを通過した培地には 0.14 μ m にピークのある MV s を認め、フィルターによる MV s の分離が可能である事を確認した。
2. Ewing 肉腫細胞株の TC135, A673, SKES1 の培地から分離した MV s 中の RNA からは *EWS/FLI-1* の発現を認め、同様に明細胞肉腫細胞株 MP-CCS-SY の MVs からは *EWS/ATF1* の発現を認めた。
3. Click-iT Nascent RNA Capture Kit を用いて標識しておいた mRNA が、Ewing 肉腫細胞から分泌された MVs 内ならびに、その MVs を投与されたレシピエント TC135 細胞内でも発現していた。
4. TC135, A673 を皮下移植したマウスの約 40% (TC135: 4/10, A673: 3/7) の血漿中の MV s に、*EWS/Fli-1* mRNA の発現を認めた。

D. 考察

今回 Ewing 肉腫、明細胞肉腫の細胞から分泌される MVs の中に、それぞれの肉腫に特異的な癌遺伝子情報が含まれていることが明らかとなった。近年、腫瘍細胞から分泌される MVs には腫瘍特異的な情報伝達物質が含まれており、それをバイオマーカーとして活用する試みが報告されている。MVs は様々な体液に存在し、比較的 low 侵襲に採取可能である。

今回我々は、肉腫移植マウスの血漿より分離抽出した MVs から、肉腫特異的な癌遺伝子情報を検出することに成功した。将来、肉腫由来 MVs の解析が、肉腫の新たな診断や治療に応用できる可能性が示唆された。

E. 結論

1. 細胞培養の培地やマウス血漿から MVs を分離抽出した。
2. 融合遺伝子を有する肉腫細胞から分泌される MVs 内には、融合遺伝子の情報が含まれていた。
3. 腫瘍細胞から分泌された融合遺伝子の情報は、同細胞間で伝達され得ることが判明した。
4. Ewing 肉腫を皮下移植したマウス血漿中 MVs より *EWS/FLI-1* 遺伝子発現の検出に成功した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsugita M, Ohno T, et al.:

Ewing Sarcoma Cells Secrete EWS/Fli-1 Fusion mRNA via Microvesicles

PLoS ONE, :8(10):e77416, 2013

Yamada K, Ohno T, et al.:

EWS/ATF1 activates Fos and induces soft tissue sarcomas from neural crest-derived cells

J Clinical Investigation, 123(2):600-10, 2013

Kato H, Ohno T, et al.:

Is "black geode" sign a characteristic MRI finding for extracranial schwannomas?

J Magn Reson Imaging, 37(4):830-5, 2013

Nagano A, Ohno T, et al.:

Malignant solitary fibrous tumor of the lumbar spinal root mimicking schwannoma: a case report

Spine J, 14(1):e17-20, 2014

大野貴敏, 他:

橈骨骨腫瘍の一例

東海骨軟部腫瘍, 25:9-10, 2013

2. 学会発表

山田一成, 大野貴敏, 他:

EWS/ATF1 は Fos の転写を活性化して細胞増殖に関与する

第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2013.7.11-12 東京)

大島康司, 大野貴敏, 他:

骨肉腫に悪性転化した骨巨細胞腫の 2 例

第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2013.7.11-12 東京)

永野昭仁, 大野貴敏, 他:

骨外性骨肉腫の 2 例

第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (2013.7.11-12 東京)

後藤篤史, 大野貴敏, 他:

当科における In-situ preparation(ISP)を併用した悪性骨軟部肉腫症例の検討

第 232 回整形外科集談会東海地方会 (2013.6.22 名古屋)

大野貴敏, 他:

機能温存をめざした腫瘍の治療法

持続動注療法を併用し機能温存を試みた悪性骨腫瘍の治療成績

第 121 回中部日本整形外科災害外科学会学術集会 (2013.10.3-4 名古屋)

後藤篤史, 大野貴敏, 他:

tumoral calcinosis の 4 例

第 121 回中部日本整形外科災害外科学会学術集会 (2013.10.3-4 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

原発性脊椎悪性骨腫瘍の治療成績

研究分担者 森岡 秀夫 慶應義塾大学医学部整形外科 専任講師

研究要旨 本研究の目的は、原発性脊椎悪性骨腫瘍の問題点を明らかにするため、仙椎を除く脊椎に発生した悪性骨腫瘍の治療成績を検討することである。脊椎に発生した悪性骨腫瘍は、脊髄や大血管等の重要臓器に隣接することから治療は困難を要することが多い。確実な切除縁と適切な化学療法が重要なのは言うまでもなく、近年の化学療法及び手術方法の進歩により治療成績は改善を認めている。しかし依然として、四肢の悪性骨腫瘍に比較して生存率は低く、重粒子線治療などの技術革新はあったが、さらなる治療成績向上のために、腫瘍外科、脊椎外科、胸部外科、放射線治療医などの複合的医療チームによる治療計画の立案と実施、分子標的薬を含む新規補助療法の導入が必要と考えられた。

A. 研究目的

脊椎に発生した悪性骨腫瘍は、脊髄や大血管等の重要臓器に隣接することから治療は困難を要することが多い。本研究の目的は、原発性脊椎悪性骨腫瘍の問題点を明らかにするため、仙椎を除く脊椎に発生した悪性骨腫瘍の治療成績を検討することである。

B. 研究方法

1995-2012年の間に当科で治療した、原発性脊椎悪性骨腫瘍22例(男性16例、女性6例)を対象とした。年齢は4-74(平均43.1歳)であった。経過観察期間は4-180ヶ月(平均63.4ヶ月)で、その組織型の内訳は、軟骨肉腫5例、脊索腫6例、Ewing肉腫6例、骨肉腫・MFH・放射線誘発性肉腫(線維肉腫)・類上皮血管内皮腫・血管外皮腫が各1例であった。腫瘍の存在部位は、頸椎9例、胸椎10例、腰椎3例であった。以上に対して、手術方法、合併症、腫瘍学的予後等の検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は当院の倫理規定に基づく後ろ向きの臨床研究であり、研究による患者への不利益は発生しないと考えられる。また、個人情報情報は削除された臨床データで解析されており、この点についても十分な配慮がなされている。

C. 研究結果

手術を行ったものは20例で、化学療法と放射線による治療のみで手術を行わなかったものは2例あり、いずれもその組織型はEwing肉腫であった。手術方法は、除圧のみが2例、可及的な切除にとどま

ったものが9例、total en bloc spondylectomy (TES)を施行したものが9例であった。切除縁は辺縁切除術が5例、腫瘍内切除術が13例で、16例にinstrumentationを併用した。化学療法は感受性のあるもの全例に施行しており、放射線照射を6例、重粒子線治療を3例に施行した。治療経過中の合併症は感染4例、instrumentのloosening1例、rodの折損1例で、局所再発を8例に認めた。腫瘍学的予後はCDF5例、NED3例、AWD5例、DOD8例、DOC1例であった。5年生存率は組織学的に高悪性度群で55.5%、低悪性度群で83.3%であった。

D. 考察

原発性脊椎悪性骨腫瘍の治療成績に関するまとまった報告は少なく、諸家により様々な報告が散見される程度である。確実な切除縁と適切な化学療法が重要なのは言うまでもなく、近年の化学療法及び手術方法の進歩により治療成績は改善を認めている。しかし依然として、四肢の悪性骨腫瘍に比較して生存率は低く、重粒子線治療などの技術革新はあったが、さらなる治療成績向上のために、腫瘍外科、脊椎外科、胸部外科、放射線治療医などの複合的医療チームによる治療計画の立案と実施、分子標的薬を含む新規補助療法の導入が必要と考えられた。

E. 結論

四肢の悪性骨腫瘍と比較して生存率は低く、重粒子線治療などの技術革新はあったが、さらなる治療成績向上のために、腫瘍外科、脊椎外科、胸部外科、放射線治療医などの複合的医療チームによる治療

計画の立案と実施、分子標的薬を含む新規補助療法の導入が必要と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Koba T, Morioka H, et al.:

Desmoplastic Fibroma Arising in the Distal Phalanx of the Great Toe: A Case Report
J Foot Ankle Surg, in press 2013

Tomoyuki K, Morioka H, et al.:

Secondary aneurysmal bone cyst following chondroblastoma of the patella
Rare Tumors, in press 2013

Yoda M, Morioka H, et al.:

Systemic overexpression of TNF α -converting enzyme does not lead to enhanced shedding activity in vivo
PLoS One, in press 2013

Saito K, Morioka H, et al.:

Conditional inactivation of TNF α -converting enzyme in chondrocytes results in an elongated growth plate and shorter long bones
PLoS One, in press 2013

Morii T, Morioka H, et al.:

Deep infection in tumor endoprosthesis around the knee: a multi-institutional study by the Japanese musculoskeletal oncology group
BMC Musculoskelet Disord, in press, 2013

Ishikawa T, Morioka H, et al.:

Twist2 functions as a tumor suppressor in murine osteosarcoma cells
Cancer Sci, in press, 2013

Morii T, Morioka H, et al.:

Functional analysis of cases of tumor endoprostheses with deep infection around the knee: a multi institutional study by the Japanese Musculoskeletal Oncology Group (JMOG)
J Orthop Sci, 18(4):605-12, 2013

Miyauchi Y, Morioka H, et al.:

HIF1 α is required for osteoclast activation by estrogen deficiency in postmenopausal osteoporosis
Proc Natl Acad Sci U S A, 110(41):16568-73, 2013

Kikuta K, Morioka H, et al.:

An analysis of factors related to recurrence of myxofibrosarcoma
Jpn J Clin Oncol, in press 2013

2. 学会発表

Nakayama R, Morioka H, et al.:

Clinical Outcome of Recurrent Myxofibrosarcoma
26th European Musculoskeletal Oncology Society Meeting
(2013.5.29-31 Gothenburg, Sweden)

Nakatani F, Morioka H, et al.:

Custom-made ceramic spacer for children with osteosarcoma of lower extremities: a long follow-up.
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Susa M, Morioka H, et al.:

Surgical treatment of chondrosarcoma of the chest wall
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Susa M, Morioka H, et al.:

Clinical outcome of giant cell tumor of the mobile spine
17th General Meeting of International Society of Limb Salvage
(2013.9.11-13 Bologna, Italy)

Watanabe I, Morioka H, et al.:

Pathologic fracture in giant cell tumor: prognostic importance and treatment implications
18th Annual meeting of Connective Tissue Oncology Society
(2013.10.30-11.2 New York, USA)

Susa M, Morioka H, et al.:

Clinical outcome of primary malignant tumor of the mobile spine
18th Annual meeting of Connective Tissue Oncology Society
(2013.10.30-11.2 New York, USA)