

201314009B

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

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

平成 23～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 岩本 幸英

平成 26 (2014) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告

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

1

研究代表者 岩本 幸英

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

95

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
総合研究報告書

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

研究代表者 岩本 幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科 教授

研究要旨 四肢に発生する高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する現在の標準治療は手術であるが、手術単独での長期生存率は約35%に過ぎない。全身的治療としての化学療法が試みられているが、その有用性は世界的にも未だ確立していない。四肢に発生する非円形細胞肉腫に対する標準治療を確立することを目的として、ADM+IFO併用術前術後化学療法の有効性と安全性を第II相試験により評価した。平成26年の1月の集計では、2年無増悪生存割合76.4%、9年無増悪生存割合65.3%、2年全生存割合91.7%、9年全生存割合81.0%と良好な成績が得られており、JCOG骨軟部腫瘍グループでは、ADM+IFO併用術前術後化学療法および手術療法が標準治療と判断した。しかし、強い血液毒性や長期入院の必要性などが明らかとなり、高悪性度軟部肉腫に対する有効でより毒性が軽い標準治療確立を目的として、ADM+IFOとGEM+DOCのランダム化比較第III相試験を開始した。また、転移の無い四肢発生の高悪性度骨肉腫に対し、MTX、ADM、CDDPの3剤による術前化学療法を行い、効果が不十分である症例に術後補助化学療法として上記3剤にIFOを追加する上乗せ延命効果があるかどうかを、ランダム化比較により検証する臨床試験を開始した。予定症例数は200例であり、平成22年より登録を開始し、平成26年2月現在で105例の一次登録、59例の二次登録、35例の二次登録ランダム化が行われている。高齢発症骨肉腫に対する治療成績や高悪性度骨軟部腫瘍の再発、進行例に対する治療成績の検討、高悪性度骨軟部腫瘍の手術的治療、予後規定因子の検討、臨床病理学的検討を施行し、有用性や問題点を明らかにするとともに、分子標的治療の標的候補を探索した。一方、化学療法が無効の難治例、薬剤耐性例に対する治療戦略の構築のための基礎的研究や、高悪性度軟部肉腫や遠隔転移を有する骨肉腫に対する新規治療法の開発のため、分子標的治療の開発を目指した基礎的研究も実施した。さらに、悪性骨軟部腫瘍に対する新規治療法として、腫瘍特異的免疫療法の臨床試験評価を行った。

研究分担者

井須 和男（H23年度）

北海道がんセンター 外科系診療部長

平賀 博明（H24年度～）

北海道がんセンター腫瘍整形外科 医長

松田 秀一（H23年度）

九州大学大学院医学研究院整形外科 准教授

松延 知哉（H24年度～）

九州大学病院整形外科 助教

比留間 徹

神奈川県立がんセンター骨軟部腫瘍外科 部長

中馬 広一

国立がんセンター中央病院骨軟部腫瘍科 科長

戸口田 淳也

京都大学再生医科学研究所組織再生応用分野 教授

尾崎 敏文

岡山大学大学院整形外科学 教授

米本 司

千葉県がんセンター整形外科 部長

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

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

森岡 秀夫

慶応義塾大学医学部整形外科 専任講師

松本 誠一

がん研有明病院整形外科 部長

平岡 弘二

久留米大学医学部整形外科 准教授

下瀬 省二（H24年度～）

広島大学大学院医歯薬保健学研究院整形外科 准教授

荒木 信人

大阪府立成人病センター整形外科 主任部長

望月 一男 (H23～H24 年度)
杏林大学医学部整形外科 教授
森井 健司 (H25 年度～)
杏林大学医学部整形外科 准教授
吉川 秀樹
大阪大学大学院医学系研究科整形外科 教授
保坂 正美
東北大学大学院医学系研究科整形外科 講師
和田 卓郎
札幌医科大学道民医療推進学整形外科 教授
杉浦 英志 (H24 年度～)
愛知県がんセンター中央病院整形外科 部長
西田 佳弘 (H24 年度～)
名古屋大学医学部整形外科 准教授
阿部 哲士
帝京大学医学部整形外科 准教授
横山 良平 (H23 年度)
国立病院機構九州がんセンター整形外科 医長

横山 庫一郎 (H24 年度～)
国立病院機構九州がんセンター整形外科 医長
守田 哲郎 (H23～H24 年度)
新潟県立がんセンター新潟病院整形外科 部長
畠野 宏史 (H25 年度～)
新潟県立がんセンター新潟病院整形外科 部長
吉田 行弘
日本大学医学部整形外科 講師
高橋 満
静岡県立静岡がんセンター 副院長
野島 孝之 (H24 年度～)
金沢医科大学臨床病理学 教授
小田 義直 (H24 年度～)
九州大学大学院医学研究院形態機能病理学 教授
蛭田 啓之 (H24 年度～)
東邦大学医療センター佐倉病院病理部 准教授
山口 岳彦 (H24 年度～)
自治医科大学人体病理学部門病理診断部 准教授

A. 研究目的

四肢に発生する高悪性度軟部腫瘍は円形細胞肉腫と非円形細胞肉腫に大別され、後者が大多数を占める。非円形細胞肉腫に対する化学療法の有効性は未だ確定しておらず、外科的切除が治療の中心である。欧米における非円形細胞肉腫進行例に対する臨床試験により、ADM と IFO の単剤での優れた有効性が示された。他の薬剤はこの 2 剤よりも奏効性が劣っている。一方、補助化学療法に関しては有効性を示すデータに乏しいが、ADM を中心とした補助化学療法の臨床試験を集めたメタアナリシスの結果、IFO を含んでいない、薬剤強度が低いなどの問題はあっても、予後を改善する可能性が示された。我が国においては、高悪性度非円形細胞軟部肉腫の進行例に対する ADM+CPM+IFO の第 II 相試験が最近行われたのみである。整形外科領域の四肢原発の非円形細胞軟部肉腫における標準的治療法を確立する上で、手術と併用しうる有効な化学療法を確立することは極めて重要である。しかし、世界的にも四肢発生軟部肉腫に限った化学療法の臨床試験はほとんど行われていない。高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する ADM+IFO による補助化学療法の有効性と安全性を評価することを目的として第 II 相試験を行った。本研究によって ADM+IFO の有効性が認められれば、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する標準的治療法の確立が期待される。

骨肉腫の治療成績は MTX、ADM、CDDP の 3 剤を中心とする化学療法の進歩により改善されてき

た。骨肉腫では、治療が奏効した場合、腫瘍径の縮小よりも腫瘍内の壊死が見られる。そのため、他の固形がんとは異なり、化学療法の効果判定は、主として切除標本での腫瘍壊死割合により行われる。術前化学療法による腫瘍壊死割合が 90%以上の症例 (good responder) は予後がよく、90%未満の症例 (standard responder) が予後不良とされている。この予後不良な術前化学療法の効果不十分例に対し、術後に薬剤を変更する試みがなされてきたが、治療成績の改善は得られていない。厚生労働省がん研究助成金岩本班「原発性悪性骨腫瘍に対する標準的治療法の開発と治療成績の改善に関する研究」を中心に行なわれた骨肉腫の多施設共同研究 NECO-95J (Neoadjuvant Chemotherapy for Osteosarcoma in Japan)の結果から、MTX、ADM、CDDP、3 剤による術前化学療法の効果不十分例に対し、術後にこの 3 剤に IFO を加えた化学療法を行うことで、予後が改善する可能性が示唆された。この NECO-95J レジメンの有用性を検証し標準治療として確立するためには、第 III 相ランダム化比較試験が必要と考えられる。

一方で、近年本邦において増加傾向にある中高齢者発生骨肉腫は、その臨床病理学的特徴から、小児青年期発生骨肉腫とは異なる臨床病理学的特徴を持つことが予想される。また、化学療法を含めた治療体系も確立しているとは言いがたいため、多施設共同後方視的研究を行い、予後関連因子を解析した。肺転移を生じた骨肉腫患者の予後は依然として

極めて不良であり、既存の治療薬剤にかわる新規薬剤の治療開発が早急に望まれる。また、悪性骨軟部腫瘍は既存の化学療法に対する感受性がさほど高くないという根本的問題もあり、近い将来での肉腫に有効な新規薬剤の出現が期待できない現状においては、新しい分子標的治療に関する研究を行わなければ、劇的な生命予後改善効果は得られないと考えられる。そこで、将来のさらなる高悪性度骨軟部腫瘍の治療成績向上に向けて、これら観点からの基礎的研究も実施した。

粘液線維肉腫のような浸潤性軟部肉腫や予後不良の骨軟部肉腫進行再発例に対する治療成績についても検討し、軟部肉腫の再発、転移に及ぼす危険因子についても検討を行った。

さらに、悪性骨軟部腫瘍に高率に過剰発現している WT1 遺伝子産物、滑膜肉腫特異的融合遺伝子産物 SYT-SSX、骨肉腫に過剰発現している PBF などを標的とした、悪性骨軟部腫瘍に対する腫瘍特異的免疫療法に関する研究も実施した。

B. 研究方法

高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する Ifosfamide, Adriamycin による補助化学療法の第 II 相臨床試験

研究形式：多施設共同第 II 相臨床試験であり、プライマリエンドポイントは 2 年無増悪生存割合、セカンダリエンドポイントは術前化学療法の奏効割合、3 年無増悪生存割合、無増悪生存期間、全生存期間、有害事象発生割合、重篤な有害事象発生割合、心毒性発生割合、脳症発生割合、手術合併症発生割合、病理学的奏効割合とする。

対象：1) 年齢 20～70 才、2) ECOG Performance Status 0-1、3) 四肢原発、4) 切開生検サンプルを用いた病理診断にて非円形細胞軟部肉腫 (WHO 分類の以下のいずれか；悪性線維性組織球腫、線維肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、滑膜肉腫、多形型横紋筋肉腫、未分化肉腫、分類不能肉腫)、5) AJCC 病期分類で Stage III (T2bN0M0)、6) MRI での評価可能病変を有する、7) 切除可能、8) 未治療例かつ他の癌種に対し化学療法・放射線療法の既往がない。

化学療法スケジュール (計 5 コース)：

ADM 30 mg/m²/day (day 1-2)、IFO 2 g/m²/day (day 1-5)

以上を 3 週 1 コースとして術前 3 コース、術後 2 コースの計 5 コース実施する。

手術療法：

術前化学療法終了後、3 コース目の化学療法開始日

より 5 週以内に広範切除術を施行する。

治療効果判定と治療の継続：

術前化学療法 3 コース終了後 MRI を撮影し、2 方向計測にて評価する。術前化学療法中に臨床的に増悪と判断された場合は、化学療法を中止して切除を行う。手術後の切除縁評価にて十分な切除縁が得られていないと判断される場合は、術後化学療法の終了後に各施設の判断により放射線療法を実施してもよい。治療終了例は再発を認めるまで追加治療を行わず経過を観察する。治療中止例の後治療は自由とする。

統計学的考察と予定症例数：

症例集積期間は 4 年間とし、登録終了 2 年後に最終解析を行う。登録予定症例数は 75 例である。

骨肉腫術後補助化学療法における Ifosfamide 併用の効果に関するランダム化比較試験

研究形式：多施設共同第 III 相ランダム化比較試験。

プライマリエンドポイントは A、B 群の無病生存期間、セカンダリエンドポイントは G 群の無病生存期間、群ごとの無再発生存期間、群ごとの全生存期間、術前増悪割合、一次登録日を起算日とし全群を併合した全生存期間、有害事象、患肢機能

対象：1) 切除可能な上肢帯を含む上肢、下肢帯を含む下肢に発生した高悪性度骨肉腫、2) 臨床病期が IIA、IIB、III、3) 高悪性度骨肉腫の既往がない、4) 化学療法、放射線治療の既往がない、5) 明らかな家族性腫瘍の家族歴をもたない、6) 40 歳以下、7) Performance Status (ECOG) 0-1、8) 主要臓器機能が保たれている。

患者登録とランダム割付：JCOG データセンターにて 2 段階登録を行う。一次登録後、術前化学療法を行い、手術後に切除標本の腫瘍壊死割合を病理組織学的に判定し、効果不充份例 (standard responder) を二次登録し術後治療群のランダム割付を行う (A 群・B 群)。割付調整因子は施設、T 因子、発生部位。著効例 (good responder) には術前と同じレジメンで術後化学療法を行う (G 群)。

術前化学療法：AP (ADM 60mg/m²+CDDP 120mg/m²) 2 コース、MTX (12g/m²) 4 コース。

手術療法：術前化学療法終了後、4 週以内に手術を施行し、切除標本の腫瘍壊死割合を判定する。

術後化学療法：効果不充份例を二次登録し、ランダム割付により、以下のいずれかの術後化学療法を実施。

A 群：AP 2 コース、MTX 6 コース、ADM (90mg/m²) 2 コース

B 群：AP 2 コース、MTX 4 コース、

IFO (15g/m²) 6 コース

予定症例数：

登録期間 6 年、追跡期間 10 年、200 例を予定症例数とする。

高悪性度骨軟部腫瘍の再発、進行例に対する化学療法の治療成績の検討

切除不能や再発進行性の軟部肉腫に対する緩和的治療法として、IFO (1.5g/m², day1-3)、CBDCA (400mg/m², day3)、etoposide (100mg/m², day1-3) の 3 剤併用化学療法 (ICE 療法) を行い、その治療成績について検討した。2002 年より 2011 年の間に当院で ICE 療法を施行した切除不能および再発進行性軟部肉腫 27 例を対象とした。男性 17 例、女性 10 例で、初診時平均年齢は 44.9 歳 (15-78 歳) であった。組織型は MPNST 6 例、滑膜肉腫 2 例、MFH 2 例、脂肪肉腫 2 例、小円形細胞肉腫 (PNET、横紋筋肉腫) 6 例、その他 9 例であった。非小円形細胞肉腫群と小円形細胞肉腫群における ICE 療法の導入時期、施行回数を調査し、評価項目として、無増悪生存期間、最良総合効果、有害事象について検討した。

軟部肉腫の手術的治療成績の検討

①日本整形外科学会骨軟部腫瘍委員会により制定された骨・軟部肉腫切除縁評価法の妥当性について検討を加えた。1972 年から 2008 年に手術を行った高悪性軟部肉腫 517 例を対象とした。再発腫瘍は除外した。これら症例に対して、切除縁と局所制御率の関係を調べた。まず切除評価部位を 2 群に分けた。B 群：腫瘍と切除線間にバリアーが介在する。338 例。NB 群：腫瘍と切除線間にバリアーが介在しない。179 例。さらに B 群における腫瘍とバリアーの癒着の有無と局所制御率について検討した。

②対象：2002 年から 2012 年の間に、術前補助療法なしで切除手術を行った粘液線維肉腫 (MFS) 17 例および未分化多形肉腫 (UPS) 21 例の計 38 例である。性別は男性 22 例、女性 16 例で、年齢は中央値 72.5 歳 (44-89 歳)。腫瘍の最大径は中央値 7.5cm (1-26cm)。発生部位は浅層 17 例、深層 18 例 (筋間 6 例、筋肉内 12 例)、浅層から深層に及んだものが 3 例であった。検討項目：各症例の切除標本で顕微鏡的浸潤範囲を計測し、術前 MRI の STIR および Gd それぞれにおける腫瘍周囲の高信号領域の範囲と比較することにより、腫瘍細胞の浸潤性と画像所見の関連について調査した。

転移性軟部肉腫、高齢発症骨肉腫の治療成績の

検討

①初回治療開始時に肺転移がなく、手術などで原発巣のコントロールが得られた後に肺転移を生じた症例 72 例を対象とした。男性 34 人、女性 38 人、年齢は 13 歳から 85 歳で中央値 56 歳であった。肺転移巣切除後の平均経過観察期間は 35.8 ヶ月、最終経過観察時の転帰は DOD 45 人、DID 2 人、AWD 9 人、NED 16 人であった。組織型は MFH 20 人、平滑筋肉腫 12 人、滑膜肉腫 11 人、MPNST 5 人であり、その他の組織型が 24 人であった。予後因子として、年齢、性別、組織学的 grade、最初の肺転移出現までのいわゆる Disease-free-interval、肺転移巣の個数、肺転移巣の最大径、手術の curability、肺転移切除の時期 (1999 年以前または 2000 年以降)、肺転移巣切除の術前化学療法の有無、化学療法を行った症例ではその効果について検討した。生存率の評価には Kaplan-Meier 法を用いた。単変量解析は log-rank 検定、多変量解析は Cox 比例 Hazard モデルを用いた。

②1990 年から 2011 年までに病理学的に骨肉腫の診断を受けた、診断時年齢が 40 歳以上の患者 93 例を対象とした。予後因子解析として、発生部位、stage などの治療前因子と、手術の有無および切除縁評価、化学療法の有無および回数などの治療関連因子を、匿名化された診療情報より収集し、統計学的解析を行った。

悪性末梢神経鞘腫瘍 (MPNST) および滑膜肉腫の臨床病理学的検討

①MPNST 135 例の Akt, mTOR, S6, 4E-BP1, MEK1/2, ERK1/2 蛋白の活性化を免疫染色で評価し臨床病理学的因子と比較した。5 例の凍結標本でこれらの蛋白の腫瘍組織および正常組織での活性化状況を Western blot で比較した。細胞株 5 株を用いて mTOR 阻害剤である everolims 投与による増殖能 (cell proliferation assay)、遊走能 (wound healing assay)、浸潤能 (invasion assay) の変化を比較した。

②滑膜肉腫：112 例の滑膜肉腫を対象とした。これらの患者より得られたホルマリン固定パラフィン包埋標本 129 検体について Akt/mTOR 経路上にある Akt, mTOR, 4E-BP1, S6 に対するリン酸化特異的抗体を用いて免疫染色を行った。また、凍結標本 24 検体より抽出したタンパクについて Akt, mTOR, 4E-BP1, S6 に対する western blotting を施行した。さらに、35 例より得られた DNA に対してシーケンス解析を行い PI3KCA および Akt1 遺伝子変異を検索した。

高悪性度骨軟部腫瘍の薬剤耐性機構の解明と

その克服に関する研究

既存の抗癌剤に多剤耐性を示す肉腫細胞株を樹立し、その薬剤耐性の機序について解析した。Micro RNA(miRNA)は約 22 塩基の小さな分子で、標的 mRNA の 3'-UTR 領域に結合し、蛋白への翻訳障害を通じて遺伝子の発現制御にかかわる。近年さまざまな癌において miRNA の発現異常が報告されており、その解明が進められているが、肉腫における miRNA についての報告はわずかに認めるのみである。Ewing 肉腫は化学療法の発展で、その予後は改善してきているが、化学療法耐性例や転移例においては依然予後不良である。以前より我々は Ewing 肉腫薬剤耐性株を樹立し研究を行っており、今回 miRNA と Ewing 肉腫の薬剤耐性との関連について検討を行った。

悪性骨軟部腫瘍に対する分子標的治療の基礎的研究

A. 滑膜肉腫特異的融合遺伝子 SYT-SSX 遺伝子の機能解析

滑膜肉腫(以下 SS)における融合遺伝子である SYT-SSX 遺伝子を標的とした新規治療開発のため、SYT-SSX 蛋白の下流に存在する遺伝子である Frizzled homologue 10 (FZD10) 遺伝子を対象として、まずその転写制御機構を解析した。In vivo の実験としては、SYT-SSX 遺伝子を組織特異的に発現させるトランスジェニックマウスを作製した。

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 SYT-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 SYT-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。

B. テロメラーゼ活性依存性腫瘍溶解アデノウイルスを用いた骨肉腫細胞の治療研究

腫瘍選択的に増殖する遺伝子改変アデノウイルスを用いた癌ウイルス療法が、様々な臓器由来の癌細胞に対して強力な抗腫瘍活性を示す事が知られており、新たな治療として注目されている。多くの悪性腫瘍でテロメラーゼ活性を示す事が広く知られている。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。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 ADM および CDDP 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。

しかし、これまでの研究結果で、いくつかの細胞株は OBP-301 に抵抗性を示す事が明らかとなった。そこで我々は p53 を搭載した新しいテロメラーゼ依存性腫瘍融解アデノウイルス OBP-702 を開発したので OBP-301 抵抗株に対する抗腫瘍効果とその機能解析について *in vitro* で検討を行った。OBP-301 感受性悪性骨腫瘍細胞株 (OST, U2OS, HOS) と抵抗性株(MNNG/HOS, SaOS-2)、ウイルス製剤 3 種類 (OBP-301, Ad-p53, OBP-702) を使用した。OBP-702 の抗腫瘍効果の検討は XTT アッセイを用いて行った。また、Western blot にて OBP-702 感染後の細胞内 p53 とその下流の p21 発現と、アポトーシス評価の為に cleaved-PARP を測定した。更に active caspase-3 を OBP-301, Ad-p53, OBP-702 感染後 2 日にフローサイトメトリーにて計測した。

悪性骨軟部腫瘍に対する腫瘍特異的免疫療法の臨床試験評価

①悪性骨軟部腫瘍で高率に過剰発現している WT1 遺伝子産物を標的として、WT1 ペプチドを用いた腫瘍ワクチン療法を開発し、27 例の骨軟部肉腫患者に対し WT1 ペプチドワクチン療法の有効性・安全性を検証した。

②腫瘍切除が不能な進行期の滑膜肉腫を対象とし、SYT-SSX 改変ペプチド K91+interferon α (IFN α) を投与するペプチドワクチン療法の第 1 相臨床試験を完了した。K91 ペプチドは SYT-SSX ペプチドの 1

アミノ酸をリジンからイソロイシンに置換することによって、HLA-Class I 分子への親和性を高めたものである。滑膜肉腫 21 例を登録した。主要組織適合抗原 HLA-Class I が A24 陽性で、腫瘍が SYT-SSX 融合遺伝子を発現していた。SYT-SSX B ペプチド、あるいは K9I ペプチドを単独、またはアジュバントとして IFN α (スミフェロン 400 万単位) を 2 週毎、計 6 回皮下投与した。ペプチドワクチンの毒性、免疫応答、抗腫瘍効果を評価した。③骨肉腫に対する新規治療法の確立に向け、ペプチドワクチンの第 1 相臨床試験を行い、その安全性と免疫応答を評価するために、進行期骨肉腫 5 例に骨肉腫抗原 PBF 由来ペプチド PBFA24.2(AYRPVSRNI)を、3 例に PBFA2,2(ALPSFQIPV)1mg の投与を行った。

骨肉腫に対する抗 IL-2 レセプター(IL-2R) α モノクローナル抗体 (PC61) および抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) の抗腫瘍効果についての研究；

1.細胞培養と腫瘍移植

高肺転移をきたす骨肉腫細胞株である LM8 に対し DMEM 液で継代培養を行い、PBS 液中で維持した培養液 100 μ l (細胞数 1×10^6) を C3H マウスの背部の皮下に注射し腫瘍を移植した。C3H マウスに腫瘍移植 1 週間前から実験終了まで、週 2 回 PC61 及び S4B6 を 0.2mg 腹腔内投与した (移植前投与群: Pre-PC61、Pre-S4B6)。また、PC61 及び S4B6 の投与を腫瘍移植後 2 日目から実験終了まで投与した群を Post-2 PC61 及び Post-2 S4B6 (移植後投与群) とした。さらに、PBS を投与した群をコントロール群 (PBS control) とし、腫瘍の抑制効果や転移抑制効果を比較検討した。腫瘍の皮下移植から 4 週を目処に屠殺し、肺を取り出し、重量を計測した。各組織は病理標本とし、標本にて肺への転移結節数を計測した。尚、移植したマウス骨肉腫 LM8 の皮下腫瘍重量と肺の転移結節数の比較検討には T 検定を行い、P 値が 0.05 以下を有意とした。

2. Regulatory T 細胞 (Treg) の検討

C3H マウスに抗 IL-2R α モノクローナル抗体 (PC61) あるいは抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) を週 2 回 0.2mg を腹腔内投与し、最終投与後 3 日で脾臓やリンパ節を採取し、CD25 陽性細胞の比率を FACS で検討し、Treg のポピュレーションの消失を確認した。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言および我が国の「臨床研究に関する

倫理指針」従い以下を遵守する。

- 1) プロトコルの IRB (倫理審査委員会) 承認が得られた施設からしか患者登録を行わない。
- 2) 全ての患者について登録前に十分な説明と理解に基づく自発的同意を本人より文書で得る。
- 3) データの取り扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保しプライバシー保護を厳守する。
- 4) 研究の第三者的監視: JCOG を構成する他の研究班の主任研究者等と協力して、臨床試験審査委員会、効果・安全性評価委員会、監査委員会を組織し、研究開始前および研究実施中の第三者的監視を行う。

また、臨床サンプルを用いた研究においては、文部科学省・厚生労働省・経済産業省による、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」に準じて行い、十分なインフォームドコンセントを得、個人情報の保護を徹底し、同意の撤回は随時可能と明記し患者・家族の利益を守ることに配慮した。

A. 研究結果

高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する Ifosfamide, Adriamycin による補助化学療法の第 II 相臨床試験

各施設での IRB 審査を経て平成 16 年 3 月から症例登録を開始した。適格年齢上限を 70 歳までに引き上げ、組織型として分類不能肉腫を追加するプロトコル改訂を実施し症例集積の促進を図った結果、登録症例数は平成 20 年 9 月現在で 72 例となり、登録終了とした。また、本年度においては 2 回の班会議を開催し、定期モニタリングにより、登録症例の追跡調査、CRF 回収状況のチェック、CRF レビューを実施した。登録症例の病理中央診断委員会の検討では、これまでに病理組織診断で不適格とされた症例は 1 例のみである。また、定期モニタリングの結果では、有害事象による化学療法の中止が 8 例あったが、治療関連死亡例は報告されておらず、安全性に大きな問題は生じていない。しかし、Grade3/4 の好中球減少が 98.6%、発熱性好中球減少症が 18.2%に認められ、強い血液毒性が明らかとなった。平成 23 年の 10 月に登録終了後 3 年を経過し、解析を行なった。主たる解析では、手術単独例での術後 2 年無再発生存割合 40%を 15%上回る 55%程度が得られるかどうかを検討する予定であったが、平成 26 年 1 月の集計で、2 年無増悪生存割合は 76.4%、9 年無増悪生存割合は 65.3%、2 年全生存割合は 91.7%、9 年全生存割合は 81.0%であり、生命予後が改善される可能性が高いと予測される。追

跡終了の平成 25 年 9 月時点の調査結果に基づいて、最終解析を行う予定としていたが、より長期の予後を解析するために、登録後追跡期間を 5 年間延長し、10 年間追跡を行うようにプロトコルを改訂した。本研究によって、手術可能な四肢発症例に対する ADM+IFO 療法の有効性が認められれば、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する標準的治療法の確立が期待される。世界的にみても、補助化学療法の有効性を示す画期的な研究となり、世界標準となりうる可能性を秘めた極めて意義深いものである。今後追跡調査を続け本試験を完遂することが重要である。

骨肉腫術後補助化学療法における Ifosfamide 併用の効果に関するランダム化比較試験

本研究のプロトコルは JCOG プロトコル審査委員会の承認を得て(JCOG0905)、各施設の IRB 承認後、平成 22 年 2 月より順次症例の登録を開始した。平成 26 年 2 月現在で 105 例の一次登録、59 例の二次登録を行っている。また、本年度においては 2 回の班会議を開催し、プロトコル遵守状況の検討および安全性の評価を行った。また、定期モニタリングにより、CRF 回収状況のチェック、CRF レビューを実施した。定期モニタリングの結果では、JCOG0905 において、1 例大量メトトレキサート療法後の排泄遅延によるクレアチニン上昇 grade 4 が報告された。JCOG 効果・安全評価委員会による審査でも、同治療が原因となり生じた有害事象 (definite) と判断された。既知の有害事象であり、グループ内での周知は必要だが、プロトコル改訂の必要はなく、研究の継続が認められた。平成 26 年度以降も症例集積と、安全性に配慮しながら定期モニタリングを実施していく予定である。

高悪性度骨軟部腫瘍の再発、進行例に対する化学療法の治療成績の検討

ICE 療法の治療成績;非小円形細胞肉腫 21 例の内、初診時切除不能症例が 10 例、術後再発、転移をきたした症例が 11 例であり、first line として 12 例、second line 以降として 9 例に施行された。治療は 2-14 回 (中央値 6 回) 行なわれた。無増悪生存期間は平均 12.1 ヶ月 (1-66 ヶ月)、最良総合効果は CR 1 例 (MPNST 1 例)、PR 9 例 (MPNST 3 例、MFH および多型肉腫 5 例)、SD 9 例、PD 2 例であった。小円形細胞肉腫 6 例は全例肺転移を有しており、second line では VAIA 後の寛解維持療法として行なわれた。治療は 2-10 回 (中央値 6 回) 行なわれ、無増悪生存期間は平均 18.5 ヶ月 (5-34 ヶ月)、最

良総合効果は CR 2 例、PR 4 例であった。

軟部肉腫の手術的治療成績の検討

①B 群：腫瘍と切除線間にバリアーが介在する 338 例と、NB 群：腫瘍と切除線間にバリアーが介在しない 179 例を対象とした結果、NB 群の局所制御率は、腫瘍と切除線の距離(TSD)が 1cm で 71%、2cm で 94%、3cm 以上で 100%であった。一方、B 群では、1cm で 94%、2cm で 93%であった。特に腫瘍と切除線の間が 0cm である場合の局所制御率は、B 群で 86%、NB 群で 57% (p=0.006) であり、バリアーには局所制御効果があると考えられた。

②浸潤性軟部肉腫における特徴的 MRI 所見

— 病理組織学的浸潤像との比較検討—

- (i) 病理組織学的切除縁評価:全症例 38 例の評価は、R0-negative (margin \geq 1mm)23 例、R0- close (margin < 1mm) 6 例、R1-microscopic positive 9 例であった。
- (ii) 再発の有無:経過観察期間は中央値 24 ヶ月 (3-111 ヶ月)で、局所再発を認めたものが 7 例(MFS 3 例、UPS 4 例)、遠隔転移を認めたものが 10 例 (MFS 6 例、UPS 4 例) であった。
- (iii) MRI 画像所見の特徴: STIR が Gd と比較して広範囲に高信号領域を認めたものが 21 例。STIR, Gd 双方で同等の範囲に高信号を認めたものが 17 例。STIR よりも Gd が広範囲に高信号領域を呈していた症例はなかった。
- (iv) 病理組織学的浸潤像との比較: STIR が Gd よりも広範囲であった 21 例(MFS 10 例、UPS 11 例)のうち、病理での腫瘍浸潤範囲と STIR 先進部が一致したものが 16 例(76%)、Gd での先進部と一致した症例が 5 例(24%)であった。STIR と Gd で腫瘍周囲の高信号領域が同等であった 17 例 (MFS 7 例、UPS 10 例) では、15 例において画像と病理所見における腫瘍浸潤範囲が一致したが、2 例では画像所見の範囲を超えて腫瘍細胞の浸潤が認められた。

転移性軟部肉腫、高齢発症骨肉腫の治療成績の検討

①肺転移巣切除後の生存期間は 72 例全体で 50%生存期間が 23 ヶ月、5 年生存率が 35.8%であった。予後因子の単変量解析で有意であった項目は、最初の肺転移出現までの Disease-free-interval (12 ヶ月以上 v.s. 12 ヶ月未満)、肺転移巣の個数 (単発 v.s. 多発、2 個以下 v.s. 3 個以上)、肺転移巣の最大径 (3cm 未満 v.s. 3cm 以上)、手術の curability (治癒的切除 v.s. 肉眼的残存腫瘍あり)、肺転移切除の時期 (2000 年以降 v.s. 1999 年以前) であった。多変量解析で独立した予後因子として残ったのは、肺転移巣の最大径

(3cm未満 v.s. 3cm以上)、手術のcurability(治療的切除 v.s.肉眼的残存腫瘍あり)の2項目であった。②中高年齢者骨肉腫における予後因子に関する研究;年齢分布は40-87歳(中央値61歳)であり、経過観察期間は1-244ヶ月(中央値27ヶ月)であった。発生部位は体幹(脊椎、骨盤含む)発生が52%と四肢発生より多く、また初診時転移例は25%と高頻度であった。手術は65%に施行されており、広範切除縁達成率は70%に達していた。また化学療法は63%に施行されており、コース数は1-18回(中央値6回)であった。5年全生存率および無病生存率はそれぞれ41.5%、29.1%であった。予後因子解析の結果、単変量解析では発生部位、stage、手術の有無、切除縁評価が有意な予後因子となった。また多変量解析では初診時転移あり(HR=2.12)、根治的手術未施行(HR=2.84)が有意な予後不良因子となった。さらに現行では化学療法の積極的適応とされる、初診時転移無しおよび根治的手術療法可能な症例群での subgroup 解析の結果、単変量解析および多変量解析のいずれの解析においても、化学療法の追加は予後に影響を与えなかった。

悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)および滑膜肉腫の臨床病理学的検討

①MPNSTにおいてAkt, mTOR, S6, 4E-BP1, MEK1/2, ERK1/2 蛋白の活性化は58%, 47%, 54%, 57%, 63%, 93%, 81%に認められた。各蛋白の発現は神経線維腫症に続発するものと、特発性のもものでは有意差を認めなかった。単変量解析ではAkt, mTOR, S6 蛋白の活性化は予後不良因子であった。多変量解析ではAkt, S6 蛋白の活性化が独立した予後不良因子となった。細胞株の解析ではmTOR 阻害剤であるeverolims 投与により増殖能、遊走能および浸潤能の有意な抑制を認めた。

②滑膜肉腫におけるAkt, mTOR, 4E-BP1, S6の各リン酸化タンパクの陽性率はそれぞれ76.5%、67.6%、60.0%、41.9%であった。それぞれの陽性は互いに相関していた。pmTOR およびp4E-BP1 陽性例は核分裂像が多い傾向にあり、p4E-BP1 陽性例は壊死範囲が広い傾向にあった。pmTOR およびp4E-BP1 陽性は予後不良因子でもあった。Western blotting では腫瘍組織において正常組織よりも強いAkt, mTOR, S6のリン酸化を認めた。解析した凍結検体35例において、PI3KCA およびAkt1 遺伝子変異は見つからなかった。

高悪性度骨軟部腫瘍の薬剤耐性機構の解明とその克服に関する研究

2種類のEwing肉腫の多剤耐性細胞株を用いた。

マルチプレックスアッセイを用いてEwing肉腫細胞株(VH-64)とそのドキシソルピシン耐性株(VH-64/ADR)のmiRNAの発現を網羅的に解析したところ、miR-125bが約1.6倍と最も発現が上昇していた。定量的PCRにてもその発現上昇を確認した。miR-125bの遺伝子導入ではドキシソルピシン感受性が低下し、遺伝子抑制ではドキシソルピシン感受性が増加した。miR-125bの標的遺伝子を検索したところ、p53, bakといったアポトーシス関連因子に結合し、発現を抑制することで、薬剤耐性を獲得することが示唆された。さらに他の抗癌剤への関与を調べたところ、miR-125bはビンクリスチンおよびエトポシドへの耐性獲得にも働いていた。

悪性骨軟部腫瘍に対する分子標的治療の基礎的研究

A. 滑膜肉腫特異的融合遺伝子SYT-SSX 遺伝子の機能解析

滑膜肉腫(以下SS)における融合遺伝子であるSYT-SSX 遺伝子を標的とした新規治療開発のためin vitro 及びin vivo の研究を行った。

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) SYT-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SYT-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SYT-SSXの機能が大きく異なることが明らかになった。

3) in vivo の研究では、タモキシフェンで発現誘導可能なシステムを用いて、神経提由来細胞のマーカー遺伝子であるP0 遺伝子の発現制御下にSYT-SSX 遺伝子が発現するマウスの作成に成功した。

B. テロメラゼ活性依存性腫瘍溶解アデノウイルスを用いた骨肉腫細胞の治療研究

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。

OBP-702 は OBP-301 感受性株(OST, HOS, U2OS)、抵抗性株(MNNG/HOS, SaOS-2)を問わず、高い抗腫瘍効果を認めた。OBP-702 感染後の 50% inhibitory concentration(ID50)は全ての細胞株で OBP-301 より良好な結果を示した。OBP-702 感染後 3 日での Western blot では OBP-301 抵抗株 MNNG/HOS、SaOS-2 共に濃度依存的に p53 の発現を認め、Ad-p53 の感染後と比較して効率的に p53 を発現していた。また p21 に関しては、OBP-702 感染後では p21 発現は見られず、Ad-p53 感染後は p21 の発現が観察された。Cleaved-PARP 発現とフローサイトメトリーからの結果では OBP-702 では強力にアポトーシスが誘導されていた。

悪性骨軟部腫瘍に対する腫瘍特異的免疫療法の臨床試験評価

①WT1 ペプチドワクチン療法を、27 例に対して施行した。男 18 例、女 8 例、年齢 16-77 歳 (平均 41.5 歳)、経過観察期間は 0.5-33 ヶ月 (平均 4.6 ヶ月)。組織型では軟部肉腫が 18 例(MFH3 例、PNET・DSRCT・MPNST・横紋筋肉腫・明細胞肉腫・未分化肉腫各 2 例、線維肉腫・脂肪肉腫・平滑筋肉腫各 1 例)、骨腫瘍が 9 例 (軟骨肉腫 4 例、骨肉腫・Ewing 肉腫各 2 例、FDF-23 産生悪性腫瘍 1 例)、評価対象病変の内訳は局所再発 13 病変、遠隔転移 19 病変で骨病変はなかった。3 ヶ月間 12 回のプロトコール治療終了時の効果判定結果は SD9 例、PD15 例、中止 3 例であった。SD 症例はプロトコール治療終了後も継続投与が行われ、治療開始後 12, 14, 33 ヶ月にわたって SD を維持した症例を経験した。全症例の 6-month progression free survival (PFS)は 21%となり、このうち軟部腫瘍では 22%、骨腫瘍では 18%であった。全例で注射部位の発赤腫脹を認めたが、その他には重篤な副作用を認めなかった。

②腫瘍切除が不能な進行期の滑膜肉腫を対象とし、SYT-SSX 改変ペプチド K9I+IFN α を投与するペプチドワクチン療法の有効性を検討した。重篤な有害事象として脳出血が 1 例に認められた。発熱が 14

例に認められた。ペプチド特異的 CTL の誘導が 7 例 (33%) に認められた。抗腫瘍効果に関しては、PD が 14 例、SD が 7 例であった。SD 例のうち 2 例が接種開始後 4 年以上生存中である。

③進行期骨肉腫 8 例に対してペプチドワクチンを投与した。8 例中 1 例で白血球減少(Grade3)がみられて投与を中止した。ほかに Grade 3 以上の有害事象は確認されなかった。ELISPOT 解析で 5 例に抗原特異的免疫応答を確認した。抗腫瘍効果は PD が 6 例、SD が 1 例であった。PBFA2.2 接種症例 1 例で、ワクチン初回投与から 25 か月にわたる長期生存を得た。

骨肉腫に対する抗 IL-2 レセプター(IL-2R) α モノクローナル抗体 (PC61) および抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) の抗腫瘍効果についての研究

1. 抗体投与による腫瘍重量の比較検討

LM8 を皮下移植する前に PC61 を投与した群 (Pre-PC61 群) と LM8 移植後に PC61 を投与した群 (Post-PC61 群) の腫瘍重量はともに PBS 投与したコントロール群と比較して明らかに小さかった。次に、抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) を移植した皮下腫瘍の重量の比較検討をしたところ、移植前投与群 (Pre-S4B6) ではコントロール群と比較して有意に縮小していた ($p=0.016$) が、移植後投与群 (Post-S4B6 群) ではコントロール群とは腫瘍重量に差は見られなかった。

2. 抗体投与による肺転移結節数の比較検討

肺転移結節数の比較において LM8 を皮下移植する前に PC61 を投与した群 (Pre-PC61 群) では肺転移例は 11 例中 1 例、LM8 移植後に PC61 を投与した群 (Post-PC61 群) では 10 例中 0 例、PBS 投与したコントロール群では 10 例中 7 例であり、Pre-PC61 群、Post-PC61 群ともに有意に肺転移を抑制していた。また、抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) を投与した場合においても肺における転移結節数をカウントして比較すると、LM8 を皮下移植前に S4B6 を投与した群 (Pre-S4B6) と LM8 を皮下移植後に S4B6 を投与した群 (Post-S4B6) とともに、コントロール群と比較して有意に肺転移は抑制されていた ($p=0.029$ 、 $p=0.034$)。

3. Regulatory T 細胞 (Treg) の検討

flow cytometry を用いて、コントロールマウスと PC61 投与マウス及び S4B6 投与マウスにおける脾臓中の CD4 と CD25 の割合を検討したところ、CD4 + CD25 + T cell の割合はコントロールマウスでは 3.68%、PC61 投与マウスでは 0.24%、S4B6 投与マ

ウスでは 0.02%であった。PC61 投与及び S4B6 投与により末梢の CD4+CD25+T cell 数は減少した。

D. 考察

高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する Ifosfamide, Adriamycin による補助化学療法 of 第 II 相臨床試験

高悪性度軟部肉腫の大多数を占める非円形細胞肉腫の長期生存率は、現在の標準治療である手術単独では約 35%と不良であり、治療成績の改善が強く求められている。死因の殆どは肺転移であることから、全身的治療としての有効な化学療法の確立が必要である。しかし、世界的に見ても、高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する化学療法の有効性は未確定である。進行例を対象とする臨床試験の結果から、現時点で軟部肉腫に対する奏効性が最も高い薬剤は ADM と IFO と考えられるが、化学療法による進行例の生存率の有意な改善は得られなかった。そこで、手術と併用した補助化学療法によって、非進行例の生命予後の改善を得ようとする臨床研究が立案され実施されているが、その有効性はいまだ確立されていない。我が国では高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する臨床試験が少なく、切除不能の進行例に対して ADM+CPM+IFO3 剤併用化学療法の第 II 相試験が行われたのみであり、本研究で対象とする切除可能な症例に対する臨床試験は皆無である。本研究においては、平成 26 年 1 月の集計で、2 年無増悪生存割合は 76.4%、9 年無増悪生存割合は 65.3%、2 年全生存割合は 91.7%、9 年全生存割合は 81.0%であった。これまでの解析結果より、ADM+IFO 療法は、生命予後を改善する可能性が極めて高いと予測され、JCOG 骨軟部腫瘍グループとしては、高悪性度非円形細胞肉腫の標準治療は、ADM+IFO 併用化学療法および手術療法と判断した。また、長期予後を追跡するように追跡期間を 5 年から 10 年となるようにプロトコルを改訂した。一方で、重篤な合併症は認めず、治療関連死は発生していないものの、Grade3/4 の好中球減少が 98.6%、発熱性好中球減少症が 18.2%に認められ、強い血液毒性が明らかとなった。また、最低でも 5 日間の入院が必要であることもあり、比較的高齢者に好発する非円形細胞肉腫に対しては、より毒性の軽い有効な新規治療法も必要である。ゲムシタピン+ドセタキセル療法 (GEM+DOC) は、進行軟部肉腫に対して有効であり安全性も高いことが報告されており、切除可能な高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対しても効果が期待できるため、ADM+IFO 療法とのランダム化比較試験を行うこととした。

骨肉腫術後補助化学療法における Ifosfamide 併用の効果に関するランダム化比較試験

骨肉腫の治療成績は MTX、ADM、CDDP の 3 剤を中心とする化学療法の進歩により改善されてきたが、術前化学療法による腫瘍壊死割合が 90%以上の症例 (good responder) は予後がよく、90%未満の症例 (standard responder) が予後不良とされている。MTX、ADM、CDDP、3 剤による術前化学療法の効果不十分例に対し、術後に IFO を加えた化学療法を行うことの有用性を検証し標準治療として確立するためには、第 III 相ランダム化比較試験が必要と考え、臨床試験を立案した。平成 22 年 1 月に JCOG によるプロトコル承認は得られ、平成 26 年 1 月末現在 102 例が一次登録、35 例が二次登録ランダム化されている。一次登録ペースは予定ペースの 78%とやや不良である程度であるが、二次登録ランダム化例が予想よりも少なく予定ペースの 54%に留まっており、ランダム化の同意取得割合を高める必要がある。

登録開始以降、年 2 回の中央モニタリングが行われており、CRF 回収状況のチェック、CRF レビューを実施している。若干の不適合例や逸脱、重篤な有害事象が見られており、これまで、支持療法の記述の変更、腫瘍融解症候群に対する注意喚起、G-CSF の予防投与規定の明確化、化学療法開始規準の変更等、計 2 回のプロトコル改訂が行われた。術後化療においては逸脱に伴う重篤な有害事象が数例見られているが、術前化療においては逸脱に伴う重篤な有害事象は見られておらず、患者リスクの最小化が担保されつつ試験が進捗しているものと思われる。

高悪性度骨軟部腫瘍の再発、進行例に対する化学療法の治療成績の検討

切除不能や再発進行性の軟部肉腫に対する緩和的化学療法としての ICE 療法；本邦においては、原発性高悪性軟部肉腫に対する化学療法として、IFO + ADM の有効性が確認され、標準治療となっているが、進行再発例に対する緩和的化学療法については、ADM 単剤のほかには evidence を有するレジメンはない。また、再発軟部肉腫の場合には、すでに ADM 不応となっているものが多い。緩和的化学療法は、治癒が見込まれない状況での化学療法であるため、長期の入院を要せずに一定期間腫瘍縮小効果が見込まれることと、治療に伴う合併症に対して多くの補助治療を要さないことが求められる。非小円形細胞肉腫および円形細胞肉腫において、ICE 療法によ

り無増悪生存期間がそれぞれ平均 12.1 ヶ月、18.5 カ月で、一定の腫瘍縮小効果が得られたこと、および1コースごとに5日間程度の短期入院で治療が可能であった。ICE療法は比較的安全に行なえる化学療法であり、緩和的化学療法として有用と考えられた。特にMPNSTにおける補助化学療法、小円形細胞肉腫における寛解維持療法として期待できると考えられた。

軟部肉腫の手術的治療成績の検討

①局所制御率から見たバリアー換算法の妥当性についてみると、バリアーがある部位では1cmの健常組織があれば adequate wide としてバリアーがない部位では2cmの健常組織があれば adequate wide とし、それ以下の wide を inadequate wide、その他はこれまでどおり反応層での切除を marginal、腫瘍内の切除を intralesional とするのが妥当である可能性がある。

②浸潤性軟部肉腫における特徴的 MRI 所見

一 病理組織学的浸潤像との比較検討一

肉腫の治療において、手術による局所根治が最も重要である。しかし、浸潤性の強い軟部肉腫の場合、画像所見と病理所見が乖離することがあり、実地臨床において、術前画像評価に基づき手術計画を立てる上で、難渋することがある。そこで、浸潤性軟部肉腫に対する後方視的研究を施行した。浸潤性軟部肉腫症例に対する切除を計画する際に、MRIにおけるガドリニウム(Gd)の高信号領域のみをクリアするように設定した場合にR0が得られるのは、今回の検討結果からは20例(61%)で、顕微鏡的切除縁陽性例が多くなることが示された。さらに、Gdの高信号領域先端から3cmのマージンを設定して切除した場合でも、R0が得られるのは31例(82%)に留まり、約20%の症例で断端陽性となる可能性がある。一方、STIRの高信号領域を確実にクリアするように設定した場合には、38例中36例で腫瘍浸潤範囲をクリアできており、R0の切除縁が得られる確率は95%となった。STIRでは腫瘍周囲の非腫瘍性の反応性浮腫変化や炎症が強調されるため、この領域を腫瘍浸潤範囲とすると、一般的には過剰に見積もられる可能性が高い。しかし、浸潤性発育を示す軟部肉腫においてはSTIRの範囲と浸潤範囲が強く相関していることが示されたため、R0の切除を計画するうえでSTIRが最も有用な判断基準となり得ると考えられた。

転移性軟部肉腫、高齢発症骨肉腫の治療成績の検討

①軟部肉腫肺転移に対する肺切除患者の予後因子について検討した。その結果肺転移巣の最大径(3cm未満 v.s. 3cm以上)、手術の curability (治癒的切除 v.s. 肉眼的残存腫瘍あり)の2項目が多変量解析で独立した予後因子と同定された。これらの予後因子を検討して手術適応を決定することで、臨床成績の改善が得られる可能性がある。

②中高齢者骨肉腫における予後因子に関する研究;中高齢者発生骨肉腫では体幹発生および初診時転移の頻度が高く、それらは予後不良であった。根治的手術の施行は予後を改善しうるが、現行の化学療法の有用性は認められなかった。しかし、本成績は満足しうるものではなく、今後本疾患群に対するより effective かつ feasible な化学療法プロトコルの確立が望まれる。

悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)および滑膜肉腫の臨床病理学的検討

①MPNSTではAkt/mTOR pathwayの活性化が悪性度の指標となり平滑筋肉腫同様に腫瘍進展に大きな役割を果たしていると考えられた。

②若年成人に好発する滑膜肉腫においても

Akt/mTOR pathwayの活性化が予後不良因子となり腫瘍進展の大きな役割を演じていた。他の悪性腫瘍で報告されているようなAKT1, PIK3CA 遺伝子異常は滑膜肉腫におけるAkt/mTOR pathwayの活性化の主因にはなっていないと考えられた。滑膜肉腫においてAkt/mTOR pathwayは高率に活性化しておりこの pathwayの活性化は予後不良因子であることより治療標的となり得ることが示唆された。

高悪性度骨軟部腫瘍の薬剤耐性機構の解明とその克服に関する研究

薬剤耐性獲得には様々な因子が関与するが、近年、miRNAの関与がさまざまな臓器の癌において報告されている。Ewing肉腫のドキソルビシン耐性に関しては、miR-125bがその一部を担っていることが考えられた。機序としてはp53やbakといったアポトーシス関連因子を抑制することにより、多剤薬剤耐性に関与していることが示唆された。

悪性骨軟部腫瘍に対する分子標的治療の基礎的研究

A. 滑膜肉腫特異的融合遺伝子 SYT-SSX 遺伝子の機能解析

滑膜肉腫においては、染色体点座に伴う特異的 SYT-SSX 融合遺伝子の存在が特徴的である。SYT-SSX 蛋白質が転写因子 FZD10 を介してクロマ

チンリモデリングに関与している可能性が示された。FZD10 蛋白は特異的抗体を用いた治療試験が欧州で実施中であり、その発現制御機構の解明は治療への応用にも連携する重要な知見であると考えられる。

SYT-SSX によるクロマチン修飾の改変に関しては、発現抑制機構への関与が報告されているが、亢進機構へ関与は明らかにされていない。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元来の細胞のヒストン修飾の状態や細胞の分化状態が重要であ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。

本研究のような、滑膜肉腫の臨床病理学的、分子生物学的解析は、他の融合遺伝子を有する腫瘍のモデルとなり、さらには、新規治療法の開発に結びつく可能性がある。

B. テロメラゼ活性依存性腫瘍溶解アデノウイルスを用いた骨肉腫細胞の治療研究

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。

OBP-702 は OBP-301、Ad-p53 と比較して非常に高い抗腫瘍効果を認めた。その理由としては感染後の p53 の効率的な発現によるアポトーシス誘導が考えられた。また、p21 の発現に関して大きな特徴があり、OBP-702 感染後では p53 は誘導されるものの p21 の発現が見られなかった。p21 は細胞周期停止させる一方でアポトーシスを抑制することが知られている。我々の研究では OBP-702 に含まれる E1A が p21 の発現を抑制することが明らかになっており、OBP-702 では p21 によるアポトーシスの抑制が起きない為に強力なアポトーシスが誘導できたと考えられた。本研究により、OBP-702 は OBP-301 抵抗株に対しても、今後新しい治療戦略となることが期待される。

悪性骨軟部腫瘍に対する腫瘍特異的免疫療法の臨床試験評価

①骨・軟部悪性腫瘍に対する WT1 ペプチドを用いた腫瘍特異的免疫療法の第 I/II 相臨床試験を継続施行した。6-month PFS は軟部腫瘍で 22%、骨腫瘍で 18%と、転移を有する進行期軟部肉腫および骨肉腫

の Historical control を上回る効果は得られなかった。進行例が多く、臨床的に PR・CR を示し WT1 ワクチン療法の有効性が明らかな症例は未だ経験していないが、比較的長期にわたって SD を維持した症例がみられること、および特異的 CTL の誘導が観察していることから、本ワクチン療法の clinical benefit が示唆されたと考えている。目標症例数は 30 例であるが、症例数の増加により historical control を上回る成績を得るのは困難と考えられることからデータの報告準備を行なっている。また小児科と共同して再発抑制効果を期待した小児骨軟部腫瘍対象のパイロット試験を開始した。これをもとに成人症例での新規プロトコールの作成中である。

②滑膜肉腫に対する SYT-SSX 改変ペプチド K9I+IFN α を接種するペプチドワクチン療法においては、本年度までに 21 例を登録し、第 I 相臨床試験を完了した。その結果、本プロトコールの安全性が確認された。CTL 誘導と抗腫瘍効果には相関が見られなかった。SD 例は PD 例に比べ、評価病変が有意に小さかった。

③進行・不応性骨肉腫に対する臨床試験は多く行われているが、未だに治療法が確立されていない。免疫療法は、手術、抗がん剤、放射線治療に次ぐ第 4 の治療法として期待される治療法である。骨肉腫に特異的に発現している PBF 蛋白を標的としたペプチドワクチン療法を施行したが、現時点で安全性の問題は認められていない。今後も、第 I 相試験として進行中の臨床試験の完遂を目指す。PBF/PBFA24.2 ペプチド投与、PBFA2,2 ペプチド投与をそれぞれ 4 例に行う。

骨肉腫に対する抗 IL-2 レセプター(IL-2R) α モノクローナル抗体 (PC61) および抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) の抗腫瘍効果についての研究

この研究では in vivo で抗 IL-2 レセプター α モノクローナル抗体 (PC61) と抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) がマウス骨肉腫モデルの骨肉腫の成長と肺への遠隔転移を抑制するかどうかを調べた。その結果、正常血清投与したマウスに比べて両群ともに腫瘍増殖及び肺転移を有意に抑制することが出来た。また、制御性 T 細胞の消長を FACS で検討した結果、PC61 や S4B6 投与による Treg 削除が確認された。今回の結果からマウス骨肉腫モデルの LM8 において、抗 IL-2 α モノクローナル抗体 (PC61) や抗 IL-2 モノクローナル抗体 (S4B6) の投与により Treg が消耗され腫瘍増殖や肺転移を抑制することが示唆された。今後、臨床応用するにはその投与の

タイミングや副作用について検討していく必要があるが、高悪性度骨軟部腫瘍に対する新たな治療法の可能性が示唆された。

E. 結論

四肢発生の高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対する標準治療を確立することを目的とし、現時点でもっとも有効性と考えられる ADM+IFO による術前術後補助化学療法の有効性と安全性を検討する第 II 相試験を開始した。全国 26 施設からなる JCOG 骨軟部腫瘍グループ内で症例登録を行い、平成 20 年 9 月で登録を終了した。平成 26 年 1 月の集計で、2 年無増悪生存割合は 76.4%、9 年無増悪生存割合は 65.3%、2 年全生存割合は 91.7%、9 年全生存割合は 81.0% であり、ADM+IFO 療法は生命予後を改善する可能性が極めて高いと予測され、JCOG 骨軟部腫瘍グループとしては、高悪性度非円形細胞肉腫の標準治療は、ADM+IFO 併用術前術後化学療法および手術療法と判断した。また、長期予後を追跡するようにプロトコルを改訂した。一方で、強い血液毒性や長期入院が必要であり、比較的高齢者に好発する非円形細胞肉腫に対しては、より毒性の軽い有効な新規治療法も必要であることが明らかとなった。ゲムシタピン+ドセタキセル療法 (GEM+DOC) は、進行軟部肉腫に対して有効であり安全性も高いことが報告されており、切除可能な高悪性度非円形細胞軟部肉腫に対しても効果が期待できるため、ADM+IFO 療法とのランダム化比較試験を行うこととした。

転移の無い四肢発生の高悪性度骨肉腫に対し、MTX、ADM、CDDP の 3 剤による術前化学療法を行い、効果が不十分である症例に術後補助化学療法として上記 3 剤に IFO を追加する上乘せ延命効果があるかどうかを、ランダム化比較により検証する臨床試験を開始した。平成 22 年 2 月より登録を開始し、平成 26 年 1 月末現在 102 例が一次登録、35 例が二次登録ランダム化されている。二次登録ランダム化例が予想よりも少なく、ランダム化の同意取得割合を高める必要がある。

また、高齢発症骨肉腫、骨軟部肉腫の進行再発例に対する治療成績の検討、高悪性度骨軟部腫瘍の手術的治療、予後規定因子の検討、臨床病理学的検討を施行し、有用性や問題点を明らかにするとともに、分子標的治療の標的候補を探索した。一方、化学療法が無効の難治例、薬剤耐性例に対する治療戦略の構築のための基礎的研究や、高悪性度軟部肉腫や遠隔転移を有する骨肉腫に対する新規治療法の開発のため、分子標的治療の開発を目指した基礎的研究

も実施した。さらに、WT1 遺伝子産物、SYT-SSX 融合遺伝子、骨肉腫における PBF 蛋白などを標的とした腫瘍特異的免疫療法に関する研究も実施した。に対する治療成績を調査し、予後因子に関する検討を加えた。

これらの研究結果により、骨軟部腫瘍領域における新しい治療開発戦略が提案可能とった。

F. 健康危険情報

骨肉腫術後補助化学療法における Ifosfamide 併用の効果に関するランダム化比較試験 (JCOG0905) において、1 例治療関連死が報告された。JCOG 効果・安全評価委員会による審査では、第 1 コースである ADM+CDDP が原因となり生じた治療関連死亡 (probable) と判断された。治療関連死亡割合も上限値未満であり、登録継続可能とされたものの、班会議において適格基準、除外基準、プロトコル中止基準の見直しを行い、プロトコルを改訂した。また、JCOG0905 において、1 例大量メトトレキサート療法後の排泄遅延によるクレアチニン上昇 grade 4 が報告された。JCOG 効果・安全評価委員会による審査でも、同治療が原因となり生じた有害事象 (definite) と判断された。既知の有害事象であり、グループ内での周知は必要だが、プロトコル改訂の必要はなく、研究の継続が認められた。

G. 研究発表

1. 論文発表

平成25年度

Endo M, Matsunobu T, Iwamoto Y, et al.:
Low-grade central osteosarcoma arising from bone infarct
Human Pathology, 44:1184-9, 2013

Fujiwara-Okada Y, Iwamoto Y, et al.:
Y-box binding protein-1 regulates cell proliferation and is associated with clinical outcomes of osteosarcoma
Br J Cancer, 5;108(4):836-47, 2013

Setsu N, Iwamoto Y, et al.:
Phosphorylation of signal transducer and activator of transcription 3 in soft tissue leiomyosarcoma is associated with a better prognosis
Int J Cancer, 132(1):109-15, 2013

Endo M, Iwamoto Y, et al.:
Prognostic significance of AKT/mTOR and MAPK pathways and antitumor effect of mTOR inhibitor in NF1-related and sporadic malignant peripheral nerve sheath tumors
Clin Cancer Res, 19(2):450-61, 2013

- Matsuura S, Iwamoto Y, et al.:
Epithelial and cartilaginous differentiation in clear cell chondrosarcoma
Hum Pathol, 44(2):237-43, 2013
- Endo M, Matsunobu T, Iwamoto Y, et al.:
Ossifying fibromyxoid tumor presenting EP400-PHF1 fusion gene
Hum Pathol, 44(11):2603-8, 2013
- Setsu N, Iwamoto Y, et al.:
Prognostic impact of the activation status of the Akt/mTOR pathway in synovial sarcoma
Cancer, 119(19):3504-13, 2013
- Endo M, Iwamoto Y, et al.:
Conventional spindle cell type malignant peripheral nerve sheath tumor arising in a sporadic schwannoma
Hum Pathol, 44(12):2845-8, 2013
- Takahashi Y, Iwamoto Y, et al.:
Fibrocartilaginous mesenchymoma arising in the pubic bone
Pathol Int, 63(4): 226-9, 2013
- Saito A, Hiraga H, et al.:
Clinical experience using a tensor fascia lata flap in oncology patients
Surg Today, in press 2013
- Suzuki H, Hiraga H, et al.:
Adult Rhabdomyoma of the Extremity
Int J Surg Pathol, in press 2013
- Saito A, Hiraga H, et al.:
The posterior thigh flap revisited: clinical use in oncology patients
Surg Today, in press 2013
- Iwata S, Hiruma T, et al.:
Prognostic Factors in Elderly Osteosarcoma Patients: A Multi-institutional Retrospective Study of 86 Cases
Annals of Surgical Oncology, 21(1):263-8, 2014
- 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
- 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

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

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

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

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

Matsumoto M, Morioka H, et al.:
Total en Bloc Spondylectomy for Spinal Metastasis of Differentiated Thyroid Cancers: A Long-Term

- Follow-Up
J Spinal Disord Tech, 26(4): E137-42, 2013
- 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
- Matsumoto S:
Current and future aspects of the Japanese medical system in the treatment of musculoskeletal tumors
J Orthop Sci,(18):505-8, 2013
- Sawamura C, Matsumoto S, et al.:
How Long Should We Follow Patients With Soft Tissue Sarcomas?
Clin Orthop Relat Res, in press 2013
- Fujibuchi T, Matsumoto S, et al.:
Cytogenetic study of secondary malignancy in giant cell tumor
J Orthop Sci, in press 2013
- 松本誠一:
悪性軟部腫瘍
Medecament News, 2118, 2013
- 松本誠一:
運動器腫瘍とスポーツ
Locomotive Tumor and Sports
日本整形外科スポーツ医学会雑誌, 33(4):162, 2013
- 松本誠一:
第 46 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会会長報告
日整会誌, 87:1097-8, 2013
- 松本誠一, 他:
軟部肉腫の手術
関節外科, 32(6): 70-7, 2013
- 佐藤嘉尚, 松本誠一, 他:
骨腫瘍の単純 X 線写真の基本
臨床画像, 29(1):58-72, 2013
- 藤渕剛次, 松本誠一, 他:
塩化ストロンチウム-89 投与後に生じた大腿骨転子下骨折に対し外科的治療時に被爆対策を要した 1 例
整形外科, 64(9):987-90, 2013
- 蛭田啓之, 松本誠一, 他: