

23-A-10 肉腫の本態解明、バイオマーカー開発
創薬標的探索に向けた基盤的研究

独立行政法人国立がん研究センター研究所 創薬プロテオーム研究分野 近藤格

研究の分類・属性

基礎系

研究の概要

本研究は、希少腫瘍である肉腫において、臨床応用に向けて国立がん研究センターを含む我が国の主だった臨床・研究機関が行う多施設共同研究である。

本研究課題では、国立がん研究センターの研究成果に基づいて肉腫研究の基盤整備を行うとともに、他施設の研究者との共同研究を促進させることで検体の共用化、バンク化を進める。基盤整備としては網羅的分子解析のデータをデータベースとして共有したり、ゼノグラフトモデルを作製するなどし、肉腫の本態解明、バイオマーカー開発、創薬標的探索を推進する。

個別の研究としては、iPS細胞あるいは間葉系幹細胞などの幹細胞に、融合遺伝子などの肉腫特異的な遺伝子変異を導入し、肉腫の発生、進展の本態解明に資する知見を得る。DNAからタンパク質まで様々なレベルの網羅的解析のデータを比較解析することで治療効果や予後に対応する分子異常を同定し、バイオマーカー開発や治療標的探索を行う。国立がん研究センターで同定されているバイオマーカーの臨床的有用性の検証実験を追加症例にて検討するが、その際、肉腫の診療・研究において豊富な経験をもつセンター外の機関と連携し、民間企業と共同で早期の実用化を図る。肉腫に特徴的な融合遺伝子とその複合体の解析、およびゲノム解析によって肉腫の発生、進展の分子機構を解明し、治療標的の同定を行う。そして、新規骨軟部肉腫抗原同定に向けて、癌幹細胞を特異的に認識する自家CTLクローンの樹立と機能解析を行う。また、本研究ではまた第1相臨床試験を行い、ペプチドワクチン療法の実用化を進める。そして、新規のウイルス製剤の臨床応用に向けた基礎的検討を行う。

研究経費

16,000 千円

研究班の組織

近藤格	国立がん研究センター研究所・創薬プロテオーム研究分野 分野長	統合的オミクス解析による肉腫の本態解明、個別化医療のためのバイオマーカー開発および創薬標的探索
川井章	国立がん研究センター中央病院・骨軟部腫瘍科 医長	肉腫の臨床病理学的因子の検討
市川仁	国立がん研究センター研究所 多層オミックス バイオインフォーマティクス分野 ユニット長	ゼノグラフト株樹立による肉腫研究の基盤整備及び滑膜肉腫の統合オミックス解析

太田力	国立がん研究センター研究所 多層オミックス バイオインフォーマティクス分野 ユニット長	肉腫に特徴的な融合遺伝子産物のタンパク質複合体の機能解析による肉腫の発生機構の解明
吉田朗彦	国立がん研究センター中央病院 病理科	肉腫の病理診断の正確性向上、および組織像と分子情報との対応
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及び京都大学 iPS 細胞研究所分化誘導研究分野・教授	幹細胞研究からの肉腫起源細胞の探索と治療への応用
和田卓郎	札幌医科大学医学部整形外科学講座・整形外科、准教授	幹細胞抗原特異的ワクチン療法の開発に向けた肉腫幹細胞の同定と免疫学的特性の解明
尾崎敏文	岡山大学医歯薬学研究科 生体機能再生・再建学 整形外科、教授	肉腫の予後に影響を及ぼす遺伝子のエピジェネティクスの異常とmicroRNAの機能に着目した新規療法の開発

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標):

【研究基盤の確立】希少がんである肉腫の診療、研究を大きく推進するためには、臨床サンプルや人的資源など限られたリソースを有効に活用し、遺伝子からタンパク質に至る様々なレベルの膨大な情報を有機的に共有することが他のがん種以上に重要である。本研究では、肉腫の本態解明、バイオマーカー開発、創薬的探索に向けた研究がスムーズかつ迅速に進むための情報の基盤整備を行う。また、骨肉腫、滑膜肉腫のそれぞれ10症例を対象とし、ゼノグラフト株、細胞株を樹立する。

【肉腫の本態解明】それぞれの肉腫に特異的なバイオマーカーの探索の上で、肉腫特異的な遺伝子変異、特に融合遺伝子は、その特異性よりきわめて有力な手がかりとなる。一方、遺伝子変異と同様に、起源細胞もバイオマーカーを規定する大きな因子であり、両者の組み合わせが重要であることが示されてきている。しかし大部分の肉腫において、その起源細胞は不明である。そこで本研究では、各融合遺伝子を未分化多能性幹細胞に発現誘導型ベクターを用いて導入し、分化の各段階で発現させ、細胞特異的な融合遺伝子の生物学的作用を解析し、遺伝子発現や蛋白発現を網羅的解析によりバイオマーカー単離につながる知見を得ることを目的とする。

【診断技術の開発】治療奏効性・再発・予後を規定する分子病理学的背景の同定は、治療方針を決定するうえできわめて重要である。臨床病理学的パラメーターに対応する少数の重要な分子を同定し、もってバイオマーカーとして臨床応用することで治療成績の向上を図ることができる。本研究では、臨床検体を用いた網羅的解析を実施し、治療方針決定に資するバイオマーカー候補を特定する。また、病理診断の精度を向上させるための免疫診断システムを構築する。そして特定した候補の検証実験を多施設共同で実施し、臨床検査につながる候補分子を同定する。

【治療標的の探索】滑膜肉腫の発生に直接関与すると思われる染色体転座によってSYT-SSX融合タンパク質が生成されることが知られている。融合タンパク質は滑膜肉腫にきわめて特異性が高いため、同タンパク質およびその複合体は治療標的のよい候補となりうる。しかしながら、分子レベルでの解析はほとんど進んでいない。そこで、SYT-SSX融合タンパク質の分子生物学的な機能解析を通して滑膜肉腫発症機構の分子メカニズムを解明し、滑膜肉腫の治療法の開発に繋げることを目的とする。そして、癌幹細胞を特異的に認識する自家CTLクローンの樹立と機能解析を行い、新規の骨軟部肉腫抗原を同定し、抗原特異的ペプチドワクチンの開発へつなげる。また、高速シーケンサーを用いて肉腫に特徴的な遺伝子核酸配列の異常を見出し、治療標的として有用な分子を同定する。

【治療法の開発】骨軟部肉腫に対する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。テロメラーゼ依存性アデノウイルスの骨軟部肉腫に対する前臨床的検討を行う。新規ウイルス製剤の抗腫瘍効果を培養細胞および実

験動物で検討し、さらに化学療法と併用効果の検討を行う。

第1年次

【研究基盤の確立】

情報および臨床検体の基盤整備

(到達目標)

1. 国立がん研究センターにおいて、これまで様々な部門で行われてきた肉腫に関する研究をレビューし、用いられた凍結標本をチェックするとともに、使用可能な凍結組織の確認を行う。
2. 同一標本から得られた異なるレベル (DNA, RNA, Protein) の網羅的解析の情報を収集する。

(年次評価時点の実績要点)

1. 国立がん研究センターにおける肉腫に関する腫瘍凍結バンクの内容を確認した。
2. 上記凍結バンクを使用して過去に行われた研究テーマ、発表した論文、発見等を整理した。

実験動物、培養細胞

(到達目標)

研究に有用なゼノグラフトモデル、培養細胞系を作製する。

(年次評価時点の実績要点)

骨肉腫 1 症例、滑膜肉腫 3 症例の手術検体を NOD/scid マウスに移植し、骨肉腫 1 症例、滑膜肉腫 1 症例において腫瘍の生着・増殖を観察した。二次移植を行い、経過観察を始めた。

【肉腫の本態解明】

(到達目標)

融合遺伝子を導入したヒト iPS 細胞が、導入前と同様な形態で安定して増殖でき、誘導処理により遺伝子の発現が誘導できること。

(年次評価時点の実績要点)

安定して増殖する遺伝子発現誘導細胞を作製した。

【診断技術の開発】

治療抵抗性を予測する診断技術

(到達目標)

治療奏効性、再発、または予後に関わる分子を網羅的解析により見出し、検証実験に耐えうるバイオマーカー候補を見出すこと。

(年次評価時点の実績要点)

蛍光二次元電気泳動法、GeLC-MS/MS およびマイクロ RNA の網羅的解析により、術前化学療法の奏効性に発現が相関するタンパク質およびマイクロ RNA を見出していること。

鑑別診断のためのバイオマーカー開発

(到達目標)

特徴的なタンパク質の発現について免疫染色により診断上の有用性を確認していること。

(年次評価時点の実績要点)

高悪性度骨肉腫における MDM2 と CDK4 の発現および遺伝子増幅状態を検索し、MDM2・CDK4 共発現パターンが脱分化型骨肉腫の組織像に対応することを明らかにした。

Ewing 肉腫における NKX2.2 蛋白の免疫組織化学的検出が、組織学的鑑別診断において有用であることを明らかにした。

【治療標的の探索】

融合遺伝子産物に相互作用するタンパク質の同定と解析

(到達目標)

滑膜肉腫に特徴的な SYT-SSX タンパク質と相互作用する因子を見出すこと。

(年次評価時点の実績要点)

免疫沈降法を用いて滑膜肉腫に特徴的な SYT-SSX タンパク質と相互作用する因子を複数見出した。SYT-SSX タンパク質と相互作用する因子を網羅的に解析する目的で、SYT-SSX タンパク質が安定的に発現する滑膜肉腫由来の培養細胞株を作製した。

癌幹細胞を特異的に認識する自家CTLクローンの樹立と機能解析

(到達目標)

新規骨軟部肉腫抗原同定に向けて、癌幹細胞を特異的に認識する自家 CTL クローンを樹立し機能解析を行うこと。

(年次評価時点の実績要点)

独自に樹立した悪性線維性組織球腫細胞株(MFH2003)より Side population 法で分離した癌幹細胞を HLA class I 拘束性に認識する CTL クローンを樹立した。CTL clone は CD8+CD45RA+CCR7- で effector phenotype を示した。

高速シーケンサー解析

(到達目標)

滑膜肉腫を対象に mRNA-seq 解析と exon-seq 解析を実施する。

新規骨軟部肉腫抗原同定に向けた、高速シーケンサーを用いた類上皮肉腫の全ゲノム解析を行う。

(年次評価時点の実績要点)

滑膜肉腫4症例の腫瘍検体について、高速シーケンサーを用いた mRNA-seq 解析を行った。独自に樹立した類上皮肉腫細胞株 ES-X と MFH2003 より genome DNA を抽出して、mate-pair library を作製した。そして高速シーケンサー SOLiD4 システムを用いて約 10 億タグの全ゲノムシーケンスと構造解析を行った。

【治療法の開発】

滑膜肉腫および骨肉腫に対するペプチドワクチン第 I 相臨床試験

(到達目標)

滑膜肉腫および骨肉腫に対するペプチドワクチン第 I 相臨床試験を実施すること。

(年次評価時点の実績要点)

進行期滑膜肉腫患者 3 例に対して SYT-SSX 由来変換ペプチド K9I(GYDQIMPKI) 1mg+IFA+インターフェロン α の投与を行った。1 例が RECIST 基準で SD, 2 例が PD であった。これら 3 例の登録により、滑膜肉腫患者に対する第 1 相臨床試験は予定症例数を満たし終了とした。また進行期骨肉腫 2 例に骨肉腫抗原 PBF 由来ペプチド PBFA24.2(AYRPVSRNI)1mg+IFA を投与、2 例に PBFA24.2 ペプチド 10mg+IFA の投与、そして 1 例に PBFA2.2(ALPSFQIPV)1mg+IFA の投与を行った。CTCAE Ver3.0 基準で Grade3 以上の新たな有害事象は確認されなかった。

テロメラーゼ依存性アデノウイルスの骨軟部肉腫に対する前臨床的検討

(到達目標)

1. 骨・軟部肉腫に対する OBP-301 の抗腫瘍効果を培養細胞と実験動物を用いて検討する。
2. テロメラーゼ活性の低い骨・軟部肉腫に対する OBP-301 の抗腫瘍効果メカニズムの解析を行う。
3. OBP-301 抵抗性の骨・軟部肉腫細胞株に対する OBP-405 の抗腫瘍効果を調べる。

(実績要点)

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、OBP-405)を用いたウイルス療法は、テロメラーゼ活性の低い腫瘍の割合が多い骨・軟部肉腫であっても、腫瘍融解アデノウイルスが感染することで、テロメラーゼ活性の上昇が起こり、強力な抗腫瘍活性を示す事を明らかにした。つまり、腫瘍融解アデノウイルスは骨・軟部肉腫に対する新たな治療法となる可能性がある。

研究成果と考察

(第1年次評価時点)

【研究基盤の確立】

情報および臨床検体の基盤整備

国立がん研究センター腫瘍凍結バンクに保存されている肉腫検体の整理を行った。これまで同バンクには総数 739 検体の肉腫サンプルが保存されており、内訳は骨肉腫 119、軟骨肉腫 62、ユーイング肉腫 40、脂肪肉腫 195、MFH58 などであった。このうち、これまでの各種研究で 264 検体が使用されていた。現在、今後の研究に使用可能なサンプル数、対となる正常組織サンプルの確認などさらに検討をすすめている。

実験動物、培養細胞

骨肉腫 1 症例、滑膜肉腫 3 症例の手術検体の NOD/scid マウスへの移植を行った。骨肉腫 1 症例、滑膜肉腫 1 症例においては腫瘍の生着・増殖が観察されたが、残り 2 症例においては移植後 150 日以上を経過しても腫瘍の増殖は見られなかった。生着・増殖した一次移植腫瘍は、二次移植を行い、経過観察中である。現時点で 4 症例中 2 症例で移植腫瘍の生着が見られないことから、今後より高度な免疫不全マウス NOG の使用等、移植法の再検討が必要と思われる。

【肉腫の本態解明】

SYT-SSX1 及び SYT-SSX2 遺伝子を KW-111-PB-TAC(Dox にて発現が誘導される piggy bag システムベクター)に組み込み、ヒト iPS 細胞にリポフェクション法により導入した。発現非誘導下では、導入された iPS 細胞は導入前に形態を呈し、増殖も変化なかった。Dox 添加により用量依存性に SYT-SSX1 及び SYT-SSX2 遺伝子の発現が誘導されることを mRNA 及び蛋白レベルで確認した。発現誘導により iPS 細胞は増殖を停止し、アポトーシスに至った。導入 iPS 細胞から複数なクローンを作成し、誘導効率の最も優れたクローンを選択し、我々が滑膜肉腫の起源と想定している神経堤細胞への分化誘導を行い、その段階で発現誘導を行う実験を遂行中である。

【診断技術の開発】

治療抵抗性を予測する診断技術

骨肉腫において、メソレキセートを中心とする 3 剤併用の術前化学療法の抵抗性に対応するタンパク質、マイクロ RNA を複数同定した。同定したマイクロ RNA については 4 種類の骨肉腫培養細胞を用いた解析で、各薬剤の抵抗性に関与することがわかった。また、ターゲットとなる遺伝子候補としてアポトーシス関連遺伝子を同定し、発現相関を培養細胞と臨床検体とで確認した。多数症例における検証実験が次の課題である。同定したタンパク質については、イフォマイドを中心とした術前化学療法の抵抗性にも対応することが別症例でわかり、抗体を用いた検証実験を計画している。GeLC-MS/MS を用いた発現解析においても、治療抵抗性に相関するタンパク質を多数同定しており、機能解析と検証実験を進める。

鑑別診断に有用なバイオマーカー

高悪性度骨肉腫における MDM2 と CDK4 の共陽性像は 6%において認められ、そのうち 87%の症例において、組織学的に低悪性度骨肉腫成分の合併が認められた。すなわち、これらの骨肉腫は低悪性度骨肉腫から二次的に増悪した脱分化型骨肉腫である。免疫染色を用いることで、通常の検索では見逃されがちな脱分化型亜型を正確に診断することができることを明らかにした。通常型骨肉腫と脱分化型骨肉腫との臨床的な差異はこれまで正確に比較されたことがないが、骨肉腫の亜分類の発達により個別化医療の実現に寄与することが期待される。

Ewing 肉腫 30 例と Ewing 肉腫以外の小円形細胞腫瘍 130 例を NKX2.2 で免疫染色し、NKX2.2 が感度 93%、特異度 89%の正確性をもって、Ewing 肉腫を他の小円形細胞腫瘍から鑑別できることを明らかにした。NKX2.2 は EWS-FLI1 の標的分子であることが知られている。遺伝子診断が難しい施設や検体においても、EWS-FLI1 融合遺伝子の有無を正確に推定することができ迅速に Ewing 肉腫を診断することができると期待される。

【治療標的の探索】

融合遺伝子産物に相互作用するタンパク質

免疫沈降法を用いて滑膜肉腫に特徴的な SYT-SSX タンパク質と相互作用する因子を数個見出した。この中の一つは DNA 修復因子であった。そこで、滑膜肉腫由来の培養細胞株の DNA 修復活性を測定したところ、2本鎖 DNA 切断修復能が低下していることがわかった。今後、SYT-SSX タンパク質および SYT-SSX タンパク質と相互作用する因子が 2本鎖 DNA 切断修復機能にどのように働くのか解析することに加え、2本鎖 DNA 切断誘発剤に滑膜肉腫細胞の増殖阻害効果があるのか検証する予定である。また、タグ付き SYT-SSX タンパク質が安定的に発現する滑膜肉腫由来の培養細胞株を得た。今後、この細胞を大量培養し、SYT-SSX タンパク質複合体構成因子の精製・同定を行う予定である。

癌幹細胞を特異的に認識する自家CTLクローンの樹立と機能解析

独自に樹立した悪性線維性組織球腫細胞株(MFH2003)より Side population 法で分離した癌幹細胞を HLA class I 拘束性に認識する CTL クローンを樹立した。自家 CTL に認識される癌幹細胞抗原の同定につながる結果と考える。

高速シーケンサー解析

滑膜肉腫 4 症例の腫瘍検体について高速シーケンサーを用いた mRNA-seq 解析を行ったが、SYT-SSX 以外の融合遺伝子は検出されなかった。今後は、このデータを lincRNA の解析等に用いる他、新たに exon-seq 解析を行い、新規遺伝子変異の同定を真座主。高速シーケンサー SOLiD4 システムを用いて我々が樹立した類上皮肉腫細胞株 ES-X と MFH2003 の約 10 億タグの全ゲノムシーケンスと構造解析を行った。新規の融合遺伝子の同定につなげていく。

【治療法の開発】

滑膜肉腫および骨肉腫に対するペプチドワクチン第 I 相臨床試験の実施

新規の末期滑膜肉腫患者 3 名に対して SYT-SSX 由来改変ペプチド K9I(GYDQIMPKI) 1mg+IFA+インターフェロン α の投与を行った。1 名が RECIST 基準で SD, 2 名が PD であった。これまでワクチンの継続投与が可能であった 3 例は、ワクチン投与開始から現在まで 2 年の長期生存に至っている。これらの結果を踏まえて、ペプチドワクチンの neo-adjuvant 投与プロトコルの実施につなげる。また末期骨肉腫 3 例に骨肉腫抗原 PBF 由来ペプチドの投与を行い、CTCAE Ver3.0 基準で Grade3 以上の新たな有害事象は確認されなかった。今後さらに症例を蓄積する必要がある。

テロメラーゼ依存性アデノウイルスの骨軟部肉腫に対する前臨床的検討

14 種類の骨・軟部肉腫細胞株に対して OBP-301 の細胞障害活性を検討し 12 種類の細胞株で OBP-301 に感受性を認めた。また、OBP-301 の細胞障害活性は CAR の発現と相関していた。テロメラーゼ活性の低い肉腫細胞に対して、OBP-301 が E1A によるテロメラーゼ活性の増強効果によってテロメラーゼ活性の高い肉腫細胞と同等に抗腫瘍活性を示すことを明らかにした。次に、骨肉腫脛骨同所性移植動物モデルを作成し OBP-301 を投与したところ、OBP-301 投与群では対象群と比べて有意に腫瘍増殖を抑制した。最後に、OBP-301 に感受性を認めなかった CAR 陰性細胞株に対して OBP-405 を用いて検討し、OBP-405 が有効に作用することを確認した。以上の結果から、将来の臨床応用に向けた骨・軟部肉腫に対する OBP-301 と OBP-405 を用いた治療戦略チャートを作成した。さらに、OBP-301 の抗腫瘍活性はテロメラーゼ活性ではなく CAR の発現と強く相関する事が今回明らかにした。多くの上皮系・非上皮系悪性腫瘍では CAR の発現を認めるが、がんの悪性化や低酸素環境によって CAR の発現が低下する事が知られており、OBP-301 の治療抵抗性を引き起こす可能性がある。CAR の発現低下に起因する OBP-301 の治療抵抗性獲得に対しては、OBP-301 と CAR の発現を増強させる薬剤との併用療法や、OBP-301 から OBP-405 への治療変更が重要となると考えられる。そのためには、治療前や治療中にも腫瘍細胞の CAR 発現を的確に把握して治療戦略を立てる事が重要となる。

倫理面への配慮

【疫学研究】

臨床検体を用いた実験は、「疫学研究に関する倫理指針」を遵守し、各研究機関の倫理委員会等の承認の下、試料等提供者の人権とプライバシーを保障しつつ行う。各分担研究の実施にあたっては各研究機関において必要に応じて審査を受け、承認を得て実施する。臨床検体が研究に使用されることについて提供者には口頭と文書で説明し、提供を断ってもいっさいの不利益が及ばないこと、同意を後に撤回することができることも説明する。連結可能匿名化などによって、個人を特定するような情報を厳重に保護し、提供者に不利益が及ばないよう最大限の配慮を払う。

【ゲノム研究】

解析方法の検証研究に使用する解析データの取得に関しては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」並びに「疫学研究に関する倫理指針」を遵守し、個人情報保護等、試料等提供者の人権擁護上の配慮を十分に行い、また患者にとって不利益や危険性が起こらないように留意し、検体の使用について同意が得られた検体のみを用いる。検体については、国立がん研究センター中央病院個人情報管理者によって連結可能匿名化の作業を行った後に、解析を行う。解析データの取得に関する研究については、国立がん研究センター中央病院の倫理審査委員会の承認を得る。

【臨床試験】

「臨床研究における倫理指針」を順守する。当施設の倫理委員会において有用性、安全性、倫理性を十分に審査し、承認を得る。試験にエントリーする患者には、口頭で十分な説明を行い、説明・同意文書により同意を得る。臨床試験において重篤な有

害事象が発生した際には、直ちに当該施設の倫理委員会に報告し、原因を究明する。同時に文部科学省、厚生労働省に報告する。患者から腫瘍、血液などの試料の提供を受ける際には、当大学付属病院書式の説明・同意文書により同意を得る。他施設の患者から試料の提供を受ける際には、当該施設の倫理委員会の承認を受けた上で、説明・同意文で同意を得る。

【動物実験】

動物実験は、それぞれの所属する機関の動物実験規則にしたがい、「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」を遵守し、それぞれの所属する機関の動物実験倫理委員会の承認を受けて行っている。実験動物は研究上の目的を達するに最小限の数のものを使用する。動物に無用な苦痛を与えないように最大限の注意を払い、外科的な処置を行う際には適切な麻酔を行うなどして苦痛の軽減に努める。

【遺伝子組み換え実験】

「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」及び関連法令に従い、それぞれの所属する機関の遺伝子組換え実験安全委員会の承認を受けて行う。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

近藤格

1. Suehara Y, Tochigi N, Kubota D, Kikuta K, Nakayama R, Seki K, Yoshida A, Ichikawa H, Hasegawa T, Kaneko K, Chuman H, Beppu Y, Kawai A, Kondo T. Secernin-1 as a novel prognostic biomarker candidate of synovial sarcoma revealed by proteomics. *J Proteomics*. 2011;74(6):829-42
2. Kikuta K, Kubota D, Saito T, Orita H, Yoshida A, Tsuda H, Sueharac Y, Katai H, Shimada Y, Toyama Y, Sato K, Yao T, Kaneko K, Beppu Y, Murakami Y, Kawai A, Kondo T. Clinical proteomics identified ATP-dependent RNA helicase DDX39 as a novel biomarker to predict poor prognosis of patients with gastrointestinal stromal tumor. *J Proteomics*. 2012;75(4):1089-98.
3. Kubota D, Orita H, Yoshida A, Gotoh M, Kanda T, Tsuda H, Hasegawa T, Katai H, Shimada Y, Kaneko K, Kawai A, Kondo T. Pftin as a prognostic biomarker for gastrointestinal stromal tumor: validation study in multiple clinical facilities. *Jpn J Clin Oncol*. 2011;41(10):1194-202.
4. Hosako M, Muto T, Nakamura Y, Tsuta K, Tochigi N, Tsuda H, Asamura H, Tomonaga T, Kawai A, Kondo T. Proteomic study of malignant pleural mesothelioma by laser microdissection and two-dimensional difference gel electrophoresis identified cathepsin D as a novel candidate for a differential diagnosis biomarker. *J Proteomics*. 75(3):833-44.

川井章

5. Onoda S, Sakuraba M, Asano T, Asano S, Beppu Y, Chuman H, Kawai A, Nakatani F, Kimata Y, Use of vascularized free fibular head grafts for upper limb oncologic reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2011;127: 1244-53..
6. Osaki M, Takeshita F, Sugimoto Y, Kosaka N, Yamamoto Y, Yoshioka Y, Kobayashi E, Yamada T, Kawai A, Inoue T, Ito H, Oshimura M, Ochiya T. MicroRNA-143 regulates human osteosarcoma metastasis by regulating matrix metalloprotease-13 expression. *Mol Ther*. 2011;19(6):1123-30.
7. Ogura K, Hosono A, Yoshida A, Beppu Y, Kawai A. A retroperitoneal mass, systemic lymphadenopathy, and pulmonary nodules in a pregnant woman. Diagnosis: Lymphangioliomyomatosis (LAM). *Skeletal Radiol*. 2011;40(5):631-2, 657-8.
8. Yanagisawa M, Okada K, Tajino T, Torigoe T, Kawai A, Nishida J. A clinicopathological study of giant cell tumor of small bones. *Upsala Journal of Medical Sciences*. 2011, 1-4.
9. Okada K, Hasegawa T, Kawai A, Ogose A, Nishida J, Yanagisawa M, Orita T, Tajino T, Tsuchiya T, Primary (De Novo) Differentiated Liposarcoma in the extremities: A multi-institution Tohoku musculoskeletal tumor society study of 18 cases in northern Japan. *Jpn J Clin Oncol*. 41: 1094-1100, 2011.
10. 川井章, 悪性骨・軟部腫瘍治療後の晩期障害. *日整会誌* 85:208-214, 2011
11. 川井章, 直腸癌局所再発に対する仙骨合併骨盤内臓全摘術(TPES). *外科* 73: 1461-1466, 2011

市川仁

12. Suehara Y, Tochigi N, Kubota D, Kikuta K, Nakayama R, Seki K, Yoshida A, Ichikawa H, Hasegawa T, Kaneko K, Chuman H, Beppu Y, Kawai A, Kondo T. Secernin-1 as a novel prognostic biomarker candidate of synovial sarcoma revealed by proteomics. *J Proteomics* 74, 829-842 (2011)
13. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, Sakamoto H, Tsuta K, Furuta K, Shimada Y, Iwakawa R, Ogiwara H, Oike T, Enari M, Schetter AJ, Okayama H, Haugen A, Skaug V, Chiku S, Yamanaka I, Arai Y, Watanabe S, Sekine I, Ogawa S, Harris CC, Tsuda H, Yoshida T, Yokota J, Shibata T. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med* 18, 375-377 (2012)

太田力

14. Qi DL, Ohhira T, Fujisaki C, Inoue T, Ohta T, Osaki M, Ohshiro E, Seko T, Aoki S, Oshimura M, Kugoh H. Identification of PITX1 as a TERT suppressor gene located on human chromosome 5. *Mol Cell Biol*. 31, 1624-1636 (2011).

吉田朗彦

15. Yoshida A, Ushiku T, Motoi T, Beppu Y, Tsuda H, Shibata T. MDM2 and CDK4 Immunohistochemical Coexpression in High-Grade Osteosarcoma: Correlation with a Dedifferentiated Subtype. *Am J Surg Pathol*. 2011;36(3):423-31
16. Yoshida A, Sekine S, Tsuta K, Fukayama M, Furuta K, Tsuda H. NKX2.2 is a useful immunohistochemical marker for Ewing sarcoma. *Am J Surg Pathol*. 2012 Mar 25. Epub ahead of print.
17. 吉田朗彦. 脂肪肉腫の多様性と診断の動向 病理と臨床 30(3), 2012

戸口田淳也

18. Furu M, Kajita Y, Nagayama S, Ishibe T, Shima Y, Nishijo K, Uejima D, Takahashi R, Aoyama T, Nakayama T, Nakamura T, Nakashima Y, Ikegawa M, Imoto S, Katagiri T, Nakamura Y, Toguchida J. Identification of AFAP1L1 as a prognostic marker for spindle cell sarcomas. *Oncogene*, 30(38): 4015-25, 2011.
19. Uejima D, Nishijo K, Kajita Y, Ishibe T, Aoyama T, Kageyama, Iwaki H, Nakamura T, Iida, Yoshiaki T, and Toguchida J. Involvement of a cancer biomarker C7orf24 in the growth of human osteosarcoma. *Anticancer Res*, 31(4): 1297-305, 2011.

和田卓郎

20. Kano M, Tsukahara T, Emori M, Murase M, Torigoe T, Kawaguchi S, Wada T, Yamashita T, Sato N. Autologous CTL response against cancer stem-like cells/cancer-initiating cells of bone malignant fibrous histiocytoma. *Cancer Sci* 2011, 102: 1443-1447.
21. Yabe H, Tsukahara T, Wada T, et al.: Prognostic significance of HLA Class I expression in Ewing's sarcoma family of tumors. *J Surg Oncol* 103:380-5, 2011
22. 江森誠人, 塚原智英, 川口哲, 和田卓郎:【ワクチン-最新動向と展望-】がんワクチン療法の進歩 骨・軟部肉腫に対するペプチドワクチン療法, *日本臨床* 69:1670-3, 2011

尾崎敏文

23. Sasaki T, Tazawa H, Hasei J, Kunisada T, Yoshida A, Hashimoto Y, Yano S, Yoshida R, Uno F, Kagawa S, Morimoto Y, Urata Y, Ozaki T, Fujiwara T. Preclinical evaluation of telomerase-specific oncolytic virotherapy for human bone and soft tissue sarcomas. *Clin Cancer Res*. 2011 ;17(7):1828-38.

(学会発表)

近藤格

1. 近藤格、プロテオーム解析による個別化医療のためのがんバイオマーカー開発. 第9回日本プロテオーム学会(2011.7.28 新潟)
2. 窪田大介, 末原義之, 吉田朗彦, 菊田一貴, 杉原豊, 木村一哉, 芳賀絢子, 川井章, 金子和夫, 近藤格: 蛍光二次元電気泳動法を用いた横紋筋肉腫における組織診断バイオマーカーの開発. 日本プロテオーム学会(2011. 7. 28 新潟)

3. 芳賀綾子、小川原陽子、大津正也、窪田大介、杉原豊、木村一哉、菊田一貴、川井章、北林一生、村上康文、近藤格、Ewing 肉腫の治療標的の同定を目的としたヌクレオフォスミンおよびヌクレオフォスミン相互作用タンパク質の機能解析. 第 9 回日本プロテオーム学会(2011.7.28 新潟)
4. Kubota D, Yoshida A, Kikuta K, Suehara Y, Kaneko K, Kawai A, Kondo T, Biomarkers for Chemoresistance in Osteosarcoma; Applications of 2D-DIGE used biopsy samples. HUPO 2011 10th WORLD CONGRESS (2011 年 9 月 4 日 Geneva)
5. Haga A, Ogawara Y, Kubota D, Sugihara Y, Yonemori H, Murakami Y, Kitabayashi I, Kondo T, FUNCTIONAL STUDY OF NUCLEOPHOSMIN(NPM1),THE PROGNOSTIC MARKER IN EWING'S SARCOMA, BY PROTEOMIC APPROACH. HUPO 2011 10th WORLD CONGRESS (2011年9月4日 Geneva)
6. Kondo T, Cancer Proteomics for Biomarker Development toward Personalized Medicine. 5th Central and Eastern Proteomic Conference. (2011.9.19 Czech Republic)
7. 窪田大介, 末原義之, 吉田朗彦, 金子和夫, 川井章, 近藤格、骨肉腫における化学療法奏効性に関与する分子の探索. 関東骨軟部基礎を語る会 (2011.10.1 東京)
8. Kondo T, Cancer Proteomics for Biomarker Development toward Personalized Medicine. 第 70 回日本癌学会総会(2011.10.3 名古屋)
9. Kubota D, Suehara Y, Yoshida A, Kaneko K, Kawai A, Kondo T: Biomarkers for chemoresistance in Osteosarcoma; Applications of 2D-DIGE used biopsy samples. 第 70 回日本癌学会学術総会(2011. 10. 3 名古屋)
10. 窪田大介, 藤原智洋, 末原義之, 吉田朗彦, 菊田和孝, 金子和夫, 川井章, 近藤格、骨肉腫における化学療法奏効性に関与する miRNA の同定. 第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2011.10.20 群馬)
11. Kubota D, Yoshida A, Saito T, Suehara Y, Kikuta K, Orita H, Ohkubo T, Kanda T, Gotoh M, Katai H, Shimada Y, Hasegawa T, Kaneko K, Kawai A, Kondo T, Pftin as a Prognostic Biomarker for Gastrointestinal Stromal Tumor: Validation Study in Multiple Clinical Facilities. 2011 Annual Meeting Connective Tissue Oncology Society (2011.10. 26 Chicago)
12. 窪田大介, 末原義之, 菊田一貴, 金子和夫, 川井章, 近藤格、蛍光二次元電気泳動法を用いた骨軟部肉腫の個別化医療のためのバイオマーカー開発. 第 62 回日本電気泳動学会総会 (2011.11.12 横浜)
13. 近藤格、プロテオーム解析による個別化医療のためのバイオマーカー開発. 第 58 回日本臨床検査医学会学術集会 (2011.11.17 岡山)

太田力

14. 太田力、滑膜肉腫発症機構の解明 第 70 回日本癌学会学術総会(2011.10.3 名古屋)

吉田朗彦

15. 吉田朗彦、牛久哲男、元井亨、深山正久、津田均、柴田龍弘、MDM2 と CDK4 の共過剰発現は、脱分化型骨肉腫を診断する手がかりになる 第 100 回日本病理学会総会 (2011.4.28. 横浜)
16. Yoshida A, Shibata T, Hirose T, Intraosseous atypical perineurioma. at Japan-Korean Bone Tumor Conference. Daejeon, Korea, Oct. 2011
17. Yoshida A, Wakai S, Ushiku T, Tsuta K, Makimoto A, Fukayama M, Furuta K, Tsuda H, Shibata T. ALK immunorexpression and gene status in rhabdomyosarcomas the 101th Annual Meeting of the United States and Canadian Academy of Pathology (2012. 3.20. Vancouver, Canada)

戸口田淳也

18. Toguchida J. Tissue stem cell and sarcoma stem cell: Annual Congress of the Korean Bone and Joint Tumor Society (2011.4.15 Suwon)
19. 玉置さくら、加藤友久、梶田洋一郎、中山富貴、中村孝志、戸口田淳也:SYT-SSX のエピゲノム発現制御機構への関与. 第 44 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2011.7.14 京都)
20. 中山富貴、仲俣岳晴、岡本健、戸口田淳也:骨腫瘍切除後の処理骨による再建 - アンケートによる実態調査. 第 44 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2011.7.14 京都)
21. 那須輝、布留守敏、吹上謙一、中山富貴、中村孝志、古瀬幹夫、戸口田淳也:神経鞘由来腫瘍におけるクローデイン 19 の発現様式. 第 44 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2011.7.14 京都)
22. 岡本健、中山富貴、仲俣岳晴、坪山直生、戸口田淳也、渡邊健一郎、中村孝志:Etoposideを使用した高悪性度骨肉腫に対する化学療法の成績. 第 44 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2011.7.14 京都)
23. 小西英一、岡本健、仲俣岳晴、中山富貴、戸口田淳也:日本における MFH 診断例数の変遷とその影響 - 日本整形外科学会のアンケート調査結果をもとに. 第 44 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2011.7.15 京都)
24. 仲俣岳晴、中山富貴、岡本健、坪山直生、戸口田淳也:悪性骨・軟部腫瘍に対する化学療法施行体制 - アンケートによる

- 実態調査. 第44回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2011.7.15 京都)
25. 玉置さくら、加藤友久、梶田洋一郎、中山富貴、中村孝志、戸口田淳也:SYT-SSXのエピゲノム発現制御機構への関与. 第70回日本癌学会総会(2011.10.3 名古屋)
 26. 布留守敏、梶田洋一郎、長山聡、片桐豊雅、中村祐輔、戸口田淳也:紡錘形細胞肉腫の予後因子としての AFAP1L1 遺伝子の同定. 第70回日本癌学会総会(2011.10.3 名古屋)
 27. 那須輝、布留守敏、吹上謙一、中山富貴、中村孝志、古瀬幹夫、戸口田淳也:神経鞘由来腫瘍におけるクローデイン 19 の発現様式. 第70回日本癌学会総会(2011.10.4 名古屋)
 28. 戸口田淳也:運動器腫瘍の細胞と遺伝子. 第1回名古屋運動器腫瘍セミナー(2011.11.19 名古屋)

和田卓郎

29. 塚原智英, 和田卓郎. 骨軟部肉腫における癌幹細胞の同定と免疫応答(パネルディスカッション 1 幹細胞研究の骨・軟部腫瘍学への応用). 第44回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会(2011年7月14日, 京都)
30. 和田卓郎, 川口哲, 名越智, 加谷光規, 塚原智英, 佐藤昇志, 矢部啓夫, 山下敏彦:骨肉腫のペプチドワクチン療法(シンポ)第84回日本整形外科学会学術集会, 2011年5月13日, 横浜市(Web開催)

尾崎敏文

31. 佐々木剛、国定俊之、長谷井 嬢、森本裕樹、吉田 晶、田澤大、浦田泰生、藤原俊義、尾崎敏文「テロメラーゼ依存性アデノウイルスの骨軟部肉腫に対する前臨床的検討」第44回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
32. 佐々木剛、国定俊之、田澤 大、長谷井嬢、浦田泰生、藤原俊義、尾崎敏文「GFP 搭載ウイルス製剤を用いたアデノウイルス療法に対する治療予測マーカーに対する新規測定方法の検討」第44回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
33. 佐々木剛、国定俊之、田澤 大、長谷井嬢、浦田泰生、藤原俊義、尾崎敏文「腫瘍融解アデノウイルスの臨床投与に向けての最適投与間隔の検討」第26回日本整形外科学会基礎学術集会

(書籍)

川井章

1. 腫瘍病理鑑別診断アトラス (文光堂)2011年:軟部肉腫の進行期と治療方針・予後 p215-221
2. 小児がん診療ハンドブック(医薬ジャーナル)2011年:骨肉腫 p467-472

吉田朗彦

3. 吉田朗彦、三宅基隆. 第2章第2節 悪性骨腫瘍 アトラスシリーズ CT/MRI 病理像・関節鏡像との対比と参考症例に学ぶ骨軟部の画像診断 2011 ベクトル・コア
4. 吉田朗彦. 孤立性線維性腫瘍. 腫瘍鑑別病理診断アトラス 軟部腫瘍, 2011 文光堂

和田卓郎

5. 和田卓郎. 骨軟骨腫, 内軟骨腫, 単純性骨嚢腫. 山口徹, 他編. 今日の治療指針 2011 年版. 東京: 医学書院 2011:984.

(その他)

近藤格

第9回日本プロテオーム学会(2011.7..28 新潟)にて、近藤格の研究室より、菊田一貴が若手奨励賞を受賞した。「骨肉腫、Ewing 肉腫の個別化医療を目指したバイオマーカー開発のためのプロテオーム解析」