

綜 説

骨肉腫に対する治療開発の歴史

岡本正則* 根本和明 出田宏和 吉田和薫
田中厚誌 鬼頭宗久 青木 薫 高橋 淳

信州大学医学部運動機能学教室

History of the Development of Chemotherapy for Osteosarcoma

Masanori OKAMOTO, Kazuaki NEMOTO, Hirokazu IDETA, Kazushige YOSHIDA
Atsushi TANAKA, Munehisa KITO, Kaoru AOKI and Jun TAKAHASHI

Department of Orthopaedic Surgery, Shinshu University School of Medicine

Key words: osteosarcoma, adjuvant chemotherapy, neoadjuvant chemotherapy
骨肉腫, 術前化学療法, 術後化学療法

I はじめに

骨肉腫は、腫瘍細胞が骨を産生する髓内高悪性度肉腫と定義される¹⁾。骨を産生するため死後に化石となつてからも長期にわたり形態学的構造が維持されやすく、人類では少なくとも170万年前から存在していたことが報告されている²⁾。さらに2億4千年前のカメの化石からも骨肉腫は確認されており、最も古くから存在することが証明された悪性腫瘍である³⁾。

骨肉腫の発生頻度は原発性悪性骨腫瘍の中で最も高い。米国における人口100万人当たり年間罹患率は、0~24歳では約4.4例、25~59歳では約1.7例、60歳以上では約4.2例と報告されており、多くの症例は14~18歳で発症する⁴⁾。日本整形外科学会による全国骨軟部腫瘍登録への年間登録患者数は約200~300人であり、日本における発生頻度は米国と同程度と考えられている⁵⁾。男性の罹患率がやや高い(男女比1.3:1)⁶⁾。全身のどの骨にも発生しうるが、大部分は四肢の長管骨骨幹端部に発生し、大腿骨遠位部(30%)と脛骨近位部(15%)の膝関節周囲、上腕骨近位部(15%)の順に多く、すなわち骨形成の盛んな成長板周囲に発生しやすい。

現在の骨肉腫に対する標準治療は、手術による病変の完全切除と術前後の補助化学療法の組み合わせで

ある。しかし新たに骨肉腫と診断された患者の約10~15%が、主に肺に転移性病変を有する。5年生存率は、限局性骨肉腫の患者では70%以上であるが、転移または再発を示す患者ではわずか20%程度である。約40年間標準治療に用いられる抗がん剤に変化はなく、生存率も大幅には改善されていない。そのため新規治療法の開発が切に望まれている。

本綜説では、骨肉腫に対する治療開発の歴史を振り返り、現在行っている我々の研究内容を概説する。

II 骨肉腫に対する治療開発の歴史

骨肉腫に関する最初の包括的研究は、アメリカのGrossらによる165例の長管骨発生原発性新生物に関する1879年の報告と言われている⁷⁾。現代でいう骨巨細胞腫や軟骨肉腫、ユーイング肉腫も含まれた解析であったが、これらの腫瘍は肺に転移することが多く、リンパ節に転移することはあまりないことを指摘している。病変の浸潤性と再発率の高さから局所治療は無意味であり、病変から離れた位置での切断が行われていた。当時の外科的治療は出血量が非常に多く、その死亡率は30%を超えていた。しかしそれでもなお、予後を改善するためには早期の切断が推奨された。

骨軟部肉腫に対する薬物療法として最も古い報告は1893年のColeyによるColey's toxinである⁸⁾⁹⁾。加熱処理した溶連菌とセラチア菌を用いた混合注射は骨肉腫だけでなく、軟部肉腫や子宮頸がん、卵巣がん、腎がん、乳がん、大腸がんなどの多種多様な悪性腫瘍の

* Corresponding author: 岡本正則 〒390-8621
松本市旭3-1-1 信州大学医学部運動機能学教室
E-mail: ryouyuma@shinshu-u.ac.jp

患者に投与された。現代の免疫療法にも通ずる毒素を用いた治療は、手術不能な軟部肉腫の患者で最も良好な成績が得られたが、骨肉腫はこの治療に対する反応が悪かった。

1956年、LiとHertzはメトトレキサートにより絨毛がんの遠隔転移が消失することを報告した¹⁰⁾。これは化学療法によって寛解が得られた初めての固形腫瘍の報告であり、化学療法の新しい時代の始まりであった。しかしその後、1960年代までは骨肉腫は化学療法には抵抗性とされており、四肢原発の骨肉腫に対しては診断後すぐに患肢切断が行われることが多かった。しかし限局性の骨肉腫の存在する部位よりも関節を跨いで近位を切断しても、手術後に肺転移が出現することが多く、5年生存率は20%以下であった¹¹⁾。

1970年代になると、WangとCortesはアドリアマイシン（ドキシソルビシン）により転移性骨肉腫9例中3例で客観的奏功を認め、そのうち2例では50%以上の縮小を伴う部分奏功を維持したと報告した¹²⁾。またMD Anderson Cancer CenterのJaffeはメトトレキサートによる転移性骨肉腫10例中2例に部分奏功を、2例には完全奏功を認めたと報告した¹³⁾。これが骨肉腫に対する化学療法の始まりと言える。その後彼らはNew England Journal of Medicine誌に限局性骨肉腫に対する切断術の術後補助化学療法としての効果をそれぞれ報告し、アドリアマイシンとメトトレキサートによって生存期間と無病生存期間が著しく延長することを明らかにした¹⁴⁾¹⁵⁾。そしてMemorial Sloan-Kettering Cancer CenterのRosenは転移性骨肉腫の小児に対してメトトレキサートとアドリアマイシンを併用することで、1か月以上の腫瘍の退縮効果持続を認めたと報告した¹⁶⁾。

その後Rosenは、限局性の原発性骨肉腫に対してメトトレキサートとアドリアマイシンを併用するプロトコルを開発した。メトトレキサートの用量を徐々に増量することで良好な反応が得られる患者がいたことから、メトトレキサートの1回投与量（8-12 g/m²）と投与回数を増やし、切除検体の組織学的効果判定と予後はさらに改善した¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。それと同時に、Rosenは原発性骨肉腫に対する術前補助化学療法の概念を開発した¹⁷⁾。膝周囲の骨肉腫に対して神経血管束を温存しつつ広範切除を行い、切断ではなく患肢温存手術を可能とするため、カスタムメイドの人工関節を作製した。そしてその人工関節を作製するための期間に、Rosen

は術前化学療法を行った。腫瘍細胞が産生した骨基質を有する腫瘍は術前化学療法によって縮小しないため、その縮小率は当然ながら治療の効果判定の指標とはならなかった。しかし術前化学療法後に切除された腫瘍組織は組織学的に分析されたため、化学療法の効果を組織学的反応によって推定することが可能となった。まずHuvosが、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンクリスチンを用いてRosenが治療した患者の組織学的所見について報告した²⁰⁾。Rosenは組織学的効果判定をGrade I：no effectからGrade IV：no histologic evidence of viable tumorの4段階に分類し、viableな腫瘍細胞が完全またはほぼ消失したGrade III/IVの患者の無病生存期間がviableな腫瘍細胞が多く残存するGrade I/IIと比べ有意に長いことを観察した。この事実は、術後補助化学療法を受けた患者の無病生存率の改善も、化学療法の直接的な結果であるという結論を支持するものであった¹⁹⁾。組織学的効果判定により術前化学療法の反応不良例には、術後化学療法をアドリアマイシンとシスプラチンの併用療法に変更することで、予後不良群の患者の予後を改善することが可能となった²¹⁾。

一方、この当時はまだ骨肉腫に対する化学療法には懐疑的な意見も多かった。まず化学療法による毒性を管理することは困難を伴った。メトトレキサート濃度を測定することもできず、骨髄抑制による細菌感染を制御するためのG-CSF製剤や広域スペクトルの抗生物質もなかったため、副作用によって死亡する患者もいた。そして前述のアドリアマイシンやメトトレキサートによるCortesとJaffeの骨肉腫に対する最初の報告¹²⁾⁻¹⁵⁾での1年無病生存率は60~85%であったが、5年間の追跡調査後の報告では約40%に低下していた²²⁾²³⁾。さらに手術単独の治療をした患者の3年全生存率は1960年代の20~25%から1974年には50%まで改善しており、他の施設から報告されている予後の改善は術後補助化学療法の結果ではないとする意見もあった²⁴⁾²⁵⁾。

骨肉腫に対して補助化学療法の有効性が科学的に証明され世界中で受け入れられたのは、手術単独で治療した患者とRosenの開発した術後補助化学療法を追加した患者の転帰を比較した1986年と1987年の2つのランダム化比較試験の結果からだった²⁶⁾²⁷⁾。切断を含む手術単独群の2年無病生存率は10~20%だったのに対して、補助化学療法を受けた群は55~67%と良

好だった。さらに、ランダム化を拒否し比較試験に登録されなかった患者においても、手術単独群より補助化学療法を受けた群の方が生存率は高い結果であった。

Rosen によるメトトレキサートの増量が予後を改善するという考え方は、1980年代後半にメトトレキサートの血中濃度測定が可能となりさらに詳細に研究されるようになった。Delepine は投与直後の最高濃度が1000 μM 以上になるようにメトトレキサートの量を調節された患者では、組織学的効果判定と無病生存率が良好であることを報告した²⁸⁾²⁹⁾。

進行期骨肉腫に対するシスプラチンの効果は1977年に初めて報告された³⁰⁾³¹⁾。そして第II相試験を含む多くの報告でその効果が確認された³²⁾³⁵⁾。その後 Ettinger によって原発性骨肉腫に対する補助化学療法として導入された³⁶⁾³⁷⁾。さらに悪性黒色腫の患者に対するシスプラチンの動注化学療法³⁸⁾が報告されると、骨肉腫に対しても動注化学療法が研究された³⁹⁾⁴¹⁾。シスプラチンの動脈内投与により、原発巣の奏効率は上昇し、腫瘍近傍でのシスプラチンの血中濃度によってその機序が説明された⁴²⁾。

Jaffe は小児におけるシスプラチンの動注化学療法を検証し、シスプラチン動注とメトトレキサート静注のランダム化比較試験を行った⁴³⁾⁴⁴⁾。シスプラチン動注化学療法による高い奏効率が報告され、その効果判定は Ayala によって病理学的に定義された⁴⁵⁾。Ayala は前述の Huvos による分類を修正し、60%以上の腫瘍細胞の壊死を化学療法による Definite tumor effect とし、特に90%以上の腫瘍壊死を Complete tumor effect と定義した。さらに Raymond は化学療法後の標本を“マッピング”し、化学療法の効果を分析する腫瘍処理の手順について詳細に報告した⁴⁶⁾。その後の多くの論文は90%以上腫瘍細胞が壊死した患者を Good responder、それ以下の反応の患者を Poor responder とし、術後補助化学療法に使用する薬剤を変更する根拠としている。また Jaffe と同じく MD Anderson Cancer Center の Benjamin は、アドリアマイシンの毒性は骨髄抑制と粘膜炎であり、シスプラチンの毒性は腎毒性と聴覚障害であることから、術前化学療法としてアドリアマイシンとシスプラチン動注化学療法を併用が可能と考え、実際に良好な予後が得られることを報告した⁴⁷⁾。

アメリカと同様にイタリアでも1972年ころからアド

リアマイシンと中用量のメトトレキサートを併用する術後補助化学療法が用いられた。Istituto Ortopedico Rizzoli (IOR) の Bacci は、化学療法は局所再発の割合とその出現時期には影響しないが、無病生存率が改善し、遠隔転移の出現時期が遅れることを報告した⁴⁸⁾⁴⁹⁾。そして術前化学療法の Good responder に対して、術後化学療法を短縮できるかどうかランダム化試験を行ったが、術後化学療法は Good responder であっても短縮すべきではなく、アドリアマイシンを併用すべきと報告した⁵⁰⁾。さらにメトトレキサートの増量は化学療法への反応を良好にすること、Poor responder に対して術後化学療法をアドリアマイシンとブレオマイシンに変更しても予後の改善は見られないことを報告している。

1970年代から小児の固形腫瘍に用いられ始めたイホスファミドは、1980年代になって多剤併用療法として進行期骨肉腫に対する活性が報告された⁵¹⁾⁵²⁾。そしてその後 Benjamin は高容量のイホスファミドをボラス投与する用量依存性、スケジュール依存性の効果を報告している⁵³⁾⁵⁴⁾。

イホスファミドは原発性骨肉腫に対してもメトトレキサート、アドリアマイシン、シスプラチンの3剤(MAP)とともに術前後の化学療法へ併用されるようになったが、その効果に関してはいまだ議論が残っている。そしてこれは新規治療開発の混乱期へとつながっていく。

多くの腫瘍で化学療法の強度(Dose Intensity; 単位時間当たりの薬剤投与量)を上げて予後を改善する取り組みがなされている。骨肉腫でもメトトレキサート、イホスファミド単剤の用量を上げることで生存率は上昇するため、薬剤数の増加や投与期間の延長が試みられた。

1986年からドイツの Cooperative Osteosarcoma Study Group (COSS) はイホスファミドを含む4剤併用の術前化学療法においてイホスファミドと併用するシスプラチンの動脈内投与と静脈内投与を比較したが、組織学的効果判定に有意差を認められなかった⁵⁵⁾。その後 Bacci もシスプラチンの動注化学療法について検討を行った。シスプラチンの動脈内投与と静脈内投与を比較した研究で、動脈内投与群では症状の改善が早く、組織学的効果判定が良好であり、局所再発が少なかった。しかし、無病生存率には有意な差は認めら

れなかった⁵⁶⁾。

Bacci はまた術前化学療法に対する Poor responder に対して術後に他の MAP 3 剤に加えてイホスファミドとエトポシドを含む化学療法を行い Poor responder の予後を Good responder と同様に改善できると報告した⁵⁷⁾⁵⁸⁾。日本でも1993年から多施設共同第Ⅱ相試験である NECO (Neoadjuvant Chemotherapy for Osteosarcoma)-93J が、1995年から NECO-95J が実施された⁵⁹⁾。術前化学療法として MAP 3 剤から開始し、画像診断による無効例および組織学効果判定の Poor responder に対してイホスファミドを追加した 4 剤で治療を行った結果、Good responder と Poor responder の 5 年累積生存率に有意差はなく、MAP に対する Poor responder にイホスファミドを追加することで予後が改善される可能性が示された。しかしこれらの試験は Poor responder をランダム化した試験ではないため、術後レジメンの変更で Poor responder の予後を真に改善できるかどうかは不明のままであった。

Bacci は術前化学療法にもイホスファミドを併用したが、組織学的効果判定は改善したものの、予測に反して無イベント生存率と全生存率は改善しなかった⁶⁰⁾。さらに IOR と Scandinavian Sarcoma Group (SSG) の共同研究でも、術前化学療法からイホスファミドを追加すると腎毒性と血液毒性は増加したが、生存率の改善は見られなかった⁶¹⁾。

1993年から4年間で662例の症例を集めた Children's Oncology Group (COG) によるランダム化試験では、全例に MAP を標準レジメンとして、イホスファミド and/or ミファミルチドを投与する群としない群の 4 群に分けて解析を行った。標準治療にミファミルチドを追加することにより全生存期間の延長がみられたが、イホスファミド 9 g/m^2 を 5 回追加しても無イベント生存率や全生存率の延長はみられなかった⁶²⁾⁶³⁾。この試験の 556 例を含む 703 例のレトロスペクティブな検討では、手術後 21 日以上経過してから化学療法を再開した患者の死亡率が有意に高いことが明らかになっている⁶⁴⁾。手術後の化学療法再開が遅れると全体的な強度は低下するため、やはり強度の維持は重要ということだろう。

一方、European Osteosarcoma Intergroup (EOI) は 1993 年から 9 年間にわたって 504 例の症例を集めた。アドリアマイシンとシスプラチンの強度を上げるために、通常 3 週間ごとに投与していた 2 剤を、2 週間ごとに投与することとし、薬剤の総量は同量のまま期間

を短縮することで化学療法の強度を上げる試験を行った。その結果、組織学的効果判定は有意に改善したが、無増悪生存期間や全生存期間の増加はみられず、血小板減少などの血液毒性が増加した。この結果は組織学的効果判定を全生存の代用アウトカムとすることにも疑問をなげかけることとなった⁶⁵⁾。

4 つの国際的な骨肉腫の研究グループである COG, COSS, EOI, SSG は共同して European and American Osteosarcoma Study Group (EURAMOS) を結成し、欧米 17 国 325 施設が 2005 年から 6 年間で 2,260 例の切除可能な骨肉腫を集めた史上最大の共同研究である EURAMOS-1 を実施した⁶⁶⁾⁻⁶⁸⁾。まず全例に MAP (メトトレキサート 12 g/m^2 , アドリアマイシン 75 mg/m^2 , シスプラチン 120 mg/m^2) で術前化学療法 2 コースを行った。術後化学療法として、Good responder には MAP にインターフェロン α 追加の有無でランダム化を行い、Poor responder には MAP にイホスファミドとエトポシド (IE) の追加の有無でランダム化を行った。Good responder の 1,041 例中 716 例 69 % と、Poor responder の 1,060 例中 618 例 58 % がランダム化されたが、どちらの群も MAP 群と追加治療群で生存率に有意差を認めることはなかった。ランダム化遵守率の低さ、追加治療群での副作用による強度の低下、プロトコル治療終了後から画像診断までの期間の妥当性など様々な考察がなされているが、少なくとも術前治療に MAP を行った場合、Poor responder であっても術後化学療法に 1 コース 14 g/m^2 または 9 g/m^2 , 総投与量 60 g/m^2 のイホスファミドとエトポシドを追加することは推奨できないという結果であった。

日本臨床腫瘍研究グループ (Japanese Clinical Oncology Group; JCOG) の骨軟部腫瘍グループも術後化学療法にイホスファミドを追加することの有効性を評価するため、2010 年よりランダム化比較試験 JCOG0905 を開始し、10 年間で 287 例の症例を集めた。術前化学療法は MAP 3 剤で治療し、Poor responder を術後も MAP を継続する群と、MAP を減量し、1 コース 15 g/m^2 , 総投与量 90 g/m^2 のイホスファミドを追加する群にランダム化し比較した。EURAMOS-1 よりも高い容量のイホスファミドが追加されたが、MAP にイホスファミドを併用することは、MAP のみに比べて生存を改善せず、Hiraga は poor responder に対してイホスファミドの追加は支持されないと報告している (ESMO Congress 2022)。

近年骨肉腫に対しても分子標的薬が導入されている^{69)~73)}。2019年には腫瘍血管新生 (VEGFR1~3, TIE2), 腫瘍微小環境 (PDGFR, FGFR) および腫瘍形成 (KIT, RET, RAF-1, BRAF) などのマルチキナーゼ阻害剤であるレゴラフェニブに進行期骨肉腫に対する抗腫瘍活性が証明された⁷⁴⁾⁷⁵⁾。2020年には血管内皮細胞増殖因子受容体2 (VEGFR2), 肝細胞増殖因子受容体 (MET), AXL などのマルチキナーゼ阻害剤であるカボザンチニブもまた進行期骨肉腫に対しての抗腫瘍活性が証明されている⁷⁶⁾。しかし、日本ではまだすべての分子標的薬に骨肉腫の保険適応はない。

免疫療法もまた進行期骨肉腫に対して研究されている。免疫チェックポイント阻害剤であるペンプロリズマブは、単剤 (2017年)⁷⁷⁾でも、従来の細胞毒性化学療法剤であるシクロホスファミドとの併用療法 (2019年)⁷⁸⁾でも骨肉腫への活性は限定的であることが示された。腫瘍浸潤リンパ球 (tumor infiltrating lymphocyte: TIL) を用いた養子免疫療法 (TIL 療法) とニボルマブの併用療法は進行期骨肉腫の客観的奏効率、無増悪生存期間、全生存期間を延長する可能性が示されている (2020年)⁷⁹⁾⁸⁰⁾。Nabil Ahmed は2015年に、細胞の増殖、分化、生存、代謝などに関わる受容体型チロシンキナーゼの HER2 を標的とした遺伝子改変キメラ抗原受容体 CAR-T 細胞療法の抗腫瘍活性を報告している⁸¹⁾。信州大学医学部附属病院小児科では、さらに効率的・安価・安全な CAR-T 細胞の製法と効果的な培養法を開発し⁸²⁾、非ウイルス遺伝子改変 HER2 CAR-T 細胞の医師主導治験を行っている。また原発性骨肉腫に対しても、Poor responder に対して TIL 療法と従来の化学療法の併用療法が無病生存期間と全生存期間を延長する可能性が報告されている⁸³⁾。

III 骨肉腫の新規治療開発の難しさ

骨肉腫は小児における原発性悪性骨腫瘍の中で最も頻度が高いが、年間発生率は100万人あたり2-3人程度であり希少がんと呼ばれている。さらに成人センターと小児センターの両施設で治療が分断され、管理方法も異なっているため、大規模な臨床試験へのリクルートが制限されてきた。製薬企業にとって魅力のない症例数と、希少疾患に対する臨床試験を立案する難しさは、大規模な国際共同試験の実施をさらに困難なものにしている⁸⁴⁾。

また網膜芽細胞腫の *Rb* 遺伝子や Li-Fraumeni 症候群の *p53* 遺伝子を含む染色体の異常が骨肉腫の発生に

つながることが知られているが、すべての骨肉腫に統一的原因遺伝子は特定されていない^{85)~87)}。骨を産生する悪性腫瘍というあいまいな疾患定義が骨肉腫に多種多様な病因と生物学的特性をもたらし、転移の有無以外の予後の特徴に基づいた亜分類ができないことが、評価すべき新規薬剤の選択を複雑にしている。

過去に実施された第Ⅲ相試験は無イベント生存や無病生存、全生存を腫瘍評価項目としていた。そのため臨床試験の評価に数年を要するため、治療開発に長期間かかることも新規薬剤開発の障害となっている。

さらに、異常な骨を産生する骨肉腫では化学療法が奏功した結果としても骨形成がみられることがあり、治療過程における骨形成において相反する事象が共存する。近年、分子標的剤や免疫チェックポイント阻害剤などの臨床研究に骨肉腫が組み込まれることが増えてきたが、腫瘍サイズを基にした Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) が主要評価項目として用いられることが多い⁸⁸⁾。しかし一度産生された骨組織は化学療法によって縮小しないため、RECIST は原発性骨肉腫における全生存の代替エンドポイントとしては不十分であり、肺結節などの再発病変に対しての有用性も検証されていない⁸⁹⁾。

IV 骨肉腫と骨形成阻害因子スクレロスチン

我々は Wnt 経路の阻害因子であるスクレロスチンに注目して、骨肉腫に対する新規治療薬の開発を目指した研究を行っている。

Wnt 経路は発生、成長、幹細胞の維持・分化、恒常性の維持など生体内の様々な現象を全身の組織で調節する。Wnt 経路には β カテニンを介する古典的 Wnt 経路と、それを介さない非古典的 Wnt 経路とが存在する (図1)。古典的 Wnt 経路は受容体 Frizzled と共受容体 Lrp5/6 の受容体複合体を介して細胞内にシグナルを伝え、 β カテニンを介して標的遺伝子の発現を調節し、多くの細胞の増殖・分化を促進する。またその異常な活性化は腫瘍細胞の発生・増殖を促進する。非古典的 Wnt 経路は細胞運動や極性決定に関与し、その異常な活性化は腫瘍の細胞運動、浸潤能、転移を促進する。これまでにスクレロスチンを除く多くの Wnt 阻害剤が臨床応用を目指して研究されているが、全身の組織に作用するためその副作用の大きさが問題となっている。

古典的 Wnt 経路に対する阻害因子であるスクレロ

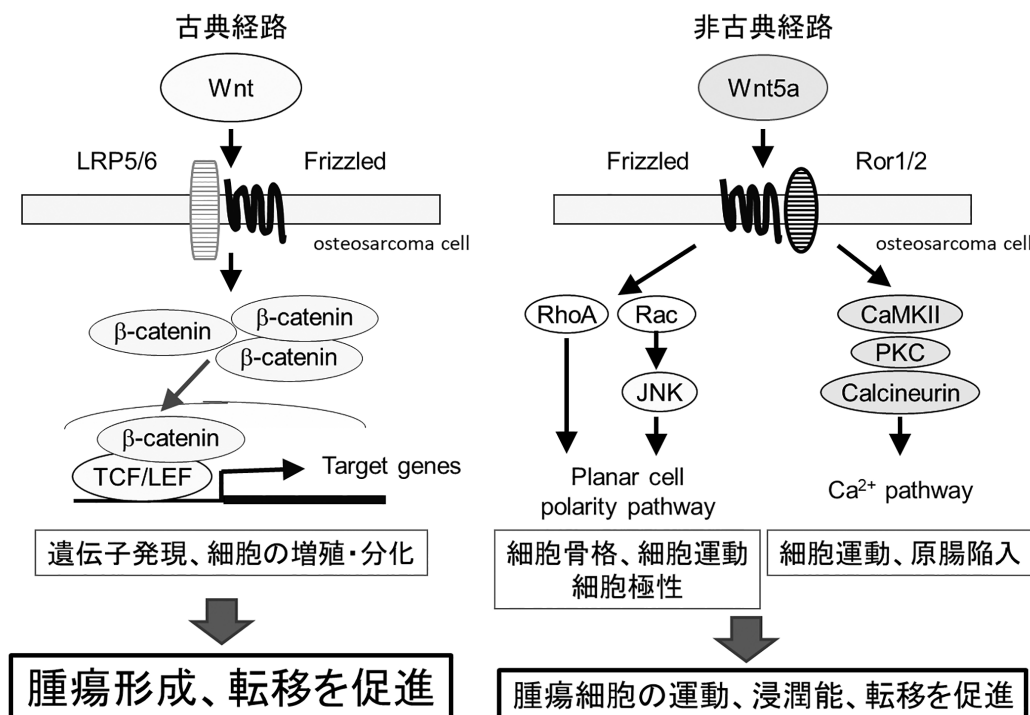


図1 Wnt 経路

Wnt 経路は古典経路と非古典経路に分類される。異常な活性化により古典経路は腫瘍形成，転移を促進し，非古典経路は腫瘍細胞の運動，浸潤能，転移を促進する。

スチンは，骨細胞から分泌されるタンパク質である。骨組織に特異性が高く，骨芽細胞の古典的 Wnt 経路を阻害することにより骨形成を抑制し骨粗鬆症の原因となる。これに対する抗スクレロスチン抗体は，骨形成促進剤としてすでに骨粗鬆症治療に臨床応用されている。しかし，骨形成促進剤は過量投与により悪性骨腫瘍（骨肉腫）形成の危険性が報告されており，抗スクレロスチン抗体も悪性骨腫瘍形成の危険性が危惧される。これらのことから抗スクレロスチン抗体と逆の作用を持つスクレロスチンは，悪性骨腫瘍に対して抑制的に作用し，腫瘍の増大や転移を抑制（図2）する作用を持つことが推測され，骨肉腫細胞株を用いた in vitro, in vivo での検証を行った。

解析の結果，スクレロスチンは，マウスおよびヒト骨肉腫細胞株の古典的 Wnt 経路を抑制し，さらに増殖能，遊走能を抑制することを明らかにした（図3）。さらにマウスおよびヒト骨肉腫モデルマウスに対しスクレロスチンを腹腔内投与すると，腫瘍の増大が抑制され，生存期間を延長する（図4）ことを明らかにし2021年に報告した⁹⁰⁾。この結果を基に2017年12月特許を出願し，2021年2月22日に特許第6841427号「スク

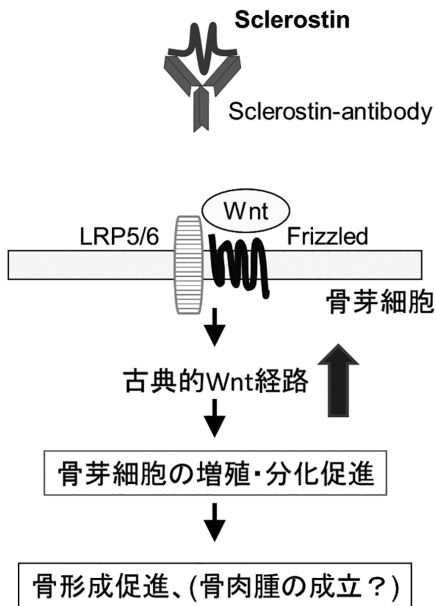
レロスチンを用いた悪性骨腫瘍の治療又は予防」が登録された。

スクレロスチンは骨形成を抑制するため，骨肉腫に対してこの研究で明らかになった抗腫瘍効果を発揮するとともに，化学療法が奏功した結果としての骨形成も抑制する可能性がある。そのため腫瘍サイズを基にした RECIST での効果判定が可能になるかもしれない。またスクレロスチンは骨組織特異性が高いことが知られており，骨量減少以外の全身的な副作用は報告されていない。そのため従来の細胞毒性性の化学療法剤や分子標的薬，免疫療法との併用が可能と推測している。臨床応用に向けてさらなる解析が望まれる。

V おわりに

2024年現在，骨肉腫に対する Key Drug はメトトレキサート，アドリアマイシン，シスプラチン，イホスファミドの4剤であり，原発性骨肉腫に対する標準治療は依然として MAP である。1980年代にこれらの多剤併用療法が開発されて飛躍的に上昇した骨肉腫の生存率は，約40年間治療成績の大幅な改善がみられない。さらなる治療成績の向上のためには，分子標的

抗スクレロスチン抗体の作用



スクレロスチンの作用(仮説)

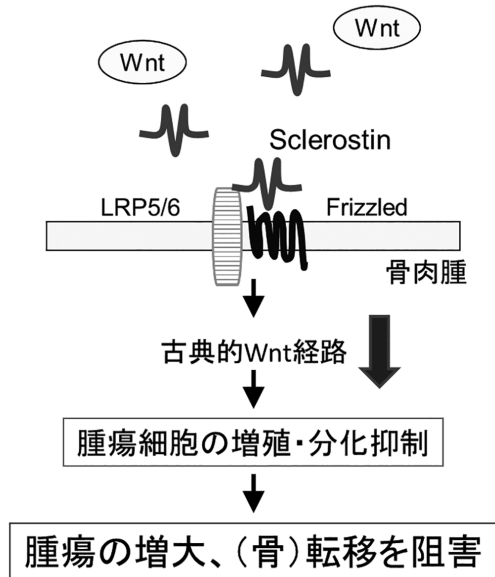


図2 抗スクレロスチンは骨形成を促進する

過剰な骨形成の促進は骨肉腫発生の危険性を伴う。そのため骨形成を抑制するスクレロスチンが骨肉腫の発生・増大・転移を抑制するという仮説を立てた。

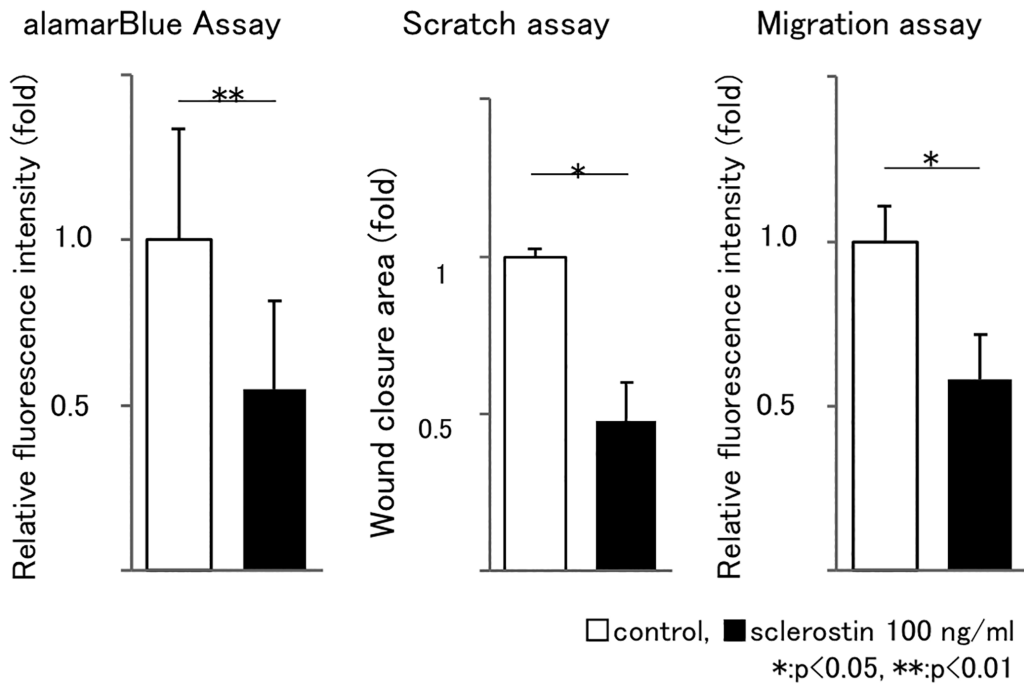


図3 スクレロスチンはヒト骨肉腫細胞株の増殖能と遊走能を抑制する

アラマーブルーアッセイ、スクラッチアッセイ、マイグレーションアッセイの結果。スクレロスチンはヒト骨肉腫細胞株の増殖能と遊走能を抑制した。

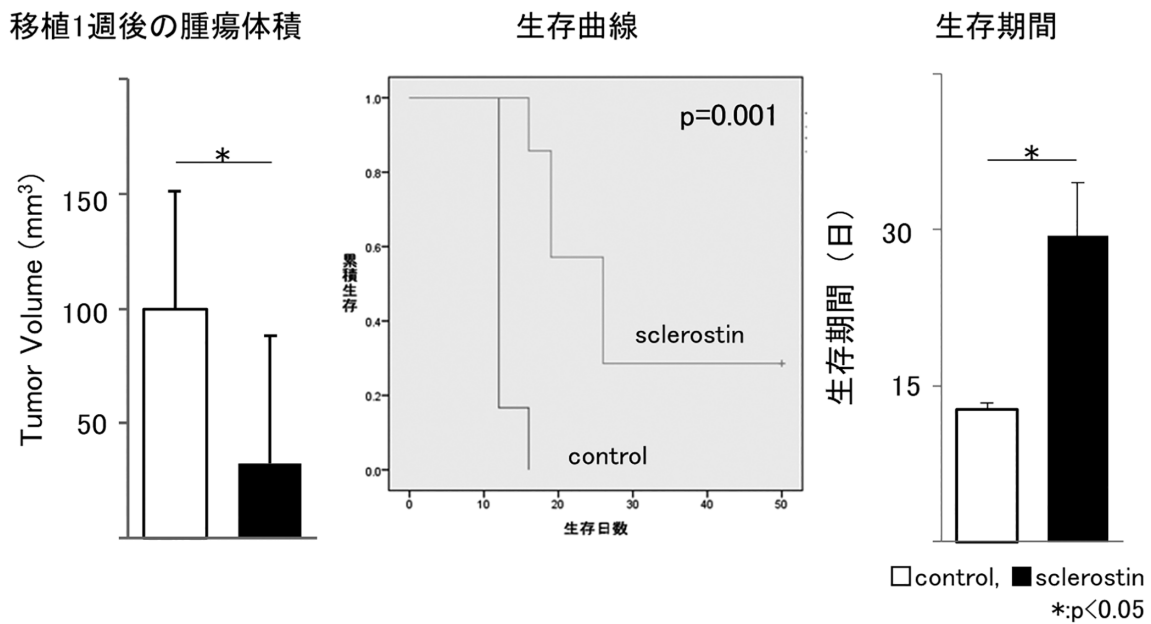


図4 スクレロスチンは骨肉腫モデルマウスの腫瘍体積の増大を抑制し、生存期間を延長する
骨肉腫モデルマウスに対するスクレロスチン腹腔内投与実験の結果。スクレロスチンは骨肉腫モデルマウスの腫瘍の増大を抑制し、生存期間を延長した。

薬や免疫療法など従来の細胞毒性化学療法剤とは異なる機序を持つ薬剤の新規開発が望まれている。

VI 謝 辞

本稿の執筆の機会を与えてくださった委員・関係者の皆様に深謝申し上げます。また日頃より研究を行う

にあたり様々なご支援とご配慮をいただいている信州大学バイオメディカル研究所齋藤直人教授、医学部運動機能学教室加藤博之名誉教授、高橋 淳教授および教室の先生方、実験助手椋野みどり様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Fletcher CDM, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer: WHO classification of tumours of soft tissue and bone. pp 468, IARC Press, Lyon, 2013
- 2) Odes EJ, Randolph-Quinney PS, Steyn M, et al: Earliest hominin cancer: 1.7-million-year-old osteosarcoma from Swartkrans Cave, South Africa. South African Journal of Science 112(7/8): 5, 2016
- 3) Haridy Y, Witzmann F, Asbach P, Schoch RR, Fröbisch N, Rothschild BM: Triassic Cancer-Osteosarcoma in a 240-Million-Year-Old Stem-Turtle. JAMA Oncol 5: 425-426, 2019
- 4) Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA: Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Cancer 115: 1531-1543, 2009
- 5) Ogura K, Higashi T, Kawai A: Statistics of bone sarcoma in Japan: Report from the Bone and Soft Tissue Tumor Registry in Japan. J Orthop Sci 22: 133-143, 2017
- 6) Valery PC, Laversanne M, Bray F: Bone cancer incidence by morphological subtype: a global assessment. Cancer Causes Control 26: 1127-1139, 2015
- 7) Gross SW: Sarcoma of the Long Bones; Based upon a Study of One Hundred and Sixty-five Cases. Am J Med Sci 78: 338-377, 1879
- 8) Coley WB: The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases: J.B. Lippincott; 1893

- 9) Coley WB: The Treatment of Inoperable Sarcoma by Bacterial Toxins (the Mixed Toxins of the Streptococcus erysipelas and the Bacillus prodigiosus). Proc R Soc Med 3 (Surg Sect): 1-48, 1910
- 10) Li MC, Hertz R, Spencer DB: Effect of Methotrexate Therapy upon Choriocarcinoma and Chorioadenoma. Proc Soc Exp Biol Med 93: 361-366, 1956
- 11) Marcove RC, Miké V, Hajek JV, Levin AG, Hutter RV: Osteogenic sarcoma under the age of twenty-one. A review of one hundred and forty-five operative cases. J Bone Joint Surg Am 52: 411-423, 1970
- 12) Wang JJ, Cortes E, Sinks LF, Holland JF: Therapeutic effect and toxicity of adriamycin in patients with neoplastic disease. Cancer 28: 837-843, 1971
- 13) Jaffe N: Recent advances in the chemotherapy of metastatic osteogenic sarcoma. Cancer 30: 1627-1631, 1972
- 14) Cortes EP, Holland JF, Wang JJ, et al: Amputation and adriamycin in primary osteosarcoma. N Engl J Med 291: 998-1000, 1974
- 15) Jaffe N, Frei E 3rd, Traggis D, Bishop Y: Adjuvant methotrexate and citrovorum-factor treatment of osteogenic sarcoma. N Engl J Med 291: 994-997, 1974
- 16) Rosen G, Suwansirikul S, Kwon C, et al: High-dose methotrexate with citrovorum factor rescue and adriamycin in childhood osteogenic sarcoma. Cancer 33: 1151-1163, 1974
- 17) Rosen G, Murphy ML, Huvos AG, Gutierrez M, Marcove RC: Chemotherapy, en bloc resection, and prosthetic bone replacement in the treatment of osteogenic sarcoma. Cancer 37: 1-11, 1976
- 18) Mosende C, Gutierrez M, Caparros B, Rosen G: Combination chemotherapy with bleomycin, cyclophosphamide and dactinomycin for the treatment of osteogenic sarcoma. Cancer 40: 2779-2786, 1977
- 19) Rosen G, Marcove RC, Caparros B, Nirenberg A, Kosloff C, Huvos AG: Primary osteogenic sarcoma: the rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. Cancer 43: 2163-2177, 1979
- 20) Huvos AG, Rosen G, Marcove RC: Primary osteogenic sarcoma: pathologic aspects in 20 patients after treatment with chemotherapy en bloc resection, and prosthetic bone replacement. Arch Pathol Lab Med 101: 14-18, 1977
- 21) Rosen G, Caparros B, Huvos AG, et al: Preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma: selection of postoperative adjuvant chemotherapy based on the response of the primary tumor to preoperative chemotherapy. Cancer 49: 1221-1230, 1982
- 22) Cortes EP, Holland JF, Glidewell O: Amputation and adriamycin in primary osteosarcoma: a 5-year report. Cancer Treat Rep 62: 271-277, 1978
- 23) Jaffe N, Frei E 3rd, Watts H, Traggis D: High-dose methotrexate in osteogenic sarcoma: a 5-year experience. Cancer Treat Rep 62: 259-264, 1978
- 24) Taylor WF, Ivins JC, Dahlin DC, Edmonson JH, Pritchard DJ: Trends and variability in survival from osteosarcoma. Mayo Clin Proc 53: 695-700, 1978
- 25) Taylor WF, Ivins JC, Pritchard DJ, Dahlin DC, Gilchrist GS, Edmonson JH: Trends and variability in survival among patients with osteosarcoma: a 7-year update. Mayo Clin Proc 60: 91-104, 1985
- 26) Link MP, Goorin AM, Miser AW, et al: The effect of adjuvant chemotherapy on relapse-free survival in patients with osteosarcoma of the extremity. N Engl J Med 314: 1600-1606, 1986
- 27) Eilber F, Giuliano A, Eckardt J, Patterson K, Moseley S, Goodnight J: Adjuvant chemotherapy for osteosarcoma: a randomized prospective trial. J Clin Oncol 5: 21-26, 1987
- 28) Delepine N, Delepine G, Jasmin C, Desbois JC, Cornille H, Mathé G: Importance of age and methotrexate dosage: prognosis in children and young adults with high-grade osteosarcomas. Biomed Pharmacother 42: 257-262, 1988
- 29) Delepine N, Delepine G, Cornille H, Brion F, Arnaud P, Desbois JC: Dose escalation with pharmacokinetics monitoring in methotrexate chemotherapy of osteosarcoma. Anticancer Res 15: 489-494, 1995
- 30) Chary KK, Higby DJ, Henderson ES, Swinerton KD: Phase I study of high-dose cis-dichlorodiammineplatinum(II) with forced diuresis. Cancer Treat Rep 61: 367-370, 1977

- 31) Kamalakar P, Freeman AI, Higby DJ, Wallace HJ Jr, Sinks LF: Clinical response and toxicity with cis-dichlorodiammineplatinum(II) in children. *Cancer Treat Rep* 61: 835-839, 1977
- 32) Ochs JJ, Freeman AI, Douglass HO Jr, Higby DS, Mindell ER, Sinks LF: cis-Dichlorodiammineplatinum (II) in advanced osteogenic sarcoma. *Cancer Treat Rep* 62: 239-245, 1978
- 33) Vietti TJ, Nitschke R, Starling KA, van Eys J: Evaluation of cis-dichlorodiammineplatinum(II) in children with advanced malignant diseases: Southwest Oncology Group Studies. *Cancer Treat Rep* 63: 1611-1614, 1979
- 34) Baum ES, Gaynon P, Greenberg L, Krivit W, Hammond D: Phase II study of cis-dichlorodiammineplatinum(II) in childhood osteosarcoma: Children's Cancer Study Group Report. *Cancer Treat Rep* 63: 1621-1627, 1979
- 35) Baum ES, Gaynon P, Greenberg L, Krivit W, Hammond D: Phase II trial cisplatin in refractory childhood cancer: Children's Cancer Study Group Report. *Cancer Treat Rep* 65: 815-822, 1981
- 36) Ettinger LJ, Douglass HO Jr, Higby DJ, et al: Adjuvant adriamycin and cis-diamminedichloroplatinum (cis-platinum) in primary osteosarcoma. *Cancer* 47: 248-254, 1981
- 37) Ettinger LJ, Douglass HO Jr, Mindell ER, Sinks LF, Tebbi CK, Risseuw D, et al: Adjuvant adriamycin and cisplatin in newly diagnosed, nonmetastatic osteosarcoma of the extremity. *J Clin Oncol* 4: 353-362, 1986
- 38) Pritchard JD, Mavligit GM, Benjamin RS, et al: Regression of regionally confined melanoma with intra-arterial cis-dichlorodiammineplatinum(II). *Cancer Treat Rep* 63: 555-558, 1979
- 39) Calvo DB 3rd, Patt YZ, Wallace S, et al: Phase I-II trial of percutaneous intra-arterial cis-diamminedichloro platinum (II) for regionally confined malignancy. *Cancer* 45: 1278-1283, 1980
- 40) Mavligit GM, Benjamin R, Patt YZ, et al: Intraarterial cis-platinum for patients with inoperable skeletal tumors. *Cancer* 48: 1-4, 1981
- 41) Chuang VP, Wallace S, Benjamin RS, et al: The therapy of osteosarcoma by intraarterial cis-platinum an limb preservation. *Cardiovasc Intervent Radiol* 4: 229-235, 1981
- 42) Stewart DJ, Benjamin RS, Zimmerman S, et al: Clinical pharmacology of intraarterial cis-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res* 43: 917-920, 1983
- 43) Jaffe N, Knapp J, Chuang VP, et al: Osteosarcoma: intra-arterial treatment of the primary tumor with cis-diammine-dichloroplatinum II (CDP). Angiographic, pathologic, and pharmacologic studies. *Cancer* 51: 402-407, 1983
- 44) Jaffe N, Robertson R, Ayala A, et al: Comparison of intra-arterial cis-diamminedichloroplatinum II with high-dose methotrexate and citrovorum factor rescue in the treatment of primary osteosarcoma. *J Clin Oncol* 3: 1101-1104, 1985
- 45) Ayala AG, Raymond AK, Jaffe N: The pathologist's role in the diagnosis and treatment of osteosarcoma in children. *Hum Pathol* 15: 258-266, 1984
- 46) Raymond AK, Chawla SP, Carrasco CH, et al: Osteosarcoma chemotherapy effect: a prognostic factor. *Seminars in diagnostic pathology* 4: 212-236, 1987
- 47) Benjamin RS, Chawla SP, Carrasco CH, et al: Preoperative chemotherapy for osteosarcoma with intravenous adriamycin and intra-arterial cis-platinum. *Ann Oncol* 3: S3-S6, 1992
- 48) Bacci G, Campanacci M, Picci P, Pagani P: Adjuvant multiple drug chemotherapy for osteosarcoma of the extremity: a 6 year report. *Tumori* 65: 587-600, 1979
- 49) Campanacci M, Bacci G, Bertoni F, Picci P, Minutillo A, Franceschi C: The treatment of osteosarcoma of the extremities: twenty year's experience at the Istituto Ortopedico Rizzoli. *Cancer* 48: 1569-1581, 1981
- 50) Bacci G, Picci P, Gherlinzoni F, et al: Neoadjuvant chemotherapy for high grade osteosarcoma of the extremities: is a good response to preoperative treatment an indication to reduce postoperative chemotherapy? *Chemioterapia* 5: 140-143, 1986
- 51) Marti C, Kroner T, Remagen W, Berchtold W, Cserhati M, Varini M: High-dose ifosfamide in advanced osteosarcoma. *Cancer Treat Rep* 69: 115-117, 1985
- 52) Pratt CB, Horowitz ME, Meyer WH, et al: Phase II trial of ifosfamide in children with malignant solid tumors. *Cancer Treat Rep* 71: 131-135, 1987

- 53) Benjamin RS, Legha SS, Patel SR, Nicaise C : Single-agent ifosfamide studies in sarcomas of soft tissue and bone : the M.D. Anderson experience. *Cancer Chemother Pharmacol* 31 Suppl 2 : S174-179, 1993
- 54) Patel SR, Vadhan-Raj S, Papadopolous N, et al : High-dose ifosfamide in bone and soft tissue sarcomas : results of phase II and pilot studies--dose-response and schedule dependence. *J Clin Oncol* 15 : 2378-2384, 1997
- 55) Winkler K, Bielack S, Delling G, et al : Effect of intraarterial versus intravenous cisplatin in addition to systemic doxorubicin, high-dose methotrexate, and ifosfamide on histologic tumor response in osteosarcoma (study COSS-86). *Cancer* 66 : 1703-1710, 1990
- 56) Bacci G, Ruggieri P, Picci P, et al : Intra-arterial versus intravenous cisplatin (in addition to systemic Adriamycin and high dose methotrexate) in the neoadjuvant treatment of osteosarcoma of the extremities. results of a randomized study. *J Chemother* 8 : 70-81, 1996
- 57) Bacci G, Picci P, Ferrari S, et al : Primary chemotherapy and delayed surgery for nonmetastatic osteosarcoma of the extremities. Results in 164 patients preoperatively treated with high doses of methotrexate followed by cisplatin and doxorubicin. *Cancer* 72 : 3227-3238, 1993
- 58) Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, et al : Long-term outcome for patients with nonmetastatic osteosarcoma of the extremity treated at the istituto ortopedico rizzoli according to the istituto ortopedico rizzoli/osteosarcoma-2 protocol : an updated report. *J Clin Oncol* 18 : 4016-4027, 2000
- 59) Iwamoto Y, Tanaka K, Isu K, et al : Multiinstitutional phase II study of neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma (NECO study) in Japan : NECO-93J and NECO-95J. *J Orthop Sci* 14 : 397-404, 2009
- 60) Bacci G, Briccoli A, Ferrari S, et al : Neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremity : long-term results of the Rizzoli's 4th protocol. *Eur J Cancer* 37 : 2030-2039, 2001
- 61) Ferrari S, Smeland S, Mercuri M, et al : Neoadjuvant chemotherapy with high-dose Ifosfamide, high-dose methotrexate, cisplatin, and doxorubicin for patients with localized osteosarcoma of the extremity : a joint study by the Italian and Scandinavian Sarcoma Groups. *J Clin Oncol* 23 : 8845-8852, 2005
- 62) Meyers PA, Schwartz CL, Krailo M, et al : Osteosarcoma : a randomized, prospective trial of the addition of ifosfamide and/or muramyl tripeptide to cisplatin, doxorubicin, and high-dose methotrexate. *J Clin Oncol* 23 : 2004-2011, 2005
- 63) Meyers PA, Schwartz CL, Krailo MD, et al : Osteosarcoma : The addition of muramyl tripeptide to chemotherapy improves overall survival - A report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 26 : 633-638, 2008
- 64) Imran H, Enders F, Krailo M, et al : Effect of time to resumption of chemotherapy after definitive surgery on prognosis for non-metastatic osteosarcoma. *J Bone Joint Surg Am* 91 : 604-612, 2009
- 65) Lewis IJ, Nooij MA, Whelan J, et al : Improvement in histologic response but not survival in osteosarcoma patients treated with intensified chemotherapy : a randomized phase III trial of the European Osteosarcoma Intergroup. *J Natl Cancer Inst* 99 : 112-128, 2007
- 66) Whelan JS, Bielack SS, Marina N, et al : EURAMOS-1, an international randomised study for osteosarcoma : results from pre-randomisation treatment. *Ann Oncol* 26 : 407-414, 2015
- 67) Bielack SS, Smeland S, Whelan JS, et al : Methotrexate, Doxorubicin, and Cisplatin (MAP) Plus Maintenance Pegylated Interferon Alfa-2b Versus MAP Alone in Patients With Resectable High-Grade Osteosarcoma and Good Histologic Response to Preoperative MAP : First Results of the EURAMOS-1 Good Response Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol* 33 : 2279-2287, 2015
- 68) Marina NM, Smeland S, Bielack SS, et al : Comparison of MAPIE versus MAP in patients with a poor response to preoperative chemotherapy for newly diagnosed high-grade osteosarcoma (EURAMOS-1) : an open-label, international, randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 17 : 1396-1408, 2016
- 69) Grignani G, Palmerini E, Dileo P, et al : A phase II trial of sorafenib in relapsed and unresectable high-grade osteosarcoma after failure of standard multimodal therapy : an Italian Sarcoma Group study. *Ann Oncol* 23 : 508-516, 2012
- 70) Mross K, Frost A, Steinbild S, et al : A phase I dose-escalation study of regorafenib (BAY 73-4506), an inhibitor of oncogenic, angiogenic, and stromal kinases, in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 18 : 2658-2667, 2012

- 71) Longhi A, Paioli A, Palmerini E, et al: Pazopanib in relapsed osteosarcoma patients: report on 15 cases. *Acta Oncol* 58: 124-128, 2019
- 72) Xie L, Xu J, Sun X, et al: Apatinib for Advanced Osteosarcoma after Failure of Standard Multimodal Therapy: An Open Label Phase II Clinical Trial. *Oncologist* 24: e542-e550, 2019
- 73) Gaspar N, Casanova M, Sirvent FJB, et al: Single-agent expansion cohort of lenvatinib (LEN) and combination dose-finding cohort of LEN + etoposide (ETP) + ifosfamide (IFM) in patients (pts) aged 2 to ≤ 25 years with relapsed/refractory osteosarcoma (OS). *J Clin Oncol* 36(15_suppl): 11527, 2018
- 74) Davis LE, Bolejack V, Ryan CW, et al: Randomized Double-Blind Phase II Study of Regorafenib in Patients With Metastatic Osteosarcoma. *J Clin Oncol* 37: 1424-1431, 2019
- 75) Duffaud F, Mir O, Boudou-Rouquette P, et al: Efficacy and safety of regorafenib in adult patients with metastatic osteosarcoma: a non-comparative, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol* 20: 120-133, 2019
- 76) Italiano A, Mir O, Mathoulin-Pelissier S, et al: Cabozantinib in patients with advanced Ewing sarcoma or osteosarcoma (CABONE): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncology* 21: 446-455, 2020
- 77) Tawbi HA, Burgess M, Bolejack V, et al: Pembrolizumab in advanced soft-tissue sarcoma and bone sarcoma (SARC028): a multicentre, two-cohort, single-arm, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncology* 18: 1493-1501, 2017
- 78) Le Cesne A, Mares-Berard P, Blay JY, et al: Programmed cell death 1 (PD-1) targeting in patients with advanced osteosarcomas: results from the PEMBROSARC study. *Eur J Cancer* 119: 151-157, 2019
- 79) Zhou X, Wu J, Duan C, Liu Y: Retrospective Analysis of Adoptive TIL Therapy plus Anti-PD1 Therapy in Patients with Chemotherapy-Resistant Metastatic Osteosarcoma. *J Immunol Res* 2020: 7890985, 2020
- 80) Wang C, Li M, Wei R, Wu J: Adoptive transfer of TILs plus anti-PD1 therapy: An alternative combination therapy for treating metastatic osteosarcoma. *J Bone Oncol* 25: 100332, 2020
- 81) Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) -Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. *J Clin Oncol* 33: 1688, 2015
- 82) Nakamura K, Yagyu S, Hirota S, et al: Autologous antigen-presenting cells efficiently expand piggyBac transposon CAR-T cells with predominant memory phenotype. *Mol Ther Methods Clin Dev* 21: 315-324, 2021
- 83) Shi J, Li M, Yang R: Tumor-infiltrating lymphocytes as a feasible adjuvant immunotherapy for osteosarcoma with a poor response to neoadjuvant chemotherapy. *Immunotherapy* 12: 641-652, 2020
- 84) Omer N, Le Deley MC, Piperno-Neumann S, et al: Phase-II trials in osteosarcoma recurrences: A systematic review of past experience. *Eur J Cancer* 75: 98-108, 2017
- 85) Wadayama B, Toguchida J, Shimizu T, et al: Mutation spectrum of the retinoblastoma gene in osteosarcomas. *Cancer Res* 54: 3042-3048, 1994
- 86) Cinti C, Claudio PP, Howard CM, et al: Genetic alterations disrupting the nuclear localization of the retinoblastoma-related gene RB2/p130 in human tumor cell lines and primary tumors. *Cancer Res* 60: 383-389, 2000
- 87) Entz-Werle N, Schneider A, Kalifa C, et al: Genetic alterations in primary osteosarcoma from 54 children and adolescents by targeted allelotyping. *Br J Cancer* 88: 1925-1931, 2003
- 88) Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al: New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 45: 228-247, 2009
- 89) Guenther LM, Rowe RG, Acharya PT, et al: Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) following neoadjuvant chemotherapy in osteosarcoma. *Pediatr Blood Cancer* 65: e26896, 2018
- 90) Ideta H, Yoshida K, Okamoto M, et al. Antitumor Effect of Sclerostin against Osteosarcoma. *Cancers (Basel)* 13: 6015, 2021

(R 6. 4. 1 受稿)