

<特集「がん研究・診療を巡る最新トピックス」>

日米欧における横紋筋肉腫のトランスレーショナルリサーチ ～小児がん治療医の視点から

宮地 充, 細井 創*

京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学

Translational Research of Rhabdomyosarcoma in Japan, Europe and the United States: From Perspective of Pediatric Oncologist

Mitsuru Miyachi and Hajime Hosoi

Department of pediatrics, Graduate school of medical science,

Kyoto prefectural university of medicine

抄 録

横紋筋肉腫は発症数の少ない希少疾患であり、その治療成績の向上のためには、多施設共同臨床試験の実施が不可欠である。これらの臨床試験を通して収集された臨床検体と臨床情報を用いたトランスレーショナルリサーチから、多くの臨床に還元しうる知見が得られている。欧米の臨床試験では、過去の臨床試験における分子生物学的検討の結果、*PAX3-FOXO1*融合遺伝子の有無が現在実施中の臨床試験のリスク分類に導入されている。本邦では、JCCG横紋筋肉腫委員会が現在実施しているJRS-II臨床試験において、探索的評価項目として血清中のmicroRNAの定量を行い、リスク層別化に用いることができるか検証を予定している。また、予後の改善のためには、新規薬剤の開発が必要であるが、イリノテカン、ビノレルビン、mTOR阻害剤が、基礎研究の結果から横紋筋肉腫の新規薬剤として検討され、臨床試験により有効性が示されている。本邦では、高リスク群の治療終了後寛解例を対象にWT1ペプチドワクチンの治験が実施されている。本稿では、小児がん治療医の視点から横紋筋肉腫における基礎研究と臨床試験の接点について詳述する。

キーワード：横紋筋肉腫，小児がん，臨床試験，トランスレーショナルリサーチ，microRNA.

Abstract

Rhabdomyosarcoma is a rare cancer and multi-institutional clinical trials are required to improve prognosis. Clinical information and samples from these trials enable researchers to conduct translational researches which are useful to improve prognosis. Novel risk stratification which incorporates *PAX3-FOXO1* fusion gene is introduced in clinical trials of Children's Oncology Group (COG) and European pediatric Soft Tissue

平成31年1月2日受付 平成31年2月7日受理

*連絡先 細井 創 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上路梶井町465番地

hhosoi@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.128.02.115

Sarcoma Group (EpSSG) after molecular analyses of samples from past clinical trials of these groups. In JRS-II clinical trials of Japan Childhood Cancer Group rhabdomyosarcoma committee, circulating microRNA quantification is underway as exploratory endpoint and the feasibility of incorporating circulating microRNA into risk classification will be assessed. Novel therapeutics is required to improve prognosis. Irinotecan, vinorelbine and mTOR inhibitor are novel agents which are developed through clinical trials of COG and EpSSG. In Japan, clinical trials of WT1 peptide vaccine is ongoing for high risk rhabdomyosarcoma patients in complete remission after standard therapy. Translational researches on rhabdomyosarcoma will be reviewed from a viewpoint of pediatric oncologist in this manuscript.

Key Words: Rhabdomyosarcoma, Childhood cancer, Clinical trial, Translational research, microRNA.

はじめに

横紋筋肉腫は、将来骨格筋を形成する筋芽細胞、あるいは、悪性転化後に骨格筋分化能を発現した間葉系幹細胞に由来する、骨格筋の形質を有する悪性腫瘍である。小児で最も多い悪性軟部腫瘍であるが、本邦での発症は、成人も含めて年間100例程度と予想され、希少がんである。低リスク群や中間リスク群においては、予後は改善しているが、より長期合併症の少ない治療を目指す必要があり、これを目標とした多施設共同臨床試験が実施されている。一方で、高リスク群においては、依然として予後不良であり、新規薬剤の導入による予後の改善が目標となっている。予後の改善や長期合併症の低減を目指して、横紋筋肉腫に関する基礎研究や、臨床検体を用いたトランスレーショナルリサーチが日本においても数多くなされている^{1,9)}。

本稿では、日本のJRS-G (Japan Rhabdomyosarcoma Study Group) とその後身であるJCCG (Japan Children's Cancer Group) 横紋筋肉腫委員会、米国のCOG-STC (Children's Oncology Group Soft Tissue Sarcoma committee)、欧州のEpSSG (European pediatric Soft tissue sarcoma Study Group) の臨床試験の結果から導出されてきた結果により、リスク分類、新薬開発がどのように変遷し、今後、どのような方向性で進んでいくかについて詳述する。

横紋筋肉腫のリスク分類

1. 横紋筋肉腫のリスク分類

横紋筋肉腫においては、腫瘍の原発部位、治療前ステージ分類、手術後グループ分類、組織型によりリスク分類を決定し層別化治療を行う¹⁰⁾。表1に、日本で現在実施されているJRS-II臨床試験のリスク分類を示す¹¹⁾。低リスクA, 低リスクB, 中間リスク, 高リスクの4つのリスク群に分類され、層別化治療研究が実施されている。組織亜型では、胎児型と比較して胞巣型が予後不良であり、リスク分類としてはより高いリスク群に分類されている。

横紋筋肉腫において、*PAX3/7-FOXO1*融合遺伝子の発現は強力な予後因子であることが報告されているものの、リスク分類には採用されてこなかった。しかし、新規に実施されている欧米の臨床試験では、ついに組織型に代わって、融合遺伝子の有無がリスク分類に導入された。導入を決定された根拠となった基礎検討について次に示す。

2. 融合遺伝子のリスク分類への導入

COG-STCで実施されたIRS-IV臨床試験において収集された胞巣型横紋筋肉腫78検体において、*PAX3-FOXO1*融合遺伝子と*PAX7-FOXO1*融合遺伝子の有無による予後の違いが検討された¹²⁾。*PAX3-FOXO1*融合遺伝子は55%、*PAX7-FOXO1*融合遺伝子は22%の症例において陽性であった。限局例においては、*PAX3-FOXO1*融合遺伝子陽性例と*PAX7-FOXO1*融合遺伝子陽性例で予後に違いは認められなかったが、遠隔転移例に

表1 JRS-II臨床試験のリスク分類

胎児型	I	II			III				IV
		a	b	c	眼窩		眼窩以外		
		NO NX	N1	N1	NO NX	N1	NO NX	N1	
1(予後良好部位)	Low A				Low B				
2(不良部位)					Intermediate				
3(不良部位)	Low B								
4(遠隔転移)									High

胞巣型	I	II			III				IV
		a	b	c	眼窩		眼窩以外		
		NO NX	N1	N1	NO NX	N1	NO NX	N1	
1(予後良好部位)	Intermediate								
2(不良部位)					High				
3(不良部位)									
4(遠隔転移)									High

日本の横紋筋肉腫のリスク分類は、組織亜型（胎児型、胞巣型）、術前Stage分類、術後Group分類、原発部位、領域リンパ節転移の有無の情報から決定される。

においては、4年の全生存率がPAX7-FOXO1陽性例で75%である一方で、PAX3-FOXO1陽性例ではわずかに8%であった。多変量解析では、PAX3-FOXO1陽性例では、PAX7-FOXO1陽性例と比較して、有意に再発、死亡のリスクが高いことが示された。また、遠隔転移例において、PAX3-FOXO1陽性例では有意に骨髄転移の割合が多かった。本検討以降、予後因子としてのPAX3/7-FOXO1融合遺伝子の検討が本格的に実施されるようになった。

欧州のEpSSGからの報告では、臨床情報が明らかである210例の融合遺伝子の有無を解析し、予後を比較した¹³⁾。94例が融合遺伝子陽性胞巣型横紋筋肉腫、39例が融合遺伝子陰性胞巣型横紋筋肉腫、77例が胎児型横紋筋肉腫であった。これらの症例の融合遺伝子の有無、Stage分類、組織型について、予後に関する多変量解析を

行ったところ、融合遺伝子とStageは互いに独立した予後因子として同定されたが、胎児型と胞巣型の二大組織亜型は有意な予後因子とはならなかったことが明らかとなった。また、融合遺伝子陰性胞巣型と胎児型症例を比較した際に、その臨床情報は類似していることも明らかとなった。

さらに101例の遺伝子発現プロファイルを検討したところ、そのプロファイルは二群に分かれることが示された。その内訳を確認したところ、組織型ではなく、融合遺伝子の有無により分かれていることが明らかとなった。つまり、一つのグループには42例の融合遺伝子陽性例と1例の胎児型症例が含まれ、もう一つのグループには、55例の融合遺伝子陰性例、2例のPAX3-FOXO1陽性例、1例のPAX3-NCOA1陽性例が含まれており、分子生物学的に融合遺伝子陽性胞

巢型症例と、融合遺伝子陰性胞巢型症例・胎児型症例は異なっていることが明らかとなった。つまり、融合遺伝子陰性胞巢型症例と胎児型症例は、分子生物学的にも臨床的にも類似していることが示されたこととなり、リスク分類において、胎児型と胞巢型の組織型ではなく、融合遺伝子の有無により分類される可能性を示唆する最初の論文となった。

これらのEpSSGの結果に対して、米国COG-STSTSは、①二十年にもわたる長期間の複数の臨床試験のheterogeneousな臨床情報、臨床検体を用いた解析であること（いわゆるconvenient cohortであること¹⁴⁾）、②EpSSGの検討では、融合遺伝子陽性群において遠隔転移例が通常より多かったことが理由で、融合遺伝子陽性群が予後不良であった可能性があること、③EpSSGの検討における融合遺伝子陰性胞巢型症例の割合がCOGのコホートより多く、融合遺伝子陰性胞巢型であるとされている症例が、組織重型の診断の間違いにより実際には胎児型症例である可能性があることより、さらなる解析が必要であると¹⁵⁾。

そこで、米国COG-STSTSで独自にIRS-Vの中間リスク群の臨床試験であるD9803研究に登録された434例の検体、臨床情報を後方視的に解析した¹⁶⁾。5年の無イベント生存率は、*PAX3-FOXO1*陽性胞巢型症例で57%、*PAX7-FOXO1*陽性胞巢型症例で65%、胎児型症例で77%、融合遺伝子陰性胞巢型症例で90%であり、融合遺伝子陽性胞巢型症例と比して、有意に胎児型症例の予後が良好であった。また、5年の全生存率は、*PAX3-FOXO1*陽性胞巢型症例で64%、*PAX7-FOXO1*陽性胞巢型症例で87%、胎児型症例で82%、融合遺伝子陰性胞巢型症例で89%であり、*PAX3-FOXO1*陽性胞巢型症例では、他の症例と比較して有意に予後不良であった。これらより、融合遺伝子陰性胞巢型症例は、胎児型症例と同等の予後であり、融合遺伝子陽性胞巢型症例と比較して、予後は良好であると結論付けており、COG-STSTSとしても融合遺伝子をリスク分類に導入することの妥当性を確認した。

同様の結果はJRSGの初代臨床試験であるJRS-

I臨床試験からも得られており、*PAX3/7-FOXO1*融合遺伝子陰性胞巢型症例の予後は胎児型横紋筋肉腫症例の予後と同等であった（未発表データ）。

融合遺伝子陰性胞巢型横紋筋肉腫に対して胞巢型として治療を実施した場合、治療成績が良好であることが示されたが、融合遺伝子陰性胞巢型症例が胎児型として強度の弱い治療を実施された場合の治療成績の低下の危険性は否定できない。このため、日本のJCCG横紋筋肉腫委員会としては、リスク分類に融合遺伝子を用いることについて、慎重な姿勢を示し、現在実施されているJRS-II臨床試験のリスク分類には採用していない。一方で、米国COG、欧州EpSSGはstudy questionとして、融合遺伝子を導入したリスク分類により予後の変化を認めないか、具体的には融合遺伝子陰性胞巢型症例を胎児型症例と同様に治療することで予後の低下を認めないかを検討する臨床試験として現在実施中である。融合遺伝子を実際にリスク分類に導入しうるかについては、これらの臨床試験の結果が待たれる。

3. 融合遺伝子のsurrogate markerの開発

上述の通り、融合遺伝子は強力な予後因子であることが明らかとなったが、PCR法やFISH法での検討が不可能である場合に、あるいはPCR法やFISH法より簡便な方法で、免疫組織染色により融合遺伝子陽性症例を見出すための検討もなされている。COG-STSTSにおいては、融合遺伝子陽性例と融合遺伝子陰性例の遺伝子発現プロファイルを比較し、融合遺伝子陽性例において*AP2beta*遺伝子が、融合遺伝子陰性例において*HMGA2*遺伝子が高発現していることを明らかにした¹⁷⁾。さらに、これらの遺伝子がタンパクレベルで発現しているか、免疫染色にて検討したところ、*AP2beta*は、融合遺伝子陽性胞巢型22症例中19症例で陽性、胎児型、融合遺伝子陰性胞巢型38症例中1症例で陽性、*HMGA2*は、融合遺伝子陽性胞巢型22症例中3症例で陽性、胎児型、融合遺伝子陰性胞巢型38症例中30症例で陽性となり、分子生物学的解析が示唆した通りの結果となった。COG-STSTSはこの結果をもと

に、組織アレイを用いて、融合遺伝子陽性例と陰性例を鑑別するための免疫染色パネルの開発を行った¹⁸⁾。その結果、myogenin, AP2beta, NOS-1, HMGA2の四つの免疫組織抗原が見いだされた。現在、日本でもHMGA2, NOS-1, myogeninの三つの抗原を用いて、融合遺伝子の有無に関する検討が免疫組織染色にて行う体制が整備されている。

4. microRNAを用いたリスク分類の開発

日本では、現在JCCG横紋筋肉腫委員会が主導して実施しているJRS-II臨床試験では、血清中のmicroRNAを定量し(図1)、予後との相関を解析して、将来的にリスク分類に用いることが可能かの検討を行っている。これは、横紋筋肉腫細胞株において筋特異的microRNAが他の小児がん細胞株に比べて高発現しており、さらに細胞培養液中に筋特異的microRNAである*miR-206*が多量に遊離しているという基礎検討が根拠となっている⁷⁾。この基礎検討を基に、横紋筋肉腫の患者血中での*miR-206*を定量したところ、健常人や他の小児がん患者の血中にはほとんど*miR-206*が検出されないのに対して、横紋筋肉腫の患者血中には有意に*miR-206*が多く

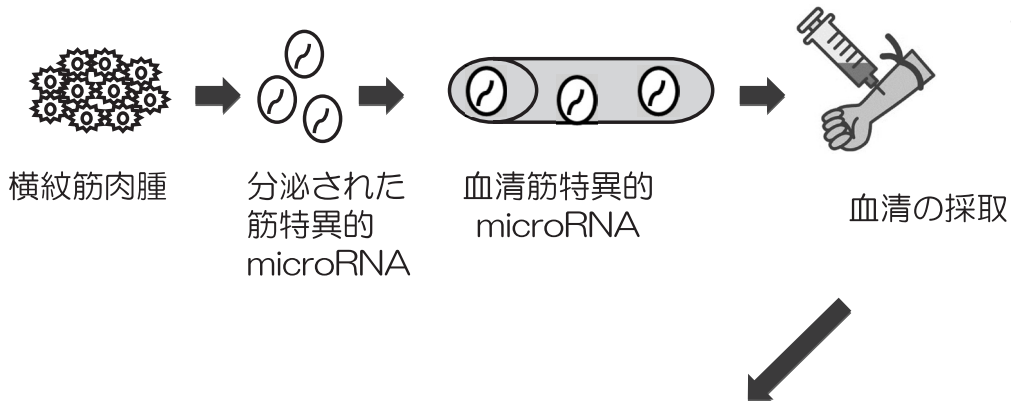
検出された⁷⁾。後方視的解析による予備検討では、領域リンパ節転移例や遠隔転移例に血清中の*miR-206*の発現が高い傾向があり、また、血清中の*miR-206*高発現は不良な予後と相関する結果が出ている。今後、JRS-II臨床試験での前方視的解析により、予後との相関が明らかとなることで、リスク分類への導入が期待される。

横紋筋肉腫の新薬開発

高リスク群の横紋筋肉腫の予後は不良であり、新薬開発が必要とされる領域である。横紋筋肉腫における新薬開発の歴史について振り返り、日米欧の現在の新薬開発の臨床試験の動向や今後の新薬開発についても述べたい。

1. イリノテカン

横紋筋肉腫に対するイリノテカン投与の基礎研究は1993年にさかのぼり、横紋筋肉腫のマウス異種移植モデルでの検討で、週5日間投与を二週間行い、一週間休薬するスケジュールで、腫瘍が完全に消失する効果が示された¹⁹⁾。興味深いことに同じ25mgの投与量であるが、A.5mg/kg/日×5日間×1週間の後に2週間休薬、B.2.5mg/kg/日×5日間×2週間の後に1週



筋特異的microRNAの定量

図1 横紋筋肉腫における血清中の筋特異的microRNA定量
横紋筋肉腫の患者血中には、横紋筋肉腫より分泌された筋特異的microRNAが流入しており、これを定量することが可能である。

間休業の二つのスケジュールを比較した際に神経芽腫のマウス異種移植モデルでB.の投与方法の方が、抗腫瘍効果が優れていた²⁰⁾。この結果を根拠に、再発小児固形腫瘍を対象にした第I相試験では、20mg/m²/日×5日間×2週間の後に1週間休業するスケジュールで、29mg/m²/日まで投与量を増量するデザインが採用された²⁰⁾。

第I相試験で小児での安全性が確認された後、転移性横紋筋肉腫初発例（10歳未満の胎児型横紋筋肉腫症例を除く）を対象に、20mg/m²/日×5日間×2週間の後に1週間休業するスケジュールで2サイクル実施し、その治療反応性を検証する第II相試験が行われた²¹⁾。奏効率は42%であったが、病勢の進行を認めた症例が32%であったため、プロトコルの改訂が行われ、ビンクリスチンを同時に投与するスケジュールへと変更された。この改訂により、奏効率は70%まで改善し、病勢の進行を認めた症例は8%のみであった。イリノテカン単剤ではなく、ビンクリスチンとイリノテカン併用療法が初発例に対しても有効であることを示した。

さらに、再発横紋筋肉腫を対象に、ビンクリスチンとイリノテカンを併用し、レジメン1A（20mg/m²/日×5日間×2週間の後に1週間休業するスケジュール）とレジメン1B（50mg/m²/日×5日間×1週間の後に2週間休業するスケジュール）を2サイクル実施するランダム化比較試験が行われた²²⁾。奏効率ではレジメン1Aが26%、レジメン1Bが37%であり、5日間×2週間の後に1週間休業するスケジュールが優れているというマウスモデルから予想された結果とは異なる結果であった。レジメン1Bのスケジュールがより簡便であり、本試験の結果を基に米国COG-STSでは標準的な投与方法となっている。

これらの臨床試験の結果を基に、横紋筋肉腫の初発例、再発例へのイリノテカンの有効性が確立したものとなった。イリノテカンを初発例に導入することによりアルキル化剤の使用量を減量でき、妊孕性の温存につながることも期待されており、日米欧の初発例の臨床試験において、イリノテカンは欠かせない薬剤となっている。

これらの臨床試験結果を基に、横紋筋肉腫における初発例の標準治療薬としての位置づけを獲得することが予想される。当初の動物実験の成果発表から臨床での位置づけが確立されるまでにはおよそ20年を要しており、希少疾患での新薬開発には長い年月を要することが分かる。

2. ビノレルビン

欧州では、横紋筋肉腫に対するビノレルビンの開発が行われた。横紋筋肉腫においては、同じピンカアルカロイド系薬剤であるビンクリスチンの初発標準治療での位置づけが確立しており、ほぼ全例に使用される薬剤である。ビノレルビンも同様にピンカアルカロイド系薬剤であるが、ビンクリスチンが使用された後の再発の横紋筋肉腫12例中、6例において有効性が示された²³⁾。この結果を基に、EpSSGとしての最初の横紋筋肉腫の臨床試験であるRMS2005のパイロットスタディとして、ビノレルビンと経口シクロホスファミドの維持療法の用量設定が行われた²⁴⁾。この試験において、ビノレルビンの投与量が25mg/m²/日、day 1, 8, 15、シクロホスファミドの経口投与量が25mg/m²/日×28日間に設定された。RMS2005試験では、日本で中間リスク群に相当するEpSSG高リスク群に対して、VAI療法（ビンクリスチン、アクチノマイシンD、イホスファミド）とVAID療法（ビンクリスチン、アクチノマイシンD、イホスファミド、ドキソルピシン）のランダム化の後に、上記のビノレルビン、経口シクロホスファミドの維持療法の意義をランダム化比較試験で検証する試験を行った²⁵⁾。結果として、EpSSG高リスク群に対するドキソルピシンの追加による治療成績の改善は認めなかった。一方で、ビノレルビン、経口シクロホスファミドの維持療法を実施した群において、3年全生存率が87.3%と維持療法を実施しなかった群の77.4%を上回る結果となり、EpSSG高リスク群においてVAI療法による完全寛解後の症例にビノレルビン、経口シクロホスファミドの維持療法を加えることで治療成績が改善することが示された。本試験は2005年に開始されたにもかかわらず、結果の公表は2018年と長期の時間を要した。希少疾患に

において、ランダム化比較試験を実施することの難しさとともに、その困難を克服して得られた結果には重要な意義があることを示唆した。

3. mTOR 阻害剤

mTOR 阻害剤は、現在の米国の中間リスク群臨床試験 ARST1431 で VAC/VI 療法との併用での有効性が検証されている薬剤である。mTOR 阻害剤に関する基礎研究はがん領域で多くなされている²⁶⁻³²⁾。横紋筋肉腫に対する有効性が基礎研究で証明されたのは 1999 年にさかのぼり、mTOR 阻害剤であるラパマイシンが G1 周期停止とアポトーシスを横紋筋肉腫細胞株に引き起こすことが報告されている³³⁾。その後、Pediatric Preclinical Testing Program (PPTP) において、ラパマイシンが横紋筋肉腫のマウスモデルにおいて有効であることが示された³⁴⁾。これらの基礎研究を根拠として、COG の ARST0921 試験³⁵⁾では、欧州で有効性が示されたビノレルビンとシクロホスファミドの再発レジメンに、ベバシズマブ、または、mTOR 阻害剤であるテムシロリムスを追加するランダム比較試験が行われた³⁵⁾。6 か月の無増悪生存率が、それぞれベバシズマブ群で 50%、テムシロリムス群で 65% であり、テムシロリムス群で良好であったため、現在、COG-STS での中間リスク試験で VAC/VI 療法の骨格への追加による横紋筋肉腫への治療効果の検証が実施されている。

4. WT1 ペプチドワクチン

日本では、現在、高リスク群の横紋筋肉腫の治療後寛解症例を対象に WT1 ペプチドワクチンの治療を実施している。ウィルス腫瘍遺伝子 WT1 は種々の悪性腫瘍で高発現しており³⁶⁾、横紋筋肉腫の WT1 の発現率については、43-100% と報告されている³⁶⁻³⁸⁾。WT1 免疫療法の基礎研究については、マウス異種移植モデルにおいて、WT1 ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞が誘導され、さらに免疫後に移植された WT1 発現癌細胞は拒絶されたことが報告されている³⁹⁾⁴⁰⁾。腫瘍を拒絶したマウスでは、WT1 遺伝子を発現している腎や骨髄などの正常組織の傷害は見られなかった。以上の知見に基づき、成人領域で WT1 ペプチドワクチンの臨床試験が行われ、膠芽腫⁴¹⁾

や膵癌⁴²⁾ で有効性が報告されている。

小児に対する WT1 ペプチドワクチンの安全性に関しては、小児血液・固形腫瘍⁴³⁾⁴⁴⁾ に対する検討で重篤な有害事象はみられておらず、副作用は、ほぼ全例に認める局所反応のみであった。有効性については、肉眼的に病変が存在する症例については効果が得られにくく、微小残存病変や寛解に至っている症例において、有効性が期待される結果であった。

これらの基礎研究、臨床研究結果を基に、高リスク群の横紋筋肉腫、非横紋筋肉腫軟部肉腫の治療後寛解症例を対象に WT1 ペプチドワクチンを用いたランダム化比較試験を実施するに至った。この試験結果より、寛解を維持している横紋筋肉腫高リスク群初発例での免疫療法の有効性が明らかとなる。

結 語

横紋筋肉腫のような希少疾患においては、個々の医師や施設が診療する症例数は限られており、多数例での臨床情報や臨床検体の収集や解析は困難である。よりよい治療開発のためには、多施設共同臨床試験を実施し、これにより収集される臨床情報と臨床検体を用いたトランスレーショナルリサーチが不可欠である。日本では、JCCG 横紋筋肉腫委員会を中心に臨床試験が実施され、臨床試験体制の整備は進んでいる。一方で、臨床試験における症例集積が十分には進んでおらず、各地域の小児がん診療施設、および、本疾患は成人にも発症することから成人領域のがん診療施設との連携が必要である。横紋筋肉腫においても、ゲノム医学と医療の進歩により、腫瘍の遺伝子異常や細胞内情報伝達路の異常の違いに基づくリスク群分類と標的治療薬のさらなる細分化が進むことが予想され、今後は欧米、アジア諸国を含む国際間共同臨床試験の構築が必要となることが予想される。また、それがゆえに、国内の小児がんを含む稀少疾患の基礎および臨床研究の継続的で確固たる実施体制の確立が肝要である。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Tomoyasu C, Kikuchi K, Kaneda D, Yagyu S, Miyachi M, Tsuchiya K, Iehara T, Sakai T, Hosoi H. OBP801, a novel histone deacetylase inhibitor, induces Mphase arrest and apoptosis in rhabdomyosarcoma cells. *Oncol Rep* 2019; 41: 643-649.
- 2) Sugito N, Taniguchi K, Kuranaga Y, Ohishi M, Soga T, Ito Y, Miyachi M, Kikuchi K, Hosoi H, Akao Y. Cancer-Specific Energy Metabolism in Rhabdomyosarcoma Cells Is Regulated by MicroRNA. *Nucleic Acid Ther* 2017; 27: 365-377.
- 3) Otabe O, Kikuchi K, Tsuchiya K, Katsumi Y, Yagyu S, Miyachi M, Iehara T, Hosoi H. MET/ERK2 pathway regulates the motility of human alveolar rhabdomyosarcoma cells. *Oncol Rep* 2017; 37: 98-104.
- 4) Seki M, Nishimura R, Yoshida K, Shimamura T, Shiraiishi Y, Sato Y, Kato M, Chiba K, Tanaka H, Hoshino N, Nagae G, Shiozawa Y, Okuno Y, Hosoi H, Tanaka Y, Okita H, Miyachi M, Souzaki R, Taguchi T, Koh K, Hanada R, Kato K, Nomura Y, Akiyama M, Oka A, Igarashi T, Miyano S, Aburatani H, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis defines novel molecular subgroups in rhabdomyosarcoma. *Nat Commun* 2015; 6: 7557.
- 5) Kakazu N, Yamane H, Miyachi M, Shiwaku K, Hosoi H. Identification of the 12q15 amplicon within the homogeneously staining regions in the embryonal rhabdomyosarcoma cell line RMS-YM. *Cytogenet Genome Res* 2014; 142: 167-173.
- 6) Yoshida H, Miyachi M, Sakamoto K, Ouchi K, Yagyu S, Kikuchi K, Kuwahara Y, Tsuchiya K, Imamura T, Iehara T, Kakazu N, Hojo H, Hosoi H. PAX3-NCOA2 fusion gene has a dual role in promoting the proliferation and inhibiting the myogenic differentiation of rhabdomyosarcoma cells. *Oncogene* 2014; 33: 5601-5608.
- 7) Miyachi M, Tsuchiya K, Yoshida H, Yagyu S, Kikuchi K, Misawa A, Iehara T, Hosoi H. Circulating muscle-specific microRNA, miR-206, as a potential diagnostic marker for rhabdomyosarcoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 400: 89-93.
- 8) Miyachi M, Kakazu N, Yagyu S, Katsumi Y, Tsubai-Shimizu S, Kikuchi K, Tsuchiya K, Iehara T, Hosoi H. Restoration of p53 pathway by nutlin-3 induces cell cycle arrest and apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4077-4084.
- 9) Kikuchi K, Tsuchiya K, Otabe O, Gotoh T, Tamura S, Katsumi Y, Yagyu S, Tsubai-Shimizu S, Miyachi M, Iehara T, Hosoi H. Effects of PAX3-FKHR on malignant phenotypes in alveolar rhabdomyosarcoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 365: 568-574.
- 10) Hosoi H, Teramukai S, Matsumoto Y, Tsuchiya K, Iehara T, Hara J, Mitsui T, Kaneko M, Hatae Y, Hayashi Y, Mabuchi O, Adachi N, Morikawa Y, Nishimura S, Kumagai M, Takamatsu H, Sawada T, Sugimoto T. A review of 331 rhabdomyosarcoma cases in patients treated between 1991 and 2002 in Japan. *Int J Clin Oncol* 2007; 12: 137-145.
- 11) Hosoi H. Current status of treatment for pediatric rhabdomyosarcoma in the USA and Japan. *Pediatr Int* 2016; 58: 81-87.
- 12) Sorensen PH, Lynch JC, Qualman SJ, Tirabosco R, Lim JF, Maurer HM, Bridge JA, Crist WM, Triche TJ, Barr FG. PAX3-FKHR and PAX7-FKHR gene fusions are prognostic indicators in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2672-2679.
- 13) Missiaglia E, Williamson D, Chisholm J, Wirapati P, Pierron G, Petel F, Concordet JP, Thway K, Oberlin O, Pritchard-Jones K, Delattre O, Delorenzi M, Shipley J. PAX3/FOXO1 fusion gene status is the key prognostic molecular marker in rhabdomyosarcoma and significantly improves current risk stratification. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1670-1677.
- 14) Rosenberg AR, Skapek SX, Hawkins DS. The inconvenience of convenience cohorts: rhabdomyosarcoma and the PAX-FOXO1 biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21: 1012-1018.
- 15) Anderson JR, Barr FG, Hawkins DS, Parham DM, Skapek SX, Triche TJ. Fusion-negative alveolar rhabdomyosarcoma: modification of risk stratification is premature. *J Clin Oncol* 2010; 28: e587-588.
- 16) Skapek SX, Anderson J, Barr FG, Bridge JA, Gastier-Foster JM, Parham DM, Rudzinski ER, Triche T, Hawkins DS. PAX-FOXO1 fusion status drives unfavorable outcome for children with rhabdomyosarcoma: a children's oncology group report. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60: 1411-1417.
- 17) Davicioni E, Anderson MJ, Finckenstein FG, Lynch

- JC, Qualman SJ, Shimada H, Schofield DE, Buckley JD, Meyer WH, Sorensen PH, Triche TJ. Molecular classification of rhabdomyosarcoma—genotypic and phenotypic determinants of diagnosis: a report from the Children’s Oncology Group. *Am J Pathol* 2009; 174: 550-564.
- 18) Rudzinski ER, Anderson JR, Lyden ER, Bridge JA, Barr FG, Gastier-Foster JM, Bachmeyer K, Skapek SX, Hawkins DS, Teot LA, Parham DM. Myogenin, AP2beta, NOS-1, and HMGA2 are surrogate markers of fusion status in rhabdomyosarcoma: a report from the soft tissue sarcoma committee of the children’s oncology group. *Am J Surg Pathol* 2014; 38: 654-659.
- 19) Houghton PJ, Cheshire PJ, Hallman JC, Bissery MC, Mathieu-Boue A, Houghton JA. Therapeutic efficacy of the topoisomerase I inhibitor 7-ethyl-10-(4-[1-piperidino]-1-piperidino)-carboxyloxy-camptothecin against human tumor xenografts: lack of cross-resistance in vivo in tumors with acquired resistance to the topoisomerase I inhibitor 9-dimethylaminomethyl-10-hydroxy-camptothecin. *Cancer Res* 1993; 53: 2823-2829.
- 20) Furman WL, Stewart CF, Poquette CA, Pratt CB, Santana VM, Zamboni WC, Bowman LC, Ma MK, Hoffer FA, Meyer WH, Pappo AS, Walter AW, Houghton PJ. Direct translation of a protracted irinotecan schedule from a xenograft model to a phase I trial in children. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1815-1824.
- 21) Pappo AS, Lyden E, Breitfeld P, Donaldson SS, Wiener E, Parham D, Crews KR, Houghton P, Meyer WH, Children’s Oncology G. Two consecutive phase II window trials of irinotecan alone or in combination with vincristine for the treatment of metastatic rhabdomyosarcoma: the Children’s Oncology Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 362-369.
- 22) Mascarenhas L, Lyden ER, Breitfeld PP, Walterhouse DO, Donaldson SS, Paidas CN, Parham DM, Anderson JR, Meyer WH, Hawkins DS. Randomized phase II window trial of two schedules of irinotecan with vincristine in patients with first relapse or progression of rhabdomyosarcoma: a report from the Children’s Oncology Group. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4658-4663.
- 23) Casanova M, Ferrari A, Spreafico F, Terenziani M, Massimino M, Luksch R, Cefalo G, Polastri D, Marcon I, Bellani FF. Vinorelbine in previously treated advanced childhood sarcomas: evidence of activity in rhabdomyosarcoma. *Cancer* 2002; 94: 3263-3268.
- 24) Casanova M, Ferrari A, Bisogno G, Merks JH, De Salvo GL, Meazza C, Tettoni K, Provenzi M, Mazzarino I, Carli M. Vinorelbine and low-dose cyclophosphamide in the treatment of pediatric sarcomas: pilot study for the upcoming European Rhabdomyosarcoma Protocol. *Cancer* 2004; 101: 1664-1671.
- 25) Bisogno G, De Salvo GL, Bergeron C, Jenney M. Maintenance low-dose chemotherapy in patients with high-risk (HR) rhabdomyosarcoma (RMS): A report from the European Paediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group (EpSSG). *Journal of Clinical Oncology* 2018; 36, no. 18, suppl
- 26) Brunn GJ, Hudson CC, Sekulic A, Williams JM, Hosoi H, Houghton PJ, Lawrence JC, Jr., Abraham RT. Phosphorylation of the translational repressor PHAS-I by the mammalian target of rapamycin. *Science* 1997; 277: 99-101.
- 27) Hosoi H, Dilling MB, Liu LN, Danks MK, Shikata T, Sekulic A, Abraham RT, Lawrence JC, Jr., Houghton PJ. Studies on the mechanism of resistance to rapamycin in human cancer cells. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 815-824.
- 28) Iiboshi Y, Papst PJ, Kawasome H, Hosoi H, Abraham RT, Houghton PJ, Terada N. Amino acid-dependent control of p70 (s6k). Involvement of tRNA aminoacylation in the regulation. *J Biol Chem* 1999; 274: 1092-1099.
- 29) Shinjyo T, Kuribara R, Inukai T, Hosoi H, Kinoshita T, Miyajima A, Houghton PJ, Look AT, Ozawa K, Inaba T. Downregulation of Bim, a proapoptotic relative of Bcl-2, is a pivotal step in cytokine-initiated survival signaling in murine hematopoietic progenitors. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 854-864.
- 30) Huang S, Liu LN, Hosoi H, Dilling MB, Shikata T, Houghton PJ. p53/p21 (CIP1) cooperate in enforcing rapamycin-induced G (1) arrest and determine the cellular response to rapamycin. *Cancer Res* 2001; 61: 3373-3381.
- 31) Zhang X, Shu L, Hosoi H, Murti KG, Houghton PJ. Predominant nuclear localization of mammalian target of rapamycin in normal and malignant cells in culture. *J Biol Chem* 2002; 277: 28127-28134.
- 32) Misawa A, Hosoi H, Tsuchiya K, Sugimoto T. Rapamycin inhibits proliferation of human neuroblastoma cells without suppression of MycN. *Int J Cancer* 2003; 104: 233-237.
- 33) Hosoi H, Dilling MB, Shikata T, Liu LN, Shu L, Ashmun RA, Germain GS, Abraham RT, Houghton PJ. Rapamycin causes poorly reversible inhibition of mTOR and induces p53-independent apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Cancer Res* 1999; 59:

- 886-894.
- 34) Houghton PJ, Morton CL, Kolb EA, Gorlick R, Lock R, Carol H, Reynolds CP, Maris JM, Keir ST, Billups CA, Smith MA. Initial testing (stage 1) of the mTOR inhibitor rapamycin by the pediatric preclinical testing program. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50: 799-805.
- 35) Mascarenhouse L, Meyer WH, Lyden E, Rodeberg D. Randomized phase II trial of bevacizumab and temsirolimus in combination with vinorelbine (V) and cyclophosphamide (C) for first relapse/disease progression of rhabdomyosarcoma (RMS): A report from the Children's Oncology Group (COG). *J Clin Oncol* 2014; 32: 5s.
- 36) Nakatsuka S, Oji Y, Horiuchi T, Kanda T, Kitagawa M, Takeuchi T, Kawano K, Kuwae Y, Yamauchi A, Okumura M, Kitamura Y, Oka Y, Kawase I, Sugiyama H, Aozasa K. Immunohistochemical detection of WT1 protein in a variety of cancer cells. *Mod Pathol* 2006; 19: 804-814.
- 37) Oue T, Uehara S, Yamanaka H, Takama Y, Oji Y, Fukuzawa M. Expression of Wilms tumor 1 gene in a variety of pediatric tumors. *Journal of pediatric surgery* 2011; 46: 2233-2238.
- 38) Magro G, Salvatorelli L, Puzzo L, Musumeci G, Bisceglia M, Parenti R. Oncofetal expression of Wilms' tumor 1 (WT1) protein in human fetal, adult and neoplastic skeletal muscle tissues. *Acta Histochem* 2015; 117: 492-504.
- 39) Oka Y, Udaka K, Tsuboi A, Elisseeva OA, Ogawa H, Aozasa K, Kishimoto T, Sugiyama H. Cancer immunotherapy targeting Wilms' tumor gene WT1 product. *J Immunol* 2000; 164: 1873-1880.
- 40) Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva OA, Udaka K, Sugiyama H. WT1 as a novel target antigen for cancer immunotherapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2002; 2: 45-54.
- 41) Izumoto S, Tsuboi A, Oka Y, Suzuki T, Hashiba T, Kagawa N, Hashimoto N, Maruno M, Elisseeva OA, Shirakata T, Kawakami M, Oji Y, Nishida S, Ohno S, Kawase I, Hatazawa J, Nakatsuka S, Aozasa K, Morita S, Sakamoto J, Sugiyama H, Yoshimine T. Phase II clinical trial of Wilms tumor 1 peptide vaccination for patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 2008; 108: 963-971.
- 42) Nishida S, Ishikawa T, Egawa S, Koido S, Yanagimoto H, Ishii J, Kanno Y, Kokura S, Yasuda H, Oba MS, Sato M, Morimoto S, Fujiki F, Eguchi H, Nagano H, Kumanogoh A, Unno M, Kon M, Shimada H, Ito K, Homma S, Oka Y, Morita S, Sugiyama H. Combination Gemcitabine and WT1 Peptide Vaccination Improves Progression-Free Survival in Advanced Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Phase II Randomized Study. *Cancer Immunol Res* 2018, 10.1158/2326-6066.CIR-17-0386.
- 43) Hashii Y, Sato E, Ohta H, Oka Y, Sugiyama H, Ozono K. WT1 peptide immunotherapy for cancer in children and young adults. *Pediatric blood & cancer* 2010; 55: 352-355.
- 44) Sawada A, Inoue M, Kondo O, Yamada-Nakata K, Ishihara T, Kuwae Y, Nishikawa M, Ammori Y, Tsuboi A, Oji Y, Koyama-Sato M, Oka Y, Yasui M, Sugiyama H, Kawa K. Feasibility of Cancer Immunotherapy with WT1 Peptide Vaccination for Solid and Hematological Malignancies in Children. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63: 234-241.

著者プロフィール



宮地 充 Mitsuru Miyachi

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学・助教

略 歴 2001年3月 京都府立医科大学医学部卒業

2001年4月 京都府立医科大学附属病院小児科研修医

2006年4月 京都府立医科大学大学院入学（専攻小児発達医学）

2010年3月 医学博士（京都府立医科大学甲1318号）

2010年4月 京都府立与謝の海病院副院長

2012年4月 京都府立医科大学小児科学教室病院助教

2013年4月～現職

専門分野：小児がん

- 主な業績：1. Sugito N, Taniguchi K, Kuranaga Y, Ohishi M, Soga T, Ito Y, Miyachi M, Kikuchi K, Hosoi H, Akao Y. Cancer-Specific Energy Metabolism in Rhabdomyosarcoma Cells Is Regulated by MicroRNA. *Nucleic Acid Ther*, **27**: 365-377, 2017. doi: 10.1089/nat.2017.0673. Epub 2017 Oct 5.
2. Kinoshita M, Yamada A, Sawa D, Kamimura S, Miyachi M, Moritake H. Successful treatment of metastatic alveolar rhabdomyosarcoma with MGMT gene promoter methylation by temozolomide-based combination chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer*, **65**: 2018.
3. Otabe O, Kikuchi K, Tsuchiya K, Katsumi Y, Yagyu S, Miyachi M, Iehara T, Hosoi H. MET/ERK2 pathway regulates the motility of human alveolar rhabdomyosarcoma cells. *Oncol Rep*, **37**: 98-104, 2017.
4. Seki M, Nishimura R, Yoshida K, Shimamura T, Shiraiishi Y, Sato Y, Kato M, Chiba K, Tanaka H, Hoshino N, Nagae G, Shiozawa Y, Okuno Y, Hosoi H, Tanaka Y, Okita H, Miyachi M, Souzaki R, Taguchi T, Koh K, Hanada R, Kato K, Nomura Y, Akiyama M, Oka A, Igarashi T, Miyano S, Aburatani H, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis defines novel molecular subgroups in rhabdomyosarcoma. *Nat Commun*, **6**: 7557, 2015. doi: 10.1038/ncomms8557.
5. Yoshida H, Miyachi M, Sakamoto K, Ouchi K, Yagyu S, Kikuchi K, Kuwahara Y, Tsuchiya K, Imamura T, Iehara T, Kakazu N, Hojo H, Hosoi H. PAX3-NCOA2 fusion gene has a dual role in promoting the proliferation and inhibiting the myogenic differentiation of rhabdomyosarcoma cells. *Oncogene*, **33**: 5601-5608, 2014.
6. Miyachi M, Tsuchiya K, Yoshida H, Yagyu S, Kikuchi K, Misawa A, Iehara T, Hosoi H. Circulating muscle-specific microRNA, miR-206, as a potential diagnostic marker for rhabdomyosarcoma. *Biochem Biophys Res Commun*, **400**: 89-93, 2010.
7. Miyachi M, Kakazu N, Yagyu S, Katsumi Y, Tsubai-Shimizu S, Kikuchi K, Tsuchiya K, Iehara T, Hosoi H. Restoration of p53 pathway by nutlin-3 induces cell cycle arrest and apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Clinical Cancer Research*, **15**: 4077-4084, 2009.
8. Kikuchi K, Tsuchiya K, Miyachi M, et al. Effects of PAX3-FKHR on malignant phenotypes in alveolar rhabdomyosarcoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **365**: 568-574, 2008.

知的財産：発明等の名称；体液由来検体を用いた横紋筋肉腫の検出方法

出願番号；特願2012-509705，国際出願WO2011126089A1

発明者；京都府立大学法人，細井 創，宮地 充

