

令和 2 年 5 月 8 日現在

機関番号：13301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06174・19K21282

研究課題名(和文) 高骨親和性新規プラチナ製剤を用いたシスプラチン抵抗性難治性骨肉腫の新規治療開発

研究課題名(英文) A novel bone targeting platinum complex effectively targets a cisplatin-resistant osteosarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX)

研究代表者

五十嵐 健太郎 (Igarashi, Kentaro)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任助教

研究者番号：80622860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：当大学で新規開発した骨親和性の高い新規プラチナ製剤を用い、薬剤耐性骨肉腫細胞株に対する抗腫瘍効果を明らかにした。また、シスプラチン抵抗性の骨肉腫患者の手術時に得られた検体から患者由来腫瘍同所移植マウスモデルを作成し、シスプラチン抵抗性が実験動物で再現されていることと、新規プラチナ製剤がこのシスプラチン抵抗性を超えて抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

開発後40年を経過したシスプラチンがまだ骨肉腫に対する標準治療であることは市場の小さな難治性の稀少がんに対する企業を主体とした新規治療開発が困難であることを表しており、本研究において当大学で開発した骨親和性の高い新規プラチナ製剤が臨床を再現した骨肉腫動物モデルにおいてシスプラチン耐性を超えて抗腫瘍効果を示したことは、停滞している薬剤開発において非常に大きな成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have developed novel bone targeting platinum compound; 3Pt. This study revealed its strong anti tumor activity against cisplatin-resistant osteosarcoma cell line. And also revealed that the 3Pt showed strong anti tumor activity against cisplatin-resistant osteosarcoma patient derived orthotopic xenograft(PDOX) model.

研究分野：骨軟部肉腫

キーワード：骨肉腫 シスプラチン耐性 高骨移行性 新規プラチナ製剤 患者由来腫瘍同所移植モデル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小児に好発する原発性悪性骨腫瘍である骨肉腫の治療成績は 1970 年代にメトトレキセートとシスプラチンが導入され向上した。しかしその後、新規抗癌剤の開発は進んでおらず、再発転移性骨肉腫の 5 年生存率は 20%程度とこの数十年にわたり治療は停滞している。特に臨床上問題となるシスプラチン抵抗性を克服する有効な薬剤の開発が急務である。しかしながら、その市場規模の小ささから企業を主体とした骨肉腫に対する新規薬剤の開発は進んでおらず、現在シスプラチンによる腎機能障害と薬剤耐性が骨肉腫患者治療の臨床において大きな問題となり、特に再発転移性骨肉腫患者の治療成績向上のため克服すべき課題となっている。

### 2. 研究の目的

我々が新規開発した新規プラチナ製剤である 3Pt は水溶性が高いことから腎機能障害が軽微であることが動物モデルに対する研究からこれまでに明らかとなっている。この新規化合物はシスプラチン耐性骨肉腫細胞株に対し強い抗腫瘍効果を示しているが、その機序はいまだ明らかとなっておらず、臨床上のシスプラチン耐性骨肉腫に対しても同様の抗腫瘍効果を発揮できるかどうかについても不明である。本研究は当大学で開発した新規プラチナ製剤の臨床応用に向けた詳細な作用機序の解明、そしてより臨床に近い動物モデルを用いた薬剤耐性の克服を目指し計画した。

### 3. 研究の方法

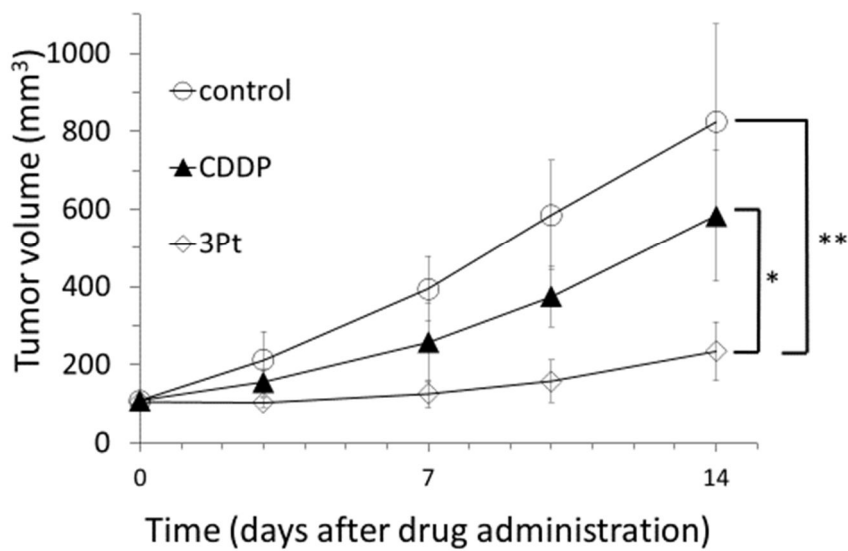
レトロウイルスベクターを用いて、骨肉種細胞(SaOS2, MG63, 143B)に GFP と RFP 遺伝子を導入した。樹立した GFP または RFP 発現株の性質(増殖能、転移能、各種抗がん剤に対する感受性など)を明らかにし、両者に有意差がないことを確認した。)樹立した GFP または RFP 発現骨肉腫細胞に転移または薬剤耐性に関連していると考えられる遺伝子(MDR-1)を導入した。次に新規プラチナ製剤を用いた実験を *in vitro*, *in vivo* で行い局所(マウス脛骨)および肺転移巣において、薬剤耐性遺伝子を克服した治療効果が得られているかを確認した。シスプラチン耐性骨肉腫患者から同意を得た上で患者の治療のために行われる転移巣の切除術の際に得られた検体の一部(10mm 大)を用いた。腫瘍片を分割し麻酔下でマウスの皮下 4 か所に腫瘍片を移植し F1 マウスを作成した。4~6 週程度後にマウスの皮下腫瘍が生着し 15mm 程度に増殖した段階で麻酔下に腫瘍を回収した。再度腫瘍片に分割し、麻酔下にマウスの右膝に 10mm 大の皮切を置き、大腿骨外顆を切除。切除した外顆スペースに腫瘍片を留置し PDOX モデルマウス(F2)を作成した。作成した PDOX モデルマウスは 2~3 週で腫瘍体積が 100mm<sup>3</sup> 程度となった時点で薬剤感受性試験を開始する。コントロール群は生理食塩水の腹腔内投与、シスプラチン治療群はシスプラチン 6mg/kg/週の腹腔内投与、新規プラチナ製剤治療群は 3Pt41.1mg/kg/週の腹腔内投与を行い 1 週間に 2 回の腫瘍サイズ測定(デジタルキャリパーで長径, 短径の測定), 体重測定を行う。治療は 2 週間行い治療開始後 3 週でマウスを犠牲させ腫瘍と肺を回収し原発巣と転移それぞれの病理学的評価を行った。

### 4. 研究成果

骨肉腫細胞株に対し新規プラチナ製剤はシスプラチンを超える抗腫瘍効果を示した。また、MDR-1 を導入した細胞株に対しても通常株同様の抗腫瘍効果を示したことから、シスプラチン耐性株に対する抗腫瘍効果の作用機序の一つであることが明らかとなった。

シスプラチン耐性骨肉腫患者から得られた検体を用い患者由来腫瘍同所移植モデル(PDOX)を作成し、これに対しシスプラチンと 3Pt 投与を行ったところ、シスプラチン治療群は有意な抗腫瘍効果を示さなかったものの、3Pt 治療群は有意な腫瘍増殖抑制効果を示した。

我々が新規開発した骨親和性の高い新規プラチナ製剤は骨肉腫治療の臨床上の大きな問題であるシスプラチン抵抗性を超えて抗腫瘍効果を発揮する可能性が高いことを明らかとし、今後の薬剤開発にさらにつながるデータが得られたと考えられる。



骨肉腫 PDOX モデルにおけるシスプラチンと 3Pt の抗腫瘍効果。

ヌードマウス大腿骨遠位に骨肉腫 PDOX モデルを作成しシスプラチンと 3Pt を 2 週間投与し抗腫瘍効果につき検討を行った。

(CDDP (20 $\mu$ mol/kg=6mg/kg/week i.p. for 2 weeks), 3Pt (15 $\mu$ mol/kg=41.1mg/kg/week i.p. for 2 weeks) ).N=8mice/group. \* p=0.0004, \*\*p=0.0002

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Igarashi K, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Miwa S, Higuchi T, Abe K, Taniguchi Y, Yonezawa H, Araki Y, Morinaga S, Hoffman RM, Tuchiya H
2. 発表標題 Newly developed bone targeting platinum complex effectively targets cisplatin resistant relapsed osteosarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model
3. 学会等名 International Society of Limb Salvage General Meeting (ISOLS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----