

平成 30 年 5 月 9 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10478

研究課題名(和文) PLGAマイクロカプセルによる新規DDSを用いたスタチン剤の変形性関節症への応用

研究課題名(英文) Application of PLGA microsphere as a new DDS of statin for osteoarthritis

研究代表者

岡崎 賢 (Okazaki, Ken)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：10398092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：変形性関節症における軟骨変性を抑制する薬剤としてスタチン製剤に注目し、関節内で徐放させるDDSとして生体内で分解されるPLGAに封入する方法を開発した。臨床で使用されている複数の種類のスタチン製剤を用いて、軟骨細胞に対する作用を比較検討したところ、フルバスタチンが同化作用、異化抑制作用に優れていることを確認した。次にPLGAマイクロスフィアにフルバスタチンを封入した薬剤を作成し、PBSの徐放作用を確認したところ、14日間放出が持続することが示された。ウサギ前十字靭帯切離モデルの関節内に、術後1週で単回投与し、6週で組織学的評価を行ったところ、変形性関節症スコアの有意な低下が認められた。

研究成果の概要(英文)：We investigated therapeutic effects of the local administration of statin in osteoarthritis (OA). We assessed clinically used statins and selected fluvastatin for further experimentation, as it showed potent anabolic and anti-catabolic effects on human OA chondrocytes. To achieve controlled intra-articular administration of statin, we developed an intra-articular injectable statin using poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) as a drug delivery system (DDS). The release profile of the statin was evaluated in vitro. Finally, therapeutic effects of fluvastatin-loaded PLGA microspheres (FLU-PLGA) were tested in a rabbit OA model. Histological analysis 5 weeks after intra-articular injection revealed that OARSI scores were lower in FLU-PLGA-treated group than PLGA alone or saline control groups. This study indicates that a single intra-articular injection of fluvastatin-loaded PLGA microspheres could be a novel therapeutic approach for treating patients with OA.

研究分野：整形外科

キーワード：変形性関節症 軟骨代謝 軟骨変性 スタチン 薬物療法 drug delivery system

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症は、超高齢社会である我が国において、非常に高い罹患率が示されている国民病である。膝関節では 2500 万人以上の罹患が推計されており、そのうちの 800 万人は日常生活動作での痛みで悩まされており、生活の質を低下させる重要な疾病である。下肢の変形性関節症の進行は移動能力の低下をきたし、家族や社会への負担となるため、その根本的な治療法の開発は急務である。その治療法として、人工関節置換術などの手術法の進歩はめざましいところである。しかし、保存療法において使用可能な薬剤は、対症療法である各種鎮痛剤が主である。関節内ヒアルロン酸注射薬はあるが、関節軟骨の変性抑制効果についてのエビデンスは不十分であり、疾患の病態そのものを改善する薬剤の開発は滞っている。

その中で、高コレステロール血症に対する治療薬として臨床で使われているスタチンは、軟骨細胞に対して同化作用と異化抑制作用があることが知られている。我々は過去に、家兎を用いた変形性膝関節症モデルを用いて、スタチンの関節内投与が変形性関節症の進行を抑制することを示した。しかし、スタチンが関節内で速やかに代謝されるため、連日投与が必要であった。臨床応用に至るには、関節内の連日投与は非現実的である。そこで、本法の臨床応用を進めるために、関節内でスタチンが徐放される drug delivery system を検討し、生体内で加水分解される PLGA にスタチンを封入する方法を考案した。

2. 研究の目的

- 1) 変形性関節症の軟骨に対して、同化作用と異化抑制作用の強いスタチン製剤を明らかにし、選択すること。
- 2) PLGA マイクロスフィアに、選択したスタチン製剤を封入し、その徐放効果を確認すること。
- 3) 家兎変形性膝関節症モデルを用いて、単回投与による病変進行抑制効果が得られるか明らかにすること。

3. 研究の方法

1) 変形性膝関節症の治療目的で人工膝関節置換術を施行する際に廃棄される関節軟骨より、軟骨細胞を単離、培養し、臨床で用いられている各種スタチン製剤を投与し、軟骨基質蛋白である、II 型コラーゲン、アグリカンおよび転写因子 Sox9 の遺伝子発現と、異化酵素である MMP-13 の遺伝子発現を解析した。IL-1beta を添加し、炎症によって低下する II 型コラーゲン、アグリカン、Sox9 の遺伝子発現および上昇する MMP-13 の遺伝子発現をスタチンが阻害することができるかを調べた。また、培養上清中に遊離した MMP-13

の蛋白量も計測し、比較した。

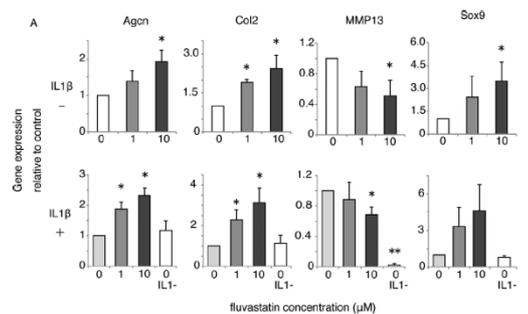
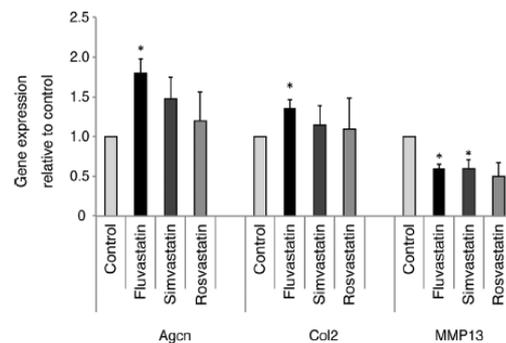
2) PLGA マイクロスフィアにスタチン製剤を封入し、PBS 中でのスタチン製剤の排出を経時的に計測した。また走査型電子顕微鏡で PLGA マイクロスフィアが加水分解されて崩壊する様子を確認した。

3) 家兎の ACL 切離モデルにおいて、術後 1 週に片側の膝関節に PLGA マイクロスフィアのみ、またはスタチン製剤封入 PLGA マイクロスフィアを単回注射する。それぞれの反対側の膝には PBS のみを注射した。術後 6 週に組織学的検討を行い、OARSI スコアで評価した。

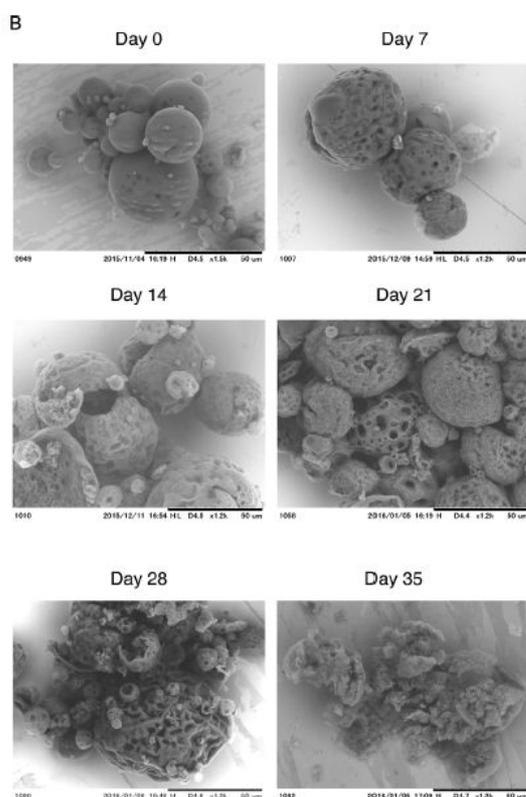
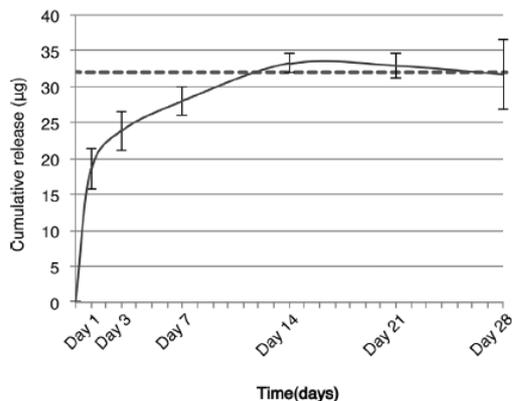
4. 研究成果

1) フルバスタチン、シンバスタチン、ロスバスタチンの中では、フルバスタチンが最も II 型コラーゲンおよびアグリカンの遺伝子発現増強効果が高く、MMP-13 の遺伝子発現抑制効果が高かった。

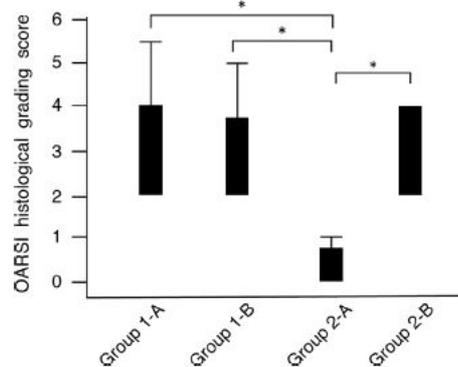
フルバスタチンは IL-1beta の存在下においてもアグリカンおよび II 型コラーゲンの発現増強作用および MMP13 発現抑制作用があり、用量依存効果があったが、その効果は 1 μM でも有意であった。



2) PLGA マイクロスフィアから遊離されるフルバスタチンは 2 峰性の動態があり、最初の 1 日で 65% が遊離するが、その後は徐放され、14 日間で全量が放出された。走査型電子顕微鏡でマイクロスフィアが崩壊していく状況を 35 日間まで確認した。



3) ACL 切離による家兎変形性膝関節症モデルにおいて、術後 1 週にフルバスタチン含有 PLGA を注射した膝 (Group2A)は、PLGA 単独 (Group1A)またはそれらの反対側の膝である PBS のみ注射した群(Group1B, 2B)に比較して、術後 6 週 (薬剤投与後 5 週)の変形性関節症組織学的スコア (OARSI スコア)が軽症であった。



以上の事より、フルバスタチンを PLGA マイクロスフィアに封入することで、生体膝関節内においてフルバスタチンが徐放され、単回投与においても、投与後 5 週間での変形性関節症進行を抑制することが可能であることが示された。臨床使用において、関節内注射を連日行うことは非現実的であり、単回投与で数週間の効果が期待できるということで、変形性関節症の病態修飾性薬剤として臨床応用に近づく知見を得ることができた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Goto N, Okazaki K, Akasaki Y, Ishihara K, Murakami K, Koyano K, Ayukawa Y, Yasunami N, Masuzaki T, Nakashima Y
Single intra-articular injection of fluvastatin-PLGA microspheres reduces cartilage degradation in rabbits with experimental osteoarthritis.
J Orthop Res. 35(11):2465-2475, 2017
(査読あり)

[学会発表] (計 1 件)

後藤 徳雄, 岡崎 賢, 赤崎 幸穂, 石原 康平, 村上 剛史, 倉員 市郎, 居石 卓也, 中島 康晴
フルバスタチン内包 PLGA microsphere 関節内単回投与は変形性関節症モデルにおける軟骨変性を軽減する
第 32 回日本整形外科基礎学術集会
平成 29 年 10 月 26 日 宜野湾市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡崎 賢 (OKAZAKI, Ken)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：10398092

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()