

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2015～2016
課題番号：15K19999
研究課題名(和文) 転移性骨腫瘍に対するゾレドロン酸と腫瘍融解アデノウイルスを用いた新規治療戦略

研究課題名(英文) Investigation of new treatment strategy for metastatic bone tumor, combination of zoledronate and oncolytic adenovirus.

研究代表者
武田 健 (Takeda, Ken)
岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：70614923
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：骨転移に対する新規治療法として、癌細胞のみで増殖し癌細胞のみを破壊する制限増殖型腫瘍融解アデノウイルス(以下OBP-301)とゾレドロン酸の併用療法を検証した。癌細胞(乳癌、肺癌、前立腺癌)および骨肉腫細胞に対してOBP-301およびゾレドロン酸単独で両者ともに濃度依存性に腫瘍抑制効果が見られること、併用治療でそれぞれの単独治療よりも効果が増強することが認められた。癌細胞をマウス膝に移植し、生体内での治療効果を検証したところ、併用した場合に腫瘍増殖抑制効果が強く見られることを確認できた。OBP-301とゾレドロン酸の併用療法は骨転移に対する新規治療戦略となりうる。

研究成果の概要(英文)：The number of patients who have cancer and bone metastasis is increasing. We investigated new treatment strategy for bone metastasis, which is combination of oncolytic adenovirus(OBP-301) and zoledronate(ZOL). OBP-301 and ZOL showed the antitumor effect against cancer cells respectively and combination therapy of OBP-301 and ZOL showed antitumor effect more than single treatment. Also in cancer metastasis murine model, combination treatment showed more antitumor effect than single treatment.
This combination treatment might be a new treatment strategy against bone metastasis.

研究分野：骨軟部腫瘍

キーワード：転移性骨腫瘍 腫瘍融解アデノウイルス ゾレドロン酸 併用療法

1. 研究開始当初の背景

癌および癌の骨転移患者は高齢化社会の到来に伴い年々増加している。転移性骨腫瘍では放射線療法やビスホスホネート製剤、また抗 RANKL 抗体による骨破壊抑制が主な治療法となっているが、単独での治療では骨破壊抑制の不十分な症例も存在し、新たな治療法の開発が望まれている。

癌細胞の高いテロメラーゼ活性に依存して腫瘍細胞内で増殖する腫瘍融解アデノウイルス (OBP-301) は米国で臨床第 1 相試験を終了しており、岡山大学でも臨床第 2 相試験を実施中である (2014 年申請時)。原発性骨腫瘍である骨肉腫などへの有効性も証明されており、転移性骨腫瘍でも効果が期待される。

ゾレドロン酸 (Zoledronate : ZOL) は臨床現場で使用可能な第 3 世代ビスホスホネートで、骨転移への治療にすでに広く使用されており、他の抗腫瘍薬との併用で増強効果も指摘されている。

これら 2 つの治療を組み合わせた併用効果が証明されれば、転移性骨腫瘍に対する新規治療となる可能性がある。

2. 研究の目的

転移性骨腫瘍に対する OBP-301 と ZOL の併用効果を証明し、転移性骨腫瘍に対する新規治療法としての可能性を検討すること。

3. 研究の方法

骨転移を好発する癌として乳癌 (MDA-MB-231)、前立腺癌 (PC3)、肺癌 (A549) の細胞株を用いて研究を行った。In vitro の検査として XTT-assay を用いて OBP-301 および ZOL の単独および併用時における抗腫瘍効果を検討した。また骨転移モデルを作成し、OBP-301 および ZOL の単独および併用時における抗腫瘍効果および骨破壊抑制の観点から検討した。

1) ヒト上皮系悪性腫瘍細胞株に対する OBP-301 と ZOL の抗腫瘍効果の検討

96well plate に MDA-MB-231, PC3, A549 細胞および骨肉腫細胞株 (SaOS-2, 143B) を 1000cel/well ずつ播種、24 時間後に OBP-301 を 0 ~ 200MOI (multiplicity of infections) ずつ、ZOL を 0 ~ 50 μ M ごとに投与し、120 時間後に XTT-assay を行い、抗腫瘍効果を検討した。

2) ヒト上皮系悪性腫瘍細胞株に対する OBP-301 と ZOL 併用による抗腫瘍効果の検討

1) と同様に細胞播種し、24 時間後に OBP-301 を 10 ~ 100MOI ずつ、ZOL を 10 ~ 50 μ M ずつ投与し、120 時間後に XTT-assay を行った。併用効果については CalcuSyn software (BioSoft) を用いて評価を行った。

3) 転移性骨腫瘍マウスモデルを用いた抗腫瘍効果を検討

ルシフェラーゼを導入した乳癌細胞 (MDA-MB-231-luci) 2.0×10^6 個を、ヌードマウス脛骨近位骨髓内に注入し骨転移モデルを作成した。IVIS を用いて 1 週間に 1 度、腫瘍増殖を測定した。骨破壊に関しては播種後 5 週の時点で骨破壊の程度を μ CT で確認した。

4. 研究成果

1) ヒト上皮系悪性腫瘍細胞株に対する OBP-301 と ZOL の抗腫瘍効果の検討

OBP-301, ZOL とともに濃度依存的に細胞生存活性の低下が見られた。しかし骨肉腫細胞に比べて上皮系細胞では ZOL が効きにくい傾向があった。

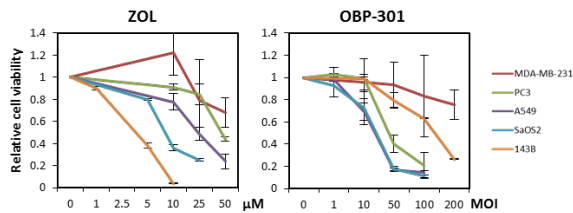


図 1.上皮系細胞および骨肉腫細胞における ZOL および OBP-301 の抗腫瘍効果

2) ヒト上皮系悪性腫瘍細胞株に対する OBP-301 と ZOL 併用による抗腫瘍効果の検討

OBP-301 および ZOL の併用投与により単剤に比べさらなる細胞生存活性の低下が見られた。Combination Index による計算では相加的な効果は認められ、相乗的な抗腫瘍効果は得られにくいことが分かった。

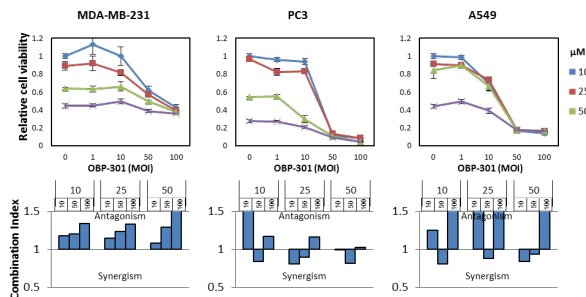


図 2.上皮系細胞における ZOL および OBP-301 の併用効果

3) 転移性骨腫瘍マウスモデルを用いた抗腫瘍効果を検討

単独群に比べ、併用群で腫瘍増殖の抑制が見られたが、本モデルでは骨破壊は観察されず、実験系の再考が必要であった。

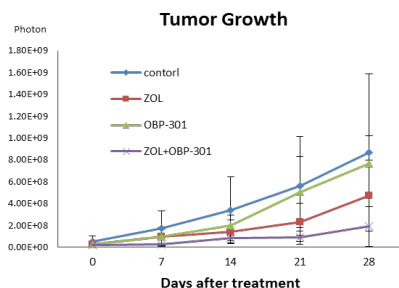


図 3. 骨転移モデルにおける ZOL および OBP-301 の抗腫瘍効果

結語

OBP-301 と ZOL の併用療法が転移性骨腫瘍の新規治療法となる可能性はあると考えられた。

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)

武田 健, 中原 龍一, 原田 遼三, 国定 俊之, 尾崎 敏文, 【3D モデル・3D プリンターを利用した整形外科手術】 整形外科分野への応用 3D 実体モデルを利用した骨・軟部腫瘍手術、関節外科、査読無、35(2), 2016, 198-204,

<http://www.medicalview.co.jp/catalog/MAG A12363-16-02-0.html>

〔学会発表〕(計 2 件)

武田 健, 国定 俊之, 森田 卓也, 小松原将, 魚谷 弘二, 杉生 和久, 藤原 智洋, 杉原 進介, 尾崎 敏文, 骨・軟部肉腫切除後にプレート固定した自家処理骨移植の治療成績、第 89 回日本整形外科学会学術総会、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)、2016 年 5 月 12-15 日

山川 泰明, 長谷井 嬢, 田澤 大, 杉生 和久, 魚谷 弘二, 尾崎 修平, 吉田 晶, 藤原 智洋, 武田 健, 国定 俊之, 浦田 泰生, 藤原 俊義, 尾崎 敏文, ゾレドロン酸とテロメラーゼ依存性腫瘍融解アデノウイルスの併用療法は骨肉腫に対する抗腫瘍効果を増強し、骨破壊を抑制する、第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、2015 年 7 月 9-10 日、サンポート香川(香川県高松市)

〔図書〕(計 0 件)

該当なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

該当なし

○取得状況(計 0 件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

武田 健 (TAKEDA, Ken)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：70614923

(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

山川 泰明 (YAMAKAWA, Yasuaki)

岡山大学・大学院医歯(薬)学総合研究科・

助教

研究者番号：90636953