

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09505

研究課題名（和文）徐放化抗がん剤と非金属脊椎インプラントを併用した新しい脊椎転移治療に関する研究

研究課題名（英文）the study of new treatment for spinal metastasis with the combination of sustained release anti-cancer drug and non-metal spinal instrumentation

研究代表者

角谷 賢一郎（Kakutani, Kenichiro）

神戸大学・医学研究科・特命准教授

研究者番号：10533739

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：徐放化抗がん剤の作成、ラット骨転移モデルを用いた徐放化抗がん剤の効果確認の実験を行った。骨転移モデルラットに対して、徐放化抗がん剤を局所投与し、経時的に評価した。徐放化抗がん剤は、全身投与群と比較して高い抗腫瘍効果を認める一方で、体重減少や腎機能障害といった副作用の軽減が認められた。また、非金属脊椎インプラントの研究開発においては、有限要素法においてインプラントの強度試験を実施した。PEEK screwの放射線のartifactに関する実験は、予備実験を行っている段階である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

担がん患者は増え続ける一方であり、同時に脊椎転移により疼痛や麻痺症状のため、休職や退職を余儀なくされるケースが増えている。脊椎転移に対する新しい治療戦略は、単に担がん患者の治療だけではなく、少子高齢化を歩み続ける日本において労働人工の維持・向上に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Experiments were conducted to prepare sustained-release anticancer drugs and to confirm the effects of sustained-release anticancer drugs using rat bone metastasis models. A sustained-release anticancer drug was locally administered to bone metastasis model rats and evaluated over time.

The sustained-release anticancer drug showed a higher antitumor effect than the systemic administration group, while reducing side effects such as weight loss and renal dysfunction. In addition, in research and development of non-metallic spinal implants, strength tests of implants were conducted using the finite element method. Experiments on the radiation artifact of the PEEK screw are in the preliminary stage.

研究分野：脊椎外科

キーワード：脊椎転移 徐放化抗がん剤 非金属脊椎インプラント

様式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

研究成果の概要(和文)

本研究によりシスプラチンの徐放化製剤の作成に成功した。また、本薬剤の乳がん骨転移モデルへの有効性を確認できた。さらに、本薬剤による全身状態への悪影響は最小限であり、局所投与の有効性と低侵襲性を確認できた。

また、PEEK 材による screw を GCIB 処理することで、骨芽細胞の接着性を向上し大型動物での screw 引き抜き強度の向上を確認できた。これらの結果を踏まえ、徐放化抗がん剤と非金属脊椎インプラントを併用した脊椎手術療法という新しい治療法の確立に向けて一步を歩みだすことが可能となった。今後は、さらに研究を深める事で臨床応用を目指したい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

“がん”が国民病になった本邦においては労働力の維持・向上のためにも有意義な研究である。

研究成果の概要(英文)

In this study, we succeeded in creating a sustained-release formulation of cisplatin. In addition, we were able to confirm the efficacy of this drug in a breast cancer bone metastasis model. We were able to confirm the efficacy and low aggression of administration.

In addition, GCIB treatment of PEEK screws improved the continuity of osteoblasts and confirmed the improvement of screw pull-out strength in large animals. It has become possible to take a step toward establishing a treatment method called spinal surgery therapy combined with essential spinal implants.

研究分野:医学

キーワード:脊椎転移、徐放化抗癌剤、非金属脊椎インプラント

1. 研究開始当初の背景

近年のがん診療の発展は、がん患者の生命予後を延長している。一方、骨は転移を来しやすい臓器であり、骨転移ともに生きる“がんサイバー”は急増している。脊椎転移は疼痛と神経麻痺症状を来すことから、がん診療の目標の一つである Quality of life (QOL)の維持、向上に多大な影響を与え、脊椎転移の制御はがん集学的治療において、原発腫瘍に対する治療に匹敵する重要性があると考えられている。我々は脊椎転移に対する集学的治療に取り組み、その良好な成績を報告しているが、依然として局所制御できない脊椎転移により QOL が損なわれる症例が後を絶たない。本研究では、脊椎転移に対する局所療法の成績向上のために、全く新しい治療体系の構築を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、徐放化抗癌剤による局所投与と非金属脊椎インプラントによる脊椎手術を組み合わせた脊椎転移に対する局所療法の構築を目指す。これまでに、脊椎転移に対する徐放化抗癌剤に関する研究は存在しない。また、同様に非金属脊椎インプラントも世界で発売されておらず、脊椎転移に対する研究は存在しない。すなわち、この両者を組み合わせる本研究は極めて独創的であり、“がん”が国民病になった本邦においては労働力の維持・向上のためにも有意義な研究である。

3. 研究の方法

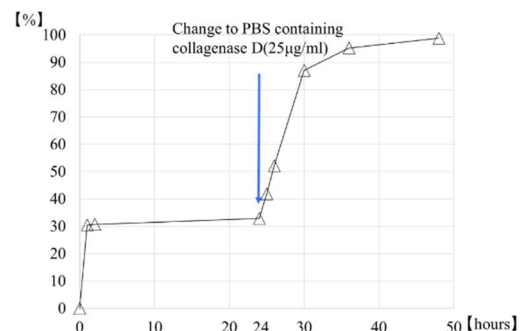
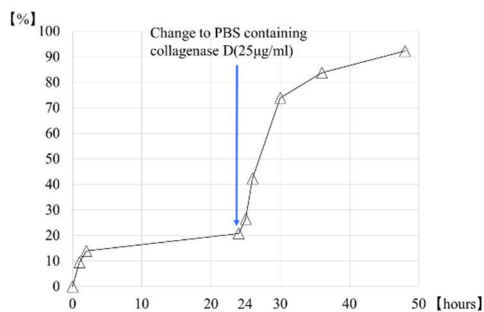
①徐放化抗癌剤を用いた新しい局所治療に関する研究と、②非金属脊椎インプラントの研究開発に関する研究から構成される。

①の実験系は、さらに(a)安全な徐放化抗癌剤の作成(ADM、CDDP)、(b)乳がん、肺がんの骨転移のモデルの作成、(c)徐放化抗癌剤による局所治療の効果に関する実験、(d)徐放化抗癌剤の安全性確認に関する実験に細分化される。また、②の実験系は、(e)骨親和性向上のためのGCIB処理に関する実験、(f)非金属脊椎インプラントのアーチファクト、screwの引き抜き強度に関する実験に細分化する。

4. 研究成果

安全な徐放化抗癌剤の作成(ADM、CDDP)に関する研究

京都大学ウイルス・再生医学研究所生体材料学分野、田畑泰彦教授らは、ゼラチンハイドロゲル微粒子(GM)によるシスプラチン(CDDP)の徐放化に成功している。ゼラチン溶液を脱水熱架橋した後にグルタルアルデヒドにて処理し架橋度を調整したものとCDDPを含侵することで徐放化CDDPを作成するものであった。しかしながら、近年、グルタルアルデヒド自体による生体毒性が報告されていることから、本研究では、生体安全性の高い熱架橋法による徐放化抗癌剤の作成を試みた。徐放化抗癌剤の評価としては、上清タンパクをBCA protein assayによる分解試験と上清の薬物濃度をすることによる徐放化試験を行った。



分解性試験の結果を左図に示す。縦軸が分解された割合、横軸が時間軸です。最初に10～20%の初期放出が起こり、その後はほぼプラトーに達し、その後コラゲナーゼを投与するとすみやかに分解が生じた。経時的な徐放化に成功し最終的に約95%の分解が見られた。

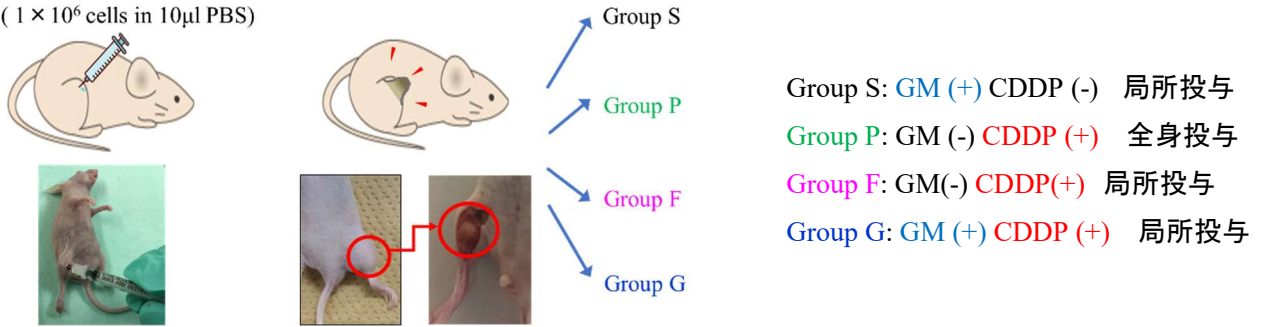
徐放性試験の結果を右図に示す。グラフは分解試験同様に、縦軸が徐放された割合、横軸が時間軸です。最初に30～40%程度ゼラチンと強く結合できなかったと思われるシスプラチンの初期放出が起こり、その後はほぼプラトーに達した。その後コラゲナーゼを投与することで、ゼラチンの分解に伴って薬剤の放出が生じていました。

乳がん、肺がんの骨転移のモデルの作成、

乳癌骨転移モデルを作製した。数の写真のように右脛骨にヒト乳がん細胞MDA-MB-231を 1×10^6 個打ち込んで作製しています。4週間経過すると右下肢が軽度腫脹しており、皮膚切開したのが右下の写真である。腫瘍サイズの評価を行うためにGFPを導入した細胞を使用した。ゼラチンハイドロゲル単独を局所投与したS群、CDDP単独を全身投与したP群、CDDP単独を局所投与したF群、GM-CDDPを局所投与したG群の4群を作製して実験を行った。

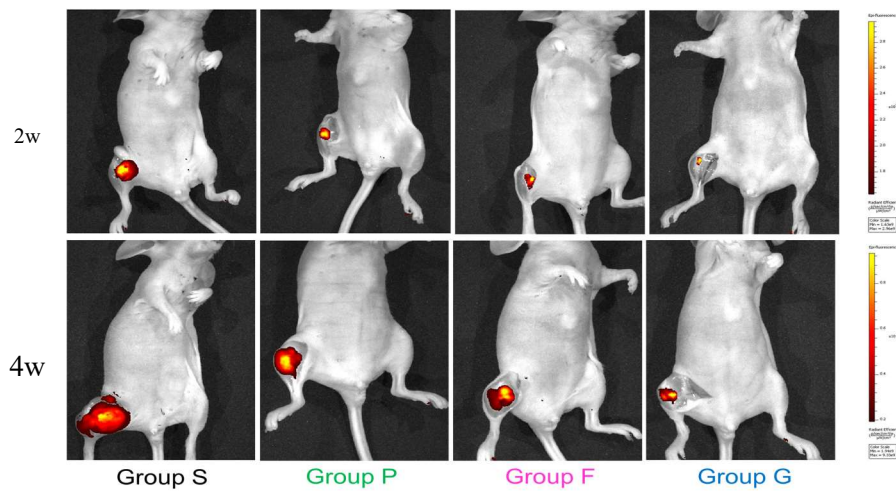
CDDP の容量はヒト治療で一般的に使用される量である 2mg/kg とした。

MDA-MB-231-GFP cells
(1×10^6 cells in 10 μ l PBS)

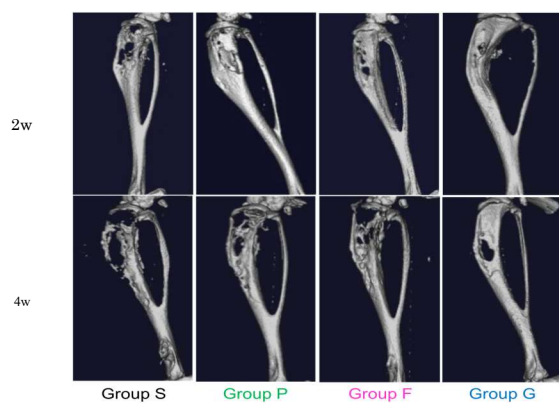


徐放化抗癌剤による局所治療の効果に関する実験

IVIS で撮影した結果をします。腫瘍細胞の GFP をとらえた写真であり、2 週後、4 週後ともに S 群よりも P 群, F 群は光を捉えた領域が狭く、G 群はさらに狭くなっていた。

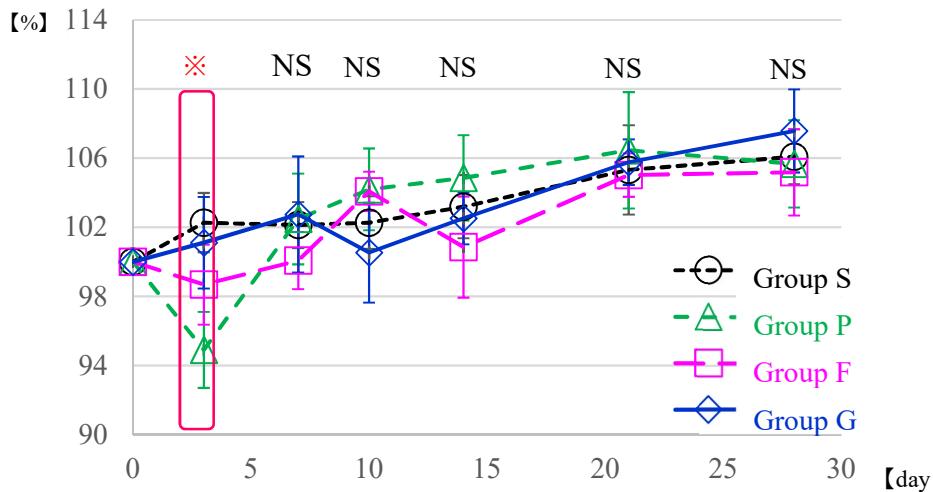


3DCT の結果をします。2 週後、4 週後ともに S 群よりも P 群, F 群は骨融解部分が少なく、G 群はさらに骨融解は抑えられていた。



徐放化抗癌剤の安全性確認に関する実験

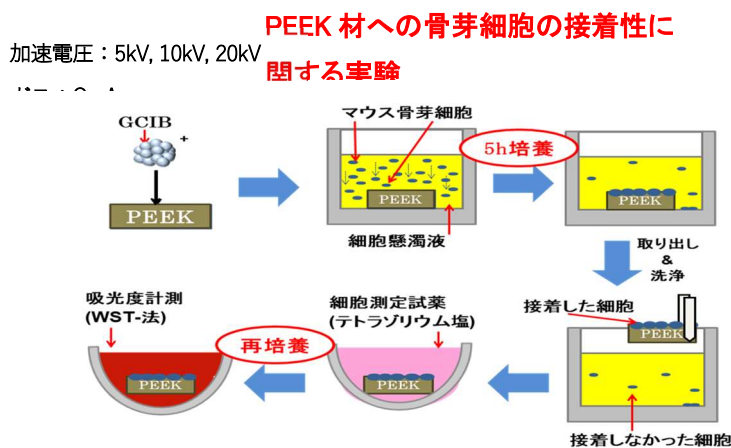
体重変化の結果を下図に示す。横軸が時間経過、縦軸が治療介入開始時の体重からの割合である。治療介入後 3 日の段階で、P 群はその他の群よりも有意に体重減少を生じていたが、その後は群間差を認めなかった。



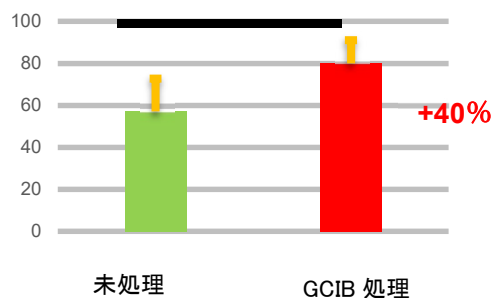
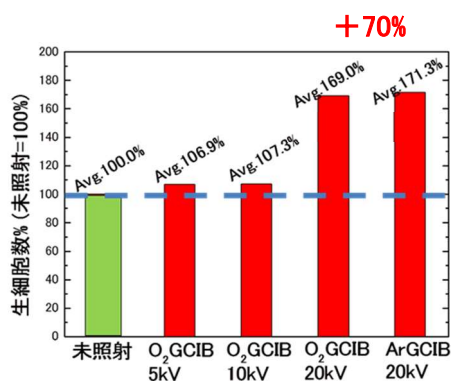
※p < 0.05 Group S, F, G vs P

骨親和性向上のための GCIB 処理および非金属脊椎インプラントのアーチファクト、screw の引き抜き強度に関する実験

PEEK 材に対して GCIB 処理の骨芽細胞接着性に関する実験の方法を下図にします。



接着細胞数に関する結果を下図に示す。加速電圧 20kV、Ar ガス群において有意に PEEK 材への接着細胞数は有意に増加し 70%の接着細胞数の増加を認めた。



PEEK screw の引き抜き強度に関して、上記の ArGCIB 20kV の処理を行った PEEK 製 screw をブタ腰椎に刺入した。3か月後に腰椎を採取しCTを撮影し刺入 screw 長を計測した。Screw 引き抜き強度は、刺入 screw 長によって補正した。

結果を右図に占めず。GCIB 処理した screw の引き抜き強度は有意に上昇し、その上昇率は 40%に上った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kanda Yutaro, Kakutani Kenichiro, Yurube Takashi, Zhang Zhongying, Miyazaki Shingo, Kakiuchi Yuji, Takeoka Yoshiki, Tsujimoto Ryu, Miyazaki Kunihiko, Kawamoto Teruya, Takada Toru, Hoshino Yuichi, Tabata Yasuhiko, Kuroda Ryosuke	4. 巻 39
2. 論文標題 A novel topical treatment for bone metastases using a gelatin hydrogel incorporating cisplatin as a sustained release system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Research	6. 最初と最後の頁 525 ~ 535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24874	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 角谷賢一朗 豊田紀章 長宗高樹 由留部崇 張鍾穎 垣内裕司 武岡由樹 神田裕太郎 辻本龍 宮崎邦彦 宮崎真吾 高田徹 土井田稔 黒田良祐
2. 発表標題 GCIB照射がPEEK製椎弓根スクリューの引き抜き強度に与える影響
3. 学会等名 脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 角谷賢一朗 豊田紀章 長宗高樹 由留部崇 張鍾穎 垣内裕司 武岡由樹 神田裕太郎 辻本龍 宮崎邦彦 宮崎真吾 高田徹 土井田稔 黒田良祐
2. 発表標題 GCIB照射がPEEK製椎弓根スクリューの引き抜き強度に与える影響
3. 学会等名 日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神田裕太郎 ; 角谷賢一朗 ; 由留部崇 ; 張鍾穎 ; 山本潤哉 ; 垣内裕司 ; 武岡由樹 ; 辻本龍 ; 宮崎邦彦 ; 大西洋輝 ; 高田徹 ; 田畑泰彦 ; 黒田良祐
2. 発表標題 がん骨転移局所制御に対する徐放化抗がん剤の有効性と安全性についての検討
3. 学会等名 DDS再生医療研究会
4. 発表年 2020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
研究分担者	豊田 紀章 (toyoda noriaki) (00382276)	兵庫県立大学・工学研究科・教授 (24506)	
研究分担者	張 鍾穎 (chou shouei) (00824195)	神戸大学・医学研究科・医学研究員 (14501)	
研究分担者	由留部 崇 (takashi yurube) (10514648)	神戸大学・医学部附属病院・助教 (14501)	
研究分担者	垣内 裕司 (yuji kakiuchi) (40849212)	神戸大学・医学部附属病院・医員 (14501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------