様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２８ 年　 ５ 月 ３０ 日現在

機関番号：１５３０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2013～2015
課題番号：２５４６２３３５

研究課題名（和文）先端生体材料を用いた転移性骨腫瘍の低侵襲かつ機能温存手術治療法の開発

研究課題名（英文）The effect of the phospho-pullulan cement for the treatment of metastatic bone tumor

研究代表者
篠原　健介（Shinohara, Kensuke）

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：４０６４４３８１

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,800,000円

研究成果の概要（和文）：リン酸化プルランを用いた転移性骨悪性腫瘍治療薬との併用時における有用性について検討した。転移性骨腫瘍の原発巣として頻度の高い乳癌細胞株（ＭＤＡ－ＭＢ231）をヌードマウス大腿骨の遠位果部に24Ｇ針を用いて作成した骨孔に注入し、担癌腫瘍を作成した。これらを、無治療群、抗がん剤単独群、抗がん剤+リン酸化プルラン群、リン酸化プルラン群に分類し、腫瘍抑制効果を継時的に評価した。抗がん剤はドセタキセルを使用した。抗がん剤単独群と抗がん剤+リン酸化プルラン群で腫瘍抑制効果が認められた。以上より、リン酸化プルランは抗がん剤含有セメントとして有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the availability of phosphorylated pullulan using with the therapeutic agents of bone malignant tumor. Breast cancer cell line (MDA-MB231), which is high frequency as the primary focus of metastatic bone tumor, was injected into the bone hole that was created by using a 24G needle to the central condylar of the nude mouse femur.These are divided into four groups, non-treatment group, the anti-cancer agent alone group, the anti-cancer agent + phosphorylated pullulan group, and phosphorylated pullulan group. We evaluated the antitumor effect using IVIS successively. Anti-cancer agent was using docetaxel. The antitumor effect was observed in the anti-cancer agent alone group and the anti-cancer agent + phosphorylated pullulan group. This result showed that the phosphorylated pullulan was suggested to be useful as a containing cement of anticancer agent.

研究分野：脊椎外科学

キーワード：リン酸化プルラン　転移性腫瘍

１．研究開始当初の背景

高齢化社会の到来によりがん患者も増加の一途をたどっている。我が国では、2 人に 1 人が生涯のうちにがんに罹患する。がんに対する治療は、近年の製剤技術の進歩により生命予後を著しく改善した。しかし、末期がん患者は終末期にはほとんどで骨への転移を認め、同部が脆弱性骨折を起こすと外科的加療なしで治癒する事は困難となる。末期患者は手術に耐えられる体力もなく、患者の残された時間はベッド上で過ごす事を余儀なくされ，Quality of life の低下、『寝たきり患者』の増加へとつながる。

近年の転移性骨腫瘍に対する治療には、症状緩和目的に病巣には手を加えない安定性獲得のための姑息的手術から、根治を目指し病巣を摘出するものがある。両者とも外科的侵襲が大きく、全身状態の低下した患者では手術を選択できないことがある。低侵襲でかつ効果的な治療の開発は、多くの外科医が待ち望んでおり、患者には高い Quality of life を与えることとなる。

　そこで、申請者らは独自に有する先端材料をこれらの治療に使用を目指し、細胞移植の scaffold もしくはドラッグデリバリーの担体として使用可能な材料を創製すべく多糖誘導体であるリン酸化プルラン（図１）を創製（特願 2010-036350）した。本材は，アパタイト吸着能と抗菌薬、抗腫瘍薬、成長因子などの薬剤徐放能を有し，骨組織用ドラッグデリバリーシステムの担体として機能する。

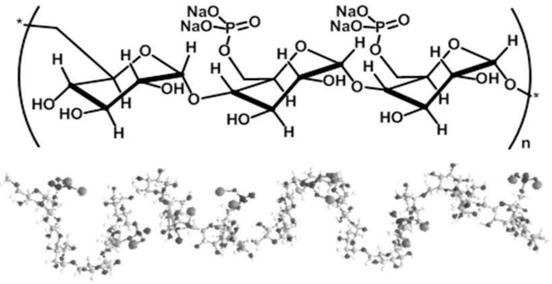

図 1.　多糖複合体リン酸化プルラン

本研究では，これらの先端材料や技術を用いて，転移性骨悪性腫瘍の治療を開発する。また、現在本邦では薬剤含有骨セメントはなく、このシーズを用いて本邦初の薬剤含有骨セメントの実用化も視野にいれ検証する。

２．研究の目的

先端医療機器産業の育成は、新成長戦略として政府が進めているが、残念ながら医療研究現場から臨床現場へと繋がるものは非常に少ない。そこで岡山大学では開発現場の抱える問題点を考慮し新規生体材料である多糖誘導体リン酸化プルランを創製し多方面にわたる医療用途へ展開してきた。

本研究では、リン酸化プルランの持つドラッグデリバリーシステムを利用し、転移性骨腫瘍に対し脊椎機能を温存した新たな治療法を開発し、日本発の抗腫瘍薬含有骨セメントの実用化を目指す。

３．研究の方法

リン酸化プルランを用いて、転移性骨悪性腫瘍治療における有用性を検討する。

①In vitro において、抗腫瘍薬の徐放特性を調べ、さらに徐放液の上皮系悪性細胞への作用を検討する。ドセタキセルを 1.25μM, 0.125, 0.0125, 0.00125μM の濃度での抗腫瘍効果を検討した。

②In vivo においてマウス転移性骨悪性腫瘍モデルを作製し、抗腫瘍薬含有リン酸化プルランでの抗腫瘍効果について検討する。

４．研究成果

①リン酸化プルラン内での抗腫瘍薬の動態

抗腫瘍薬含有させたリン酸化プルランを硬化させ経時的に薬物濃度を測定した。次に、ルシフェラーゼ発現細胞乳癌細胞株(MDA-MB-231-luc)を用いて、in vitro において、抗腫瘍薬の徐放特性を調べ、さらに徐放液の乳癌細胞株への作用を検討し、濃度依存性に抗腫瘍効果を認めた。またリン酸化プルラン混合液下での腫瘍細胞の増殖能の影響を検討したところ、0.5%以下の濃度において細胞増殖に影響が無かった。

②リン酸化プルランを用いた抗腫瘍効果

　マウスで転移性骨悪性腫瘍モデルを作製し、抗腫瘍薬含有リン酸化プルランでの抗腫瘍効果を検討した。ルシフェラーゼ発現細胞乳癌細胞株(MDA-MB-231-luc)を用いて、ヌードマウス大腿骨に担癌腫瘍を作成し、(1)無治療群、(2)抗がん剤単独群、(3)抗がん剤＋リン酸化プルラン群で腫瘍抑制効果を経時的に IVIS で評価した。

(1)群と比較して(2),(3)群で腫瘍抑制効果を認めた（図 2)。

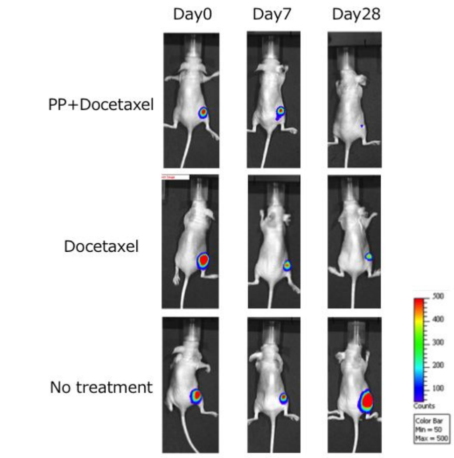

図 2.In vivo imaging system（IVIS）

特に、プルランと抗がん剤併用群において、腫瘍組織の壊死と、新生骨組織の増生を認めた（図 3）

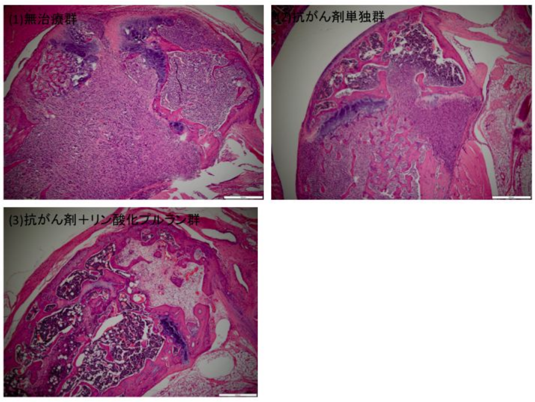

図 3.病理組織所見（HE 染色）

本研究において、リン酸化プルランは転移性骨腫瘍の治療において、抗がん剤含有セメントとして有用である可能性が示された。

本研究に用いる多糖誘導体は、申請者らが開発した多糖であるため国内外の他の研究機関は所有していない極めて新規性の高い生体材料である。今回、開発を試みる骨セメントは、この多糖誘導体を主成分としており、独創性の高い研究開発である。本材は、整形外科領域で骨セメントの基材として用いられてきたポリメチルメタクリレート（PMMA）に比べて発熱や生体への為害作用が少なく、さらに，生体内で吸収されるため、異物として体内に残存することがない。また、リン酸カルシウム骨セメントに比べて著しく高い骨への接着性を有する。このように、本骨セメントは従来の骨セメントに代わる医用材料であり、優れたドラッグデリバリー機能を有するため、がん治療への応用など、学術的および臨床的意義も極めて大きい。今後も現在の実験モデルを継続しつつ骨セメントとしてリン酸化プルランがもっとも有効に作用する条件を検討していく予定である。

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）

1. Takahata T, Okihara T, Yoshida Y, Yoshihara K, Shiozaki Y, Yoshida A, Yamane K, Watanabe N, Yoshimura M, Nakamura M, Irie M, Van Meerbeek B, Tanaka M, Ozaki T, Matsukawa A. Bone engineering by phosphorylated-pullulan and β-TCP composite. Biomed Mater. 2015 Nov 20;10(6):065009. 査読有

〔学会発表〕（計　2 件）

1. 渡邉典行、山根健太郎、香川洋平、篠原健介、張偉、吉田晶、松川昭博、吉田靖弘、田中雅人、尾崎敏文
多糖複合体リン酸化プルランを用いた抗菌薬含有骨セメントの開発
第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会
（2015.10.22~23）富山国際会議場（富山市）

2. 渡邉典行、山根健太郎、香川洋平、篠原健介、張偉、吉田晶、松川昭博、吉田靖弘、田中雅人、尾崎敏文
多糖複合体リン酸化プルランを用いた抗菌薬含有骨セメントの開発
第 35 回整形外科バイオマテリアル研究会
（2015.12.12）ソラシティカンファレンスセンター（東京都千代田区）

〔図書〕（計　0 件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計　0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計　0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
岡山大学病院整形外科　脊椎・脊髄グループ
http://www.onitaiji.com/spine/

６．研究組織
(1)研究代表者
篠原　健介（SHINOHARA KENSUKE）
岡山大学・医学部・客員研究員
研究者番号：40644381

(2)研究分担者
尾崎　敏文（OZAKI TOSHIFUMI）
岡山大学・医歯（薬）学総合研究科・教授
研究者番号：40294459

松川　昭博（MATSUKAWA AKIHIRO）
岡山大学・医歯（薬）学総合研究科・教授
研究者番号：90264283

(3)連携研究者

（　　　）

研究者番号：