

令和 6 年 4 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15568

研究課題名(和文) 腫瘍溶解性ウイルスとカーボンナノチューブの組み合わせによる悪性腫瘍治療戦略

研究課題名(英文) Malignant tumor treatment strategy using a combination of oncolytic virus and carbon nanotubes

研究代表者

作田 智彦 (Sakuda, Tomohiko)

広島大学・病院(医)・助教

研究者番号：60878289

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：VSVによる腫瘍溶解効果とCarbon nanotubes (CNT) による光温熱療法を組み合わせによる骨肉腫に対する腫瘍殺傷効果を調べた。In vivoで骨肉腫マウスモデルを作成し、VSV及びCNT溶液を局注して近赤外線レーザーを1日あたり5分間、連続6日間照射し、腫瘍を辺縁切除して腫瘍体積及び局所再発を確認した。これによりVSV単独もしくはCNT単独治療と比較して原発巣腫瘍体積は縮小し、局所再発率は低下した。VSVによる腫瘍溶解効果とCNTによる光温熱療法を組み合わせは原発巣縮小をもたらし、さらに辺縁切除での局所再発の減少に寄与する可能性があることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨肉腫に対する手術、なるべく低侵襲で患肢の機能を温存する治療が望まれるが、組織の温存範囲が大きくなるほど腫瘍細胞の残存による再発が懸念され、治療の侵襲性と根治性との間にはトレードオフの関係が存在する。本研究結果より腫瘍原発巣の完全根治と高い患肢機能温存(低侵襲手術)の両立を実現できる可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the tumor killing effect on osteosarcoma by combining the oncolytic effect of VSV and photothermal therapy using carbon nanotubes (CNT). Create an in vivo osteosarcoma mouse model, locally inject VSV and CNT solution, irradiate with near-infrared laser for 5 minutes per day for 6 consecutive days, remove the tumor margins, and confirm tumor volume and local recurrence. This reduced the primary tumor volume and lowered the local recurrence rate compared to VSV or CNT treatment alone. It was shown that the combination of the oncolytic effect of VSV and the photothermal therapy of CNTs led to the shrinkage of the primary tumor and may further contribute to the reduction of local recurrence after marginal resection.

研究分野：骨肉腫

キーワード：腫瘍溶解性ウイルス 水疱性口内炎ウイルス カーボンナノチューブ 光温熱療法 骨肉腫 悪性腫瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

骨肉腫の標準治療は手術であり、手術の前後に化学療法を行われるが、この治療に対する抵抗性により化学療法が無効になる症例がしばしば存在する。悪性骨軟部腫瘍の切除は周囲の正常組織とともに広範囲に一括切除する広範切除が一般的であるが、化学療法抵抗性の症例ではより広い切除断端が必要となるため、機能的能力の低下に関する懸念が生じる。したがって、手術前に腫瘍制御を達成できる別の治療オプション開発は骨肉腫治療の課題の1つである。これまで我々は腫瘍溶解性ウイルス Vesicular stomatitis virus (VSV) を用いた骨肉腫治療の研究を行ってきたが、VSV 単独の投与では腫瘍の消失には至らなかった。そこで我々はカーボンナノチューブ (CNT) の光温度効果に着目し、その効果のさらなる向上を目指しました。

## 2. 研究の目的

VSV の腫瘍溶解効果と CNT の温熱療法効果を組み合わせによる骨肉腫への抗腫瘍効果を評価し、さらにこれにより、腫瘍辺縁切除による局所再発を減じることができるか評価すること。

## 3. 研究の方法

### (1) CNT 溶液の光温熱特性の評価

単層性カーボンナノチューブ (CNT) 及びドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 溶液を混合して種々の濃度の CNT 溶液を作成し、波長 808nm の近赤外線レーザーを照射した際の CNT 溶液の温度変化を経時的に測定した。

### (2) CNT の in vitro での光温熱療法効果 (細胞毒性評価)

マウス骨肉腫細胞 LM8 にカーボンナノチューブ溶液を加え、光温熱療法を行い、細胞毒性を評価した。

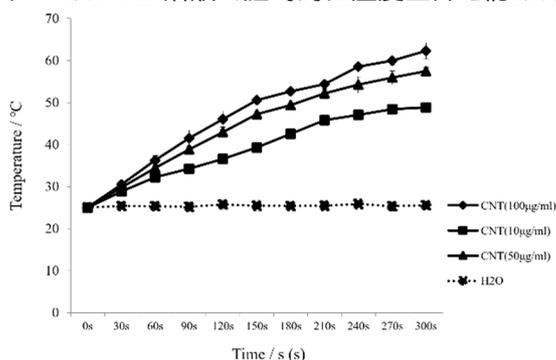
### (3) in vivo での VSV による腫瘍溶解効果と CNT の光温熱療法組み合わせの評価

VSV による腫瘍溶解効果と Carbon nanotubes (CNT) による光温熱療法を組み合わせによる骨肉腫に対する腫瘍殺傷効果を調べた (VSV + CNT 群)。In vivo で 6 週齢 C3H マウスの背部にマウス骨肉腫細胞 LM8 ( $1 \times 10^7$  cells) を移植し (day0)、骨肉腫マウスモデルを作成した。LM8 移植後 1 週間 (day7) に VSV 及び CNT 溶液を局注してその翌日 (day 8) より近赤外線レーザーを 1 日あたり 5 分間、連続 6 日間照射し、その後 (day14) 腫瘍を辺縁切除して腫瘍体積及びマウス死亡後の局所再発、遠隔転移、生存期間を確認した。比較対象として VSV 単独注射群 (VSV 群)、CNT による光温熱療法単独群 (CNT 群)、未治療群でも腫瘍体積、局所再発、遠隔転移、生存期間を評価した。

## 4. 研究成果

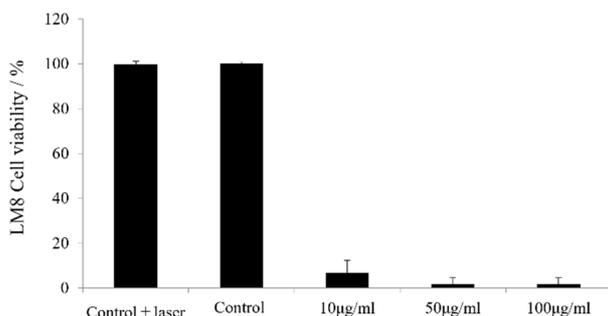
### (1) CNT 溶液の光熱特性

すべての CNT 溶液で経時的に温度上昇を認めた



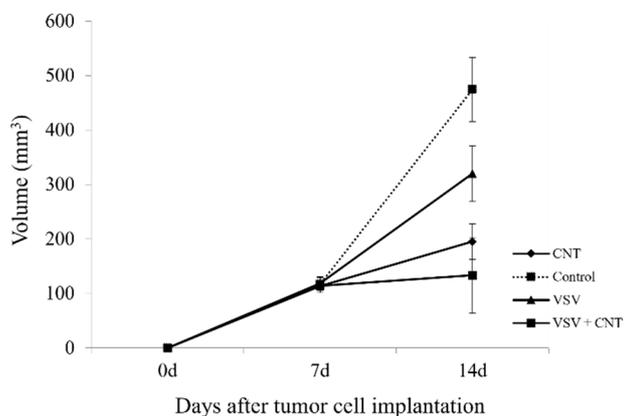
## (2) CNT の in vitro での光温熱療法効果(細胞毒性)

In vitro では高肺転移性マウス骨肉腫細胞 LM8 に CNT 溶液を混合して近赤外線レーザーを照射した際の腫瘍細胞殺傷効果を顕微鏡下及び WST-8 assay にて評価したところ、低濃度の CNT 溶液を混合した場合においてもほぼすべての腫瘍細胞の殺傷効果を認めた。



## (3) in vivo での VSV による腫瘍溶解効果と CNT の光温熱療法組み合わせの評価

腫瘍体積については VSV + CNT 群は他の 3 群と比較して腫瘍体積は小さい傾向にあった。局所再発については VSV + CNT 群に局所再発例はなかった。遠隔転移と生存期間については 4 群間で有意差はなかった。



局所再発	あり	なし
VSV	2	4
CNT	2	4
VSV + CNTs	0	6
Control	3	3

VSV による腫瘍溶解効果と CNT による光温熱療法を組み合わせは原発巣縮小をもたらし、さらに辺縁切除での局所再発の減少に寄与する可能性があることが示された。

つまり結論として、VSV と CNT 光熱療法の抗腫瘍効果の組み合わせは、原発腫瘍の治療に非常に効果的である可能性があり、四肢の機能を維持するのに非常に役立つ可能性があることが示唆された。

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 SAKUDA TOMOHIKO, ODA AKIHIRO, FURUTA TAISUKE, JOHAN MUHAMMAD PHETRUS, SAKAGUCHI TAKEMASA, ADACHI NOBUO	4. 巻 44
2. 論文標題 Synergistic VSV Virotherapy and Carbon Nanotube Photothermal Therapy for Osteosarcoma in Murine Models	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 99 ~ 105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.16792	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 作田智彦、久保忠彦、古田太輔、安達伸生
2. 発表標題 カーボンナノチューブを用いた光温熱療法による骨肉腫に対する抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 作田智彦、久保忠彦、古田太輔、吉岡紘輝 安達伸生
2. 発表標題 カーボンナノチューブを用いた光温熱療法による骨肉腫に対する抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第56回日本整形外科骨・軟部腫瘍学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 作田智彦、古田太輔、吉岡紘輝、小田祥大、安達伸生
2. 発表標題 腫瘍溶解性ウイルスVSVによるウイルス療法とカーボンナノチューブを用いた光温熱療法の組み合わせによる局所治療戦略
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2023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
研究協力者	安達 伸生  (Adachi Nobuo)  (30294383)	広島大学・医系科学研究科・教授   (15401)	
研究協力者	古田 太輔  (Furuta Taisuke)  (30781645)	広島大学・医系科学研究科・助教   (15401)	
研究協力者	坂口 剛正  (Sakaguchi Takemasa)  (70196070)	広島大学・医系科学研究科・教授   (15401)	

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
---------	---------