

2024年8月8日

新潟大学
岡山大学

重粒子線照射が口腔がん 3 次元モデルに与える 細胞生物学的影響を解明

－ 異種放射線治療評価の標準化システムの構築 －

新潟大学大学院医歯学総合研究科生体組織再生工学分野の泉健次教授、同顎顔面口腔外科学分野の内藤絵里子歯科医師と、岡山大学中性子医療研究センターの井川和代准教授（特任）の研究グループは、量子科学技術研究開発機構の下川卓志グループリーダー、濱野毅次長との連携により、重粒子線（炭素線）照射がヒト口腔がんと口腔粘膜 3 次元インビトロモデル（3D モデル（※1））に与える細胞生物学的影響を明らかにしました。

本研究成果は、2024 年 8 月 7 日、国際学術誌「In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal」に掲載されました。

【本研究成果のポイント】

- 世界をリードする日本の粒子線がん治療（※2）のさらなる発展には、生体に発生するがんを効果的に再現した有用な生物学的評価モデルの確立が望まれています。
- 3 次元培養は 2 次元培養よりも生体内の細胞の状態に近いため生体内環境を再現した環境の確立に適しており、本研究グループはこれまで口腔がんや口腔粘膜の 3D モデルを構築してきました。
- 本研究では重粒子線（炭素線）照射が口腔がん組織に与える細胞増殖や細胞死などに関する生物学的影響を、3D モデルを用いて評価することに成功しました。
- この知見は、様々ながん放射線治療評価システムの標準化へつながることが期待されます。

1. 研究の背景

がん放射線治療の技術的進歩が目覚ましい中で、粒子線治療の有用性は X 線による放射線治療に比べて治療回数を減らすことができ、治療効果の増強または維持しつつ、周囲正常組織への副作用を明らかに低減できる点にあります。つまり、患者の治療期間/入院期間が短くて済み、早期社会復帰が可能になります。これからのがん治療において、難治性のがん治療に対してだ

けでなく、高齢患者への治療、あるいは臓器組織の機能温存療法など患者に優しい治療として、治療の選択肢を広げる最先端のがん治療法として期待されています。

がんの放射線照射による細胞生物学評価では、平面培養細胞を用いた *in vitro* 実験系（※3）や担がん動物を用いた *in vivo* 実験系（※3）が用いられてきましたが、平面培養では細胞同士の立体的位置関係が欠如し、腫瘍細胞の移植により作製された担がん動物では、実際のヒトがん組織の生体内環境とは大きく異なることにより、どちらの評価系もヒト臨床試験の結果と大きな乖離があることが問題視されていました。そのために、生体に発生するがんを効果的に再現した有用な生物学的評価法の確立が望まれていました。

3次元細胞培養技術を駆使した 3D モデルはヒト組織の生理学的環境を忠実に再現でき、細胞を *in vitro* で扱いながら *in vivo* 環境を反映した結果を得ることが可能で、両者の実験成果のギャップを解消できると研究ツールとして評価が高まっています。本研究では 3D 口腔がんモデルに重粒子線（炭素線）照射を行い、本モデルが新たな放射線治療評価法として利用可能であることを検証しました。

II. 研究の概要と成果

本研究では、ヒト 3D 口腔がんモデルとして、悪性度の異なる 2 種類のヒト口腔がん細胞を用いました。それに加え、ヒト正常口腔粘膜上皮細胞を用いた 3D 口腔粘膜モデルに対しても検討を行いました。口腔粘膜の正常線維芽細胞をコラーゲンに混ぜて口腔粘膜下の結合組織（※4）を模したゲルの上にこれらの細胞を播いて、モデル作製途中から空気に晒して培養を続けます。合計 18 日間かけて完成させるこのモデルの最大の特徴（図 1）はヒト口腔がん組織と同様に、がん細胞が表面（口腔内）からではなく、ゲルを通して下面から栄養される立体的構造となっていることです。

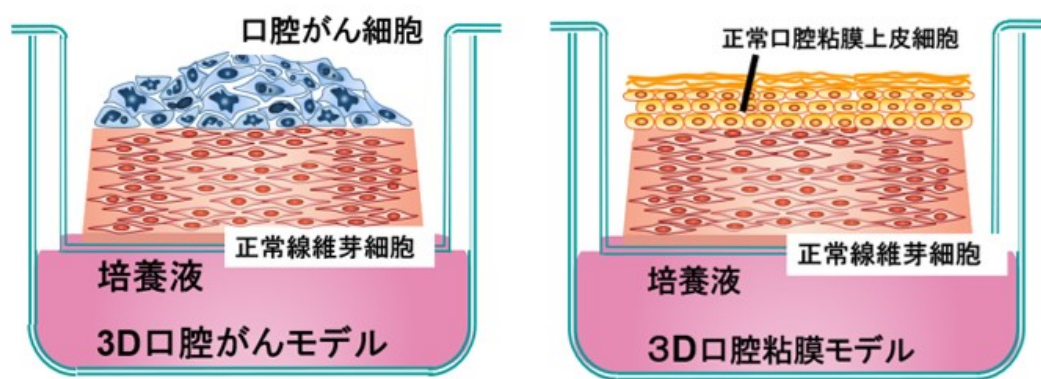


図 1 3D 口腔がんモデルと 3D 口腔粘膜モデルの模式図を示す。

完成したモデルを量子科学技術研究開発機構、重粒子線がん治療装置 HIMAC の実験専用照射室に持参し、モデルの容器ごと照射室の専用レーンに設置（図 2）し、10Gy と 20Gy の炭素線を単回照射後に当研究室に持ち帰り、継続して培養を続けます（図 3）。本研究では照射後 3 日、5 日、7 日後にモデルの観察を行いました。

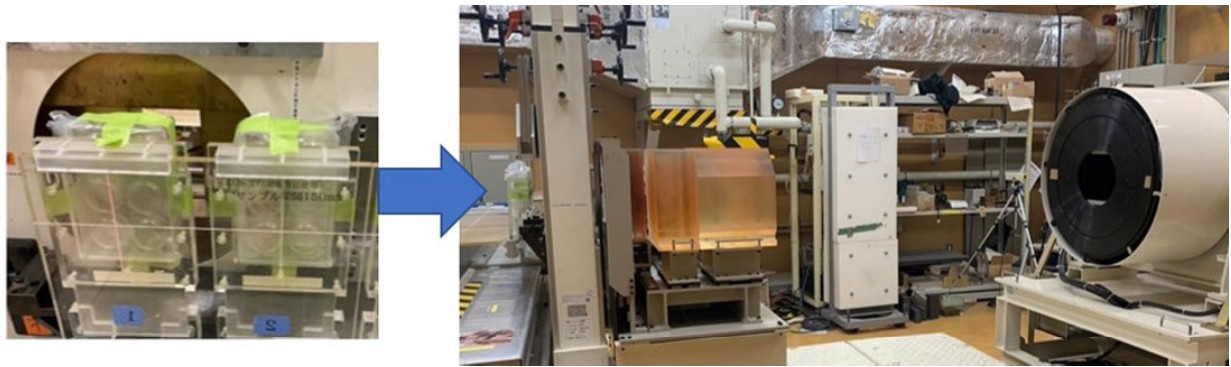


図2 量子科学技術研究開発機構に持参した3Dモデルを炭素線照射室に設置した様子。

本研究では照射した3D口腔がんモデルと3D口腔粘膜モデルに対して、光学顕微鏡を用いた病理組織学的観察に加え、細胞増殖やアポトーシス（※5）を含む細胞死に関連するマーカーの染色、定量評価、培地中に分泌される特殊なたんぱく質濃度の測定を実施しました。いずれの分析方法も放射線治療評価法として利用可能であることを実証することができました。

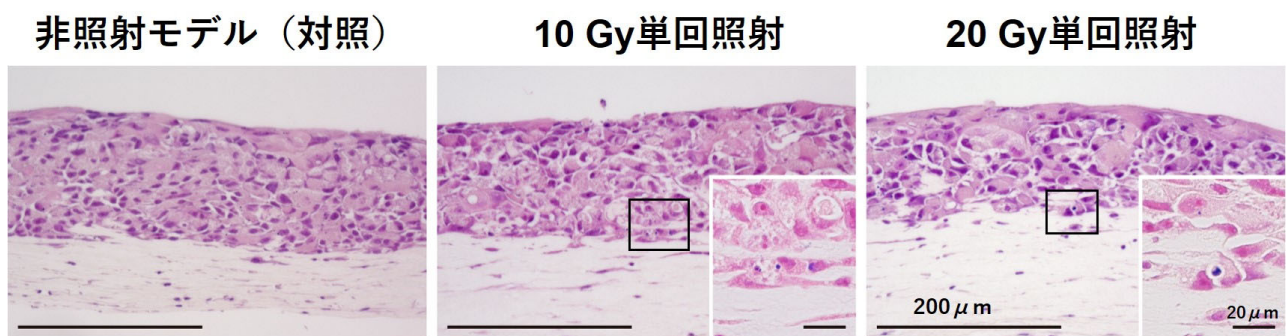


図3 炭素線（10Gy、20Gy）照射後5日目の3D口腔がんモデルの病理組織像。右下挿入の高倍率写真は、照射の影響によるアポトーシス（細胞死）を引き起こした細胞を示す。

III. 今後の展開

本研究で、3D口腔がんモデルに対して実施した解析方法は、*in vitro*と*in vivo*の実験系のギャップを埋めることのできる放射線治療評価法として十分な利用価値があることが実証されたことから、炭素線のみならず他の放射線治療施設でも利用可能であり、異種放射線治療効果を同じテーブルで比較するツールとして利用されることが期待されます。同時に、本評価系は動物実験代替法として優れたツールになり得ます。

今回、3D口腔粘膜モデルへの照射も可能であったので、正常口腔粘膜への副作用の評価も可能となり、本モデルの適用範囲も拡大していくことが望めます。今後は本モデルに血管や免疫系の細胞を組み込み、3Dモデルとして進化させて生体環境にさらに近づくことで、がん放射線治療評価に一層貢献することが可能となります。

IV. 研究成果の公表

本研究成果は、2024年8月7日、国際学術誌「In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal」に掲載されました。

【論文タイトル】 The effects of carbon-ion beam irradiation on three dimensional in vitro models of normal oral mucosa and oral cancer: Development of a novel tool to evaluate cancer therapy

【著者】 内藤絵里子、井川和代、高田翔、羽賀健太、Yorchan Witsanu、Orakarn Suebsamarn、小林亮太、山崎学、田沼順一、濱野毅、下川卓志、富原圭、泉健次

【doi】 10.1007/s11626-024-00958-4

V. 研究成果の公表

本研究は、JSPS 科研費（23K11918）などの助成を受けて行われました。

【用語解説】

※1 3D モデル

従来から用いられている培養皿上で細胞を単層培養する 2 次元（2D）培養に対して、縦方向の厚みをもたせて細胞を培養する手法を 3 次元（3D）培養といい、ヒトの細胞を用いて立体的に細胞培養してヒト組織を模倣した構造体をモデルといいます。

※2 粒子線がん治療

X 線と異なり、加速した粒子がからだの中をある程度進んでから停止直前に急激に高いエネルギーを周囲に与えるという性質があり、その性質を利用してがん病巣部周囲のみに高いエネルギーが与えられるので、X 線治療と比較するとがん病巣部により高い量の放射線を照射することができます。陽子線や中性子線などがあります。本研究で用いた炭素線（重粒子線）は陽子より 12 倍重い炭素粒子を用いているため、線量集中性と生物効果の両面において、がん治療に適した性質を有しています。

※3 *in vitro* 実験系, *in vivo* 実験系

in vitro とは細胞生物学の実験などにおいて、細胞培養容器内などにおいて実験条件が人為的にコントロールされた環境を意味し、*in vivo* は“生体内で（の）”という意味で、生きた動物などの生体内や細胞内を指し、そうした環境で行う実験のことを指します。

※4 結合組織

口腔粘膜や皮膚において、上皮細胞層（いわゆる皮）の下層にある血管や神経が通っている組織。ベッドに例えると上皮細胞層（口腔がんもここに発生する）はシーツに該当し、結合組織はマットレスに相当する。

※5 アポトーシス

遺伝子制御された能動的な細胞死であり、がん治療においてはアポトーシスによる細胞死誘導が理想とされ、その過程に活性酸素・フリーラジカルが関与するとされ、本研究でも炭素線による細胞死の原因であることが示唆された。

本件に関するお問い合わせ先

【研究に関すること】

新潟大学大学院医歯学総合研究科（歯学系）生体組織再生工学分野

教授 泉 健次（いずみ けんじ）

E-mail : izumik@dent.niigata-u.ac.jp

岡山大学中性子医療研究センター

准教授（特任） 井川 和代（いがわ かずよ）

【広報担当】

新潟大学広報事務室

Tel : 025-262-7000

E-mail : pr-office@adm.niigata-u.ac.jp

岡山大学総務・企画部広報課