

令和 3 年 6 月 19 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11850

研究課題名(和文) ラマン分光法を用いた新たな早期口腔癌診断システムの開発

研究課題名(英文) Development of a new early stage oral cancer diagnosis system using Raman spectroscopy

研究代表者

松末 友美子 (Matsusue, Yumiko)

奈良県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：60571007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ラット舌発癌モデルにおいて癌発生過程に生じる病変の分子組成および分子構造をラマン分光法によって *in situ* にて解析し、病変の進行にともなう変化を明らかにすることである。ラット舌粘膜の変化に伴い、ラマン分光法による主成分分析において特徴的なスペクトル変化が示された。これらの変化は、病理組織学的および免疫組織化学的評価と一定の相関を認めた。以上より、ラマン分光法は、侵襲の少ない早期口腔癌診断システムの開発に応用できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、早期の口腔癌を非侵襲で診断できる光バイオプシーシステムを用いた新たな診断システムを開発することである。高性能な蛍光顕微鏡と蛍光蛋白質を利用した遺伝子工学技術を駆使した分子イメージングは、生体分子の機能を明らかにする反面、標識による本来の分子機能消失や、蛋白質以外の低分子化合物などを標識が困難であるなどの欠点がある。臨床においては癌細胞と正常細胞を傷つけることなく非侵襲で、迅速かつ確実に両者を区別し、診断につなげることが求められる。無染色・無標識で分子を見るためにラマン分光法を用いて、新たな診断システムを日常臨床に応用し、口腔癌の無侵襲・低侵襲な診断を目指そうとしている。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to analyze the molecular composition and structure of lesions that occur during cancer development in a rat tongue carcinogenesis model *in situ* by Raman spectroscopy, and to clarify the changes that accompany the progression of lesions. Along with the changes in the rat tongue mucosa, characteristic spectral changes were shown in the principal component analysis by Raman spectroscopy. These changes were consistently correlated with histopathological and immunohistochemical assessments. From the above, it was suggested that Raman spectroscopy may be applicable to the development of a less invasive early oral cancer diagnostic system.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔癌 光バイオプシー ラマン分光法 早期診断

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国においては、高齢社会の到来とともに癌罹患患者数は増加しており、口腔癌も同様に増加傾向を示している。口腔癌は、舌、口底、頬粘膜、上顎歯肉、下顎歯肉、硬口蓋などの解剖学的構造の異なった部位に発生するために、癌の病態や進行様式は各部位によって様々である。そのため治療法も各部位によって大きく異なる。口腔癌の外科的切除は咀嚼および摂食・嚥下、発音などの機能面ならびに顎顔面領域の整容面に及ぼす影響も大きい。従って、術後の患者の QOL を重視した治療体系が望まれ、欠損部位については再建や、その後の顎補綴も考慮した外科的療法を選択する必要がある。いずれにせよ、手術の侵襲を最小限にするためには、疾患の早期発見と早期診断、早期治療が不可欠であることは言うまでもない。

口腔癌の診断の検査には、CT や MRI、超音波検査などの画像検査に加えて、細胞診や生検術による病理検査が用いられている。細胞診や生検術は確実な診断ができるが患者への侵襲が加わる検査である。医療現場では患者に対しての負担がより少ない医療技術が注目され、わが国では内視鏡や腹腔鏡などを用いた低侵襲治療法の研究が進んでいる。近年、光を用いた生体の非侵襲的分析法である光バイオプシーが注目されている。光バイオプシー技術において、光と分子の相互作用を利用して、細胞や組織などの生体内分子が持つ機能やそのダイナミクスを可視化する光イメージング技術・分光計測技術は医学・生物学分野において重要であると思われる。特に非線形光学効果やラマン散乱という物理現象は、分子を標識することなくイメージングすることが可能である。ラマン分光法は振動分光の一種で、物質に光を照射し分子の振動スペクトルを与え、分子構造と化学結合の情報を得ることが可能である。本研究の目的はラマン分光法を用いて、モデルラットの癌発生過程に生じる病変の分子組成および分子構造を *in situ* にて解析し、病変の進行にともなう変化を定量的に評価し、病理組織学的、免疫組織化学的变化との関連について明らかにすることである。本研究の成果はヒト口腔癌を低侵襲で早期に発見することができる高感度ラマン分光イメージングシステムの開発につながることを期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ラット舌癌モデルにおいて癌発生過程に生じる病変の分子組成および分子構造をラマン分光法によって *in situ* にて解析し、病変の進行にともなうこれらの変化を定量的に評価し、病理組織学的、免疫組織化学的变化との関連について明らかにすることである。本研究の成果は、ヒト口腔癌を低侵襲で早期に発見することができる高感度ラマン分光イメージングシステムの開発に発展させることが期待される。

3. 研究の方法

ラット舌癌発生過程に生じる病変をラマン分光法によって *in situ* で解析し、病変の進行に伴う分子組成および分子構造の変化を明らかにするため、以下の研究を計画した。

発癌剤 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) によるラット舌癌モデルを用いて発癌過程に生じる病変を作成する。

4-NQO によって生じた病変をラマン分光法により *in situ* で解析する。

ラマン分光法により解析したラットの舌粘膜および病変を病理組織学的、免疫組織化学的に評価する。

ラマン分光法で観察された分子組成および分子構造の変化との関係について解析する。

4 . 研究成果

口腔癌発生モデルとして 4-NQO を用いたラット舌発癌モデルを作製し、ラットの舌扁平上皮に、過形成、異形成を経て扁平上皮癌を発生させた。早期癌発生までの各過程における、肉眼的変化を観察し、さらに各過程における病理組織学的変化および免疫組織学的変化を観察するために、HE 染色および免疫染色 (p53、Ki63、CK13、CK17) を行った。ラマン分光法により得られた組織切片のハイパースペクトルラマンイメージングにおいて、主成分 1 の高いスコア値を示す部分は HE 染色画像で青紫色に染まる部分、すなわち細胞核の分子局在と類似していた。主成分分析において、主成分 1 には DNA タンパク質、脂質等の生体成分の変動を反映している

が、Control 群、4-NQO 群に著明な相違はみられなかった。Control 群、4-NQO 群の相違は主成分 3 のフェニルアラニン C-H 変角振動で確認でき、これはケラチンやコラーゲンタンパクの成分の変動に起因していると考えられた。肉眼的、病理組織学的、免疫組織学的評価とラマン分光法にて得られた結果は一定の相関を認めた。

以上より、ラマン分光法により得られたがん組織のハイパースペクトルラマンデータは判別分析や定量解析へ応用できる可能性を示すことができ、口腔癌の新しい診断方法の技術の開発につながると示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Tsuyoshi Tanioka, Hiroko Matsuyoshi, Christian W. Huck and Hidetoshi Sato
2. 発表標題 Development of Stable Spectral Processing Technique for Biomedical Raman Imaging Analysis
3. 学会等名 SciX 2019 Conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松末友美子、山本一彦、松吉ひろ子、谷岡剛吏、佐藤英俊、桐田忠昭
2. 発表標題 ラマン分光法を用いた新たな早期口腔癌診断システムの開発
3. 学会等名 第74回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松末友美子、山本一彦、松吉ひろ子、佐藤英俊、桐田忠昭
2. 発表標題 ラマン分光法を用いた新たな早期口腔癌診断システムの開発
3. 学会等名 第65回日本口腔外科学会総会・学術大会
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	松吉 ひろ子 (Matsuyoshi Hiroko) (10448772)	岐阜医療科学大学・保健科学部・准教授 (33708)	

6. 研究組織（つづき）

	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	山本 一彦 (Yamamoto Kazuhiko) (20243842)	奈良県立医科大学・医学部・研究員 (24601)	

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