

## 論 文 要 旨

氏 名	池田 礼子
タイトル (日英併記)	<b>Fabrication of a Three-Dimensional Spheroid Culture System for Oral Squamous Cell Carcinomas Using a Microfabricated Device</b> (微細加工デバイスを用いた口腔扁平上皮癌 3 次元スフェロイド培養システムの確立)
論文の要旨	
<p>口腔癌は罹患数・死亡数ともに年々増加しており、より効果的な治療法の確立が喫緊の課題である。近年、自己複製能をもつがん幹細胞 (CSC) が再腫瘍の病態に寄与する可能性が報告されている。再発や転移に関与することから CSC を標的とした治療法は、がんの新たな治療戦略の一つとして注目されている。したがって、CSC を大量かつ簡便に作成できるフォーマットの開発が必要である。</p> <p>従来の 2 次元条件下で培養した細胞は、組織環境が生体内と大きく乖離しており、抗がん剤に対する感受性や増殖様式が異なると考えられる。そこで本研究では、細胞同士が凝集した球状の細胞集合体であるスフェロイドを作製可能なデバイスを用いて、癌組織の環境と類似した口腔扁平上皮癌の 3 次元培養をおこない、その特性について 2 次元培養法と比較検証することを目的とした。</p> <p>ヒト舌扁平上皮がん細胞株 (HSC-3) およびヒト歯肉扁平上皮がん細胞株 (Ca9-22) をポリエチレングリコール処理により培養表面に非接着処理を施したマイクロウェルデバイスに播種し、スフェロイドを作製した。デバイス内に播種した口腔がん細胞は、速やかに凝集し、スフェロイドを形成した。形成されたスフェロイドは、培養 5 日目においても辺縁平滑な形態を維持しており、LIVE/DEAD assay の結果、その構成は生細胞を主体としていることが確認された。また、スフェロイド構成細胞は、二次元培養群と比較して CSC マーカー (<i>Cd44</i>, <i>Oct4</i>, <i>Nanog</i>, <i>Sox2</i>) の mRNA 発現量が亢進しており、さらに抗がん剤であるシスプラチンに対する抵抗性の増加が確認された。3 次元培養環境下において、スフェロイド構成細胞の幹細胞性を獲得する可能性が示唆された。免疫組織染色の結果、CSC マーカー陽性細胞はスフェロイド全体に観察され、低酸素環境が幹細胞性獲得の主要因である可能性は低いと考えられた。</p> <p>一方で、ヌードマウスに対する HSC-3 移植実験では、形成される腫瘍の大きさについて、2 次元培養群とスフェロイド培養群の間に明らかな相違は観察されず、今後詳細な組織学的な評価や化学療法に対する感受性などについての検証が必要である。</p> <p>以上の結果から、確立したスフェロイド培養系は、口腔癌細胞の CSC を大量かつ均一に作製し、将来的には CSC を標的とした創薬などハイスループットな解析に応用可能なツールであることが示唆された。</p>	