



# ゴールドリボン賞

宮下 仁 殿

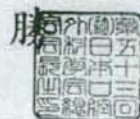
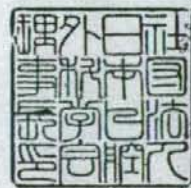
貴殿が第53回(社)日本口腔外科学会総会  
(徳島)において発表されたポスターは学  
術的価値が高く本学会の発展に寄与する優  
れた内容と認めましたのでここに表彰します

2008年10月21日

社団法人日本口腔外科学会

理事長 福田 仁

第53回総会長 長 山



2008年11月吉日

東北大学病院 顎顔面外科

大木 宏介先生

社団法人日本口腔外科学会

理事長 福田 仁一

第53回大会長 長山 勝

拝啓

時下、ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

過日は、第53回(社)日本口腔外科学会総会・学術大会にご参加いただき、また、

貴重な研究発表を賜りましたこと、心より御礼申し上げます。

先生の発表内容につきまして、当学会の学術奨励賞等選考委員会にて審査の結果

ゴールドリボン賞を授与させていただくこととなりました。

賞状につきましては、本来であれば直接お渡しすべきところではございますが、謹ん

で送付させていただきます。

末筆ではございますが、今後ますますのご健勝を心よりお祈り申し上げます。

敬 具



# ゴールドリボン賞

大木 宏介 殿

貴殿が第53回(社)日本口腔外科学会総会  
(徳島)において発表されたポスターは学  
術的価値が高く本学会の発展に寄与する優  
れた内容と認めましたのでここに表彰します

2008年10月21日

社団法人日本口腔外科学会

理事長 福田 仁

第53回総会長 長 山





# ナノバブルと超音波を用いた腫瘍血管造影法による 口腔癌診断システムモデルの開発

大木 宏介、森 士朗、宮下 仁、川村 仁、森川 秀広

1 東北大学病院附属歯科医療センター 顎顔面外科

2 東北大学大学院 歯学研究科 口腔病態外科学講座口腔外科学分野

## ナノバブル：音響性リボソーム

【背景】口腔癌の治療成績の向上に早期診断は不可欠な要素であり、とくに所属リンパ節転移の早期診断には日々の治療において大変重要である。所属リンパ節転移の高度診断としては、現在、X線CT・MRI・PET・超音波検査などが有効な手段として用いられている。しかし、微小な転移巣の診断は、結核のところに組織標本の病理組織学的診断にまねざるを得ないのが現状である。

【目的】ナノバブルを超音波造影剤として用いることにより、口腔癌リンパ節転移や転移再発を早期に診断するシステムを開発する。

### ナノバブル：微小転移が可能な媒体

- 1) 直径が1μm以下の殻構造をもつガス気泡で、超音波造影剤として使用。
- 2) 造影面積

(レイリー散乱面積)  $\sigma$  :  
周波数  $f$  の4乗に比例  $\sigma \propto f^4$   
臨床用超音波: 3.5 MHz の場合  
 $\sigma = 150 (\mu\text{m}^2)$

高周波超音波: 80 MHz の場合  
 $\sigma = 409 \times 10^4 (\mu\text{m}^2)$

→ 面積が約10万倍に増加



### 【飼育方法】

Luciferase遺伝子導入されたマウス乳癌細胞またはマウス結腸癌細胞をSCIDマウスに接種し、その固形腫瘍の中心部にシスプラチンを投与する群と投与しない群に分けた。マウス麻酔後ナノバブルを注射し、処置後の体積変化と血管密度をイメージングシステムで測定した。同時にLuciferaseタンパクの発光強度を in vivo 生体発光イメージングシステムにより解析した。また、免疫染色による腫瘍内新生血管の検出を行った。

【マウス】 SCID, ♂, 6week x 4匹

### 【細胞】

EMT6-Luc (1x10<sup>6</sup>cells/100μl/site)

C26-Luc (1x10<sup>6</sup>cells/100μl/site)

接種部位 両側臀部皮下

【Cisplatin 処理】 ・投与日: 接種後 3, 7, 11, 14日 (計4回)

・投与部位: 腫瘍中心部に直接投与 ・濃度: 2.0 mg/kg

【測定】 ・体積: Caliper および 高周波超音波装置

・Luciferase 発現: in vivo 生体発光イメージングシステム

・腫瘍内血管の可視化:

高周波超音波・ナノバブルイメージングシステム

スーパーコンピュータ

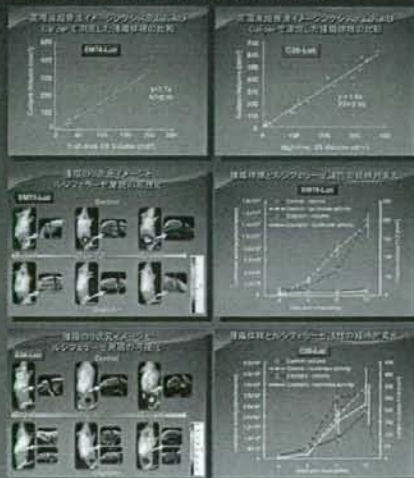
【実験期間】 18日間 (測定日, 4, 8, 12, 15, 18日)

【組織染色】 ・標本作製:

10%ホルマリン固定 → パラフィン埋埋 → 薄切 (3μm) → H-E 染色

・免疫染色: 抗VEGFR2抗体

【結果】 ・腫瘍体積とリンシテラーゼ発現の経時的変化・マウス乳癌細胞および結腸癌細胞におけるルシフェラーゼ発現の経時的変化と腫瘍体積変化はいずれも相関した。



### 【音響性リボソーム】

Average diameter (nm)	199-194
Zeta potential (mV)	-24±0.61
Composition	DGFC-DGFC-PEG20-CMe
Gas	C <sub>2</sub> F <sub>6</sub>

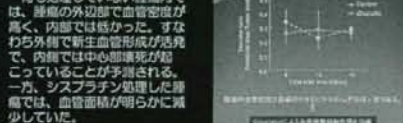
リン脂質二重膜を殻にもつリボソームを作成し、このリボソーム溶液にオクタフルオロプロパンガスを充填し込みながらモノナイザーでソニケーション(超音波破壊)すると、ソニケーション後ではこのようにリボソーム内で空腔になっている部分が確認される。これはガスと液体とが混在した状態になっていると考えられる。

### 【結果】 ・腫瘍内血管の可視化

高周波超音波イメージングシステムにより腫瘍内血管を可視化し、さらにスーパーコンピュータにて血管構造を構築した。緑色で示された部分が構築された血管構造である。腫瘍内の新生血管は免疫染色(抗VEGFR2抗体)で確認した。腫瘍内血管密度は、腫瘍の大きさにかかわらずほぼ一定であった。



### 何も処理していない腫瘍内では、腫瘍の外辺部で血管密度が高くなり、内部では低かった。すなわち外周で新生血管形成が活発で、内部では中心部壊死が起きていることが予測される。



### 【結論】

高周波超音波イメージングシステムは3次的に腫瘍体積を測定でき、さらに治療効果をリアルタイムで非侵襲的に観察することができる可能性が示唆された。

本研究は、東北大学大学院 歯学研究科 治療工学講座 分子デリバリーシステム研究分科(小玉哲也助教)との共同研究である。小玉研究室では主に「ナノバブル」を利用した「がんの早期診断と治療」を念頭に、分子デリバリーシステムの開発研究を行っている。

〒980-8579 仙台市青葉区中央  
 藤江 佐知子、福田 典子、夏野 夕紀子、藤 楓、大澤 るき、  
 佐久間 基成、小玉 哲也

現在進めている研究では、マウス腫瘍リンパ節モデルを作成し、その新生血管に関して検討している。その結果から、正常リンパ節と比べて腫瘍リンパ節において新生血管の密度が高いことが示唆された。



*Shiro Mori*

# 日本口腔外科学会雑誌

JAPANESE JOURNAL OF ORAL & MAXILLOFACIAL SURGERY

## 第53回（社）日本口腔外科学会総会

### 口腔外科学の新展開

—臨床と基礎のコラボレーション—

New Era of Oral and Maxillofacial Surgery

—Collaboration between Clinical and Basic Sciences—

プログラム・抄録集

2008年10月20日（月）・21日（火）

アステイトくしま

総会長：長山 勝

徳島大学歯学部口腔外科学第一講座

日口外誌  
Jpn. J. Oral Maxillofac. Surg.

社団法人 日本口腔外科学会

2008年 総会特別号  
Vol.54 Supplement

### 2-B-1-3) AT-heterozygote の低線量率重粒子線照射における影響

愛知学院大学歯学部顎口腔外科学講座<sup>1</sup>, 愛知県がんセンター研究所中央実験部<sup>2</sup>, 愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部<sup>3</sup>

○北島正一<sup>1,2,3</sup>・阿部 厚<sup>1</sup>・栗田賢一<sup>1</sup>

#### The Effects of heavy ion LDR irradiation to AT-heterozygotes

Department of Oral and Maxillofacial Surgery<sup>1</sup>, Central Laboratory and Radiation Biology, Aichi Cancer Center Research Institute<sup>2</sup>, Division of Oncological Pathology, Aichi Cancer Center Research Institute<sup>3</sup>

○KITAJIMA Shoichiro<sup>1,2,3</sup>, ABE Atsushi<sup>1</sup>, KURITA Kenichi<sup>1</sup>

【目的】頭頸部領域の固形癌に対する治療法として放射線治療が選択されているが、その副作用である非癌部への被曝影響は、いまだ不明な点が多い。そのうえ、人口の1%を占め、健康人となら変わることなく生活しているAT-heterozygoteなどの、放射線に対して高感受性を示す可能性のある個人に対する影響を無視することはできない。そこで我々は、AT-heterozygoteへの低線量率放射線(LDR)被曝による影響を検討したので報告する。【材料および方法】細胞周期をG0/G1期としたhTERT遺伝子導入細胞株(SuSa/T-n, AT10S/T-n, AT6KYM/T-n, GM03397/T-n)に対し、LDR-γ線(0.3 mGy/min)、LDR重粒子線(線量率: 3 mGy/min 炭素線: 24 keV/μm, 鉄線: 200 keV/μm)を照射した。コロニー形成法により生存率を求め、高線量率放射線(HDR: 2 Gy/min)の結果と合わせて考察を行った。【結果】正常人由来細胞株と比較し、AT-heterozygoteは、LDR-γ線では生存率に差はなかったが、LDR重粒子線では線量率効果が小さかった。【結論】AT-heterozygoteでは線量率が低くなくても、重粒子線の影響は大きく表れることが示唆された。

### 2-B-1-4) ナノバブルと超音波を用いた口腔癌の治療のための新しい画像診断・分子導入システム

東北大学病院顎顔面外科<sup>1</sup>, 東北大学大学院歯学研究科口腔癌患外科学講座顎顔面外科学分野<sup>2</sup>, 東北大学大学院歯学研究科口腔癌患外科学講座口腔外科学分野<sup>3</sup>

○森 士朗<sup>1</sup>・大木宏介<sup>1</sup>・宮下 仁<sup>1</sup>・川村 仁<sup>2</sup>・森川秀広<sup>3</sup>

#### A novel diagnostic imaging and molecular delivery system for oral cancer therapy using nanobubbles and ultrasound

Department of Maxillofacial Surgery Tohoku University Hospital<sup>1</sup>, Division of Maxillofacial Surgery, Department of OroMaxillofacial Surgical Science, Tohoku University Graduate School of Dentistry<sup>2</sup>, Division of Oral Surgery, Department of OroMaxillofacial Surgical Science, Tohoku University Graduate School of Dentistry<sup>3</sup>

○MORI Shiro<sup>1</sup>, OHKI Kosuke<sup>1</sup>, MIYASHITA Hitoshi<sup>1</sup>, KAWAMURA Hiroshi<sup>2</sup>, MORIKAWA Hidehiro<sup>3</sup>

口腔癌の診断・治療に応用可能なナノバブルと超音波を用いた画像診断・分子導入システムの開発を検討した。ナノバブルとは直径1μm以下のガス気泡で超音波造影剤および分子導入の媒体として応用可能である。これまで我々は、ナノバブルと超音波の物理・生物学的特性を検討し以下の結果を得た。1) 超音波イメージング装置(最高周波数80MHz)により、200nm以下のナノバブルの挙動が捉えられることを見出し、超音波造影剤としてナノバブルを用いることにより腫瘍新生血管を三次元構築画像として抽出することに成功した。2) 腫瘍血管の血管透過性は、通常の血管よりも高く、直径200nm以下の高分子が血管から漏出し血管周囲に滞在することを確認した。3) ナノバブルと超音波を用いた高効率型超音波分子導入装置を開発した。4) 高周波超音波三次元イメージング装置で得られた大容量の画像情報をコンピュータ回線を介して、遠隔地のスーパーコンピュータに送信し、三次元構築画像として処理された情報が、イメージング装置にフィードバックされるという画像処理・送信システムを開発した。本演題においては、上記の研究成果に基づき、スーパーコンピュータと連動させた超音波三次元構築画像処理法と高効率型超音波分子導入法を用いた口腔癌の診断・治療のためのリアルタイム超音波画像診断・分子導入システムモデルの開発の現状について報告する。

### 1-P-013) ナノバブルと超音波を用いた抗癌剤および抗腫瘍分子の導入による新たな癌治療法の開発

東北大学病院顎顔面外科<sup>1</sup>, 東北大学大学院歯学研究所口腔病態外科学講座顎顔面外科学分野<sup>2</sup>, 東北大学大学院歯学研究科口腔病態外科学講座口腔外科学分野<sup>3</sup>

○高下 仁<sup>1</sup>・森 士朗<sup>1</sup>・大木宏介<sup>2</sup>・川村 仁<sup>2</sup>・森川秀広<sup>3</sup>

#### Development of a novel cancer treatment method with induction of anticancer agents and antitumor molecules using nanobubbles and ultrasound

Department of Maxillofacial Surgery, Tohoku University Hospital<sup>1</sup>, Division of Maxillofacial Surgery, Department of Oro-Maxillofacial Surgical Science, Graduate School of Dentistry, Tohoku University<sup>2</sup>, Division of Oral Surgery, Department of Oro-Maxillofacial Surgical Science, Graduate School of Dentistry, Tohoku University<sup>3</sup>

○MIYASHITA Hitoshi<sup>1</sup>, MORI Shiro<sup>1</sup>, OHKI Kousuke<sup>2</sup>, KAWAMURA Hiroshi<sup>2</sup>, MORIKAWA Hidehiro<sup>3</sup>

【目的】現在癌治療において、各種抗癌剤や血管新生因子阻害剤が、標的癌細胞に選択的に導入される新規デリバリーシステムの開発ニーズが高まっている。ナノバブル超音波システムによる分子導入法の原理は、気泡が超音波照射により破壊される時に生じる衝撃波や液体ジェットの高圧を利用し、細胞膜に一過性浸透圧変化を誘起し外因性分子を細胞質に直接導入するものである。【方法】最初に我々は新生血管に特異的なリガンドを組み入れたナノバブルを使用し、バブルの軌跡を高周波超音波三次元イメージング装置でモニタリングし、腫瘍血管範囲を抽出することに成功した。続いてナノバブルと抗腫瘍分子を組み合わせて、超音波照射でナノバブルの崩壊を誘導し、細胞内に抗腫瘍分子を導入し抗腫瘍効果が得られた。【結論】シスプラチン等の抗癌剤あるいは自殺遺伝子療法による抗腫瘍分子を超音波ナノバブルシステムにより導入した場合、各々単独に導入した場合と比べて、有意に抗腫瘍効果の増大が認められた。【展望】現在、ナノバブルが新生血管周囲にとどまる性質 (EPR 効果: enhanced permeability and retention effect) を利用し、血管新生因子阻害剤を組み込むことにより腫瘍新生血管をターゲットとする新たな癌治療法の開発を目指している。現在までの成果と共に、ナノバブル超音波システムによる新たな癌治療法の今後の展望について報告する。

### 1-P-014) 口腔癌細胞株におけるギメラシルのシスプラチン感受性増強効果の検討

山口大学大学院医学系研究科上皮膚病解剖学講座歯科口腔外科学分野<sup>1</sup>, 昭和大学歯学部口腔外科学講座<sup>2</sup>

○三原真理子<sup>1</sup>・内田聖一郎<sup>1</sup>・原田耕志<sup>1</sup>・真野隆充<sup>1</sup>・新谷 悟<sup>2</sup>・上山吉哉<sup>1</sup>

#### Gimeracil increases the sensitivity of cisplatin in oral cancer cell lines

Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Epithelial Intelligent and Analytical Medicine Science, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, Ube, Japan<sup>1</sup>, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Showa University, Tokyo, Japan<sup>2</sup>

○MIHARA Mariko<sup>1</sup>, UCHIDA Kenichiro<sup>1</sup>, HARADA Koji<sup>1</sup>, MANO Takamitsu<sup>1</sup>, SHINTANI Satoru<sup>2</sup>, UHEYAMA Yoshiya<sup>1</sup>

【背景】ギメラシル (CDHP) は、抗癌剤 S-1 の構成成分の 1 つで、5-FU の異化酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) の可逆的拮抗剤であり、5-FU の抗腫瘍効果を増強させる。CDHP 単剤では明らかな抗腫瘍効果は示さないものの、肺癌での検討においては併用による放射線増感作用が報告されている (ECCO 2005)。【目的】今回、放射線同様 DNA 損傷を誘導し抗腫瘍効果を示すシスプラチン (CDDP) における CDHP の感受性増強効果について検討した。【材料および方法】感受性増強効果の検討は、口腔癌細胞株 Ca9-22, SAS および SAS に変異型 p53 を遺伝子導入した安定発現株を用いた。【結果】Ca9-22 では CDHP 併用による CDDP の感受性増強効果を認めた。一方、SAS においては顕著な増強効果は認めなかった。さらに、CDHP の感受性増強効果に対する p53 の影響を詳細に検討した結果、変異型 p53 遺伝子導入株では、CDDP の感受性は低下するものの、CDHP の併用によりその抗腫瘍効果は増強した。【結論】CDDP における CDHP の感受性増強効果は p53 の変異の有無により異なり、p53 変異型細胞株において感受性増強効果が認められた。(共同研究者: 大關薬品工業株式会社徳島研究センター 福島正和)

### 1-P-011) 口腔扁平上皮癌細胞における ICAM2 遺伝子の放射線耐性に関する機能解析

千葉大学大学院医学研究臨床分子生物学講座<sup>1</sup>, たむら記念病院歯科口腔外科<sup>2</sup>, 千葉大学大学院医学研究分子ウイルス学講座<sup>3</sup>, 千葉県循環器病センター 歯科<sup>4</sup>, 千葉大学医学部附属病院歯科・顎・口腔外科<sup>5</sup>

○石上享嗣<sup>1,2</sup>・船澤一弘<sup>1</sup>・大和路正信<sup>1</sup>・伏見一孝<sup>1</sup>・野村仁美<sup>1</sup>・中嶋 大<sup>1</sup>・齋藤謙悟<sup>3</sup>・肥後盛洋<sup>1,4</sup>・笠松厚志<sup>1</sup>・坂本洋右<sup>5</sup>・椎葉正史<sup>1</sup>・武川寛樹<sup>5</sup>・横江秀隆<sup>5</sup>・丹澤秀樹<sup>1,5</sup>

### Functional analysis of radioresistance of ICAM2 gene in oral squamous cell carcinoma cells

Department of Clinical Molecular Biology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan<sup>1</sup>, Division of Dentistry and Oral Surgery, Tamura Memorial Hospital, Chiba, Japan<sup>2</sup>, Department of Molecular Virology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan<sup>3</sup>, Division of Dentistry, Chiba Cardiovascular Center, Chiba, Japan<sup>4</sup>, Division of Dentistry and Oral-Maxillofacial Surgery, Chiba University Hospital, Chiba, Japan<sup>5</sup>

○ ISHIGAMI Takashi<sup>1,2</sup>, UZAWA Katsuhiko<sup>1</sup>, YAMATOJI Masanobu<sup>1</sup>, FUSHIMI Kazuaki<sup>1</sup>, NOMURA Hitomi<sup>1</sup>, NAKASHIMA Dai<sup>1</sup>, SAITO Kengo<sup>3</sup>, HIGO Morihiko<sup>1,4</sup>, KASAMATSU Atsushi<sup>1</sup>, SAKAMOTO Yosuke<sup>5</sup>, SHIIBA Masashi<sup>1</sup>, BUKAWA Hiroki<sup>5</sup>, YOKOE Hidetaka<sup>5</sup>, TANZAWA Hideki<sup>1,5</sup>

【目的】以前我々が報告した、放射線耐性関連候補遺伝子のなかから、抗アポトーシス機能の報告があり、放射線感受性株に対する放射線耐性株の発現量に、有意な増加がみられた ICAM2 遺伝子の放射線耐性について、機能的解析を行うことを目的とした。【方法】過去に耐性の違いを同定した、口腔扁平上皮癌由来細胞株、HSC2 (放射線耐性) と、HSC3 (放射線感受性) を用いて実験を行った。放射線耐性株については、siRNA による ICAM2 の発現抑制、放射線感受性株に対して発現ベクターによる ICAM2 強制発現を行った。ICAM2 の発現変化をさせた細胞株の増殖曲線、X線照射後のコロニー生存曲線を調べた。ICAM2 の発現によるアポトーシス量の変化の確認、およびその経路の確認を行った。【結果】ICAM2 siRNA 処理をした放射線耐性株 HSC2 は細胞増殖が減少し、X線照射によるサバイバルカーブで、放射線感受性がみられた。ICAM2 発現ベクター処理をした、放射線感受性株 HSC3 は細胞増殖が増加し、X線照射によるサバイバルカーブで放射線耐性が認められた。ICAM2 siRNA 処理をした放射線耐性株 HSC2 は AKT (Ser473 部) のリン酸化が減少し、活性化型 Caspase3 の発現が増加し、アポトーシス細胞の割合が増加した。【結論】今回の実験から、ICAM2 発現は放射線耐性株で、PI3K/AKT の経路を通してアポトーシスを阻害することで、放射線耐性化に関与している可能性が示唆された。

### 1-P-012) ナノバブルと超音波を用いた腫瘍血管造影法による口腔癌診断システムモデルの開発

東北大学病院顎顔面外科<sup>1</sup>, 東北大学大学院歯学研究科口腔病態外科学講座口腔外科学分野<sup>2</sup>

○大木宏介<sup>1</sup>・森 士朗<sup>1</sup>・宮下 仁<sup>1</sup>・川村 仁<sup>1</sup>・森川秀広<sup>2</sup>

### A novel vascular imaging system for oral cancer diagnosis using nanobubbles and ultrasound

Department of Maxillofacial Surgery, Tohoku University Hospital<sup>1</sup>, Division of Oral Surgery, Department of Oro-Maxillofacial Surgical Science, Tohoku University Graduate School of Dentistry<sup>2</sup>

○ OHKI Kousuke<sup>1</sup>, MORI Shiro<sup>1</sup>, MIYASHITA Hitoshi<sup>1</sup>, KAWAMURA Hiroshi<sup>1</sup>, MORIKAWA Hidehiro<sup>2</sup>

【目的】ナノバブルを超音波造影剤として用いることにより、口腔癌リンパ節転移や局所再発を早期に診断するシステムを開発する。【材料および方法】Luciferase 遺伝子導入されたマウス乳がん細胞またはマウス結腸がん細胞を SCID マウスに接種し、その固形腫瘍の中心部にシスプラチンを投与する群と投与しない群に分けた。マウス尾静脈よりナノバブルを注射し、処理後の体積変化と血管密度をイメージングシステムで測定した。同時に Luciferase タンパクの発光強度を in vivo 生体発光イメージングシステムにより解析した。また、免疫染色による腫瘍内新生血管の検索を行った。【結果】マウス乳がん細胞および結腸がん細胞におけるルシフェラーゼ活性の経時的変化と腫瘍体積変化はいずれも相関した。高周波超音波イメージングシステムにより腫瘍内血管を可視化し、さらにスーパーコンピューターにて血管構造を構築した。腫瘍内の新生血管は免疫染色で確認した。腫瘍内血管密度は、腫瘍の大きさにかかわらずほぼ一定であった。またマウス腫大リンパ節モデルを作成し、その新生血管に関して検討したところ、正常リンパ節と比べて腫瘍性リンパ節において新生血管の密度が高いことが示唆された。【結論】高周波超音波イメージングシステムは3次元的に体積を測定でき、さらに治療効果をリアルタイムで非侵襲的に観察することができる可能性が示唆された。