

奨励金No.1626

マイクロ・ナノプラスチックがマイクロバイオーンを介して 発がん、発育に与える影響の解明

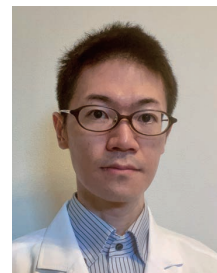
大原 悠紀

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学 高等研究院／
大学院医学系研究科生体反応病理学 YLC 特任助教

Elucidating the impact of micro- and nano- plastics on carcinogenesis and neuronal development through microbiome

Yuuki Ohara

Nagoya University, Institute for Advanced Research/
Graduate School of Medicine, YLC Designated Assistant Professor



マイクロプラスチック（MPs）は環境および公衆衛生上の問題であり、プラスチックの分解により生じ、生態系やヒト健康に影響を及ぼす。本研究では、MPs が酸化ストレスを介して口腔癌の進展に関与する可能性を検討した。口腔扁平上皮癌細胞にポリスチレン MPs を曝露した結果、酸化ストレスの増加、細胞遊走の変化、ならびに代謝関連遺伝子の変化が認められた。今後、異なる粒子種やサイズ、動物モデルを用いた検討が MPs のがん進展への影響の解明に必要である。

Microplastics (MPs) are emerging environmental and public health concerns generated by plastic degradation, affecting ecosystems and human health. MPs are known to induce inflammation, oxidative stress, and metabolic alterations in human cells. Given their oral and gastrointestinal exposure routes, we hypothesized that MPs promote oral cancer progression via oxidative stress. Oral squamous cell carcinoma cells were exposed to polystyrene MPs (5 μ m, 3 μ g/mL), and proliferation, oxidative stress, intracellular ferrous iron, migration, and transcriptome were analyzed. MPs increased oxidative stress, intracellular ferrous iron, and migration. Transcriptome analysis suggested alterations in metabolism-related pathways. Further studies are required to clarify their role in cancer progression.

1. 研究内容

1. 背景・目的

マイクロプラスチック（MPs；粒子径 5 mm 未満のプラスチック片）による汚染は、環境問題として広く研究されてきた。MPs は 1 次 MPs と 2 次 MPs に分類され、前者は洗剤や医薬品などの生産段階で生じ、後者は環境中に放出されたプラスチック製品が紫外線、熱、波浪などで破碎されて生じる。MPs は世界的な汚染物質であり海洋・

河川・大気といった環境全体で確認されている。

MPs は、環境中の微生物の増殖に影響を与え、生態系の変化を引き起こす一方で、近年ではヒトの健康に対する影響も注目されている。食物連鎖中に取り込まれた MPs は、経口摂取によってヒトの体内に入り、疾患発症の一因となる可能性が示唆されている。そこで、口から体内に侵入した MPs は酸化ストレスの生成や代謝の改変、口腔・消化管マイクロバイオームの改変といった変化を

引き起こし、がんを悪化させるという仮説を立て、MPsによって誘発される口腔癌の変化を解明することを目的とした。

2. 方法

口腔扁平上皮癌細胞株 Ca9-22、HSC-3、HSC-4 を使用した。培養には RPMI 1640 培地（10% fetal bovine serum、1% penicillin-streptomycin 添加）を用いた。マイクロプラスチック（MPs）としてポリスチレン製（粒径 5 μm ）を使用した。MPs 曝露による細胞機能の変化を評価するため、以下の *in vitro* 解析を実施した。

（i）細胞増殖

96 穴プレートに 5,000 細胞／穴で播種し、ポリスチレン MPs を 0-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で添加して 48 時間培養した。培養後、Crystal violet 染色を行い、sodium dodecyl sulfate で溶出後、560 nm で吸光度を測定した。さらに、6 穴プレートに 500 細胞／穴で播種し、MPs（0 または 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）存在下で培養した。Day 7-9 にコロニー形成を確認し、Crystal violet 染色後にコロニー数を計測した。

（ii）酸化ストレスと細胞内二価鉄

96 穴プレートに 5,000 細胞／穴で播種し、MPs（0 または 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を添加して 48 時間培養した。CM-H2DCFDA を用いて細胞内酸化ストレスを、Ferrorange を用いて細胞内二価鉄を染色、顕微鏡（BZ-X810）で観察・撮影後、ImageJ により蛍光強度を定量した。

（iii）細胞遊走

24 穴プレートに 1.0×10^5 細胞／穴で播種し、MPs（0 または 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を添加して 48 時間培養した。ピペットチップによりスクラッチを作成し、0 時間および 12 時間後に顕微鏡（BZ-X810）

で撮影した。創傷面積を ImageJ で解析し、創の面積（%）＝（0 時間の創面積－12 時間後の創面積） $\times 100 /$ （0 時間の創面積）により算出した。

（iv）トランスクリプトーム解析

24 穴プレートに 1.0×10^5 細胞／穴で播種し、MPs（0 または 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を添加して 48 時間培養後、RNA を抽出した。RNA シークエンシングを実施し、DESeq2 により差次的発現遺伝子（Differentially expressed genes; DEGs）を同定した。さらに GSEA により遺伝子セットのエンリッチメント解析を行った。

3. 結果

（i）細胞増殖

Crystal violet 染色の吸光度測定では、いずれのポリスチレン MPs 濃度および細胞株においても増殖に有意差は認められなかった。Colony formation assay においても、各細胞株においてコントロール群と曝露群の間でコロニー数に有意差は認められなかった。

（ii）酸化ストレスおよび細胞内二価鉄

コントロール群と比較してポリスチレン MPs 曝露群で酸化ストレス増加および細胞内二価鉄が変化した。

（iii）細胞遊走

ポリスチレン MPs 曝露により、一部の細胞株において細胞遊走の促進が認められた。

（iv）トランスクリプトーム解析

ポリスチレン MPs 曝露群では、細胞膜関連分子や金属輸送に関与する遺伝子群の発現変化が認められた。エンリッチメント解析により、代謝や細胞骨格、細胞内シグナルに関連する経路の変化が示唆された。

4. 考察

ポリスチレン MPs は口腔癌細胞の増殖には影響を与えない一方で、酸化ストレス増加、細胞内二価鉄の変化、細胞遊走の促進が認められた。これらの結果は、ポリスチレン MPs 曝露が細胞内環境および細胞運動性に影響を及ぼす可能性を示唆する。トランスクリプトーム解析からは、代謝や細胞骨格、細胞内シグナルに関連する遺伝子の変化が示唆された。これらの変化は、観察された細胞機能の変化と関連する可能性が考えられるが、その詳細な分子機序についてはさらなる検討が必要である。

今後は、Western blot によるタンパク質レベルでの検証や、生体内での解析を含めた検討が必要である。また、異なる種類およびサイズの MPs や他の細胞種を用いた評価も重要と考えられる。さらに、現在マウスモデルを用いた口腔癌進展の解析を進めており、消化管マイクロバイオーーム変化を介した口腔癌への影響についても検討する予定である。

2. 発表（研究成果の発表）

1. Yuuki Ohara, Huaitian Liu, Paloma Moreno, Seiya Suzuki, S. Perwez Hussain, Molecular, metabolic, and histological subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and its tumor microenvironment: Insights into tumor heterogeneity and clinical implications, *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 277, 108946 (January 2026)
2. 大原悠紀、富樫俊介、豊國伸哉、マイクロプラスチックは口腔癌細胞における酸化ストレスを増加させる、第 25 回分子予防環境医学研究会大会（東京、2026 年 2 月 21 日）
3. Yuuki Ohara, Syunsuke Togashi, Shinya Toyokuni, Potential role of microplastics in oral cancer progression via oxidative

stress、第 84 回日本癌学会学術総会（金沢、2025 年 9 月 26 日）

4. 大原悠紀、分子・代謝プロファイリングが、がんにおけるストレス反応の本質を明らかにする、第 114 回日本病理学会総会（仙台、2025 年 4 月 17 日）