

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11289

研究課題名(和文) DEKによるクロマチン調節を介した口腔扁平上皮癌の発生及び悪性化機構の解明

研究課題名(英文) Promotion of cell proliferation by the proto-oncogene DEK enhances oral squamous cell carcinogenesis through field cancerization

研究代表者

富田 弘之 (TOMITA, HIROYUKI)

岐阜大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50509510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌は口腔粘膜全体の癌化を含んだ多段階発癌をへて発達する。DEK遺伝子は腫瘍化促進の機能として細胞の増殖や分化、老化に関与している。DEKの過剰発現が乳癌や膀胱癌、大腸癌などの様々な腫瘍で認められ、腫瘍形成に深く関与すると考えられている。しかし過剰発現することによるDEKの働きは解明されていないため、今回DEKの過剰発現が口腔粘膜に与える影響を検討した。その結果、腫瘍性タンパク質DEKはPCNA、Eip3の上昇により腫瘍形成を促進させ、発癌物質に暴露された環境において、細胞周期G1/S関連遺伝子の発現上昇により口腔領域に腫瘍形成を導く可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Oral squamous cell carcinoma (OSCC) develops through a multistep carcinogenic process involving field cancerization. DEK overexpression is associated with malignancies; however, the functional roles of DEK overexpression are unclear. We demonstrated that DEK-expressing cells were significantly increased in human dysplasia/carcinoma in situ and OSCC. Furthermore, we generated ubiquitous and squamous cell-specific doxycycline (DOX)-inducible Dek mice (iDek and iDek-e mice respectively). Both DOX+ iDek and iDek-e mice did not show differences in the oral mucosa compared with DOX- mice. In the environment exposed to carcinogen, DOX-treated (DOX+) iDek mice showed field cancerization and OSCC development. Microarray analysis revealed that DEK overexpression was mediated by the upregulation of DNA replication- and cell cycle-related genes, particularly those related to the G1/S transition. T

研究分野：腫瘍病理

キーワード：口腔癌 DEK 扁平上皮癌

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物を構成する種々の細胞は、遺伝情報として同じセットのゲノム DNA を有しており、同一の遺伝情報から選択的に遺伝子発現することで、細胞種固有の形質が規定されている。この遺伝子発現は、転写因子とクロマチン構造調節因子により時間・空間的に制御されている。

その転写因子群の一つである **DEK 遺伝子**は、『**Oncogene** あるいは **Oncogenic effector**』と呼ばれ、ある種の急性骨髄性白血病で、**DEK-CAN** 融合遺伝子が癌化の原因であることが報告されている (*Blood, 1992, Nature 2014*)。現在まで、様々な癌細胞での発現亢進が知られ、DNA 修復、複製、遺伝子発現コントロールなどに関与していると言われつつも、その分子機能についてはほとんど解析が進んでいない。

《最近の知見では、DEK と癌との接点 (メカニズム) が明らかとなってきた。》

- ① ヒトケラチノサイトでの DEK の過剰発現は、p63 陽性前駆/幹細胞における細胞周期の増加により、過形成や腫瘍形成へと働く。 (*Am J Pathol. 2009/Cancer Res, 2009*)
- ② クロマチンリモデリング (転写活性化/抑制の変換) 時に、ヒストンを修飾する“ヒストンシャペロン”という蛋白として機能し、このシャペロン機能異常がクロマチン構造制御の破綻 (癌化) に関連。 (*Genes Dev. 2011*)
- ③ 前立腺癌において DEK は腫瘍細胞の浸潤・悪性化に関わっている。 (*Science, 2014*)

以上より、DEK は、少なくとも幹細胞の分化・維持及び癌化に関わるエピジェネティック修飾、特にクロマチンリモデリング (転写活性化/抑制の変換) に関与していることが示唆される。こうしたクロマチンリモデリング能を持つ因子の変異による細胞がん化は、変化したタンパク質自身の機能に起因する可能性とそれらの制御下にある遺伝子発現量の変化に起因する可能性とが考えられ、そのメカニズムは未だ不明で、かつ新しい領域である。

しかも、従来の研究は未だ細胞レベル (*In vitro*) にとどまるため、細胞集団からなる組織、つまり幹細胞ニッチ (微小環境) における生体レベルでの各臓器の DEK 分化制御機構及びその破綻は未だ不明である。

2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌は口腔粘膜全体の癌化を含んだ多段階発癌をへて発達する。DEK 遺伝子は腫瘍化促進の機能として細胞の増殖や分化、老化に関与している。DEK の過剰発現が乳癌や膀胱癌、大腸癌などの様々な腫瘍で認められ、腫瘍形成に深く関与すると考えられている。しかし過剰発現することによる DEK の働きは解明されていないため、今

回 DEK の過剰発現が口腔粘膜に与える影響を検討した。

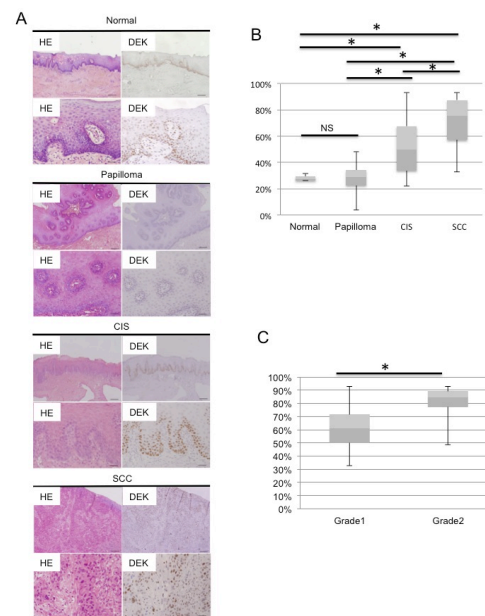
3. 研究の方法

岐阜大学医学部附属病院において切除されたヒトの乳頭腫、白板症と扁平上皮癌の標本を用いて HE 染色と免疫組織化学染色を行い、組織学的評価を行った。また、Doxycycline (DOX)-inducible Dek mouse を作製し、4NQO の投与と、DOX の投与、非投与群での腫瘍形成を比較、組織学的検討を行い、それぞれの腫瘍、正常扁平上皮から RNA を抽出し、リアルタイム PCR やマイクロアレイを行い、mRNA の発現を評価した。

4. 研究成果

【結果】

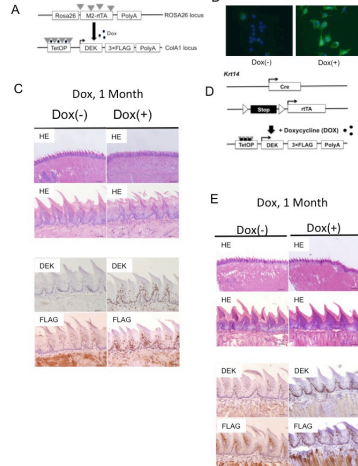
Fig.1

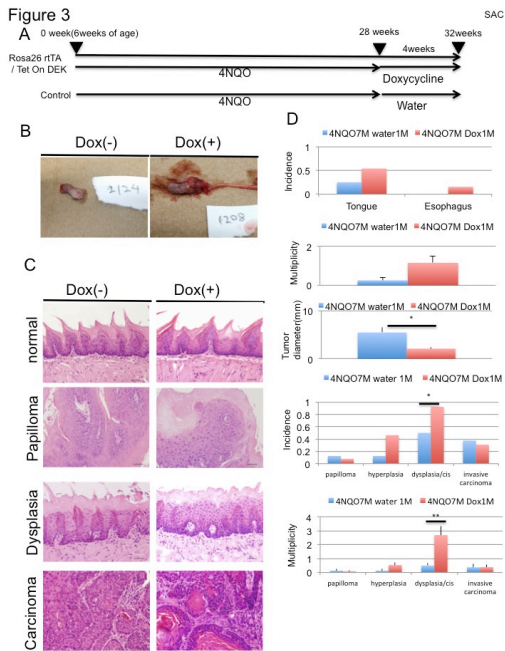


ヒト口腔粘膜において、乳頭腫、白板症、扁平上皮癌の順に DEK の陽性率の上昇を認めた (上図: Fig. 1)。

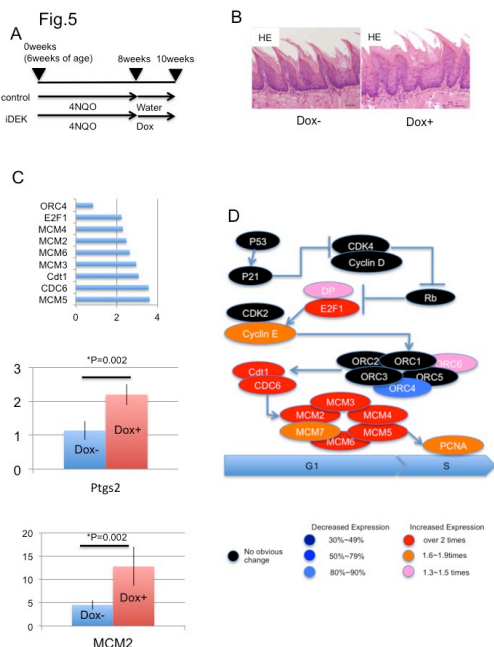
発癌物質を投与した DOX-inducible Dek mouse において、DOX 投与群では腫瘍形成の頻度や数が増大した (下図: Fig. 2 and Fig. 3)。

Fig.2





DOX 投与群の腫瘍から抽出した RNA は DOX 非投与群の腫瘍よりも PCNA、E1p3 の発現上昇を認めた。腫瘍組織において、二重染色を行い、DOX 投与群で外因性 Dek の発現を認める細胞で PCNA の発現を確認した。扁平上皮においては Mcm ファミリーや Cdc6 などの細胞周期 G1/S 関連遺伝子の発現上昇を認め、DOX 投与群での免疫染色で PCNA と MCM2 の発現上昇を認めた (右図:Fig. 5)。



【考察】

ヒト口腔扁平癌において、DEK は過剰発現を認め、発癌物質に暴露されたマウスにおいて、DEK の過剰発現は DNA 修復や細胞周期を刺激することで前癌病変の発生を促進した。対照的に DEK の過剰発現のみ行ったマウスでは組織学的な変化がみられなかった。DEK の過剰発現による DNA の傷害や細胞死への関与は、腫瘍周囲の炎症細胞にも DEK の発現がみられることから炎症細胞由来の DEK が関係していると考えられる。DEK の過剰発現は細胞周期関連遺伝子の発現を促進させ、特に G1/S チェックポイント機能に関連する遺伝子の発現を促進させると考えられた

【結論】

腫瘍性タンパク質 DEK は PCNA、E1p3 の上昇により腫瘍形成を促進させ、発癌物質に暴露された環境において、細胞周期 G1/S 関連遺伝子の発現上昇により口腔領域に腫瘍形成を導く可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Nakashima T, Tomita H, Hirata A, Ishida K, Hisamatsu K, Hatano Y, Kanayama T, Niwa A, Noguchi K, Kato K, Miyazaki T, Tanaka T, Shibata T, Hara A.

Promotion of cell proliferation by the proto-oncogene DEK enhances oral squamous cell carcinogenesis through field cancerization.

Cancer Med. 2017;6:2424-2439.

[学会発表] (計 1 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：

国内外の別：

[その他]
ホームページ等
<https://www1.gifu-u.ac.jp/~patho1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者 富田 弘之
(HIROYUKI TOMITA)
岐阜大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：50509510

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

(4) 研究協力者
()