

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09549

研究課題名(和文) 骨内微小環境下における歯原性上皮の分化または増殖への転写調節が腫瘍化に関わる影響

研究課題名(英文) Effect of transcription toward differentiation or proliferation of odontogenic epithelium in oncogenesis within the intraosseous microenvironment

研究代表者

熊本 裕行 (KUMAMOTO, HIROYUKI)

東北大学・歯学研究科・教授

研究者番号：70215028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：歯原性上皮の骨内微小環境下での腫瘍発生や進展に関わる、微小環境内の脈管新生動態、発生の制御分子、幹細胞関連分子を検索し、歯原性上皮における転写調節の影響について検討した。脈管新生関連分子EphA2, EphB4, EphrinB2の発現は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高く、CD34陽性血管・D2-40陽性リンパ管はこれらと正の相関を示した。個体発生に関連するHippo経路のシグナル分子YAP・TAZの発現は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高かったが、幹細胞関連分子Sox2・Klf4の発現は歯嚢よりエナメル上皮腫で低かった。これらの転写因子の発現は、エナメル上皮腫の組織型・亜型や転帰で差異がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

正常および腫瘍性の歯原性組織における脈管新生動態、発生の制御分子、幹細胞関連分子を検索し、腫瘍化による歯原性上皮細胞およびその微小環境の特異的な状況や特徴的な腫瘍組織所見・臨床病態との関連を見出した。これらによって、歯原性腫瘍を包括する骨内微小環境の形成要因および同微小環境下での歯原性上皮の増殖や分化に関わる転写調節について、検討することができた。これらの因子は、歯原性上皮に関わる様々な病変の診断や予後判定、治療に応用しうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Regulator molecules associated with neovascularized condition, development, and cell stemness were examined to clarify the effect of transcription system in oncogenesis of odontogenic epithelium under the intraosseous microenvironment.

Neovascularization factors, EphA2, EphB4, and EphrinB2, were greater in ameloblastoma than in tooth germ, and measurement of CD34-positive microvessels and D2-40-positive lymphatic vessels was correlated positively with the Eph/Ephrin molecules. Development-related Hippo pathway signaling molecules, YAP and TAZ, were expressed higher in ameloblastoma than in tooth germ, whereas stem cell-associated transcription factors, Sox2 and Klf4, were lower in ameloblastoma than in tooth germ. These transcription factors also showed differences among histological variation and clinical behavior.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯原性腫瘍 腫瘍発生 骨内進展

1. 研究開始当初の背景

幹細胞は自己複製能と様々な分化細胞への移行能を有する未分化細胞で、多くの組織の構築・機能維持に関わっている。腫瘍組織中にも幹細胞の機能を有する細胞“腫瘍幹細胞”が見出されており、腫瘍発生に大きな役割を有することが知られている。また、これらの細胞は“ニッチ”とよばれる極めて特殊な微小環境下で制御・維持されているとの報告がなされている(Reya et al 2001, Fuchs et al 2004)。しかしながら、歯原性組織や歯原性腫瘍における幹細胞の存在やニッチに関する報告は少なく十分な解析がなされているとはいえない。Sox2・Oct3/4・Nanogは未分化能維持に関連することが知られ、またHippoシグナル伝達は個体発生の制御に関わる経路で、ともに転写調節に寄与する(Peng et al 2014, Yu et al 2015)。研究代表者は歯原性上皮におけるこれらの転写因子を検索することで、同細胞が未分化のまま留まるのか増殖するのかの検討が必要と考えている。一方、歯原性腫瘍の進展の場となる骨内微小環境には多様な構成要素がみられる。この腫瘍進展部位において、低酸素状態で機能する転写因子を検索することにより、血管をはじめとする骨内微小環境の状況(Casazza et al 2014)を検討する必要があると思われる。以上のように転写調節を行う分子を調べ、歯原性上皮の増殖または分化とそれに引き続き生じると腫瘍化についての検討が必要と思われる。

研究代表者は、代表的な上皮性歯原性腫瘍であるエナメル上皮腫を免疫原として歯原性上皮に特異性を示すモノクローナル抗体を作製して歯原性組織の発生・分化およびその病的变化に関する病因について考察し(1996)、特徴的な腫瘍化を示す歯原性上皮に応用した(1997, 1998, 1999, 2000)。また、歯原性上皮由来の腫瘍にはエナメル上皮腫をはじめ腺腫様歯原性腫瘍・石灰化上皮性歯原性腫瘍・転移性エナメル上皮腫・エナメル上皮癌・明細胞性歯原性癌など多数の疾患があり、臨床的にも病理組織学的にも独特の特徴を有している(Hall et al 2007, Van Dam et al 2010, Takata et al 2017)ことについては、歯胚および上皮性歯原性腫瘍における細胞死関連因子や増殖活性関連因子、歯の発生プログラム制御因子の検索より、これらの因子およびそのシグナル伝達機構の異常が歯原性上皮の腫瘍化や細胞分化に関与することを報告した(1997, 1999, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2010, 2013, 2014, 2016)。エナメル上皮腫の幹細胞については、当初Notchとそのリガンドを検索したが同定には至らず(2008)、他の幹細胞関連分子として現在までにエナメル上皮腫および悪性エナメル上皮性腫瘍におけるCD133, Bmi-1, ABCG2について検索を行い、これらが腫瘍発生や細胞分化、悪性能と関わりをもつことの報告を行っている(2010)。さらに、歯原性腫瘍の多くは局所浸潤の傾向を示し再発しやすいことや稀に転移をきたすことが知られており(Robinson et al 2012, Takata et al 2017)、接着分子、基質分解酵素、骨吸収性サイトカインの検索より、これらが特徴的なエナメル上皮腫の骨内進展に関連することを報告した(1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007)。血管新生因子については、血管増殖因子VEGFや血管分化因子アンジオポエチンについて検討を行い、これらが間質の血管誘導と関与し、上皮性歯原性腫瘍の腫瘍化や悪性能に寄与することを報告している(2002, 2006)。

2. 研究の目的

歯原性上皮の骨内微小環境下での腫瘍化における細胞分化ないし増殖への転写調節メカニズムの関与を解明するため、これに影響を及ぼすと考えられる様々な制御因子の変容について検索する。このために、腫瘍発生・進展の場となる骨内微小環境下での歯原性上皮の制御因子である脈管新生因子(EphA2, EphB4, EphrinB2)、個体発生に関わるシグナル伝達分子(YAP・TAZ)、細胞の未分化能維持に関連する転写因子(Sox2・Klf4)の解析が必要である(Pitulescu et al 2010, Yu et al 2015, Peng et al 2014)。これらの解析により、歯原性腫瘍の骨内微小環境下での発生・進展における、微小環境の形成や同環境下での歯原性上皮の分化・増殖の転写調節について包括的な検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 脈管新生関連分子の検索：エナメル上皮腫(濾胞型、叢状型)と対照の歯嚢(歯堤上皮)を用い、EphA2, EphB4, EphrinB2の発現・局在について免疫組織化学により解析した。また、CD34・D2-40により血管・リンパ管の動態について検索した。

(2) 個体発生の制御に関わる転写因子の検索：エナメル上皮腫(濾胞型、叢状型)と対照の歯嚢(歯堤上皮)に対し、YAP・TAZを免疫組織化学で解析した。また、これらの分子のリン酸化状況について検討した。

(3) 細胞の未分化能維持に関連する転写因子の検索：エナメル上皮腫(濾胞型、叢状型)と対照の歯嚢(歯堤上皮)を用い、Sox2・Klf4の発現・局在について免疫組織化学により解析した。これらの結果は、症例の臨床病態との比較検討を行った。

4. 研究成果

歯原性上皮の骨内微小環境下での腫瘍発生・進展における歯原性上皮の分化・増殖の転写調節メカニズムを解明するため、脈管新生関連分子、個体発生に関わる転写因子、細胞の未分化能維持に関連する転写因子について検索した。

(1) 脈管新生関連分子の検討：EphA2, EphB4, EphrinB2 は、歯原性上皮性細胞および脈管内皮細胞に発現がみられた。これらの発現は、歯嚢よりエナメル上皮腫で有意に高かった。CD34 は血管内皮細胞に、D2-40 はリンパ管内皮細胞に陽性を示した。観察単位面積当たりの血管密度は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高く、充実性エナメル上皮腫で単嚢胞性エナメル上皮腫より高い傾向を示した。またリンパ管密度は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高かった。

(2) 個体発生に関わる転写因子の検討：YAP・TAZ は、正常および腫瘍性の歯原性上皮細胞の核に発現がみられた。これらの発現は、歯堤上皮に比べてエナメル上皮腫で有意に高かった。エナメル上皮腫での YAP・TAZ の発現は、腫瘍胞巣辺縁部の細胞で中央部の細胞に比べて、強い発現が認められた。濾胞型と叢状型での発現に、あきらかな差異はみられなかった。これらの組織における YAP・TAZ のリン酸化の状況についての検討をすすめている。

(3) 細胞の未分化能維持に関連する転写因子の検討：Sox2・Klf4 は、正常および腫瘍性の歯原性上皮細胞の核に発現がみられた。これらの発現は、歯堤上皮に比べてエナメル上皮腫で有意に低かった。エナメル上皮腫での Sox2・Klf4 の発現は、腫瘍胞巣辺縁部の細胞で中央部の細胞に比べて、強い発現が認められた。濾胞型と叢状型での発現に、あきらかな差異はみられなかった。角化を伴うエナメル上皮腫での Sox2・Klf4 の発現は、顆粒細胞への分化を示すエナメル上皮腫に比べ、高い傾向を示した。また、再発をともなう症例では再発のみられない症例より、これらの発現は若干高かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Obara N Oikawa M Mizoguchi I Takano-Yamamoto T Kumamoto H	4. 巻 37-39
2. 論文標題 Immunohistochemical assessment of Eph/Ephrin expression in ameloblastomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tohoku Univ Dent J	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miyashita H Suzuki H Matsui K Sato N Kitamura J Kumamoto H Takahashi T	4. 巻 32
2. 論文標題 Pediatric cemento-ossifying fibroma of the anterior mandible	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Surg Med Pathol	6. 最初と最後の頁 285-290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2020.03.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kojima I Nishioka T Sakamoto M Sai Y Ezo Y Iikubo M Kumamoto H Takahashi	4. 巻 2020
2. 論文標題 Florid cemento-osseous dysplasia-associated with simple bone cyst showing marked irregular border and high apparent diffusion coefficient value	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Case Rep Dent	6. 最初と最後の頁 8854428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/8854428	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 野上晋之介 山内健介 柳沢佑太 宮下仁 熊本裕行 高橋哲	4. 巻 37-39
2. 論文標題 当科における口腔細胞診と組織診断の比較検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 東北大歯誌	6. 最初と最後の頁 11-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tashiro K Oikawa M Miki Y Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 108
2. 論文標題 Immunohistochemical assessment of growth factor signaling molecules: MAPK, Akt, and STAT3 pathway in oral epithelial precursor lesions and squamous cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 91-101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10266-019-00428-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito H Oikawa M Kouketsu A Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 108
2. 論文標題 Immunohistochemical assessment of Eph/ephrin expression in oral squamous cell carcinoma and precursor lesions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 166-173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10266-019-00466-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Siril YJ Kouketsu A Saito H Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 50
2. 論文標題 Immunohistochemical expression levels of cyclin D1 and CREPT reflect the course and prognosis in oral precancerous lesions and squamous cell carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijom.2021.03.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nogami S Yamauchi K Odashima K Ito K Iikubo M Kumasaka A Martinez-de la Cruz G Gaggi A Kumamoto H Takahashi T	4. 巻 26
2. 論文標題 Influence of oestrogen deficiency and excessive stress on condylar head of mandible	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Dis	6. 最初と最後の頁 1718-1726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.13452	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 三上俊成 井上孝 岡田康男 小川郁子 北川雅恵 熊本裕行 坂元啓 仙波伊知郎 高田隆 武田泰典	4. 巻 38
2. 論文標題 歯科における遺伝子検査のためのゲノム病理の確立	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日歯医学会誌	6. 最初と最後の頁 52-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大竹義雄 野上晋之介 佐藤工 山内健介 熊本裕行 高橋哲	4. 巻 65
2. 論文標題 上顎類腫型エナメル上皮腫に対して遊離腸骨ブロック移植後にカスタムメイド・チタンメッシュトレート自家腸骨海綿骨細片で上顎骨二次再建を施行した1例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日口外誌	6. 最初と最後の頁 16-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Siril YJ Kouketsu A Oikawa M Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 48
2. 論文標題 Immunohistochemical assessment of chromatin licensing and DNA replication factor 1, geminin, and gamma-H2A.X in oral epithelial precursor lesions and squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Oral Pathol Med	6. 最初と最後の頁 888-896
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jop.12925	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kouketsu A Sato I Oikawa M Shimizu Y Saito H Tashiro K Yamashita Y Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 48
2. 論文標題 Regulatory T cells and M2-polarized tumour-associated macrophages are associated with the oncogenesis and progression of oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 1279-1288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijom.2019.04.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kouketsu A Sato I Oikawa M Shimizu Y Saito H Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 47
2. 論文標題 Exprsion of immunoregulatory molecules PD-L1 and PD-1 in oral cancer and precancerous lesions: A cohort study of Japanese patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Craniomaxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 33-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcms.2017.04.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 熊本裕行	4. 巻 67
2. 論文標題 歯原性腫瘍の分子病理学 - エナメル上皮腫を中心に -	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日口科誌	6. 最初と最後の頁 252-259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arima Y Oikawa M Shimizu Y Echigo S Takahashi T Kumamoto H	4. 巻 30
2. 論文標題 Immunohistochemical assessment of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and carbonic anhydrase IX (CA IX) in ameloblastomas	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Surg Med Pathol	6. 最初と最後の頁 294-300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2017.10.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurihara A Mori S Oikawa M Kumamoto H Takahashi T	4. 巻 60
2. 論文標題 Peripheral clear cell variant of calcifying epithelial odontogenic tumor devoid of calcification	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Oral Sci	6. 最初と最後の頁 469-472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnusd.17-0116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 武田泰典 入江太郎 熊本裕行	4. 巻 36
2. 論文標題 悪性歯源性腫瘍	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 病理と臨床	6. 最初と最後の頁 318-322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 熊本裕行
2. 発表標題 口腔癌と前癌病変の病理とその臨床適用
3. 学会等名 宮城県歯科医師会・東北大学病院合同講習会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒田佳奈子 北村淳 野上晋之介 山内健介 宮下仁 永井宏和 熊本裕行 高橋哲
2. 発表標題 舌扁平上皮癌における原発巣の深度に関する病理学的臨床検討
3. 学会等名 第65回日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 瀧澤 高橋哲 熊本裕行
2. 発表標題 口腔癌における骨髄由来抑制系細胞および形質細胞様樹状細胞に関する臨床病理学的研究
3. 学会等名 第39回日本口腔腫瘍学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Siril YJ Takahashi T Kuroda K Kumamoto H
2. 発表標題 Oral cancer in Haiti and promotion of my research on oncology in Japan
3. 学会等名 第38日本口腔腫瘍学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kishikawa A Fukunaga T Nogami S Seiryu M Shigemi S Kumamoto H Takahashi T Mizoguchi I
2. 発表標題 Facial asymmetry and unilateral condylar hyperplasia treated with ipsilateral condylectomy and orthodontic treatment
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 熊本裕行
2. 発表標題 顎口腔疾患の病理
3. 学会等名 第33回宮城県臨床細胞学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊本裕行
2. 発表標題 口腔癌と前癌病変
3. 学会等名 宮城県歯科医師会・東北大学病院合同講習会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊本裕行
2. 発表標題 歯源性腫瘍の分子病理学
3. 学会等名 第52回日本口腔科学会関東地方部会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊本裕行
2. 発表標題 顎口腔疾患の病理
3. 学会等名 平成29年度宮城県臨床検査技師会学術研修会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 君塚哲 熊本裕行 伊藤正健
2. 発表標題 上顎に生じたエナメル上皮癌の1例
3. 学会等名 第63回日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 高橋哲 熊本裕行 宮下仁	4. 発行年 2020年
2. 出版社 宮城県歯科医師会 / 東北大学大学院歯学研究科	5. 総ページ数 12
3. 書名 口腔がん・口腔粘膜病変：診査と連携のてびき 2020年版	

1. 著者名 熊本裕行 (下野正基 高田隆 田沼順一 豊澤悟 編)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 364
3. 書名 新口腔病理学 第3版	

1. 著者名 熊本裕行 (青笹克之 長尾俊孝 高田隆 編)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 380
3. 書名 癌診療指針のための病理診断プラクティス「唾液腺/口腔・歯源性腫瘍」	

1. 著者名 熊本裕行 (下野正基 高田隆 田沼順一 豊澤悟 編)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 359
3. 書名 新口腔病理学 第2版	

1. 著者名 熊本裕行 (豊澤悟 高田隆 編 高木實 監)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 380
3. 書名 口腔病理アトラス 第3版	

〔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	清水 良央 (SHIMIZU YOSHINAKA) (30302152)	東北大学・歯学研究科・助教 (11301)	
研究分担者	及川 麻理子 (OIKAWA MARIKO) (00712902)	東北大学・歯学研究科・助教 (11301)	2019年3月8日削除

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