

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09730

研究課題名(和文) 新たな治療方法の開発に向けたヒト乳頭腫ウイルス関連口腔癌の発生機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of oral cancer induced by human papillomavirus

研究代表者

鎌谷 宇明 (Takaaki, Kamatani)

昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：00315003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：舌癌の症例において、ヒト乳頭腫ウイルス(HPV)のL1の遺伝子が舌の重層扁平上皮細胞内で強く発現していることを免疫組織学的に明らかにし、舌癌の原因としてHPVが関与している可能性について示した。

HPVにコードされている8つの遺伝子のアミノ酸配列から進化系統樹を作成したところ、分子系統学的に発癌に関わっているHPVでは、その遺伝的な変異が8つの遺伝子ともほぼ同時に変化していることを明らかにした。またHPVにおいて各遺伝子毎の使用頻度の高いアミノ酸を明らかにした。以上から、HPVはそのコードされている8つのタンパクの全てが同時に変異しながらウイルスの性質を変化させている可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HPVの中で発癌に関わるのは40種類程とされ、それぞれ好発部位や発癌のリスクが異なっている。これまでHPV遺伝子の中で、E6とE7が癌関連遺伝子の制御に強く関わっているとされるも、どの遺伝子の変異がウイルスの性質を変化させているかは不明である。そこで、HPVの遺伝子配列やアミノ酸配列の変異と発癌のメカニズムの解明を目的に研究を計画した。特に口腔癌の発癌に関与するHPV遺伝子の変異の有無、遺伝子の発現とHPV遺伝子のヒトゲノムへのインテグレーションとの関連や、癌関連遺伝子の発現と発癌との関連を明らかにすることを目的とした。これは今後、HPV関連の口腔癌に対する治療方法の開発に役立つと考えた。

研究成果の概要(英文)：In case of tongue cancer, immunohistologically revealed that the L1 gene of human papillomavirus (HPV) is strongly expressed in the stratified squamous epithelial cells of the tongue. From this results, HPV is involved in the cause of tongue cancer. Frequently used amino acids used for each gene of HPV, phylogenetically analysis of HPV gene, and the amino acid sequences of eight genes encoded by HPV showed that the genetic mutations of the eight genes were changed almost simultaneously. We concluded that HPV may change the properties of the virus while mutating all of its encoded proteins at the same time.

研究分野：口腔外科学

キーワード：ヒト乳頭腫ウイルス

1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜に発症する扁平上皮癌の要因として、たばこやアルコール、機械的な慢性刺激、細菌やウイルス、炎症性サイトカインなどさまざま存在するが、原因となるウイルスの一つとしてヒト乳頭腫ウイルス (HPV) がある。HPV はパポウイルス科に分類される DNA ウィルスで、皮膚や粘膜の扁平上皮に接触感染し、乳頭腫や HPV 関連癌などを発生させる。サブタイプは 100 種類を超えるが、発癌と関連が強いとされるハイリスクタイプは 13 種類とされている。HPV には初期遺伝子 (E1、E2、E4、E5、E6、E7) と後期遺伝子 (L1、L2) の合計 8 つの遺伝子が存在し、これらのうち E6 と E7 が発癌に関与し、E2 の発現は E6 と E7 に対して抑制的に働くとされている。これまで HPV の関連の癌として子宮頸癌、皮膚癌、中咽頭癌さらに口腔癌が報告されているも、これらの発癌機構に不明な点が多い。

一般的に、複数の癌遺伝子や癌抑制遺伝子の異常が経時的に蓄積することで癌が発生すると考えられている。そのため発癌に係わる遺伝子の異常を明らかにしようとする研究が進められている。近年、生物情報科学の進歩や次世代シーケンサーを用いることでゲノムの網羅的解析を行うことが可能となり、多くの癌で様々な遺伝子に変異が生じていることが明らかとなってきた。その中でも特に C/T (相補鎖では G/A) への変異が圧倒的に多いことが報告されている。

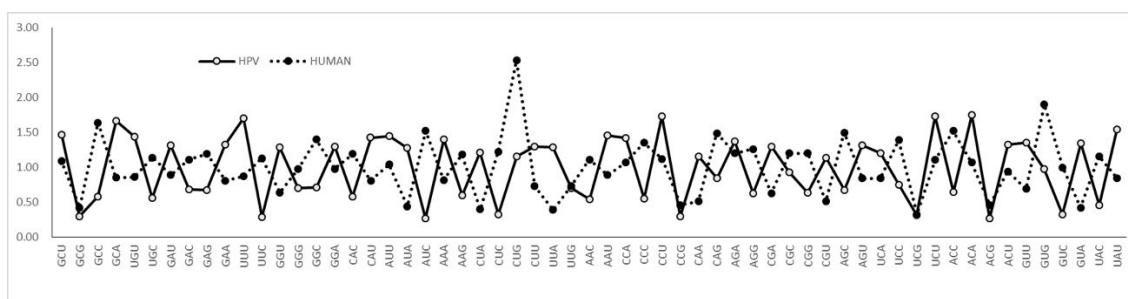
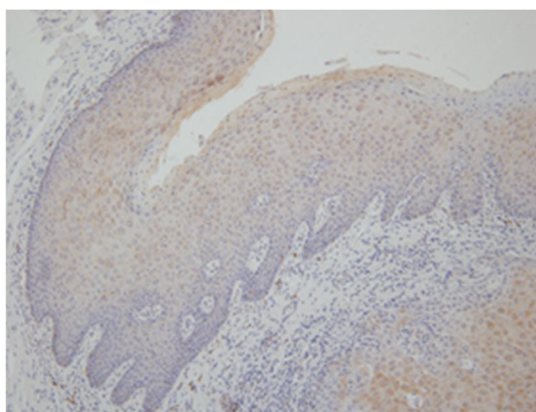
ウィルスが原因で発癌する場合には、宿主のゲノムへウィルスのゲノムが組み込まれるインテグレーションが生じている。しかし、口腔白板症や口腔癌の研究で HPV の感染を示唆する報告はあるも、宿主ゲノムへのインテグレーションの有無と発癌との関連については明らかとなっていない。さらに、インテグレーションにより E2 の発現が抑制されることで、E6 と E7 の発現抑制が解除され癌化するとされているが、HPV 関連の口腔癌における発癌機構は不明である。

2. 研究の目的

HPV にはこれまで 200 種類以上の遺伝子型が報告され、その中で発癌に関わるのは 40 種類程とされ、多くの HPV のサブタイプの中で、子宮頸癌では HPV16 と 18 が、中咽頭癌では HPV16 が、皮膚癌では HPV5 と 8 が、口腔癌では HPV16 が発癌に関与していると報告されている。発癌に関わる遺伝子型のウィルス中でも、好発部位や発癌のリスクが異なっている。これまでの研究から E6 と E7 が癌関連遺伝子の制御に強く関わっていると報告されている。しかしどの遺伝子の変異が、そのウィルスの性質に強く関わっているのかはまだ十分に解明されていない。そこで、HPV の遺伝子やアミノ酸配列の変異と発癌のメカニズムの解明を目的に研究を計画した。特に口腔癌の発癌に関与する HPV 遺伝子の変異の有無、変異に関与するとされる遺伝子の発現と HPV 遺伝子のヒトゲノムへのインテグレーションとの関連や、癌関連遺伝子 E6 と E7 の発現と発癌との関連を明らかにすることを目的とした。これにより今後の新しい HPV 関連の口腔癌に対する治療方法の開発に役立つと考えた。

3. 研究の方法

舌癌の手術で得られたホルマリン固定、パラフィン包埋の標本を用いて免疫染色を行い、HPV の存在の有無、遺伝子の発現について検索した。さらに、ゲノムデータベースから HPV の遺伝子配列とアミノ酸配列をダウンロードし、生物情報学的手法を用いて系統樹構築を行い、塩基配列やアミノ酸配列について解析し、これらの遺伝子の系統的变化と発癌との関わりや、遺伝子型による進化の違いの有無や、ヒトの遺伝子と HPV の遺伝子の比較による使用コドンの傾向の違いについて生物情報学的手法を用いて検討をした。

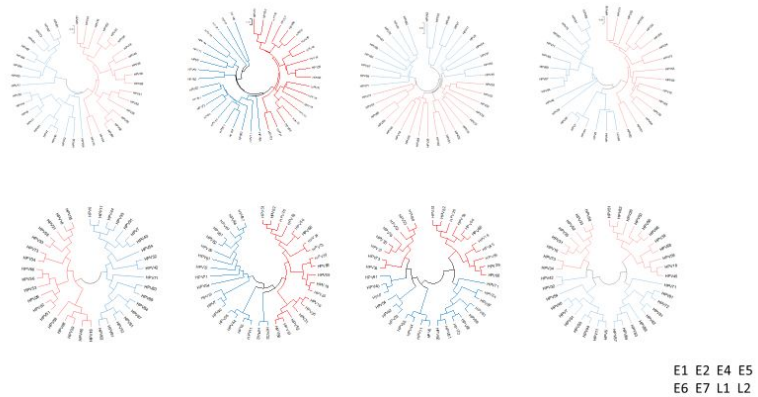


4. 研究成果

舌癌の症例において、手術で得られた組織からホルマリン固定、パラフィン包埋して作製した標本を用い、免疫組織学的に検索した。その結果、L1 の遺伝子が舌の重層扁平上皮細胞内において強く発現していることを明らかにし、舌癌の原因として HPV が関与している可能性について示した (Human Pathology: Case Reports 16 100290 2019)。

さらに HPV にコードされているの 8 つの遺伝子について、アミノ酸配列から進化系統樹を作成したところ、分子系統学的には発癌に関わっている HPV では、その遺伝的な変異が 8 つの遺伝子ともほぼ同時に変化していることを明らかにした。また、頻度の高いアミノ酸について遺伝子ごとに解析し、使用頻度の高いアミノ酸を明らかにした。以上から、HPV はそのコードされているタンパクの全てが同時に変異しながらウイルスの性質を変化させている可能性が示された (OSOMOP e189-e190, 2020)。

Figure 1



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takaaki Kamatani, Thant Phyu Syn, Koki Takamatsu, Ryogo Katada, Kaori Ikezaki, Tatsuo Shirota	4. 巻 16
2. 論文標題 Carcinoma of the dorsum of the tongue with lung carcinoma and duodenal carcinoma in one patient	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Pathology: Case Reports	6. 最初と最後の頁 100290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ehpc.2019.02.001	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 該当する

1. 著者名 Shirota Tatsuo, Shiogama Sunao, Asama Yusuke, Tanaka Motohiro, Kurihara Yuji, Ogura Hiroshi, Kamatani Takaaki	4. 巻 5
2. 論文標題 CAD/CAM splint and surgical navigation allows accurate maxillary segment positioning in Le Fort I osteotomy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e02123 ~ e02123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2019.e02123	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 SUZUKI Maiko, KAMATANI Takaaki, SATO Yuriko, KATADA Ryogo, YASO Atsutoshi, SHIROTA Tatsuo	4. 巻 32
2. 論文標題 A Case of Necrotizing Sialometaplasia of the Hard Palate Treated with Tranexamic Acid and Sodium Azulene Sulfonate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Showa University Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 215 ~ 220
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15369/sujms.32.215	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Takaaki Kamatani, Tatsuo Shirota
2. 発表標題 Comparative Phylogenetic Analysis of Proteins of Different Strains of Human Papillomavirus
3. 学会等名 14th World Congress on Inflammation 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takaaki Kamatani, Tatsuo Shirota
2. 発表標題 Phylogenetic Analysis of Human Papillomavirus Proteins
3. 学会等名 2019 American Academy of Oral Medicine Annual Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takaaki Kamatani, Tatsuo Shirota
2. 発表標題 Analysis of Factors Affecting Codon Usage in Human Papillomavirus
3. 学会等名 13th Asian Congress on Oral & Maxillofacial Surgery (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池崎かおり, 鎌谷 宇明, 高松 弘貴, 堅田 凌悟, 瀧本 玲子, 守谷 崇, 倉澤 侑也, 安田 有沙, 齋藤 芳郎, 代田 達夫
2. 発表標題 十二指腸癌と肺癌とともに舌背に生じた扁平上皮癌の1例
3. 学会等名 公益社団法人日本口腔外科学会関東支部集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Editors: Ivana Vancurova Yan Zhhu (Chapter5: Takaaki Kamatani)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 SPRINGER NATURE	5. 総ページ数 369
3. 書名 Immune Mediators in Cancer: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)	

1. 著者名 千葉俊美・山田浩之 編集 分担執筆 鎌谷 宇明	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 322
3. 書名 歯科医師のための内科学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

researchmap https://researchmap.jp/read0197566 researchmap https://researchmap.jp/read0197566/?lang=japanese
--

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	棕代 義樹 (MUKUDAI YOSHIKI) (50325099)	昭和大学・歯学部・助教 (32622)	

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
---------	---------