

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 31日現在

研究種目:若手研究(B)

研究期間:2007~2008

課題番号:19791519

研究課題名(和文) ヒト唾液腺腫瘍における CENP-H 遺伝子の発現および機能解析

研究課題名(英文)Expression analysis of CENP-H gene in human salivary gland carcinomas.

研究代表者 重石 英生 (SHIGEISHI HIDEO)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号:90397943

研究成果の概要:

CENP-H の発現と臨床病理学的指標や転移および予後との関わりについて検討した.その結果, CENP-H の過剰発現と腫瘍の増殖活性との間の相関関係を認め, CENP-H の過剰な発現が, 悪性転化にも関わっている可能性が強く示唆された.

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	270,000	2,870,000

研究分野:歯学

科研費の分科・細目:外科系歯学

キーワード:細胞周期, 悪性腫瘍, セントロメア蛋白質

1. 研究開始当初の背景

細胞周期 M 期において、染色体と結合する紡錘体微小管は、セントロメア領域の表層に形成された動原体に付着して、動原体微小管を形成する。近年、ヒト動原体を構成する蛋白質がいくつか同定されている。そのなかでも、CENP-F (Centromere Protein F) 及び CENP-H (Centromere Protein H) は M 期において動原体に局在し、M 期中期における染色分体の配列、動原体微小管の形成や後期における染色体の両極への分配において重要な役割を担うという報告がなされてきた。ヒトの細胞周期 M 期には、すべての染色体が微小管と両極性に結合し、異常な染色体分配が生じないようにするために、細胞周期の進行を制御する機構として紡錘体形成チェックポイントが存在する。この機構において Bub1, Mad2 等の遺伝子産物が CENP-F と相互作用するという報告があるが、今だ不明な点が多い。我々は既に、口腔扁平上皮癌での CENP-F mRNA の発現が正常歯肉に比較して亢進しており、口腔扁平上皮癌において、リンパ節転移を伴った例では、リンパ節転移のないものに比べて CENP-F の発現レベルが有意に高いことを報告してきた。この結果より、CENP-F の高い発現を示す口腔扁平上皮癌は高い転移能を持つことが示唆された。さらに唾液腺悪性腫瘍において、CENP-F の過剰発現とその遺伝子発現が腫瘍の増殖活性と相関していることを報告してきた (Oral Oncol.2005;41:716-22)。また、唾液腺悪性腫瘍での Bub1 の過剰発現と腫瘍の増殖活性との関係も報告してきた (Oncol Rep. 2006;15:933-8)。このことは、CENP-F 及び Bub1 両遺伝子が唾液腺悪性腫瘍の増殖において重要な役割を担っていることを示唆するものである。

当科にて口腔扁平上皮癌における CENP-H の発現解析を行った結果、口腔扁平上皮癌での CENP-H mRNA の発現は正常歯肉および上皮異形成症に比較して亢進していた。また口腔扁平上皮癌においては、CENP-H の発現レベルが高い例では、Ki-67 labeling index が有意に高いことが判明した。以上より、CENP-H の高い発現を示す口腔扁平上皮癌は高い増殖能を持つことが示唆された (Oncol Rep. 2006;156:1071-5)。さらに、予後調査が可能であった例について、CENP-H の発現レベルが正常粘膜における発現以内のものを低発現群 (18 例)、正常粘膜よりも高い発現レベルのものを高発現群 (18 例) に分けて両者間で生存率を比較検討した。CENP-H 高発現群では低発現群に比較して生存率が低い傾向がみられたことから、CENP-H の発現と予後との関係が示唆された。

CENP-H の高い発現は、悪性腫瘍における細胞分裂の増加や細胞周期制御一方で、現在のところ、悪性腫瘍での CENP-H の機能は不明な点が多く、特に、唾液腺腫瘍における CENP-H の発現およびその機能についてはいまだ明らかとなっていない。

2. 研究の目的

唾液腺腫瘍における CENP-H の発現を明らかにする目的で、当科にて手術時に摘出した唾液腺腫瘍における CENP-H の発現と臨床病理学的指標や転移および予後との関わりについて検討する。これにより、CENP-H が CENP-F や Bub1 と同様に唾液腺悪性腫瘍の増殖と関係しているかどうかをまず明らかにする。また、当科にて樹立した唾液腺腫瘍細胞株を用いて、CENP-H 遺伝子の機能や紡錘体形成チェックポイント機構における Bub1 遺伝子との関係についての解析を行う。

3. 研究の方法

広島大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会による承認の下で、広島大学病院口腔顎顔面再建外科にて切除し、患者による同意が得られた唾液腺腫瘍症例の新鮮凍結材料を用いて、RNA を抽出し、Real time RT-PCR 法により、CENP-H mRNA の発現解析を行った。唾液腺腫瘍症例のパラフィン包埋切片を用いて、免疫組織学的に CENP-H の発現検索を行う。また、腫瘍の増殖活性を明らかにする目的で、免疫組織学的に PCNA および Ki-67 の発現を検索し、CENP-H の発現との相関性についても検討した。

また、細胞周期制御において重要な役割を担う TPX2 遺伝子についても、唾液腺腫瘍において、その発現を Real time RT-PCR 法および免疫組織学的にて解析を行った。

4. 研究成果

唾液腺腫瘍における CENP-H の発現解析結果を示した論文は今までなく、今回我々は Oral

Science International (2008)にその結果を報告した。CENP-H の高い発現は、悪性腫瘍における細胞分裂の増加や細胞周期制御の異常を示すだけでなく、CENP-H の過剰な発現が、悪性転化にも関わっている可能性が強く示唆された。また、細胞周期制御において重要な役割を担う TPX2 遺伝子について、唾液腺腫瘍においてその発現を Real time RT-PCR 法にて解析した結果、TPX2 遺伝子の発現と腫瘍の増殖との関連性を認めた。また、免疫組織化学的に TPX2 の発現を解析した結果、腫瘍細胞の核においてその発現を確認した。その結果は、Oncol Rep (2009)に論文掲載された。

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 3 件)

1. Shigeishi H, Ohta K, Hiraoka M, Fujimoto S, Minami M, Higashikawa K, Kamata N. Expression of TPX2 in salivary gland carcinomas. Oncol Rep. 2009 ;21(2):341-344. 査読有り

2. Hideo Shigeishi, Yoshitsugu Mitani, ShigehiroOno, Kouji Ohta, Koichiro Higashikawa, Masayuki Taki and Nobuyuki Kamata. Increased expression of CENP-Hgene in human salivarygland carcinomas. Oral Siense International,Vol.5 , p.43-51, 2008. 査読有り

3. Shigeishi H, Higashikawa K, Hiraoka M, Fujimoto S, Mitani Y, Ohta K, Takechi M, Kamata N. Expression of epiregulin, a novel epidermal growth factor ligand associated with prognosis in human oral squamous cell carcinomas. Oncol Rep. 2008 ;19(6):1557-1564. 査読有り

[学会発表] (計 1 件)

1. 重石 英生, 口腔扁平上皮癌における RHAMM 遺伝子の発現解析, 日本口腔外科学会総会, 2008年10月20, 21日, 徳島.

6. 研究組織

(1)研究代表者

重石 英生 (SHIGEISHI HIDEO)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：90397943

(2)研究分担者

(3)連携研究者