

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19241

研究課題名(和文)メラノーマの顎骨浸潤・遠隔転移における悪性度と発現量が相関するTLE3の役割

研究課題名(英文)The function of TLE3, whose expression correlated with malignancy, on bone invasion and metastasis in melanoma

研究代表者

茂山 幸代(Yukiyo, Shigeyama)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：10794480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：メラノーマは悪性度の高いがんであり、高い増殖能と肺などへの遠隔転移による非常に予後が悪い。データベース解析からヒトの健常皮膚、良性母斑、メラノーマへの変化に伴い転写コファクターであるTLE3の発現が上昇した。TLE3を過剰発現したB16細胞は増殖能が亢進し、CyclinD1などの細胞周期関連遺伝子の発現量が上昇した。この細胞を12週齢雄ヌードマウス背部皮下に接種するとコントロール細胞に比べて大きな腫瘍を形成した。一方、TLE3を恒常的にノックダウンしたB16細胞をマウス皮下に摂取するとコントロール細胞に比べて小さな腫瘍を形成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害剤の登場により、近年メラノーマの治療成績が著しく向上してきた。しかし、これら薬剤が全く無効である症例も少なくなく、さらに間質性肺炎や大腸炎などの免疫関連有害事象をもたらすこともわかってきた。そのため、メラノーマの病態を正確に理解し、新たな治療法を確立する必要性は依然として残っている。HDAC阻害剤はメラノーマの新しい治療薬として注目されている。本課題ではHDACを誘導し転写コファクターとして作用するTLE3がメラノーマの増殖を制御するメカニズムを明らかにしたものであり、HDAC阻害剤を利用したメラノーマの治療に新たなエビデンスを与えることができる研究であったと考える。

研究成果の概要(英文)：Melanoma, one of the most aggressive neoplasms, is characterized by rapid cell proliferation. TLE3 is an important regulator of cell proliferation via HDAC recruitment. Given that HDAC activity is associated with melanoma progression, we examined the relationship between TLE3 and melanoma. TLE3 expression was increased during the progression of human patient melanoma. Overexpression of Tle3 in B16 murine melanoma cells led to an increase in cell proliferation as well as the number of cyclinD1-positive cells. In vivo injection of mice with B16 cells overexpressing Tle3 resulted in larger tumor formation than in mice injected with control cells. In contrast, siRNA-mediated knockdown of Tle3 in B16 cells decreased proliferation. Treatment of B16 cells with trichostatin A, a class I and II HDAC inhibitor, prevented the effects of Tle3 on proliferation. In conclusion, these data indicate that Tle3 is required, at least in part, for proliferation in the B16 mouse melanoma model.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：悪性黒色腫 TLE3

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メラノーマはメラノサイトから発生する悪性度が非常に高いがんである。高い増殖能と浸潤能が特徴であり肺などへの遠隔転移も多い。口腔粘膜に発生する悪性黒色腫は皮膚のものとは比べて予後不良とされるが、発生頻度が低く研究があまり進んでいない。ヒストンの脱アセチル化はクロマチン構造を変化させ、エピジェネティックに遺伝子発現を制御する。そしてヒストンの脱アセチル化ならびにそれを担うヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の機能破綻は様々ながんに関与する。転写コリプレッサーである TLE3 は遺伝子転写調節の場へ HDAC を誘導することで様々な転写因子活性を抑制し細胞の増殖・分化などの生命現象を制御する。そして近年、TLE3 と様々ながんとの関連が報告されるようになってきた。

2. 研究の目的

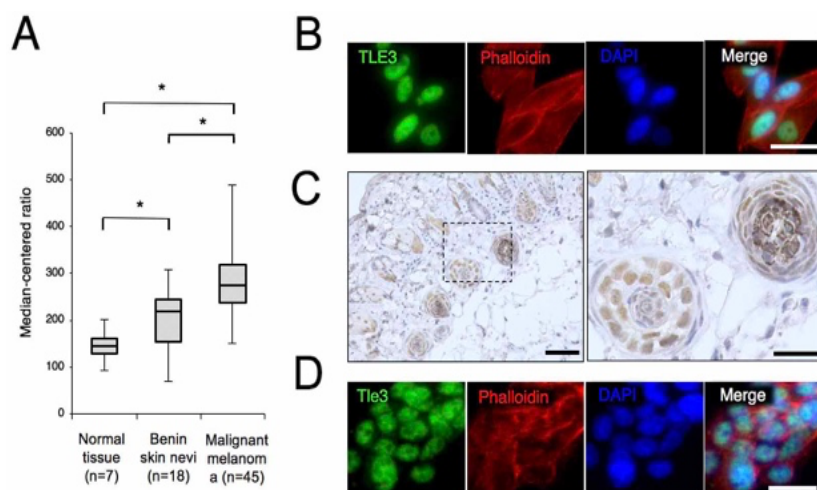
メラノーマの挙動における転写コリプレッサー TLE3 の役割を検討する。

3. 研究の方法

NCBI Gene Expression Omnibus (GEO) に収載されているメラノーマヒトサンプルのマイクロアレイデータ (GSE3189) を解析した。動物は 12 week-old male BALB/cA Jcl-nu/nu mice (CLEA Japan Inc.) を用いた。細胞はマウスメラノーマ細胞株 B16 cells (RCB1283) およびヒトメラノーマ細胞株 HMV-II cells (RCB0777) を理研より購入し用いた。Myc-Tag がついた TLE3 の発現ベクターを作製し使用した。

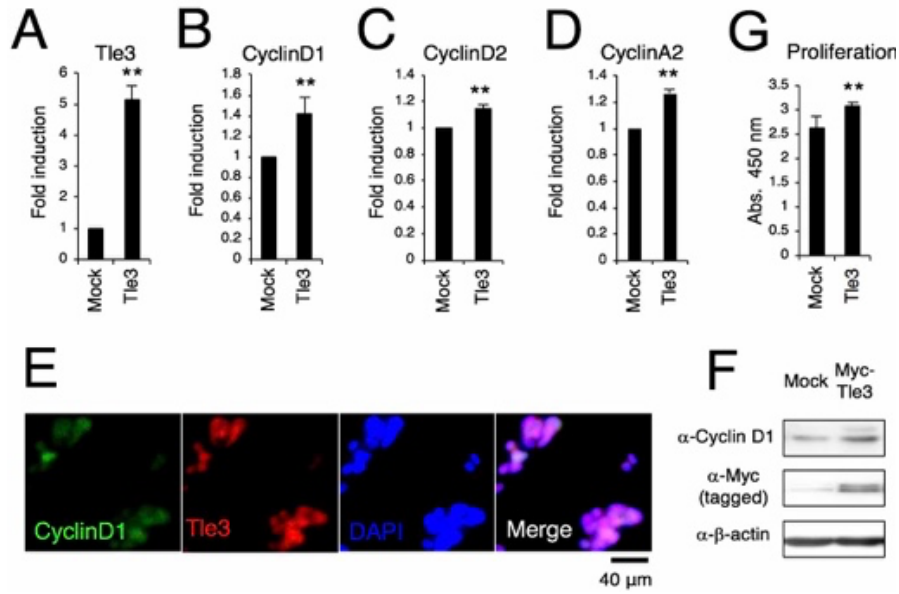
4. 研究成果

(1) ヒト悪性黒色腫で TLE3 の発現量が上昇する。



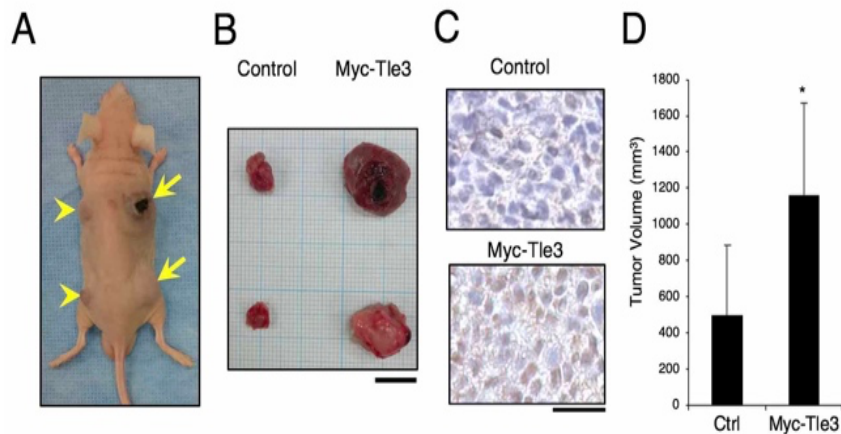
実際のメラノーマのヒトサンプルにおいてメラノーマにおける TLE3 の発現量は健常組織、良性母斑より有意に多かった (A)。TLE3 抗体を用いた免疫染色から、TLE3 は B16 細胞 (B) および HMV-II 細胞の核に存在し (D)、さらにマウス皮膚組織においてメラニン色素を含む毛包周囲細胞に発現することが明らかとなった (C)。

(2) TLE3 の過剰発現は B16 細胞の増殖を増加させる。



B16 細胞に TLE3 を過剰発現させると (A), 細胞周期に関連する Cyclin D1 (B, E, F), Cyclin D1 (B), Cyclin D2 (C), Cyclin A2 (D) が上昇した。さらに TLE3 の過剰発現は B16 細胞の数そのものを増加させた (G)。

(1) TLE3 を過剰発現した B16 細胞をマウス皮下に注射すると大きな腫瘍を形成する。



BALB/cA Jc1-ヌードマウスの皮下 Myc-TLE3 を過剰発現させた B16 細胞を接種した (A)。三週間後に形成された腫瘍を摘出すると、Myc-TLE3 を過剰発現した腫瘍はコントロールに比べて優位に大きかった (B - D)。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Ogawa M, Yaginuma T, Nakatomi C, Nakajima T, Tada-Shigeyama Y, Addison WN, Urata M, Matsubara T, Watanabe K, Matsuo K, Sato T, Honda H, Hikiji H, Watanabe S, Kokabu S	4. 巻 10
2. 論文標題 Transducin-like enhancer of split 3 regulates proliferation of melanoma cells via histone deacetylase activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 404-414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.26552.	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 Ogawa Mika, Harano Nozomu, Ono Kentaro, Shigeyama-Tada Yukiyo, Hamasaki Tomoko, Watanabe Seiji	4. 巻 77
2. 論文標題 Association between sensory processing and dental fear among female undergraduates in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Odontologica Scandinavica	6. 最初と最後の頁 525 ~ 533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00016357.2019.1610190	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 黒岩 きりこ, 原野 望, 茂山 幸代, 亀谷 綾花, 渡邊 誠之
2. 発表標題 亜酸化窒素は味覚や触覚の閾値を上昇させるかもしれない
3. 学会等名 日本歯科麻酔学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河端 和音, 左合 徹平, 大渡 凡人, 原野 望, 茂山 幸代, 山口 浩志, 亀谷 綾花, 布巻 昌仁, 椎葉 俊司
2. 発表標題 星状神経節ブロックによる交感神経遮断時間が三叉神経ニューロパチーの治療効果に及ぼす影響
3. 学会等名 日本歯科麻酔学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒岩 きりこ、原野 望、茂山 幸代、亀谷 綾花、下坂 桃子、大野 綾、安藤 瑛香、今井 匠、兒玉 祐子、渡邊 誠之
2. 発表標題 障害者歯科における亜酸化窒素吸入鎮静法の役割
3. 学会等名 第47回日本歯科麻酔学会総会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田 芽以、椎葉 俊司、左合 徹平、河端 和音、亀谷 綾花、近藤 きりこ、茂山 幸代、原野 望、渡邊 誠之
2. 発表標題 舌咽神経ブロックと意識下鎮静の併用により歯科治療時の異常絞扼反射が脱感作傾向を呈した症例
3. 学会等名 第47回日本歯科麻酔学会総会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒岩 きりこ、原野 望、茂山 幸代、亀谷 綾花、下坂 桃子、安藤 瑛香、渡邊 誠之
2. 発表標題 亜酸化窒素は口腔内感覚入力を低下させる
3. 学会等名 第36回日本障害者歯科学会総会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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