

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19252

研究課題名（和文）歯原性腫瘍における最適な治療法選択のための、新たな遺伝子診断技術の確立。

研究課題名（英文）Establishment of novel genetic diagnostic technology for selecting optimal treatment for odontogenic tumors

研究代表者

豊留 宗一郎（Toyodome, Soichiro）

近畿大学・奈良病院・助教

研究者番号：20836663

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）：本研究の目的は、歯原性腫瘍における確実な治療法選択の基準を作成し、遺伝子修復による治療の可能性を探索することであった。まずは研究に適した症例検索と検体採取が必要であったため、適宜採取を実施したが、途中長期にわたるコロナ禍のため新規受診患者の大幅な減少により時間を要した。さらに過去の症例からこれまでの経過を検索し、再発の有無についてデータを集めた。その中で、将来的に再発の恐れが指摘されている稀な歯原性腫瘍や、歯原性腫瘍の悪性化によって生じたと思われる顎骨中心性癌があり、長期的に経過を追うことができた。それらをまとめて、得られた所見については文献的考察を加えた上で、論文や学会にて発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯原性腫瘍はこれまでその多くが良性腫瘍として扱われており、治療法も摘出が基本であった。一方で、再発や悪性化を生じる症例も指摘されており、初期に適切な治療が行われなかった場合、予後に不安を残す可能性もある。今回の研究では、この予後を踏まえて初期治療の段階でどのように治療を行うのが良いか、客観的な指標を作ることが将来的な目標であった。研究中にも予後不良とされる症例や悪性化を疑う症例が見られたため、いずれも検索と考察を行い論文や学会にて発表した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was creating criteria for reliable treatment selection for odontogenic tumors and to explore the possibility of treatment using gene therapy. First, it was necessary to find cases suitable for this study and collect specimens, so we collected samples as appropriate, but it took time due to the long-term coronavirus pandemic. Furthermore, we searched past cases and collected data of recurrence. Among these, there are rare odontogenic tumors that have been pointed out to be recurrence in the future, and jawbone-centered cancers that are thought to have arisen from malignant transformation of odontogenic tumors, and whose course cannot be tracked over the long term. After summarizing these findings and considering the literature, we presented them in papers and at academic conferences.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔外科 角化嚢胞 エナメル上皮腫 歯原性腫瘍

### 1. 研究開始当初の背景

歯源性腫瘍は口腔外科疾患領域において頻度の高い良性腫瘍で、多くは適切に病変を摘出することで治癒が期待できる。しかし、角化嚢胞やエナメル上皮腫といった周囲組織に対して侵襲的態度を示す歯源性腫瘍も高頻度で見られる。現在これらの腫瘍を摘出する際は、局所侵襲を受けていると考えられる周辺組織を搔爬することで、再発の回避が試みられているものの、この方法はあくまで盲目的・経験的であり、術後の再発率は依然として高いままである。どのようなタイプにおいて再発率が高いのかという明確な分類も存在しないことから、治療選択の幅が狭く、確実な治療を行うにあたっては広範囲に渡った切除が必要で、画一的な治療が行われている。すなわち治療による顎骨の喪失量が多いため、術後 QOL の著しい低下を招き、一般的な良性腫瘍のように局所的な摘出術では対応できていないのが現状である。

さらに、多くの良性歯源性腫瘍は感染等の兆候がないため、無痛に進行することが多く、症状が顕在化した際には、比較的大きなサイズとなって発見されることも多い。加えて歯源性腫瘍は一般的な悪性腫瘍と異なり、若年者であっても発症する可能性があり、その治療方針については長期的予後だけでなく、患者自身の生活の質を考慮する必要がある。すなわち、再発の無いように根治的に治療をする場合、切除する範囲が広くなることが多く、侵襲性が高いと思われる。当然その後の顎口腔機能への悪影響が想定され、若年者であった場合その問題が長期間にわたり続くことになる。一方で、機能面を考慮して侵襲性の少ない治療方針を計画した場合、再発するリスクを残すことになり、こちらも長期的にわたり問題を伴うことになる。

これまでに基底細胞母斑症候群と角化嚢胞の関連について、PTCH 遺伝子の変異が原因であるとする研究や、それに伴う sonic hedgehog (SHH) 遺伝子や smoothed (SMO) 遺伝子への関与が指摘されているが、臨床応用へ繋がる具体的な診断法・治療法は確立されていない。上記の通り歯源性腫瘍は比較的若年者での発症率が高いことから、これらの疾患による長期的な QOL 低下は避けられず、患者毎に的確な治療方針を決めるためには、より確実な診断法の確率が必要であり、客観的に評価できる治療法の確立が望ましいと考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究における目的は、これまで経験的に行われてきた歯源性腫瘍の治療に対し、遺伝子発現の変化を明らかとすることにより、確実な治療法選択の基準を作成すること、将来的にはゲノム編集技術を用いて遺伝子変異による病変発症のメカニズムの解析と、遺伝子修復による遺伝子治療の可能性を探索することであった。

これまでに、口腔扁平上皮癌などの悪性腫瘍に対しては多くの研究が進み、根拠のある治療法として確率されており、客観的に診断が可能である。特に、口腔扁平上皮癌の手術では、安全域を設けて病変を切除した上で、術中に切除断端を迅速診断を行うことで、悪性所見のある細胞や組織を取り残していないか、評価することが可能である。

一方で歯源性腫瘍は良性腫瘍であり、組織標本レベルでは境界明瞭であることから、切除断端を顕微鏡で目視して術中に判断することは困難である。そのため、良性腫瘍の種類によっては経験的に再発が想定される部分を追加切除・切削を行なっているのが現状である。仮に、比較的大きな良性腫瘍であった場合、さらなる切除を要するという一方で、術後の機能障害をより強く招く可能性もあるため、この判断は慎重に行う必要がある。

そこで、本研究では正常組織と病変組織の遺伝子発現パターンを網羅的に解析・比較検討し、臨床経過との関連を明らかにすることで、再発の無い最小限の切除範囲を客観的に決定する指標を作成することが第一の目的であった。さらに、正常組織と病変組織の遺伝子発現の違いが明らかになれば、近年発達しているゲノム編集技術を用いて遺伝子変異を修復させ、遺伝子治療による新たな治療法確率の可能性を探索することも将来的な第二の目的であった。

### 3. 研究の方法

本研究では、これまでの報告で角化嚢胞の原因遺伝子とされている PTCH 遺伝子や SHH 遺伝子に注目し、他の歯源性腫瘍との発現レベルの違いを Real Time PCR (RNA レベル) とウエスタンブロット分析 (タンパクレベル) で確認することで、再発頻度の高い角化嚢胞の遺伝子発現パターンが、他の歯源性腫瘍とどのように異なるのか明らかにすることが必要であった。そこで、まずは検体採取を優先的に行う必要があった。病変組織だけでなく、コントロールとして正常組織を用いる必要があったため、顎骨内に生じた歯源性腫瘍に対し摘出を要する場合に、別部位に抜歯を要する埋伏歯等を認め、これらを一期的に手術する場合であれば、病変組織と健常肉芽組織を同時に採取することで検体を採取、遺伝子発現を調べて比較検討することができる。これら採取検体から、遺伝子発現パターンを Real Time PCR (RNA レベル) とウエスタンブロット解析 (タンパクレベル) で確認し、遺伝子発現パターンの違いを確認する。また、再発や局所侵襲性のある良性腫瘍では、周囲に残存した腫瘍化原因細胞が存在すると考えられるため、病変摘出後に周辺を搔爬した検体を用いて、遺伝子発現レベルを調べる。これにより、臨床的に予後不良と思われる症例の洗い出しが可能となる。最終的には、これらの結果をまとめて、再発や局所浸潤が見

られる病変の遺伝子発現パターンを指標として、高リスク群の判定を行い、術中削除量の決定に役立てることができる。その結果、客観的に適切な切除範囲や術式を決めることができ、診断基準として確立が可能となる。

#### 4. 研究成果

上記の目的を達成させるために、まずは研究に適した症例の検索と検体の採取が必要であったが、想定外の長期にわたるコロナ禍のため新規受診患者の大幅な減少を招いた。そのため、検体の採取に予想以上に困難な状況が続き、大幅な時間を要した。一方、研究の対象とする疾患を選別するために、病変の拡大傾向や再発有無などの臨床的評価を行う必要があったため、これまで治療を行った歯源性腫瘍の症例において、X線画像や病理画像及び術中所見などの検索を平行して行い、再発の有無についてデータを集めた。その中で、将来的に再発の恐れが指摘されている稀な歯源性腫瘍の症例や、歯源性腫瘍の悪性転化によって生じたと思われる顎骨中心性癌の症例などがあり、長期的に経過を追うことができた。特に、上顎骨の広範囲に生じた象牙質形成性幻影細胞腫では、病変そのものは大きかったものの、明らかな周囲浸潤は認めず、再発も生じなかった。本症例では、悪性転化の指標としてKi-67やS-100の陰性を確認することで悪性転化の可能性が低いことの評価ができた。そのため、一期的に全ての病変を切除すると機能障害が大きくなると想定されたため、当初は開窓により病変の縮小を図り、二期的に手術を行うことで切除量を抑えることができた。結果的に機能障害は最小限に抑えることができ、現在まで再発なく経過している。このような判断も、上記のような遺伝子発現を確認することで評価できたものであり、臨床所見だけでの評価では切除範囲を広くせざる負えず、遺伝子発現を調べることが客観的な指標の一助となりうる。その他に、歯源性腫瘍が由来となって生じる稀な顎骨中心性癌の症例もあったため、その病態についても解析を行った。この症例は口腔粘膜には特に異常を認めず、顎骨の内部から悪性腫瘍が生じていることから、従前から生じていた歯源性腫瘍が悪性転化し拡大したことで発症した可能性が示唆された。本研究では、正常組織との比較が必要であるため、この症例では十分な遺伝子検体採取は困難であり、本来の遺伝子解析まで至っていないが、歯源性腫瘍によっては悪性化する可能性があることを示す稀な一例であった。そこで、本病態については臨床所見をまとめ、本研究の一助とすることができた。本研究期間においては、それらをまとめて、遺伝子の発現変化について検索と解析を進め、得られた所見については、文献的考察を加えた上で、論文として投稿し完成した。その他、関連する口腔外科疾患については学会発表を行った。今後はこの結果をもとに、将来的に遺伝子解析の結果と臨床所見や再発等の経過を照らし合わせて、再発リスクや術式の選択に至る診断基準を検討することが可能である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 豊留宗一郎, 家根旦有, 上田吉生, 二川晃一, 若狭朋子, 渡瀬謙仁, 岩本展子, 根本直人, 長井聖武, 長田哲次	4. 巻 47
2. 論文標題 歯牙動揺を契機に発見され, 口腔多発癌の経過を辿った原発性下顎骨中心性扁平上皮癌の1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 近畿大学医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 73-81
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 オープンアクセスとしている (また, その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Soichiro Toyodome, Tomoko Wakasa, Katsutoshi Hirose, Noriko Iwamoto, Seiya Suzuki, Naoto Nemoto, Satoru Toyosawa, Tetsuji Nagata	4. 巻 17
2. 論文標題 Dentinogenic ghost cell tumor treated with a combination of marsupialization and radical resection: a case report and review of the literature	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Medical Case Reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13256-023-03861-w	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 Toyodome Soichiro, Matsunaga Kazuhide, Iwamoto Noriko, Suzuki Seiya, Nemoto Naoto, Ueda Yoshio, Nagata Tetsuji	4. 巻 33
2. 論文標題 Lingual nerve injury due to wisdom tooth germ extraction repaired using a conduit for peripheral nerve regeneration: A preliminary case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 317 ~ 321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2020.12.011	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 Toyodome Soichiro, Matsunaga Kazuhide, Iwamoto Noriko, Suzuki Seiya, Nemoto Naoto, Ueda Yoshio, Nagata Tetsuji	4. 巻 vol133 Issue3
2. 論文標題 Lingual nerve injury due to wisdom tooth germ extraction repaired using a conduit for peripheral nerve regeneration: A preliminary case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 317-321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2020.12.011	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 根本直人, 岩本展子, 豊留宗一郎, 長井聖武, 長田哲次
2. 発表標題 経上顎洞的に摘出した上顎結節部の含歯性嚢胞の1例
3. 学会等名 第67回 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長井聖武, 豊留宗一郎, 根本直人, 岩本展子, 長田哲次
2. 発表標題 AI-Kayat法により摘出した滑膜性骨軟骨種症の1例
3. 学会等名 第53回 日本口腔外科学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 根本直人, 豊留宗一郎, 岩本展子, 鈴木晴也, 長田哲次
2. 発表標題 疼痛の増悪を契機に診断を得た頬骨骨腫の1例
3. 学会等名 第51回 日本口腔外科学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 根本直人, 豊留宗一郎, 岩本展子, 鈴木晴也, 長田哲次
2. 発表標題 歯内治療及び歯根嚢胞摘出の同時治療により良好な経過を得た歯根嚢胞を伴う歯内歯の1例
3. 学会等名 第52回 日本口腔外科学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 豊留宗一郎、根本直人、岩本展子、鈴木晴也、長田哲次
2. 発表標題 舌扁平上皮癌と細菌性舌炎の症例に関する比較検討
3. 学会等名 第66回 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021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