

平成 22 年 5 月 12 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791495

研究課題名（和文） 口腔がん顎骨浸潤における骨破壊分子メカニズムの解明

研究課題名（英文） Molecular analysis of bone invasion mechanism in oral carcinoma.

研究代表者

森田 圭一（MORITA KEIICHI）

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：10396971

研究成果の概要（和文）：

顎骨浸潤を伴う口腔がんの臨床材料をもとにした網羅的遺伝子解析について、得られた遺伝子プロファイルより顎骨浸潤に関与する分子 IL-6、PTHrP に着目して、その微小環境での機能解析をすすめたところ、癌細胞そのものは破骨細胞形成に重要な RANKL を誘導する IL-6 よりも PTHrP を多く発現しており、この PTHrP が癌周囲の間質細胞に働きかけ、IL-6 の発現誘導を通して RANKL を発現させ、顎骨浸潤に重要な働きをしていることが明らかとなった。その上で、口腔がん細胞株の頭蓋骨浸潤モデルマウスを作製し、骨浸潤先端部でのこれら分子の役割が確認された。また、口腔がんの臨床材料をもとにした網羅的遺伝子解析により抽出された口腔がんの病理組織学的分化度に関与する遺伝子 FADD を同定し、染色体上の増幅および免疫染色法によるタンパクの高発現を確認し、ゲノムの増幅により引き起こされるタンパクの高発現が病理組織学的分化度、すなわち癌の性質に大きな影響を与え、その結果、リンパ節転移や予後に影響を与えることが明らかとなった。このことにより、リンパ節転移や予後を予測する分子マーカーの候補として有用である可能性が示唆された。しかし、FADD は細胞死を誘導する分子であり、これが癌で高発現している意義については不明なことが多く、また受容体結合分子であるところの FADD が核内で高発現している点も解析がすすんでいない。この点を解明するために、核移行シグナルに変異を加えた分子を高発現する細胞株を作製し、FADD の核内での機能解析をすすめている。

研究成果の概要（英文）： We investigated the bone invasion in oral squamous cell carcinoma (OSCC) using microarray analyses. Microarray analyses performed on human OSCC specimens revealed that many of the specimens overexpressed PTHrP mRNA, but a few overexpressed IL-6 mRNA. Immunohistochemical analysis revealed that IL-6 was expressed not only in cancer cells but also in fibroblasts and osteoclasts at the tumor-bone interface. Xenografts of HSC3 cells onto the periosteal region of the parietal bone in athymic mice presented histology and expression profiles of RANKL and IL-6 similar to those observed in bone-invasive human OSCC specimens. These results indicate that OSCC provides a suitable microenvironment for osteoclast formation not only by producing IL-6 and PTHrP but also by stimulating stromal cells to synthesize IL-6. As the up-regulation of FADD expression in OSCC microarray analyses and the amplification of 11q13.3 in oral SCC cell lines on the Comparative Genomic Hybridization (CGH) database have become available, genomic amplifications and expression levels of FADD were investigated. The DNA amplifications of FADD were observed in 44.3% cases and were significantly correlated with the histopathological differentiation grade of SCCs. FADD expression levels compared with the matched adjacent epithelium increased significantly. Additionally, the positive expressions of FADD were significantly correlated with lymph node metastasis of SCCs and the 5-year diseasespecific survival rates. Thus, SCC cells with the expression of FADD are possibly more likely to become metastatic and to worsen

survival rates. As previously mentioned, FADD is imperative for transmitting signals from cell surface receptors in both cell apoptosis and proliferation. Therefore, many past studies investigating FADD were confined to its function within the cytoplasm; however, recent studies have demonstrated that FADD is located in both the nucleus and the cytoplasm. In this study, the immunoreactivity pattern of FADD in oral SCCs clearly demonstrated a predominant nuclear localization pattern. As the function of FADD in the nucleus has not been clarified, a meaningful localization of FADD in the nucleus is currently under investigation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：癌、遺伝子、マイクロアレイ、顎骨浸潤、口腔外科

1. 研究開始当初の背景

口腔がんの特徴の一つは、骨浸潤による顎骨の破壊により咀嚼、嚥下、発音といった重篤な顎口腔機能の喪失を伴うことである。従って、“Quality of life”の観点から、この骨破壊の分子メカニズムを解明することは、口腔がん克服のために必要不可欠な課題である。

これまでの研究の結果、臨床的に歯肉がんの顎骨浸潤には比較的骨破壊が緩徐で辺縁が平滑な「圧迫型」と、激しい骨破壊像を呈する「虫食い型」の2つのタイプが存在しており、「虫食い型」の浸潤像を示す場合の方が予後不良となるケースが多いことが知られている。しかし、この「圧迫型」と「虫食い型」の違いが、がん細胞そのものが持つ性質に由来するものであるのか、または受け手である生体側、つまり顎骨側の性質に由来するものであるのかは、明らかにされていない。現在までに申請者が所属する研究室では、マウスの頭部にヒト口腔がん由来培養細胞を移植し、頭蓋骨浸潤の有無を観察する系を樹立してきた。この骨浸潤モデルマウスにおいては、骨膜の状態により骨浸潤の有無がコントロールされることを見いだした。このことにより、がん細胞が骨膜を食い破ることが骨浸潤の必要条件として示された（未発表）。これは、がん細胞が血管壁を食い破り、血管内に入ると酷似しているとも考え

ることができる。とすれば、現在一般的ながん浸潤機構のシグナル伝達と同じような分子が機能していることが予想される。しかし、一方で骨膜を食い破ったとしても、がん細胞が骨と接するだけで骨浸潤を引き起こすわけではないと考えられることから、骨膜を食い破り、かつ骨吸収を引き起こすシグナルが必要不可欠と考えられる。これまで、この点に着目したストレス応答性細胞内シグナル伝達機構解析は皆無で、今後早急に取り組むべき課題の一つである。

一方で、硬組織のみならず、ほとんど全ての細胞・組織は常に様々なストレスにさらされており、それに対する細胞応答のバランスによって「生と死、分化と機能」が制御されていると考えられる。多くの疾患に共通の「引き金」としてストレスが指摘されているが、それらがどのようにして最終的な細胞応答を引き起こしていくのか、はたして「硬組織変性」を誘導する共通の細胞内シグナル伝達系は存在するのか、といった疑問に答える研究報告は国内外を問わず未だ少ない。

2. 研究の目的

本研究においては、口腔がんの臨床材料をもとにした網羅的遺伝子解析、および細胞内のシグナル伝達経路解析の、2本柱による顎骨浸潤関連遺伝子の同定を行い、口腔がん由来培養細胞および強制発現系を用いてそのシグナル伝達経路と分子調節機構を明らか

にすることを目的とする。

3. 研究の方法

顎骨浸潤を伴う口腔がんの臨床材料をもとにした網羅的遺伝子解析について、得られた遺伝子プロファイルより顎骨浸潤に関与する分子 IL-6、PTHrP に着目して、その微小環境での機能解析をすすめる。得られた結果を顎骨浸潤モデルマウスで解析、確認する。

口腔がんの臨床材料をもとにした網羅的遺伝子解析により癌で発現が上昇している分子で細胞死に関与する分子を抽出し、解析する。

4. 研究成果

癌細胞そのものは破骨細胞形成に重要な RANKL を誘導する IL-6 よりも PTHrP を多く発現しており、この PTHrP が癌周囲の間質細胞に働きかけ、IL-6 の発現誘導を通して RANKL を発現させ、顎骨浸潤に重要な働きをしていることが明らかとなった。その上で、口腔がん細胞株の頭蓋骨浸潤モデルマウスを作製し、骨浸潤先端部でのこれら分子の役割が確認された。口腔がんの病理組織学的分化度に関与する遺伝子 FADD を同定し、染色体上の増幅および免疫染色法によるタンパクの高発現を確認し、ゲノムの増幅により引き起こされるタンパクの高発現が病理組織学的分化度、すなわち癌の性質に大きな影響を与え、その結果、リンパ節転移や予後に影響を与えることが明らかとなった。このことにより、リンパ節転移や予後を予測する分子マーカーの候補として有用である可能性が示唆された。しかし、FADD は細胞死を誘導する分子であり、これが癌で高発現している意義については不明なことが多く、また受容体結合分子であるところの FADD が核内で高発現している点も解析がすすんでいない。この点を解明するために、核移行シグナルに変異を加えた分子を高発現する細胞株を作製し、FADD の核内での機能解析をすすめている。

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 1 件)

Kayamori K, Sakamoto K, Nakashima T, Takayanagi H, Morita K, Omura K, Nguyen ST, Miki Y, Akashi T, Yamada-Okabe H, Ogata E, Yamaguchi A: Roles of IL-6 and PTHrP in osteoclast formation associated with oral cancers: The significance of IL-6 synthesized by stromal cells in response to cancer cells. Am J Pathol. 176 968-980, 2010

[学会発表] (計 1 件)

花畑泰子、中島雄介、森田圭一、栢森 高、

小村 健: EGFR の kinase independent pathway における SGLT1 の発現解析. 第 28 回 日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 2010 年 1 月 27-29 日 東京

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森田 圭一 (MORITA KEIICHI)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号: 10396971

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし