

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10094

研究課題名(和文) エナメル上皮腫の生物学的性格制御による腫瘍実質-間質相互作用破綻の誘導

研究課題名(英文) Induction of disruption of tumor parenchymal-stromal interactions by controlling the biological characteristics of ameloblastoma

研究代表者

藤井 昌江 (Fujii, Masae)

岡山大学・歯学部・博士研究員

研究者番号：30362685

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本申請課題では、エナメル上皮腫が正常粘膜上皮と連続することにより、腫瘍実質の生物学的性格が変化することを利用し、腫瘍実質と腫瘍間質との相互作用を破綻させ、腫瘍を縮小させるという外科的手法を用いない新規治療法確立のための基礎的研究を行なった。エナメル上皮腫が正常粘膜上皮と連続する状況である開窓術において、エナメル上皮腫の組織学的な性格は扁平上皮化生が引き起こされ、腫瘍間質は線維が豊富なfibrousな性状から浮腫状のmyxoidな性状へと変化した。また腫瘍増殖に関与すると報告のあるHypoxia inducible factor-1 がエナメル上皮腫の開窓術前後で発現が減弱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エナメル上皮腫は、20～30歳代の若年者に発症し、発育緩慢な良性腫瘍でありながら局所浸潤性、特に高い骨浸潤性を有する特徴があり準悪性腫瘍として扱われる。エナメル上皮腫の治療に関しては、開窓術をはじめとする顎骨保存療法や顎骨切除術が選択される。しかし、外科的処置後の患者のQOLは著しく低下し、審美性も大きく低下する。そのため、本申請課題の成果により導かれた、エナメル上皮腫の外科的手法を用いない新規治療法開発に向けた基礎的研究の成果は、口腔外科領域に対する貢献度は多大と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this project, we conducted basic research to establish a novel non-surgical treatment for ameloblastoma by disrupting the interaction between the tumor parenchyma and tumor stroma and shrinking the tumor, based on the fact that the biological characteristics of the tumor parenchyma change when it is contiguous with the normal mucosal epithelium. In marsupialization, in which ameloblastoma is contiguous with normal mucosal epithelium, the histologic characteristics of ameloblastoma underwent squamous metaplasia, and the tumor stroma changed from a fibrous to an edematous myxoid appearance. Hypoxia inducible factor-1, which has been reported to be involved in tumor growth, was downregulated before and after marsupialization for ameloblastoma.

研究分野：口腔病理学

キーワード：エナメル上皮腫 腫瘍実質 腫瘍間質 開窓術

1. 研究開始当初の背景

エナメル上皮腫は、20～30歳代の若年者に発症し、発育緩慢な良性腫瘍でありながら局所浸潤性、特に高い骨浸潤性を有する特徴があり準悪性腫瘍として扱われる。エナメル上皮腫の治療に関しては、開窓術をはじめとする顎骨保存療法や顎骨切除術が選択される。しかし、依然として以下の解決しなければならない問題を抱えており、新規治療法の開発は急務である。

1. エナメル上皮腫の治療ガイドラインでは、顎骨保存外科療法と顎骨切除術に関する検証の高さは、いずれも推奨グレードはC1で「十分な科学的根拠はないが、行うことを考慮しても良い。有効性が期待できる可能性がある」であり、エビデンスに乏しい。

2. 2017年のWHO改訂によって、エナメル上皮腫の分類は亜型の削除と簡略化が発表されたが、臨床では年齢、形態、組織型によって顎骨への浸潤度は異なり、かつ再発率にも大きな影響を与えるため、術式の選択に2017年のWHO新分類は適応困難であるとの新たな問題が起きており、すべての組織型に対応できる非侵襲的な術式の開発が期待されている。

3. 外科的処置後の患者のQOLは著しく低下し、また患者は若年層が中心であるため、審美性が求められる。

このように、現在の侵襲性の高い顎骨切除術や再発率の高い開窓術と治療の選択肢が限定されているのが実情であり、全く新しい視点からアプローチする新規治療法の確立が望まれている。

2. 研究の目的

本申請課題では、臨床的にエナメル上皮腫の治療として頻回に行われる開窓術の腫瘍縮小メカニズムに着目した、外科的侵襲を伴わない新規治療法確立を目指す。

本研究は、エナメル上皮腫の腫瘍実質が正常上皮と連続することにより生物学的性格を変化させるメカニズムの解明および、改変された腫瘍実質と腫瘍間質の細胞間相互作用がどのように変化するかを明らかにし、新規治療法の開発のための基礎的研究を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

エナメル上皮腫間質細胞樹立

1. エナメル上皮腫細胞樹立：エナメル上皮腫を無菌的に摘出、腫瘍組織を細切後Collagenase Dispase (各1mg/ml) 溶液にて37℃ 1時間処理を行う。その後、10%FBS D-MEM培地に懸濁37℃濃度5%で培養する。その後、エナメル上皮腫細胞とシャーレとの接着性の強さの違いを利用し、樹立エナメル上皮腫細胞から分離し樹立する。

2. 樹立したエナメル上皮腫間質細胞の生物学的性格の解析

樹立したエナメル上皮腫間質細胞の骨芽細胞への分化能の検討を行う。間質細胞を石灰化培地で培養し、ALP活性やアリザリンレッド染色を行う。

3. ヒト手術材料におけるエナメル上皮腫開窓術前後の病理組織学的検討

岡山大学病院口腔外科にて開窓術を行なったエナメル上皮腫20症例を対象とし、開窓術前後における組織学的変化およびHIF-1およびHIF-1の下流関連因子で血管新生に關与するVEGF、糖代謝に關与するGlut-1について免疫組織化学的に検討した。

4. 研究成果

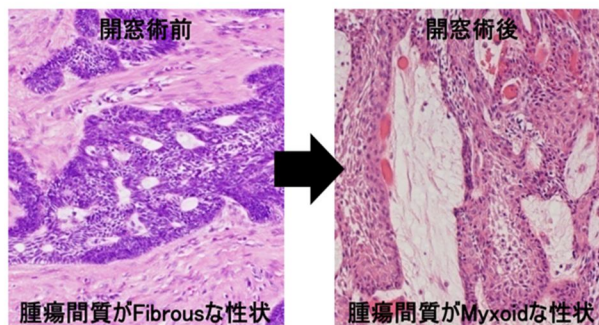
ヒト手術材料から樹立したエナメル上皮腫間質細胞は、石灰化培地で培養することで、ALP活性が促進、アリザリンレッド染色にも染色され、骨芽細胞への分化傾向を示した。また、この間質細胞にエナメル上皮腫細胞株AM-1の培養上清を添加すると、間質細胞の骨芽細胞への分化が抑制された。

エナメル上皮腫の開窓術後の病理組織像は開窓術前と比較して、腫瘍実質において扁平上皮化生する部位が散見された。また腫瘍間質は開窓術前では、膠原線維に富むfibrousな性状を呈しているが、開窓術後では浮腫状のmyxoidな性状へと変化した。

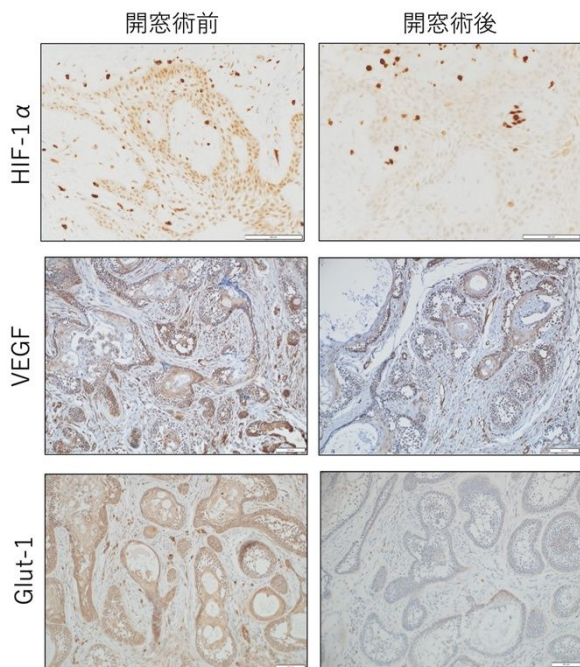
免疫組織化学的検索では、開窓術前では腫瘍細胞の核においてHIF-1陽性率は高かった。

開窓術後では口腔粘膜と連続する腫瘍細胞のHIF-1陽性率は減少した。しかし、腫瘍組織深部の腫瘍細胞では開窓術前同様のHIF-1の発現を認めた。

VEGF、Glut-1においても開窓術前と比較して開窓術後では腫瘍細胞での発現減弱を認めた。また、開窓術後症例における口腔粘膜に近接した開窓部腫瘍細胞と腫瘍深部の免疫組織学的比較



において、上記のいずれの因子においても開窓部よりも腫瘍深部において高発現であった。



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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Oo May Wathone, Kawai Hotaka, Eain Htoo Shwe, Soe Yamin, Takabatake Kiyofumi, Sanou Sho, Shan Qiusheng, Inada Yasunori, Fujii Masae, Fukuhara Yoko, Wang Ziyi, Sukegawa Shintaro, Ono Mitsuaki, Nakano Keisuke, Nagatsuka Hitoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 SOD3 Expression in Tumor Stroma Provides the Tumor Vessel Maturity in Oral Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 2729 ~ 2729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines10112729	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 Shan Qiusheng, Takabatake Kiyofumi, Omori Haruka, Kawai Hotaka, Oo May, Sukegawa Shintaro, Fujii Masae, Inada Yasunori, Sano Sho, Nakano Keisuke, Nagatsuka Hitoshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Investigation of bone invasion and underlying mechanisms of oral cancer using a cell line?derived xenograft model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2022.13502	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 Shan Qiusheng, Takabatake Kiyofumi, Kawai Hotaka, Oo May, Sukegawa Shintaro, Fujii Masae, Nakano Keisuke, Nagatsuka Hitoshi	4. 巻 60
2. 論文標題 Crosstalk between cancer and different cancer stroma subtypes promotes the infiltration of tumor?associated macrophages into the tumor microenvironment of oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2022.5368	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大森悠加、河合穂高、吉田沙織、藤井昌江、単秋生、高島清文、中野敬介、長塚仁
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるCXCR4の腫瘍血管での役割
3. 学会等名 第31回日本臨床口腔病理学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 稲田靖則、高島清文、藤井昌江、Piao Tianyan、Chang Anqi、河合穂高、中野敬介、長塚仁
2. 発表標題 エナメル上皮腫開窓術におけるHIF-1 を介した腫瘍縮小メカニズムの解明
3. 学会等名 第30回硬組織再生生物学会学術大会・総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲田靖則、武部祐一郎、高島清文、河合穂高、中野敬介、長塚仁
2. 発表標題 エナメル上皮腫が分泌するCCN2による腫瘍間質を介した顎骨吸収メカニズム
3. 学会等名 第13回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2022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
研究分担者	長塚 仁 (Nagatsuka Hitoshi) (70237535)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	中野 敬介 (Nakano Keisuke) (10325095)	岡山大学・医歯薬学域・准教授 (15301)	
研究分担者	高島 清文 (Takabatake Kiyofumi) (70736537)	岡山大学・医歯薬学域・助教 (15301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	河合 穂高 (Kawai Hotaka) (10803687)	岡山大学・医歯薬学域・研究准教授 (15301)	

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