

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10182

研究課題名(和文) 口腔潜在的悪性疾患のがん化における細胞老化の関わり

研究課題名(英文) The involvement of cellular senescence in malignant transformation of oral lichen planus

研究代表者

笹部 衣里 (Sasabe, Eri)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師

研究者番号：40363288

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)：難治性の慢性炎症性疾患である口腔扁平苔癬(OLP)の病因については未だ明らかにされていない。酸化ストレスなどによりもたらされるDNA損傷ストレスは細胞周期チェックポイント機構の活性化を介して細胞分裂を停止させ細胞老化を誘導し、細胞老化関連分泌現象(SASP)を介して慢性炎症を引き起こすことが明らかとなっている。そこで、OLP罹患口腔粘膜組織を用いて、細胞周期関連蛋白、DNA損傷マーカー、SASP因子の発現について免疫組織化学的に検討した結果、OLP上皮においてこれらの発現が亢進していたことより、OLPの口腔粘膜上皮細胞は細胞老化に陥っており、これが炎症の持続に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、様々な加齢性疾患の発症や病態悪化への細胞老化およびSASPの関与についての研究が行われており、老化表現型の緩和や加齢性疾患の発症予防効果を期待する細胞老化を標的としたセノリティック薬の研究・開発が進んでいる。現時点では難治性の慢性炎症性疾患であるOLPの原因は明らかにされておらず、根本的治療法は確立されていないが、本研究成果から今後セノリティック薬をOLP治療に応用することにより、根治、あるいはOLPのがん化予防に繋がる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：The etiology of oral lichen planus (OLP), an intractable chronic inflammatory disease, remains to be elucidated. It is known that DNA damage stress induces cellular senescence by arresting cell division through the activation of cell cycle checkpoint mechanisms and senescent cells induces chronic inflammation through cellular senescence-associated secretory phenotype (SASP). Therefore, we examined the expression of cell cycle-related proteins, DNA damage markers, and SASP factors using biopsy samples of OLP immunohistochemically.

研究分野：外科系歯学

キーワード：細胞老化 口腔扁平苔癬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

2017年に改訂されたWHOの頭頸部腫瘍分類で提唱された口腔潜在的悪性疾患(OPMD)は、前癌病変(紅板症、白板症)と前癌状態(口腔扁平苔癬(OLP)、粘膜下線維腫、梅毒、SLE、Plummer-Vinson症候群、色素性乾皮症、萎縮性表皮水疱症)をひとつの疾患概念としてまとめたもので、将来悪性転化し、口腔扁平上皮癌へと進展する可能性をもっている<sup>1)</sup>。口腔粘膜は細菌、ウイルス、喫煙、飲酒、不良補綴物などによる慢性機械的刺激、飲食物摂取による温度、pH変化など多彩な環境要因の影響を受けやすく、様々な要因が重なって遺伝子異常が蓄積すると発癌に至ると考えられているが、その機序は未だ明らかにされていない<sup>2)</sup>。研究代表者らは臨床の場で長期に亘りOPMDの経過観察を行っているが、その中で癌化した症例は少数であり、むしろ多くの症例は著明な変化は認められず症状が固定化している。従って、これらの症例においてはがん化抑制機構が作用していることが考えられる。

細胞老化はテロメアの短小化、がん遺伝子の活性化、酸化的ストレス、抗がん剤や放射線治療といったDNA損傷ストレスにより誘導され、老化状態に陥った細胞は細胞分裂が不可逆的に停止して増殖が抑制されるだけでなく、炎症性サイトカイン、ケモカイン、細胞外マトリックス分解酵素、増殖因子などの様々なタンパク質やエクソソームといった生理活性物質を分泌するSASP(細胞老化関連分泌現象)と呼ばれる現象を引き起こすことが知られている<sup>3,4)</sup>。このことから、発癌の過程においてDNA損傷ストレスを受けた口腔粘膜上皮細胞が老化状態に陥り、SASPによってリクルートされた免疫細胞によって排除されるか、もしくは老化状態のまま長期的に安定して生存できれば癌化しないが、何らかの免疫異常により老化細胞が排除されず局所に過剰に蓄積し、恒常的にSASPが亢進して慢性炎症性微小環境が形成されるとともに、口腔粘膜上皮細胞に何らかの遺伝子異常が生じて過剰な増殖を始めた場合には、癌化は促進されることが考えられる。しかしながら、正常から発癌に至る様々な段階の口腔粘膜上皮において、癌化の抑制と促進のどちらにも作用しうる多面性を有している細胞老化がどのように関わっているのかは全く分かっていない。

## 2. 研究の目的

細胞老化が口腔粘膜の癌化プロセスをどのように制御しているのかを明らかにするため、OPMDの一つである難治性慢性炎症性疾患：口腔扁平苔癬(OLP)に着目し、OLPの病態形成における細胞老化の関わりを検討する。

## 3. 研究の方法

OLPおよび健常口腔粘膜各30例の臨床材料よりパラフィン切片を作製し、細胞増殖関連蛋白(Ki-67)、細胞周期関連蛋白(p53、p21<sup>CIP1</sup>、p16<sup>INK4a</sup>)、DNA損傷マーカー( $\gamma$ -H2AX)、SASP因子(IL-6)の発現について免疫組織化学的に検討した。さらに、OLP病変部における細胞老化およびSASP関連分子の発現と臨床的因子(部位、部位数、臨床病型、病悩期間、症状の有無)との関連を検討した。

OLP10例および健常口腔粘膜4例の臨床材料より抽出したRNAを用いてcDNAマイクロアレイ解析を行い、細胞老化関連分子発現の検討を行った。

## 4. 研究成果

増殖能マーカーKi-67の陽性細胞は対照群、OLPともに上皮基底層に認められたが、OLP病変

部上皮における Ki67 陽性細胞率は若干低下していた。一方、DNA 損傷マーカー:  $\gamma$ -H2AX 陽性細胞は OLP 上皮の顆粒層から角質層に認められ、陽性細胞率は有意に増加していた。細胞周期関連蛋白の p53、p21<sup>CIP1</sup>、p16<sup>INK4a</sup> の発現は、コントロールではほとんど認められなかったのに対し、OLP 病変部では上皮基底層から有棘層にかけて p16<sup>INK4a</sup>、p21<sup>CIP1</sup> 陽性細胞が認められ、その発現は有意に亢進していた。また、SASP 因子のひとつである IL-6 の発現について検討した結果、コントロールではほとんど染色されなかったのに対し、角質層を除く OLP 病変部上皮ならびに上皮結合組織において、IL-6 陽性細胞数は有意に増加していた。さらに、cDNA マイクロアレイの結果、OLP における p21<sup>CIP1</sup>、p16<sup>INK4a</sup>、IL-6 mRNA 発現レベルは、健常粘膜と比較して高い傾向を示した。

以上の結果から、OLP の口腔粘膜上皮細胞は細胞老化に陥っており、これが炎症の持続に関与している可能性が示唆された。

#### <参考文献>

- 1, Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Unizar JM, Bahan JV, *et al.* Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2021;27(8): 1862-1880.
- 2, Choi S, Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: Implications for therapy. *J Dent Res.* 2008;87(1):14-32.
- 3, Tchkonina T, Zhu Y, Vam Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: Therapeutic opportunities. *J Clin Invest.* 2013; 123(3): 966-972.
- 4, Coppé, JP., Desprez, PY., Krtolica, A., Campisi, J. The senescence-associated secretory phenotype: The dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:99-118.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 笹部衣里、北村直也、山本哲也
2. 発表標題 口腔扁平苔癬の病態形成における細胞老化の関わり
3. 学会等名 第32回口腔内科学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹部衣里、北村直也、山本哲也
2. 発表標題 口腔扁平苔癬の病態形成に細胞老化が関与する
3. 学会等名 第77回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2023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	山本 哲也  (YAMAMOTO Tetsuya)  (00200824)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授   (16401)	
研究分担者	仙頭 慎哉  (SENTOU Shinya)  (30635264)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・助教   (16401)	

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	北村 直也  (KITAMURA Naoya)  (70351921)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師     (16401)	

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