

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18483

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌の発がんにおけるセリンプロテアーゼ活性制御の意義に関する研究

研究課題名(英文) Study on regulation of serine protease activity in carcinogenesis of oral squamous cell carcinoma

研究代表者

山本 晃士 (Koji, Yamamoto)

宮崎大学・医学部・医員

研究者番号：50776953

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：口腔がん発現は、口腔白板症や紅斑症、扁平苔癬などの口腔潜在性悪性疾患(oral potentially malignant disorders; OPMD)を経由する複雑で多段階のプロセスである。本研究では、HAI(HGF activator inhibitor)やHAIが制御するとされている標的分子を正常粘膜とOPMDで確認・評価することで、OPMDの病理診断における新たな有用なマーカーを探索することを目的とした。その結果、prostasin発現は正常上皮と比較しOPMDや浸潤癌において低下していた。また、その低下は上皮間葉転換と関連した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔癌においてprostasinががん抑制因子として機能することを初めて報告した。また、口腔軟細胞におけるprostasinの喪失は、上皮間葉転換を引き起こすことで腫瘍の浸潤性獲得に寄与していることが示唆された。免疫組織学的な検討では正常口腔粘膜上皮の染色性と比較し、上皮異形成ではprostasinの発現が低下しており、prostasinが口腔上皮の腫瘍性進行の病理診断マーカーとして役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Oral cancer development is a complex, multi-step process that goes through oral potentially malignant disorders (OPMD) such as leukoplakia, erythema, and lichen planus. The purpose of this study is to search for new useful markers in the pathological diagnosis of OPMD by confirming and evaluating HAI (HGF activator inhibitor) and target molecules that are thought to be controlled by HAI with normal mucosa and OPMD.

As a result, prostasin expression was decreased in OPMD and invasive cancer compared with normal epithelium. The decrease was also associated with epithelial-mesenchymal transition.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 OPMD セリンプロテアーゼ HAI

1. 研究開始当初の背景

口腔がん発現は、口腔白板症や紅斑症、扁平苔癬などの口腔潜在性悪性疾患 (oral potentially malignant disorders; OPMD) を経由する複雑で多段階のプロセスである。OPMD 中には口腔上皮性異形成 (oral epithelial dysplasia; OED) を伴う症例が多数存在し、そのような症例が多段階発癌のルールに乗ることになる。従って、進行癌に対する治療開発も重要であるが、それと同等に OPMD の段階での発見・早期治療が非常に重要である。しかしながら実際の病理診断の際、OED をもつ OPMD かどうか、すなわち腫瘍性性格を持つかどうかの判定に苦慮することが多く、現在のところ有用なマーカーはない。

細胞周囲微小環境におけるプロテアーゼ活性制御の破綻は発癌に寄与し、また、がん細胞の浸潤における細胞外基質の異常な破壊や再構成においても重要である。このプロテアーゼ活性制御因子として、申請者は細胞膜結合型セリンプロテアーゼインヒビターである HAI s (HGF activator inhibitors) に着目した。HAI s は HGF 活性化酵素(HGFA)を抑制するタンパク質として報告され、HAI-1 と HAI-2 が同定されている。HAI s は全身の様々な上皮組織やがん組織に発現しており、主な標的酵素としては HGFA の他に、matriptase や prostaticin などの細胞膜結合セリンプロテアーゼが知られている。我々は、HAI-1 が上皮組織の恒常性維持に働き、その機能破綻が発がんや癌の浸潤・転移に関与することを報告してきた。実際、強い間質浸潤を示す口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma; OSCC) の浸潤先端部では、細胞膜上 HAI-1 の発現が著明に減少しており、その程度がリンパ節転移と相関することを報告した。

HAI s の発がんにおいては、腸管特異的に HAI-1 を欠失させると腸管腫瘍発生数が優位に増加することを報告した。また、matriptase の過剰発現が皮膚扁平上皮癌をもたらすが、HAI-1 を同時に発現させると発がんが抑制されること、腸管特異的にがん抑制因子として報告のある prostaticin を欠失させることで直腸癌が発生することなどが報告されている。すなわち、これらの結果はプロテアーゼ活性制御が発がん過程に非常に重要であることを示している。しかしながら、OSCC の発がんにおける HAI s や膜型セリンプロテアーゼ活性制御に着目した研究は極めて少ない。

2. 研究の目的

本研究では、HAI-2, prostaticin またはその他 HAI-2 が制御するとされている標的分子 (matriptase や TMPRSS など) の発現を正常粘膜と OPMD で確認・評価することで、OPMD の病理診断における新たな有用なマーカーを探索することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) 1 症例中に正常上皮、前がん病変、浸潤癌をすべて含む手術検体を用いて、HAI s や matriptase, prostaticin などの発現を免疫組織染色により確認する。症例ごとに染色パターンを確認し、

スコアリングを行う。各タンパクのスコアと臨床病理学的事項との関係について統計解析する。また、OPMD の症例を収集し、上記を確認する。

- (2) 野生型マウスに4NQO (4-Nitroquinoline N-oxide)を投与し舌粘膜上皮に障害を与え、OPMD, 舌癌形成マウスを作成し、それぞれの病態におけるHAlsやmatriptase, prostasinなどの免疫染色を行う。特にOEDを持つOPMDについては、正常舌粘膜やOEDを持たないOPMDと染色結果を比較する。
- (3) In vivo の結果をもとに、ヒト不死化正常口腔粘膜上皮細胞やヒト不死化表皮角化細胞、口腔扁平上皮癌細胞株を用いてHAlsやmatriptaseやprostasinなどの膜型セリンプロテアーゼの発現を確認する。

4. 研究成果

(1) ヒト OSCC 組織(119 例)で prostasin 発現を免疫組織学的に評価したところ、正常上皮と比較し上皮異形成や浸潤癌においてその発現が低下していた(図 1)。また、浸潤癌において、浸潤先端の癌細胞では prostasin 発現、E-cadherin 発現の低下、vimentin 発現上昇がみられ、prostasin 喪失による EMT が OSCC の侵襲性に重要な可能性がある(図 2)。

図 1

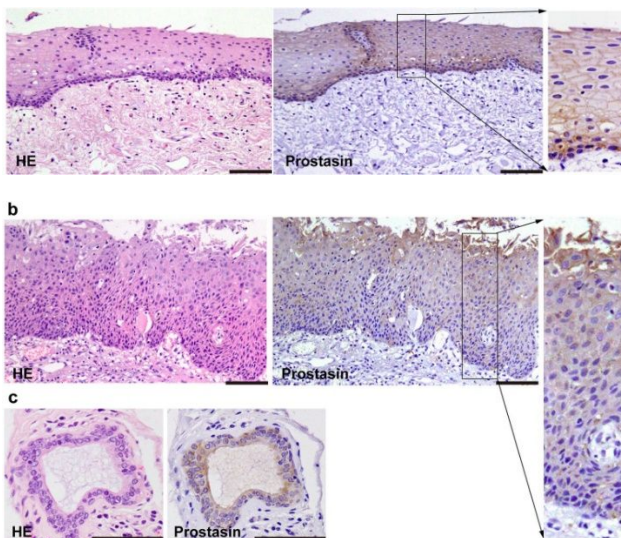
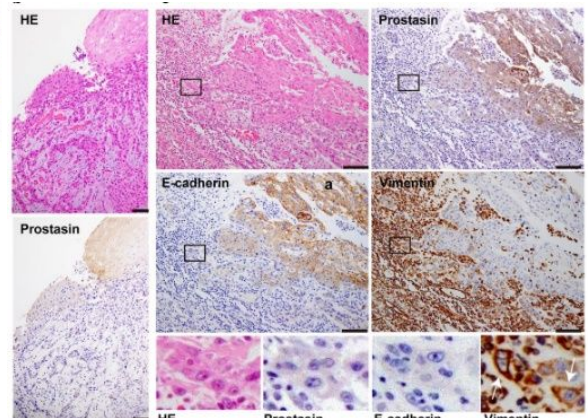
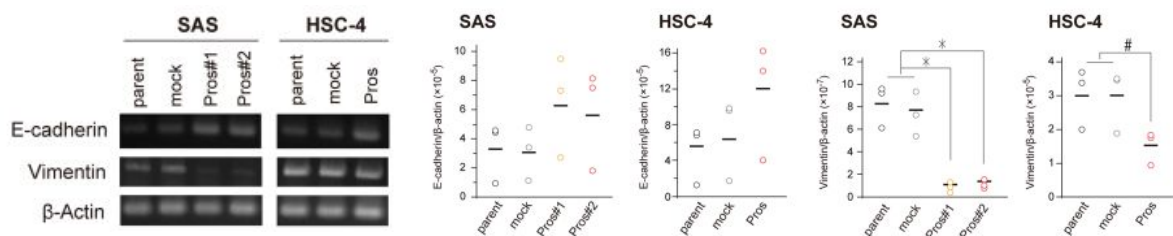


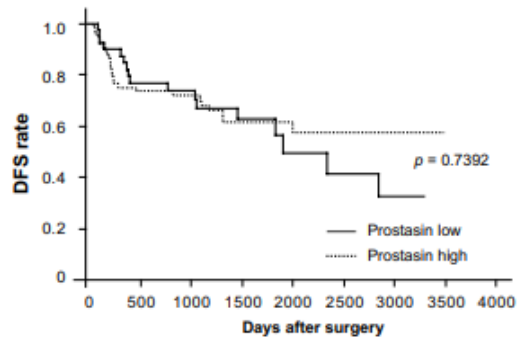
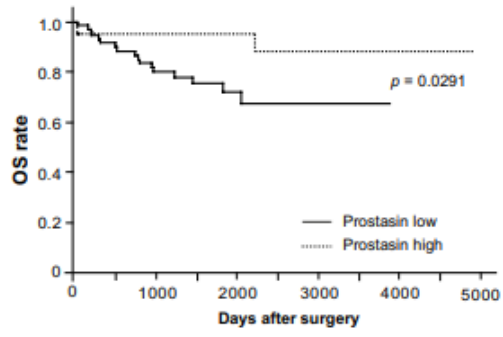
図 2



(2) ヒト扁平上皮癌細胞株における prostasin 発現を確認したところ、その発現がほとんど見られなかったため、prostasin を強制発現させた。prostasin 強制発現株において、E-cadherin 発現上昇、vimentin 発現低下を認めた。



(3) Prostasin 発現低下は、OSCC 患者の全生存率低下と相関していた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kawaguchi M, Yamamoto K, Kataoka H, Izumi A, Yamashita F, Kiwaki T, Nishida T, Camerer E, Fukushima T.	4. 巻 111
2. 論文標題 Protease activated receptor 2 accelerates intestinal tumor formation through activation of nuclear factor B signaling and tumor angiogenesis in ApcMin/+ mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1193-1202
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14335	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0件

〔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
---------	---------