

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592320

研究課題名（和文） 口腔癌におけるケラチン発現異常の病因病理的研究

研究課題名（英文） Pathophysiological significance of altered keratin expression in oral cancer

研究代表者

坂本 啓 (SAKAMOTO KEI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：00302886

研究成果の概要（和文）：

扁平上皮における NOTCH1 の基底細胞特異的な発現を明らかにした。NOTCH1 は口腔、食道、子宮頸部の上皮性腫瘍で発現が減弱していた。子宮頸部では発現が維持される傾向があった。

NOTCH1 の発現の減弱は前癌病変でもみられ、高度上皮異形成との差はほとんどみられなかった。浸潤などの癌特異的な現象への寄与は少ないと考えられた。培養細胞の実験で、NOTCH1 の発現減弱はケラチン 13, ケラチン 15 の発現減弱と、ケラチン 17 の発現増強を起こした。

NOTCH1 ノックダウン細胞は前癌病変のような異形成上皮を作った。NOTCH1 の発現減弱とケラチンの発現変化は免疫染色と cDNA マイクロアレイでも確認された。これらより、NOTCH1 の発現の減弱は基底細胞の最終分化を抑制し、未熟な上皮を作り、上皮異形成の発生に重要であることが示唆された。また、NOTCH1 発現の減弱は上皮細胞を分化した正常状態から、未分化で活性化した状態に変える、内在性のメカニズムであることが示された。これは上皮の恒常性維持に重要な機構である。

研究成果の概要（英文）：

We clarified basal-cell dominant expression of NOTCH1 in squamous epithelium. NOTCH1 was downregulated in squamous neoplasms of oral mucosa, esophagus and uterine cervix, compared to the normal basal cells, although the expression tended to be retained in cervical lesions. NOTCH1 downregulation was observed even in precancers, and there was little difference between cancers and high-grade precancerous lesions, suggesting its

minor contribution to cancer-specific events such as invasion. In culture experiments, reduction of NOTCH1 expression resulted in downregulation of keratin 13 and keratin 15, and upregulation of keratin 17, and *NOTCH1* knockdown cells formed a dysplastic stratified epithelium mimicking a precancerous lesion. The NOTCH1 downregulation and the concomitant alterations of those keratin expressions were confirmed in the squamous neoplasms both by immunohistochemical and cDNA microarray analyses. Our data indicate that reduction of NOTCH1 expression directs the basal cells to cease terminal differentiation and to form an immature epithelium, thereby playing a major role in the histopathogenesis of epithelial dysplasia. Furthermore, downregulation of NOTCH1 expression seems to be an inherent mechanism for switching the epithelium from a normal and mature state to an activated and immature state, suggesting its essential role in maintaining the epithelial integrity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2009 年度	1200000	360000	1560000
2010 年度	1100000	330000	1430000
2011 年度	1100000	330000	1430000
年度			
年度			
総 計	3400000	1020000	4420000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学、形態系基礎歯科学

キーワード：口腔病理学、口腔癌、前癌病変、Notch、ケラチン

1. 研究開始当初の背景

ケラチンは上皮細胞の持つ中間径フィラメント分子であり、ヒトでは 50 種以上のアイソタイプが存在し、これらが上皮細胞の種類に応じた特異的なパターンをとって発現している。我々は口腔や食道粘膜の扁平上皮癌と前癌病変において、これらの上皮に主要なケラチン 4 (K4) とケラチン 13 (K13) の発現が並行して消失する (図 1) とともに、他のアイソタイプが異所性に発現することを報告してきた (第 97 回日本病理学会、The 14th International Congress of Oral Pathology and Medicine、第 50 回歯科基礎医学会)。K4 と K13 の並行的な発現消失は、癌の発生の初期段階からほとんど例外なく確実に、かつ明瞭に現れる変化であり、口腔粘膜上皮に発生する腫瘍のバイオマーカーとして理想的である。そのため我々は引き続いて K4 と K13 の発現消失の機序と病理的意義を明らかにすることが重要であると考えた。

2. 研究の目的

ケラチンの発現が誘導あるいは抑制される機序を明らかにし、癌におけるその変化の意

義を明らかにする。

3. 研究の方法

1. 扁平上皮癌における NOTCH 発現とケラチン発現との比較検討 (免疫組織染色)

2. 培養細胞を使った強制発現、ノックダウン実験

3. ケラチンプロモーター解析

4. 3次元培養実験

4. 研究成果

扁平上皮における NOTCH1 の基底細胞特異的な発現を明らかにした。NOTCH1 は口腔、食道、子宮頸部の上皮性腫瘍で発現が減弱していた。子宮頸部では発現が維持される傾向があった。NOTCH1 の発現の減弱は前癌病変でもみられ、高度上皮異形成との差はほとんどみられなかった。浸潤などの癌特異的な現象への寄与は少ないと考えられた。培養細胞の実験で、NOTCH1 の発現減弱はケラチン 13, ケラチン 15 の発現減弱と、ケラチン 17 の発現増強を起こした。NOTCH1 ノックダウン細胞は前癌病変のような異形成上皮を作った。

NOTCH1 の発現減弱とケラチンの発現変化は免疫染色と cDNA マイクロアレイでも確認さ

れた。これらより、NOTCH1 の発現の減弱は基底細胞の最終分化を抑制し、未熟な上皮を作り、上皮異形成の発生に重要であることが示唆された。また、NOTCH1 発現の減弱は上皮細胞を分化した正常状態から、未分化で活性化された状態に変える、内在性のメカニズムであることが示された。これは上皮の恒常性維持に重要な機構である。

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 3 件)

Comprehensive keratin profiling reveals different histopathogenesis of keratocystic odontogenic tumor and orthokeratinized odontogenic cyst.

Aragaki T, Michi Y, Katsube K, Uzawa N, Okada N, Akashi T, Amagasa T, Yamaguchi A, Sakamoto K.

Hum Pathol. 2010 Dec;41(12):1718-25.

Down-regulation of keratin 4 and keratin 13 expression in oral squamous cell

carcinoma and epithelial dysplasia: a clue for histopathogenesis.

Sakamoto K, Aragaki T, Morita K, Kawachi H, Kayamori K, Nakanishi S, Omura K, Miki Y, Okada N, Katsube K, Takizawa T, Yamaguchi A.

Histopathology. 2011 Mar;58(4):531-42.

doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03759.x.

Epub 2011 Mar 3.

Reduction of NOTCH1 expression pertains to maturation abnormalities of keratinocytes in squamous neoplasms.

Sakamoto K, Fujii T, Kawachi H, Miki Y, Omura K, Morita KI, Kayamori K, Katsube KI, Yamaguchi A.

Lab Invest. 2012 F May;92(5):688-702

[学会発表] (計 10 件)

坂本 啓、山口 朗、口腔上皮異形成・扁平上皮癌のバイオマーカーとなるケラチン 4 の発現調節機構の解明の試み、第 98 回日本病理学会総会、2009 年 5 月 3 日、京都

坂本 啓、勝部 憲一、岡田 憲彦、山口 朗、"Notch1 は口腔粘膜の上皮異形成と扁平上

皮膚で発現が減弱している”、第 20 回日本臨床口腔病理学会総会・学術大会、2009 年 7 月 31 日 札幌

新垣 理宣、坂本 啓、勝部 憲一、天笠 光雄、山口 朗：角化嚢胞性歯原性腫瘍と正角化歯原性嚢胞におけるケラチン発現とその病態発生における役割、第 21 回日本臨床口腔病理学会学術大会、2010 年 8 月 1 日、大阪歯科大学葛葉学舎、大阪

坂本 啓、森田 圭一、小村 健、山口 朗：口腔扁平上皮癌・上皮異形成におけるケラチン発現の網羅的解析、第 21 回日本臨床口腔病理学会学術大会、2010 年 8 月 1 日、大阪歯科大学葛葉学舎、大阪

Kei Sakamoto, Akira Yamaguchi : Keratin expression in oral squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia 、 15th International Congress of Oral Pathology and Medicine、2010 年 8 月 18 日、Seoul、Korea

坂本 啓、山口 朗：NOTCH1 の口腔癌の病態における意義、第 100 回日本病理学会総会、

2011 年、4 月 29 日、横浜

坂本 啓、山口 朗：エナメル上皮腫の病理診断、第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、ワークショップ 4 「エナメル上皮腫治療ガイドライン（案）作成に向けて」、2012 年 1 月 27 日、大宮

カノム ルマナ、坂本 啓、山口 朗：Functional role of Keratin 17 in oral cancer、2012 年 1 月 27-28 日、大宮

新垣 理宣、坂本 啓、道 泰之、鈴木 まどか、山城 正司、倉林 亨、山口 朗：顎骨内の嚢胞及び嚢胞性病変のケラチン発現に関する検討、2012 年 1 月 27-28 日、大宮

佐藤 潔、坂本 啓、栢森 高、小村 健、山口 朗、口腔扁平上皮癌による骨破壊には腫瘍細胞と間質細胞が産生する RANKL が関与する、2012 年 1 月 27-28 日、大宮

〔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

坂本 啓 (SAKAMOTO KEI)

東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 助
教

研究者番号：00302886

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

山口 朗 (YAMAGUCHI AKIRA)

東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 教
授

研究者番号：00142430