

令和 6 年 4 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09852

研究課題名(和文) 骨内微小環境下における歯原性上皮の特異的分化および細胞老化が腫瘍発生に及ぼす影響

研究課題名(英文) The roles of specific differentiation and cellular senescence in oncogenesis of odontogenic epithelium within the intraosseous microenvironment

研究代表者

熊本 裕行 (Kumamoto, Hiroyuki)

東北大学・歯学研究科・教授

研究者番号：70215028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：歯原性上皮の骨内微小環境下での腫瘍発生や進展に関わる、細胞周期関連分子、上皮幹細胞関連分子、細胞老化関連分子を検索し、歯原性上皮における細胞動態・活性状況について検討した。細胞周期関連分子Cdt1, geminin, -H2A.Xの発現は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高く、Cdt1は多くの細胞、gemininは腫瘍胞巣辺縁部、-H2A.Xは腫瘍胞巣中央部で確認された。上皮幹細胞関連分子LGR5, 6の発現は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高く、LGR5は腫瘍胞巣辺縁部、LGR6はより多くの細胞で確認された。細胞老化関連分子SIRT1の発現は、歯嚢よりエナメル上皮腫で高く、高齢症例で高い傾向を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

正常および腫瘍性の歯原性組織における細胞周期関連分子、上皮幹細胞関連分子、細胞老化関連分子を検索し、腫瘍化による歯原性上皮細胞の特異的な状況や特徴的な腫瘍組織所見・臨床病態との関連を見出した。これらによって、歯原性腫瘍を包括する骨内微小環境下での歯原性上皮の増殖や分化に関わる歯原性上皮の最奥動態・活性状況について、検討することができた。これらの因子は、歯原性上皮に関わる様々な病変の診断や予後判定、治療に応用しうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Regulator molecules associated with cell cycle, epithelial cell stemness, and cellular senescence were examined to clarify the role of cell status in oncogenesis of odontogenic epithelium under the intraosseous microenvironment. Cell cycle-related molecules, Cdt1, geminin, and -H2A.X, were greater in ameloblastoma than in tooth germ, and Cdt1 in many neoplastic cells, geminin in peripheral neoplastic cells, and -H2A.X in central neoplastic cells are redognized. Epithelial stem cell markers, LGR5 and 6, and a cellular senescence-related molecule, SIRT1, were expressed higher in ameloblastoma than in tooth germ. LGR6 showed greater neoplastic cells reactivity than LGR5. SIRT1 tended to show higher expression in older patients.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯原性腫瘍 腫瘍発生 骨内進展

1. 研究開始当初の背景

歯の発生に多大な役割を果たす歯原性上皮は多数の転写因子や増殖因子、硬組織関連分子など様々な分化因子により厳密に制御されており、Epiprofin や AmeloD など新規の制御因子も重要なはたらきがあることが報告されている。また、細胞の未分化能維持に関わる Sox2・Oct3/4・Nanog や上皮幹細胞性質に寄与する LGR 分子、個体発生の制御に関わる Hippo シグナル伝達経路も、特殊な微小環境下にある歯原性上皮の組織構築・機能維持に重要な役割を担うことが示唆されている(Nakamura et al 2008,熊本 2018,Chiba et al 2019)。これらの制御因子の変化が歯原性上皮の腫瘍発生に関わることが考えられているが、歯原性組織や歯原性腫瘍における特異的分化因子・幹細胞関連分子に関する報告は限られており十分な解析がなされていない。研究代表者は歯原性上皮におけるこれらの分化関連因子を検索することで、同細胞の分化または未分化の状況を解析する必要があると考えている。一方、細胞が分化・成熟を経て老化にいたる過程においても様々な制御因子が存在し、また老化細胞では特有の関連因子が検出できることがあきらかになりつつある(Roth et al 2014,Faget et al 2019)。歯原性腫瘍の進展の場となる骨内微小環境には多様な構成要素がみられ(Casazza et al 2014)、この腫瘍進展部位における細胞老化に関わる因子を検索することにより、骨内微小環境との相互作用を解析する必要があると思われる。以上のように細胞分化・未分化状況および細胞老化に関わる分子を調べ、歯原性上皮の分化・老化とそれに引き続き生じると考えられる腫瘍発生について検討する。

研究代表者は、エナメル上皮腫を免疫原として歯原性上皮に特異性を示すモノクローナル抗体を作製し(1996)、特徴的な腫瘍化を示す歯原性上皮に応用した(1997,1998,1999,2000)。また、歯原性上皮由来の腫瘍にはエナメル上皮腫をはじめ腺腫様歯原性腫瘍・石灰化上皮性歯原性腫瘍・転移性エナメル上皮腫・エナメル上皮癌・明細胞性歯原性癌など多数の疾患があり、臨床的にも病理組織学的にも独特の特徴を有していることについては、歯胚および上皮性歯原性腫瘍における細胞死関連因子や増殖活性関連因子、歯の発生プログラム制御因子の検索より、これらの因子およびそのシグナル伝達機構の異常が歯原性上皮の腫瘍化や細胞分化に関与することを報告した(1997,1999,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,2008,2010,2013,2014,2016,2018)。エナメル上皮腫の細胞特異的分化に関連する因子としては amelogenin(2001)・SHH 経路(2004)・Wnt 経路(2005)・BMP(2006)を、幹細胞関連分子については Notch とそのリガンド(2008)・CD133/Bmi-1/ABCG2(2010)について検索を行い、これらが腫瘍発生や細胞分化、悪性能と関わりをもつことの報告を行っている。さらに、歯原性腫瘍の多くは局所浸潤の傾向を示し再発しやすいことや稀に転移をきたすことが知られており、接着分子・骨吸収性サイトカインの検索より、これらが特徴的な病態の進展に関連することを報告した(1999,2001,2004,2005)。また、基質分解酵素については、金属プロテアーゼとその修飾分子、セリンプロテアーゼとその関連分子について検討し、これらがエナメル上皮腫の骨内進展に関与することを報告している(2003,2006,2007)。血管新生因子については、血管増殖因子や血管分化因子について検討を行い、それらが間質の血管誘導と関与し、上皮性歯原性腫瘍の腫瘍化や悪性能に寄与することを報告し(2002,2006,2020)、これらを惹起する低酸素状況についても解析を行っている(2018)。

2. 研究の目的

歯原性上皮の骨内微小環境下での腫瘍化における細胞分化ないし増殖への細胞周期・幹細胞形質・細胞老化の関与を解明するため、これに影響を及ぼすと考えられる様々な制御因子の変容について検索する。このために、腫瘍発生・進展の場となる骨内微小環境下での歯原性上皮の細胞周期関連分子(Cdt1, geminin, -H2A.X)・上皮幹細胞関連分子(LGR4, 5, 6)・細胞老化関連分子(SIRT1)の解析が必要である(Siril et al 2019, Jank et al 2020, Roth et al 2014)。これらの解析により、歯原性腫瘍の骨内微小環境下での発生・進展における、微小環境の形成や同環境下での歯原性上皮の分化・増殖に関わる細胞老化状況について包括的な検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 細胞周期関連分子の検索：エナメル上皮腫(濾胞型、叢状型)と対照の歯嚢(歯堤上皮)を用い、Cdt1, geminin, -H2A.X の発現・局在について免疫組織化学により解析した。これらにより、エナメル上皮腫細胞の細胞周期状況について検索した。

(2) 上皮幹細胞関連分子の検索：エナメル上皮腫(濾胞型、叢状型)と対照の歯嚢(歯堤上皮)に対し、LGR4, 5, 6 を免疫組織化学で解析した。これらにより、エナメル上皮腫細胞の幹細胞性維持について検討した。

(3) 細胞老化関連分子の検索：エナメル上皮腫(濾胞型、叢状型)と対照の歯嚢(歯堤上皮)を用い、SIRT1 の発現・局在について免疫組織化学により解析した。これらの結果は、症例の年齢分布との比較検討を行った。

4. 研究成果

歯原性上皮の骨内微小環境下での腫瘍発生・進展における歯原性上皮の細胞分化・老化状況を解明するため、細胞周期関連分子、上皮幹細胞関連分子、細胞老化関連分子について検索した。

(1) 細胞周期関連分子の検討：Cdt1・geminin・-H2A.X は、正常および腫瘍性の歯原性上皮細胞の核に発現がみられた。これらの発現は、歯堤上皮に比べてエナメル上皮腫で高かった。エナメル上皮腫での Cdt1 の発現は、多くの細胞にみられ、geminin の発現は、腫瘍胞巣辺縁部の細胞の一部に認められた。濾胞型と叢状型での発現に、あきらかな差異はみられなかった。エナメル上皮腫での -H2A.X の発現は、腫瘍胞巣中央部のごく限られた細胞に認められた。濾胞型での発現に比べ叢状型での発現は、低い傾向を示した。

(2) 上皮幹細胞関連分子の検討：LGR4 の歯原性上皮での発現・局在については、現在のところ、再現性のある明確な結果を得られていない。LGR5, 6 は、正常および腫瘍性の歯原性上皮細胞の細胞質に発現がみられた。これらの発現は、歯堤上皮に比べてエナメル上皮腫で高かった。エナメル上皮腫での LGR5 の発現は、主に腫瘍胞巣辺縁部の細胞に認められ、LGR6 の発現は、多くの腫瘍細胞にみられた。LGR5, 6 とともに、濾胞型と叢状型での発現に、あきらかな差異はみられなかった。

(3) 細胞老化関連分子の検討：SIRT1 は、正常および腫瘍性の歯原性上皮細胞の核に発現がみられた。これらの発現は、歯堤上皮に比べてエナメル上皮腫で有意に低かった。エナメル上皮腫での SIRT1 の発現は、腫瘍胞巣辺縁部の細胞で中央部の細胞に比べて、強い発現が認められた。また、扁平上皮化生を示す腫瘍細胞での SIRT1 の発現は、ほとんど認められなかった。叢状型での発現は、濾胞型での発現より強い傾向を示したが、統計学的な有意差はみられなかった。また、40 歳台以上の症例では、30 歳代以下の症例より、SIRT1 の発現は若干高かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sripodok Pawat, Saito Haruka, Kouketsu Atsumu, Takahashi Tetsu, Kumamoto Hiroyuki	4. 巻 112
2. 論文標題 Immunexpression of SIRT1, 6, and 7 in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 221 ~ 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10266-023-00816-x	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 該当する
1. 著者名 Sripodok Pawat, Kouketsu Atsumu, Kuroda Kanako, Miyashita Hitoshi, Sugiura Tsuyoshi, Kumamoto Hiroyuki	4. 巻 18
2. 論文標題 Primary Oral Mixed Neuroendocrine?Non-neuroendocrine Neoplasm (MiNEN): A Rare Case Report and Review of the Literature	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Head and Neck Pathology	6. 最初と最後の頁 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12105-024-01613-w	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 該当する
1. 著者名 Morishima Hiromitsu, Nogami Shinnosuke, Igarashi Ayano, Imoto Kazuhiro, Saito Shizu, Chiba Masatoshi, Kumamoto Hiroyuki, Takahashi Tetsu, Yamauchi Kensuke	4. 巻 35
2. 論文標題 A case of tenosynovial giant cell tumor secondary to synovial chondromatosis in the temporomandibular joint	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 572 ~ 576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2023.03.009	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 Kouketsu Atsumu, Haruka Saito, Kuroda Kanako, Hitoshi Miyashita, Kensuke Yamauchi, Tsuyoshi Sugiura, Takahashi Tetsu, Hiroyuki Kumamoto	4. 巻 52
2. 論文標題 Myeloid derived suppressor cells and plasmacytoid dendritic cells are associated with oncogenesis of oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Oral Pathology & Medicine	6. 最初と最後の頁 9 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jop.13386	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 Odashima Kenji, Nogami Shinnosuke, Kitamura Jun, Iwama Ryosuke, Yanagisawa Yuta, Kajita Tomonari, Miyashita Hitoshi, Yamauchi Kensuke, Kumamoto Hiroyuki, Takahashi Tetsu	4. 巻 34
2. 論文標題 Glandular odontogenic cyst in mandible: A case report and literature review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 531 ~ 535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoms.2021.11.006	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 Siril Y.J., Kouketsu A., Saito H., Takahashi T., Kumamoto H.	4. 巻 51
2. 論文標題 Immunohistochemical expression levels of cyclin D1 and CREPT reflect the course and prognosis in oral precancerous lesions and squamous cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 27 ~ 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijom.2021.03.012	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 該当する

1. 著者名 Nogami Shinnosuke, Yamauchi Kensuke, Kitamura Jun, Miyashita Hitoshi, Kojima Ikuho, Kouketsu Atsumu, Furuuchi Toshi, Iikubo Masahiro, Kumamoto Hiroyuki, Takahashi Tetsu	4. 巻 19
2. 論文標題 The accuracy of ultrasound and magnetic resonance imaging for estimating thickness of oral tongue squamous cell carcinoma and influence of biopsy on those findings	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oral Science International	6. 最初と最後の頁 24 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/osi2.1108	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 Kouketsu A Miyashita H Kojima I Sakamoto M Murata T Mori S Nogami S Yamauchi K Nagai H Kumamoto H Takahashi T	4. 巻 120
2. 論文標題 Comparison of different diagnostic imaging techniques for the detection of bone invasion in oral cancers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Oncol	6. 最初と最後の頁 105453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2021.105453	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10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 後藤弓里子 Pawat Sripodok 飯久保正弘 熊本裕行
2. 発表標題 エナメル上皮腫におけるLGR5/6発現についての検討
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 五十嵐彩乃 大竹義雄 井本和宏 鈴木飛佳理 岩前有香 野上晋之介 熊本裕行 山内健介
2. 発表標題 比較的広範な透過像を示したエナメル上皮腫の臨床的検討
3. 学会等名 第42回日本口腔腫瘍学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 佐藤舜 柳沢佑太 鈴木飛佳理 野上晋之介 熊本裕行 山内健介
2. 発表標題 透析患者のエナメル上皮腫内部に異所性石灰化を認めた1症例
3. 学会等名 第42回日本口腔腫瘍学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Sripodok P Saito H Kouketsu A Takahashi T Kumamoto H
2. 発表標題 Expression of SIRT1,6, and 7 in oral leukolakia and oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 第47回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sripodok P Kouketsu A Sugiura T Kumamoto H
2. 発表標題 Klotho and GATA4 immunoexpression in oral leukolakia and oral carcinoma
3. 学会等名 102nd General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小田島健二 野上晋之介 梶田倫功 山内健介 熊本裕行 高橋哲
2. 発表標題 下顎骨に生じ再発を認めた腺性歯原性嚢胞の1例
3. 学会等名 第76回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大竹義雄 野上晋之介 小田島健二 江副祐史 千葉雅俊 山内健介 熊本裕行 高橋哲
2. 発表標題 顎関節滑膜軟骨腫症の臨床・画像所見と併せた病理組織学的検討
3. 学会等名 第35回日本顎関節学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田佳奈子 瀧瀬衆 齋藤悠 熊本裕行 高橋哲
2. 発表標題 エナメル上皮腫における未分化能持続に関連する因子に関する研究
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊本裕行
2. 発表標題 歯源性腫瘍の病理診断
3. 学会等名 令和3年度熊本県がん診療連携拠点病院機能強化事業がん診断部会講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀧藤 悠 高橋 哲 熊本裕行
2. 発表標題 口腔癌における骨髄由来抑制系細胞および形質細胞様樹状細胞に関する臨床病理学的研究
3. 学会等名 第39回日本口腔腫瘍学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 熊本裕行（下野正基 高田隆 田沼順一 豊澤悟 編）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 364
3. 書名 新口腔病理学 第3版	

〔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	齋藤 悠 (Saito Haruka) (00824450)	東北大学・歯学研究科・助教 (11301)	

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
---------	---------