

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17120

研究課題名（和文）ゲノムワイドな異常メチル化を指標とした高精度な口腔癌スクリーニングシステムの構築

研究課題名（英文）Highly accurate oral cancer screening system by detection of genome-wide aberrant methylation

研究代表者

原口 和也（Haraguchi, Kazuya）

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：90807471

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：テロメラーゼの構成要素であるhTERT遺伝子プロモーター領域のCpG部位における異常メチル化を指標とした口腔癌スクリーニングシステムを構築することを目的とした。対象は口腔癌および白板症を有する患者とし、九州工業大学が開発した異常メチル化検出法であるElectrochemical Hybridization Assay (EHA)を用いてhTERT遺伝子の異常メチル化を検出した。口腔癌患者では検体の採取法に依らず白板症患者と比較してhTERT遺伝子プロモーター領域のCpG部位における異常メチル化の割合が有意に高かった。EHAは口腔癌スクリーニングとして有用であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

EHAは、安価でかつ簡便な異常メチル化検出手法である。このようにEHAを使用したhTERT遺伝子プロモーター領域の異常メチル化検出は白板症、OSCCの早期発見を可能とし、早期治療につなげることができる可能性がある。従来より行われているDNAメチル化状態の分析手法はいずれも操作が煩雑であったり、高コストであるといった欠点を有している。しかし、EHA法は短時間で結果を得ることができ、安価であるため、スクリーニング検査に適している。また、本研究が実用化されれば、患者自身のセルフスクリーニングにも用いることができるようになると同時に、全身他部位の癌にも応用することができ、大きな発展性が見込まれる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to develop an oral cancer screening system using aberrant methylation at CpG sites in the promoter region of the hTERT gene, a component of telomerase, as an indicator. The subjects were patients with oral cancer and leukoplakia, and aberrant methylation of the hTERT gene was detected using Electrochemical Hybridization Assay (EHA), an aberrant methylation detection method developed by Kyushu Institute of Technology. The proportion of aberrant methylation at CpG sites in the promoter region of the hTERT gene was significantly higher in oral cancer patients compared to leukoplakia patients, regardless of the sample collection method. EHA was considered to be useful for oral cancer screening.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔癌 hTERT遺伝子 口腔粘膜疾患 異常メチル化 電気化学的ハイブリダイゼーションアッセイ テロメラーゼ 口腔癌スクリーニング 液状化検体細胞診

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

癌による死亡者数は年々増加傾向にあり、口腔癌を含む頭頸部癌でも例外ではない。白板症は口腔の代表的な前癌病変であり、その癌化率は4-20%程度と報告されている。また、口腔扁平苔癬は、代表的な前癌状態である。口腔癌の発見が遅れ、進行した状態で発見されると術後の機能障害が大きくなり、QOLの大幅な低下をもたらす。そのため、口腔癌の早期発見、早期治療が重要であるが、他の口腔粘膜疾患と類似するものも多くあり、診断に苦慮することがしばしばある。また、口腔癌に進行する前の前癌病変あるいは前癌状態の段階で早期発見し、早期に治療介入することが重要と考えられる。癌の早期発見、早期治療が重要であることは周知の事実であるが、本邦では諸外国と比較してがん検診の受診率が低いことが知られている。口腔癌の場合、口腔癌は直視直達可能な部位に発生するにも関わらず、口腔癌を早期発見するためのスクリーニングシステムは存在しない。ゆえに、口腔癌を含む口腔粘膜疾患の早期診断の一助となるスクリーニングシステムの開発が重要である。OSCCの早期発見の重要性が叫ばれるなか、患者への負担が少なく、容易に採取できる口腔擦過細胞診の重要性が近年数多く報告されている。口腔扁平上皮癌(OSCC)における擦過細胞診では、深層型異型細胞および角化型異型細胞に注目したこのフローチャートに沿った診断を行えば比較的容易に口腔早期癌の細胞診断も可能だと言われている。また、新報告様式は判定後に主として対応する医療機関を記載し、一般歯科診療所での対応を限定したのも特徴的である。一般歯科診療所ではスクリーニングに心がけ、OLSIL以上の細胞診判定の場合は口腔外科専門医や高次医療機関が対応すべきとしている。このように、OSCC早期発見への口腔細胞診の有効性が近年になって見直され、広く普及しつつある。OSCC患者の生存率向上のためには、侵襲が軽微で患者の負担も少なく、同時に高い感度や特異度を示す信頼性の高いOSCCの早期発見を目的とした新しい診断法の確立が望まれるが、わたしは以前より、hTERT遺伝子プロモーター領域の異常メチル化を指標とした新たなOSCCスクリーニングシステムの有用性について報告してきた。

### 2. 研究の目的

本研究では、従来より行われているOSCCスクリーニングであるliquid-based cytologyによる口腔擦過細胞診と、われわれが以前より報告しているhTERT遺伝子プロモーター領域の異常メチル化を指標とした新たなOSCCスクリーニングシステムの関係性を評価し、その有効性を検証した。

### 3. 研究の方法

本学附属病院口腔外科を受診し、本研究に同意が得られ、病理組織学的に確定診断を得た口腔癌および白板症を有する患者を対象とした。検体は病変局所からの剥離細胞、病変から採取した組織片で、症例数はそれぞれ口腔癌33例、白板症19例であった。各検体からDNAを抽出、亜硫酸処理しPCRで増幅したのちに、九州工業大学竹中研究室が開発した異常メチル化検出法であるElectrochemical Hybridization Assay (EHA)を用いてhTERT遺伝子の異常メチル化を検出した。また、これらの結果を液状化検体細胞診(LBC)結果と比較検討した。

### 4. 研究成果

口腔癌患者では検体の採取法に依らず白板症患者と比較してhTERT遺伝子プロモーター領域のCpG部位における異常メチル化の割合が有意に高かった(図1)。組織および局所剥離細胞におけるEHA結果とLBC判定との間の相関係数はそれぞれ0.513および0.542と相関関係を認め(図2)。また、LBC判定が陰性であった症例に着目すると、陰性であったにも関わらず組織診にてOSCCであった症例は3例であった(図2矢印)。それらの症例のEHA結果は陰性であったその他の症例のなかでも比較的大きなEHA結果であった。

EHA結果は、以前より行われている口腔癌スクリーニングであるLBC判定との間に相関関係を認め、EHAは口腔癌スクリーニングとして有用である可能性が示唆された。

図 1 : EHA の結果

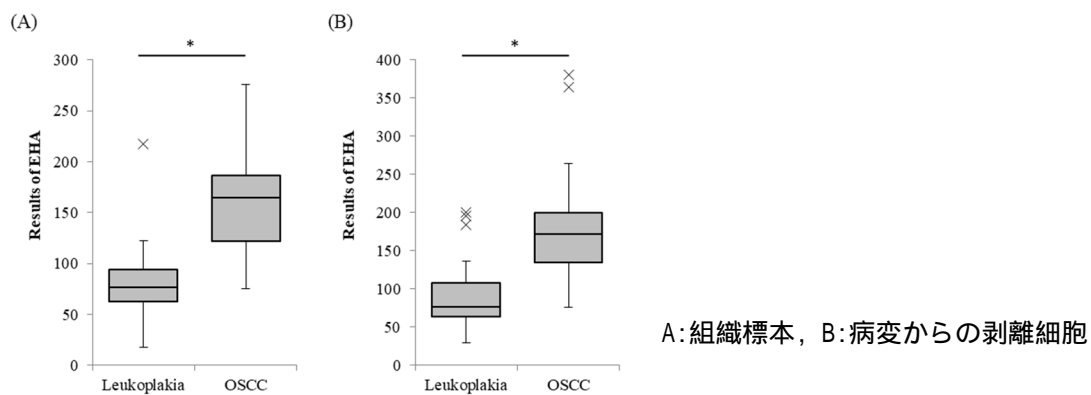
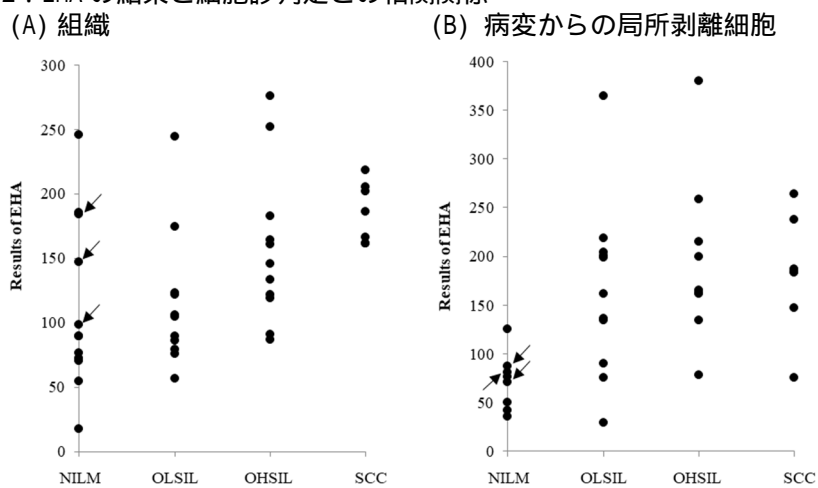


図 2 : EHA の結果と細胞診判定との相関関係



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kazuya Haraguchi, Shinobu Sato, Manabu Habu, Naomi Yada, Mana Hayakawa, Masaaki Sasaguri, Izumi Yoshioka, Kazuhiro Tominaga, Shigeori Takenaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Evaluation of the accuracy of hTERT gene aberrant methylation using electrochemical hybridization assay and liquid-based cytology in screening for oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Electroanalysis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kazuya Haraguchi, Manabu Habu, Naomi Yada, Masaaki Sasaguri, Izumi Yoshioka, Kazuhiro Tominaga	4. 巻 15
2. 論文標題 Human telomerase reverse transcriptase protein expression is associated with survival in patients with oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Clin Exp pathol	6. 最初と最後の頁 29-37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 原口和也、土生学、吉賀大午、笹栗正明、吉岡泉、富永和宏
2. 発表標題 hTERT protein発現が口腔扁平上皮癌患者の予後に与える影響
3. 学会等名 第65回（公社）日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原口和也、矢田直美、土生学、笹栗正明、松尾拓、吉岡泉、富永和宏
2. 発表標題 九州歯科大学附属病院における液状化検体細胞診：当院における現状と口腔癌スクリーニングでの新たな活用法
3. 学会等名 第40回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原口和也、土生学、矢田直美、早川真奈、笹栗正明、吉岡泉、富永和宏
2. 発表標題 hTERT遺伝子の異常メチル化を指標とした新たな口腔癌スクリーニングシステム：液状化検体細胞診結果との比較検討
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

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