

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792176

研究課題名(和文)喫煙により口腔粘膜に蓄積するエピジェネティックな変異と発癌への関与

研究課題名(英文)Smoking-related epigenetic abnormalities in the development of oral cancer

研究代表者

阿部 雅修(Abe, Masanobu)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10392333

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：非癌部食道粘膜における喫煙関連メチル化遺伝子(HOXA9, MT1M, NEFH, UCHL1)について、口腔扁平上皮癌組織における異常の有無の検討を行った。サンプルは口腔癌26検体および口腔白板症24検体を用いた。DNAMメチル化解析法としては定量的Methylation-Specific PCR(MSP)法を用いた。完全メチル化DNAおよび完全非メチル化DNAを作成し、プライマーの条件検討に用いた。またPCR産物を組み込んだプラスミドDNAを、スタンダードDNAとして分子数の指標とした。正常粘膜組織、口腔白板症組織、口腔扁平上皮癌と段階的にメチル化レベルが上昇する傾向にあった。

研究成果の概要(英文)：Methylation status of smoking related genes (HOXA9, MT1M, NEFH, UCHL1) in non-cancerous esophageal mucosae and esophageal cancers was examined in normal oral mucosae, oral leukoplakias and oral squamous cell carcinomas. Methylation status of the four genes in 16 of normal oral mucosae, 24 of oral leukoplakias and 26 of oral squamous cell carcinomas were examined by Methylation-Specific PCR (MSP). The methylation levels of four genes were found to be highest in oral squamous carcinomas followed by oral leukoplakias. The methylation levels of oral normal mucosae (control) were significantly low.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯科・外科系歯学

キーワード：口腔癌

### 1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜は食物や化学物質をはじめ多種多様な外的刺激に暴露されており、そのため口腔扁平上皮癌の発生機序もその要因によって様々であると考えられる (Ivy F. L. Tsui *et al*, *Am J Surg Pathol* 2009)。そういった様々な刺激による分子レベルでの異常の蓄積が、口腔扁平上皮癌の発生には重要であると考えられる (Suzuki, T *et al*, *Cancer Sci*, 2006)。60 年前に提唱された “Field Cancerization” の概念は、今日では “Cancer Field (発がんの場)” として知られている。この Cancer Field は、1) 癌の周囲の細胞は正常に見えるが既に異常を有する。2) 癌になる可能性を有する細胞は複数の箇所に同時に生じる。3) 1つの腫瘍は複数の独立した場所に生じた癌細胞の集合体である。4) 異常を有する一見正常な細胞の取り残しが癌再発の原因である、といった仮定に基づいた概念であり、「発癌」を考慮する上で必要不可欠である。

これまで多くの喫煙と癌についての研究が行われてきたが、近年、世界的な禁煙ブームの高まりとともに、その注目度は増している。タバコの煙には、ニコチン、アセトアルデヒド、窒素酸化物、シアン化水素、カテコール類、アンモニア、アクロレイン、ピリジン、ホルムアルデヒドなどの有害物質が煙の成分として多く含まれている。さらにジメチルニトロサミン、ヒドラジン、ニトロソピロリジン、ウレタンなどの発がん物質も各々微量ではあるが含まれている。口腔粘膜はタバコの煙に直接暴露されるため、喫煙は口腔扁平上皮癌の発生における最大の危険因子と考えられている (Gajendra, S *et al*, *J Cancer Educ*, 2006)。これら発癌関連有害物質を数多く含むタバコの煙の影響が、口腔粘膜に実際に蓄積するのか否か、また蓄積する場合、どのようなメカニズムで、どのような変化・痕跡をゲノム上に残

すのかについては解明されていない。

DNA のメチル化は、エピジェネティクスの代表的かつ基本的な現象であり、ヒストン修飾とともに、発生や分化など、基本的な生命現象において重要な役割を担うことが知られている (Sasaki, H and Matsui, Y, *Nat Rev Genet*, 2008, Reik, W and Walter, J, *Nat Rev Genet*, 2001, Abe, M *et al*, *PLoS ONE*, 2011)。また、DNA メチル化は癌をはじめ様々な疾患とも深く関わっている。特にプロモーター領域 CpG アイランドの DNA メチル化による下流遺伝子のサイレンシングは、突然変異や欠失とならび、多くの癌で遺伝子不活化の重要な要因となっている (Jones, P. A. and Baylin, S. B., *Nat Rev Genet*, 2002)。また、サイレンシングのみならずマーカーとしての利用価値も高く、注目を浴びている (Abe, M *et al*, *Cancer Res*, 2005, Abe, M *et al*, *Cancer Lett*, 2007)。

### 2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌はしばしば多発性の原発性腫瘍となることが知られている。その理由として、背景にジェネティックおよびエピジェネティックな異常の蓄積が存在すると考えられている。癌化に関して、これまで多くの発癌関連物質が報告されてきたが、タバコの煙に含まれる有害物質と発癌との関連性についても近年の禁煙ブームと共に注目を浴びている。口腔はタバコの煙に直接暴露されるため、他の臓器と比較し、その影響は特に大きいと考えられる。本研究では、エピジェネティクスの観点から喫煙による口腔扁平上皮癌発症のリスクの指標となる因子の同定を目的とし、正常口腔粘膜におけるタバコの影響による発癌リスクの診断方法の開発を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究においては、非癌部正常食道粘膜において喫煙歴と相関する DNA メチル化異常を認める遺伝子 (Oka D *et al*, *Cancer*,

2009)について、喫煙歴のある口腔扁平上皮癌患者の癌組織においても同様の異常が認められるか否かについて検討した。DNAメチル化の割合を精密かつ正確に把握するため定量的解析法を確立した。喫煙により生じる口腔粘膜のDNAメチル化異常の蓄積の発癌のリスクとの相関を評価し、リスクマーカーとしての有用性を検討した。正常口腔粘膜組織16例、口腔白板症組織24例、および口腔扁平上皮癌組織26例を用いて、定量的MSP法により食道癌における既知の喫煙関連4遺伝子の定量的メチル化解析を行った。

#### 4. 研究成果

口腔扁平上皮癌および口腔白板症において、喫煙関連4遺伝子のメチル化程度と喫煙歴との有意な相関は認められなかった。しかしながら、それら4遺伝子は口腔正常粘膜に対して、口腔扁平上皮癌および口腔白板症において有意な高メチル化を認めた。食道癌における喫煙関連4遺伝子は、口腔癌患者の喫煙歴との相関は認められなかったが、口腔癌および食道癌双方において高メチル化を認めることから、それらの発癌過程において重要な役割を担っている可能性が高いと考えられた。

#### 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2件)

1. Asada K., Abe M. and Ushijima, T. The CpG island methylator phenotype in neuroblastomas and its clinical applications. *J Hum Genet.* 2013 Jul;58(7):428-33.
2. Abe M., Mori Y., Saijo H., Hoshi K., Ohkubo K., Ono T. and Takato T. The efficacy of dental therapy for an adult case of Henoch-Schönlein Purpura. *Oral Science International* 9(2012)59-62.

[学会発表](計6件)

1. 阿部雅修、森良之、安部貴大、西條英人、高戸毅 食道癌において喫煙と相関するDNAメチル化異常の口腔癌における検討 第32回日本口腔腫瘍学会総会・学術集会、札幌、2014年1月

2. 阿部雅修、山下聡、森良之、安部貴大、西條英人、牛島俊和、高戸毅 口腔扁平上皮癌における新規メチル化サイレンシング遺伝子の同定 第72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年10月
3. 阿部雅修、森良之、安部貴大、末永英之、古賀陽子、瀬戸一郎、西條英人、星和人、高戸毅 口腔扁平上皮癌の発生過程においてサイレンシングされる遺伝子のゲノム網羅的探索 第67回日本口腔科学会総会、栃木、2013年5月
4. 阿部雅修、森良之、安部貴大、西條英人、高戸毅 口腔扁平上皮癌発生の初期においてDNAメチル化により不活化される遺伝子のゲノム網羅的探索 第12回日本再生医療学会総会、横浜、2013年3月
5. Abe M., Yamashita S., Mori Y., Abe T, Saijo H, Kawase-Koga Y., Suenaga H., Ushijima T. and Takato T. Identification of novel methylation-silenced genes which are associated with malignant transformation from oral premalignant lesions to oral cancers. The Ninth AACR-JCA Joint Conference: Breakthrough in basic and translational cancer research, Maui, HI, USA, February, 2013
6. 阿部雅修、安部貴大、岡田恵美、西條英人、森良之、高戸毅 成人における原因不明の突発性耳下腺炎 第193回日本口腔外科学会関東地方会、埼玉、2012年6月

[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

阿部 雅修 ( ABE Masanobu )

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：10392333

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：