

令和元年6月10日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11228

研究課題名(和文) 頭頸部癌におけるエピゲノムリプログラミング調節機構の解明

研究課題名(英文) A study of epigenetic reprogramming mechanism in head and neck cancer

研究代表者

峯田 周幸 (Mineta, Hiroyuki)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：40190714

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)：DNA脱メチル化は、エピゲノムリプログラミング調節機構における重要な機序の一つである。今回、頭頸部癌におけるDNA脱メチル化について研究を行った。DNA脱メチル化酵素(TET)は、酸化酵素であり5mCを5hmCへと脱メチル化させる作用を持つ。5hmCは、リンパ節転移、高悪性度頭頸部癌症例で低レベルであった。TET3遺伝子高メチル化は、高悪性度頭頸部癌症例で認められた。さらに癌抑制遺伝子群の高メチル化も認め、悪性を示す因子であることがわかった。DNA脱メチル化は、頭頸部発癌に重要なステップであり、今回の研究で得られた知見は、新たな頭頸部癌の治療の開発に有効な基礎データになると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌は予後不良の癌腫の一つである。腫瘍発生メカニズムは不明な点が多い。今回我々は、DNA脱メチル化が、頭頸部癌発生の重要な機序の一つであると考えた。DNA脱メチル化酵素(TET)は、酸化酵素であり5mCを5hmCへと脱メチル化させる作用を持つ。5hmCは、リンパ節転移、高悪性度頭頸部癌症例で低レベルであった。TET3遺伝子高メチル化は、高悪性度頭頸部癌症例で認められた。さらに癌抑制遺伝子群の高メチル化も認め、悪性を示す因子であることを解明した。今回の研究で、エピゲノムリプログラミング調節機構の解明と新たな頭頸部癌の治療の開発の可能性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：DNA demethylation is necessary for the epigenetic reprogramming. The ten eleven translocation protein (TET) might function as a 5-methylcytosine (5mC) oxidase and potentially as a DNA demethylase. TET belongs to a family of three proteins, namely TET1, TET2, and TET3, which catalyze the successive oxidation of 5mC to 5-hydroxymethylcytosine (5hmC), 5-formylcytosine (5fC), and 5-carboxylcytosine (5caC). The 5-hmC profiles in primary tumors may be used to identify patients with positive lymph node metastasis and high tumor stage that are at a higher risk of recurrence. The methylation status of TET3 was independently associated with aggressive tumor behavior and a global effect on DNA methylation status in head and neck cancer. We conclude that the demethylation of promoter DNA may be a necessary step in the epigenetic reprogramming of head and neck cancer.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：DNA脱メチル化 エピゲノムリプログラミング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌の治療は、近年の新しい放射線治療・抗癌剤などの登場により、進行例の局所制御率や再発例の生存率は向上しているが、頭頸部癌全体の生存率改善までには至っておらず、新たな観点からの治療法の開発が望まれている。最近、ダイレクトリプログラミング(脱分化・初期化)技術が、癌不均一性の理解に応用可能であることが示されている。そして、自己複製能や腫瘍形成能などの違いは、背景にあるエピゲノム制御状態に依存すると考えられ、エピゲノム治療薬が癌細胞の不均一性を標的とした治療法として有望であると予想されている。頭頸部癌におけるエピゲノムリプログラミング調節機構の解明とその治療応用の可能性を探るための、DNAメチル化・脱メチル化のメカニズムの解明が重要であると考えられている。

2. 研究の目的

今回我々は、頭頸部癌におけるDNAメチル化・脱メチル化に焦点をあてダイナミックなエピゲノム変化を解析した。癌細胞の不均一性は、患者の予後など治療を困難にしている最大の障壁の一つと考えられる。この不均一性を生むメカニズムの一つに、DNA脱メチル化があるとされる。今回、頭頸部癌における脱メチル化のパターンを解析し、癌の不均一性を生じさせる因子が何なのか解明し頭頸部癌の新たな治療法の開発を目指し研究を行った。

3. 研究の方法

頭頸部癌組織 117 検体の DNA・RNA を使って、DNA 脱メチル化酵素 TET1, TET2, TET3 の発現解析を行った。次に、Quest 5-hmC DNA ELISA Kit (Zymo Research) を使って 5hmC のレベルを計測した。さらに、TET 遺伝子、代表的な癌抑制遺伝子の DNA メチル化を調べ、それぞれの頭頸部癌の DNA メチル化・脱メチル化のパターンを解析した。

4. 研究成果

DNA 脱メチル化は、エピゲノムリプログラミング調節機構における重要な機序の一つである。今回、頭頸部癌における DNA 脱メチル化について研究を行った。DNA 脱メチル化酵素(TET)は、酸化酵素であり 5mC を 5hmC へと脱メチル化させる作用を持つ。5hmC は、リンパ節転移、高悪性度頭頸部癌症例で低レベルであった。TET 遺伝子高メチル化は、癌抑制遺伝子群の高メチル化も認め悪性度を示す因子であることがわかった。

DNA 脱メチル化は、頭頸部発癌に重要なステップであり、今回の研究で得られた知見は、新たな頭頸部癌の治療の開発に有効な基礎データになると考えられる。

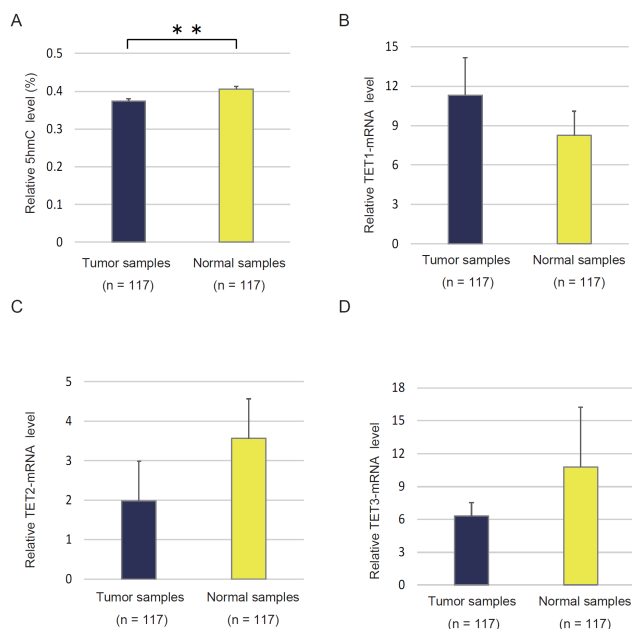


図1 5-hmCレベル(A)、TET1mRNA(B)、TET2mRNA(C)、TET3mRNA(D)

頭頸部癌組織 117 検体の癌部と正常部の 5-hmC レベル、TET1mRNA レベル、TET2mRNA レベル、TET3mRNA レベルの解析では、5-hmC レベルが癌部で有意に低下を示した(P < 0.01)。TET1mRNA レベル、TET2mRNA レベル、TET3mRNA レベルに関して癌部と正常部で有意な違いを認めなかった。(図1)

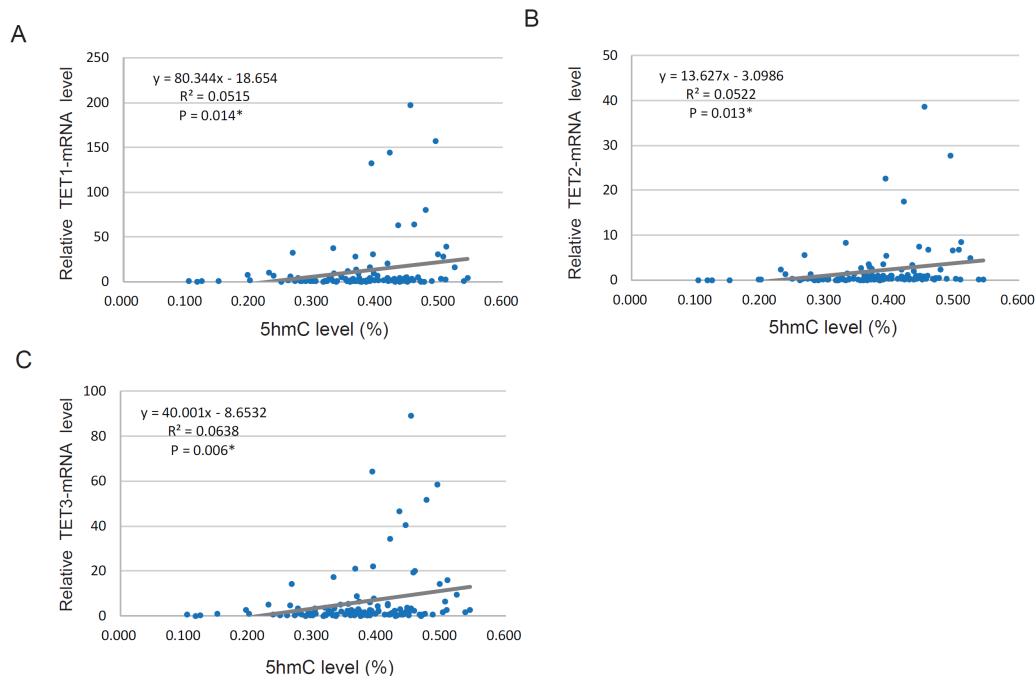


図2 5-hmC レベルと TET1mRNA (A)、TET2mRNA (B)、TET3mRNA (C) の相関

5-hmC レベルと TET1mRNA (A)、TET2mRNA (B)、TET3mRNA (C) の相関は、それぞれ有意な正の相関を認めた。(図2)

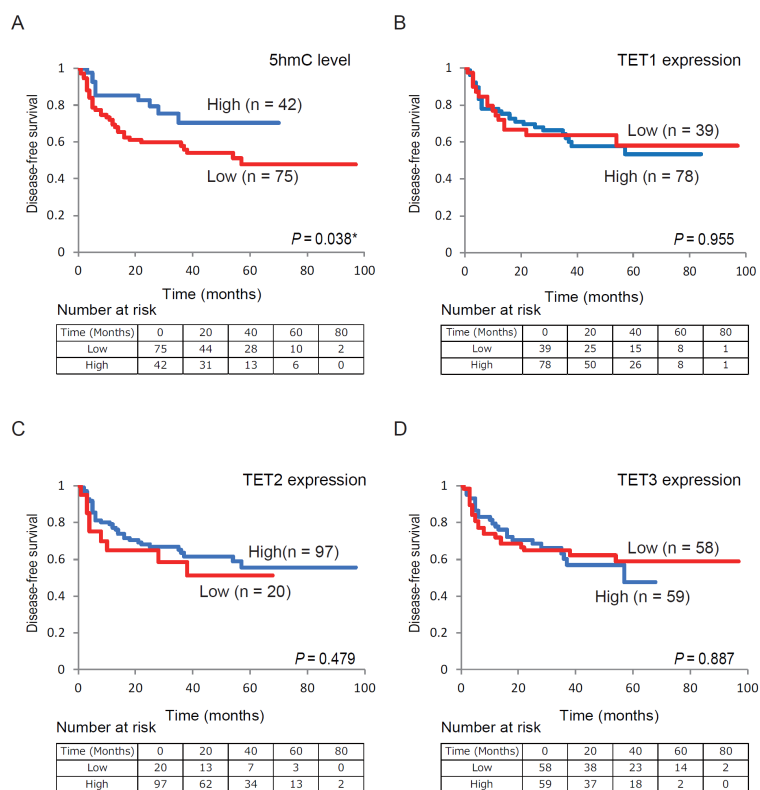


図3 Kaplan-Meier 曲線：5-hmC レベル(A)、TET1mRNA(B)、TET2mRNA(C)、TET3mRNA(D)

5-hmC 低レベル群は有意に予後不良であった($P = 0.038$) (A)。TET1mRNA (B)、TET2mRNA (C)、TET3mRNA (D)において高発現群と低発現群で有意な差を認めなかった。(図3)

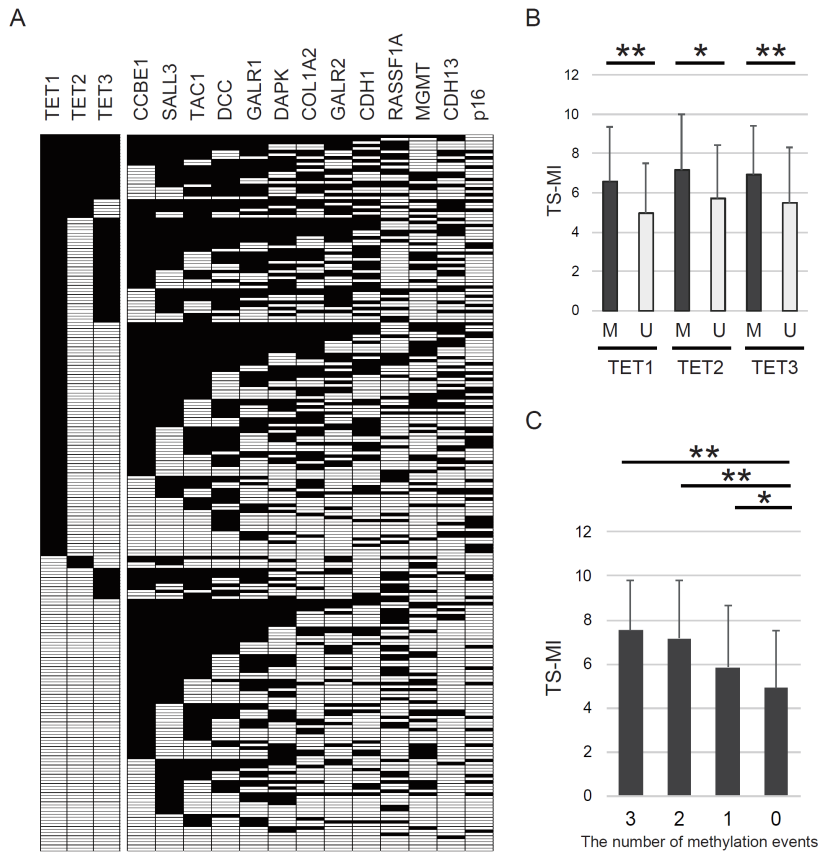


図4 TET 遺伝子、癌抑制遺伝子のメチル化度 (TS-MI)

TET 遺伝子の高メチル化は、癌抑制遺伝子の高メチル化と相関した。つまり、TET 遺伝子の脱メチル化機能の低下は、癌抑制遺伝子全体の高メチル化を生じ、癌化・悪性化の原因になると考えられた。(図4)

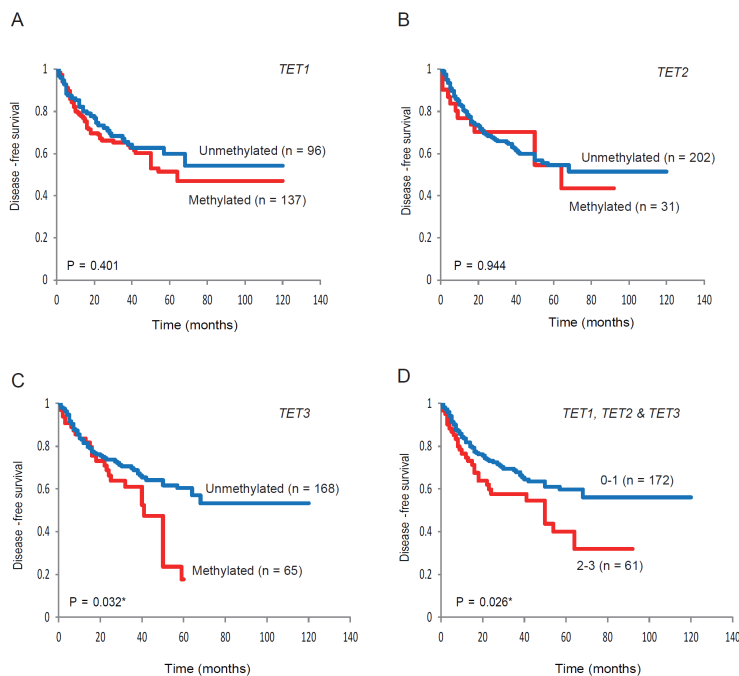


図5 Kaplan-Meier 曲線 TET1 メチル化 (A)、TET2 メチル化 (B)、TET3 メチル化 (C)、TET1, 2, 3 メチル化 (D)

TET1 メチル化(A)、TET2 メチル化(B)は、予後に有意な差を認めなかった。TET3 高メチル化群は有意に予後不良であった(P = 0.032) (C)、 TET 遺伝子高メチル化群は、有意に予後不良であった(P = 0.026) (D)。(図5)

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 16 件)

1. Mochizuki D, Misawa Y, Kawasaki H, Imai A, Endo S, Mima M, Yamada S, Nakagawa T, Kanazawa T and Misawa K*: Aberrant epigenetic regulation in head and neck cancer distinct EZH2 overexpression and DNA hypermethylation. *International Journal of Molecular Sciences*; 19(12):3707, 2018
2. Kanazawa T*, Kurakami K, Ujimoto K, Komazawa D, Misawa K, Imayoshi S and Watanabe Y; Safety and short-term outcomes of basic fibroblast growth factor injection for sulcus vocalis. *Acta Oto-Laryngologica*; 138(11): 1014-1019, 2018
3. Misawa K*, Imai A, Mochizuki D, Mima M, Endo S, Misawa Y, Kanazawa T and Mineta H; Association of TET3 epigenetic inactivation with head and neck cancer. *Oncotarget*; 9(36):24480-24493, 2018
4. Misawa K*, Mima M, Imai A, Mochizuki D, Misawa Y, Endo S, Ishikawa R, Kanazawa T and Mineta H; The neuropeptide genes SST, TAC1, HCRT, NPY, and GAL are powerful epigenetic biomarkers in head and neck cancer: A site-specific analysis. *Clin Epigenetics*; 10: 52, 2018
5. Misawa K*, Misawa Y, Imai A, Mochizuki D, Endo S, Mima M, Ishikawa R, Yamatodani T, Kawasaki H and Kanazawa T; Epigenetic modification of SALL1 as a novel biomarker for the prognosis of early tumor stage patients with head and neck cancer. *Journal of Cancer*; 9(6): 941-949, 2018
6. Kanazawa T*, Misawa K, Fukushima H, Misawa Y, Sato Y, Maruta M, Kusaka G, Kawabata K, Mineta H, Carey TE, Nishino H: Epigenetic inactivation of galanin receptors by aberrant promoter methylation in salivary duct carcinoma of parotid gland. *Oncology Letters*; 15(6):9043-9050, 2018
7. Misawa K*, Imai A, Mochizuki D, Misawa Y, Endo S, Hosokawa S, Ishikawa R, Mima M, Shinmura K, Kanazawa T, Mineta H: Genes encoding neuropeptide receptors are epigenetic markers in patients with head and neck cancer: a site-specific analysis. *Oncotarget*; 8(44): 76318-76328, 2017
8. Misawa K*, Mochizuki D, Imai A, Misawa Y, Endo S, Mima M, Kawasaki H, Carey TE, Kanazawa T: Epigenetic silencing of SALL3 is an independent predictor of poor survival in head and neck cancer. *Clin Epigenetics*; 9: 64.2017
9. Mizuta K, Yamatodani T*, Endo S, Nakanishi H, Takahashi G, Misawa K, Hosokawa S, Mineta H: Clinical Analysis of Secondary Acquired Cholesteatoma. *Archives of General Internal Medicine*; 1(2): 12-16. 2017
10. Misawa Y, Misawa K*, Kawasaki H, Imai A, Mochizuki D, Ishikawa R, Endo S, Mima M, Kanazawa T, Iwashita T, Mineta H: The evaluation of epigenetic inactivation of vascular endothelial growth factor receptors of head and neck squamous cell carcinoma. *Tumour Biology*; 39(7): 1010428317711657. 2017
11. Misawa K*, Mochizuki D, Endo S, Mima M, Misawa Y, Imai A, Shinmura K, Kanazawa T, Carey TE, Mineta H: Site-specific methylation patterns of the GAL and GALR1/2 genes in head and neck cancer: potential utility as biomarkers for prognosis. *Mol Carcinogenesis*.; 56(3): 1107-1116. 2017
12. Fukushima H, Kanazawa T, Kawabata K, Mitani H, Yonekawa H, Sasaki T, Shimbashi W, Seto A, Kamiyama R, Misawa K, Asakage T. Indwelling Voice Prosthesis insertion after Total Pharyngolaryngectomy with Free Jejunal Reconstruction. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*; 2(1): 30-35. 2017
13. Misawa K*, Mochizuki D, Imai A, Endo S, Mima M, Misawa Y, Kanazawa T, Carey TE, Mineta H : Prognostic value of aberrant promoter hypermethylation of tumor-related genes in early-stage head and neck cancer. *Oncotarget*; 24: 26087-26098. 2016
14. Misawa K*, Misawa Y, Kanazawa T, Mochizuki D, Imai A, Endo S, Carey TE, Mineta H: Epigenetic inactivation of galanin and GALR1/2 is associated with early recurrence in head and neck cancer. *Clin Exp Metastasis*.; 33(2): 187-95. 2016
15. Endo S, Mizuta K*, Takahashi G, Nakanishi H, Yamatodani T, Misawa K, Hosokawa S, Mineta H. The effects of ventilation tube insertion or trans-tympanic silicone plug insertion on a patulous Eustachian tube. *Acta Otolaryngol*; 136(6):551-5. 2016
16. Endo S, Mizuta K*, Yamatodani T, Nakanishi H, Hosokawa K, Misawa K, Hosokawa S, Mineta H: A case of improved hearing with cochlear implantation in Gaucher disease type 1. *Auris Nasus Larynx*; 45: 603-607, 2017

[学会発表](計 3 件)

1. Kiyoshi Misawa, Takeharu Kanazawa, Yuki Misawa, Hiroyuki Mineta: Prognostic value of aberrant promoter hypermethylation of tumor-related genes in early-stage head and neck cancer, AHNS 9th International Conference 2016

2. Kiyoshi Misawa, Takeharu Kanazawa, Yuki Misawa, Hiroyuki Mineta: Genes encoding neuropeptide receptors are epigenetic markers in patients with head and neck cancer: a site-specific analysis. AOGIN 2017 TOKYO Meeting 2016
3. Kiyoshi Misawa, Daiki Mochizuki, Atsushi Imai, Takeharu Kanazawa, Hiroyuki Mineta: The epigenetic feedback loop of the CpG demethylase TET family genes in head and neck cancers, 109rd AACR Annual Meeting 2018

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：三澤 清

ローマ字氏名：Misawa Kiyoshi

所属研究機関名：浜松医科大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号(8桁)：90334979

(2)研究分担者

研究分担者氏名：遠藤 志織

ローマ字氏名：Endo Shiori

所属研究機関名：浜松医科大学

部局名：医学部附属病院

職名：診療助教

研究者番号(8桁)：10625205

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。