

令和 3 年 4 月 27 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2020

課題番号：16K20576

研究課題名(和文) 口腔腫瘍悪性化および増殖と環境因子との相関-TRPチャンネルをめぐって-

研究課題名(英文) Correlation between oral tumor malignancy and growth, and environmental factors

研究代表者

榊原 晶子 (Sakakibara, Akiko)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00569866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：口腔に発症する扁平上皮癌を中心とする悪性腫瘍では、発ガンの危険因子として喫煙や飲酒の他に、持続的な物理的刺激が与えられる。近年、物理刺激の受容体であるTRP(transient receptor potential)イオンチャンネルが上皮系に発現していることが明らかとなった。本研究課題では、TRPと発癌の相関を解析し、癌化の予防および担癌患者における腫瘍進展のコントロールを目指してきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔扁平上皮癌でのTRPVの発現量の増加を明らかとした。これが細胞の『増殖』に働くのであれば外刺激の除去を、『アポトーシス』に働くのであれば刺激を与えることで、癌の治療に応用できる。つまりTRPVのアゴニストあるいはアンタゴニストが抗腫瘍薬として使用できる可能性がある本研究ではわれわれの日常生活における外的刺激を中心として、その発癌および癌の進行との相関を探るための礎を築く物で、新しい概念の確立を目指すとともに、予防医学的にも極めて重要な成果が得られるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Malignant tumors, especially squamous cell carcinomas of the oral cavity, include smoking, alcohol consumption, and other physical stimuli as risk factors for the development of cancer. Recently, it has been shown that TRP (transient receptor potential) ion channels, which are receptors for physical stimulation, are expressed in the epithelial system. We have analyzed the correlation between TRP and carcinogenesis to prevent carcinogenesis and to control tumor progression in cancer-bearing patients.

研究分野：歯科口腔外科

キーワード：TRPVイオンチャンネル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔内癌や咽頭・食道癌の発症には喫煙や飲酒が深く関与している。これらは化学物質による DNA 損傷の誘引をその原因とする。一方で歯牙による慢性的な機械刺激や過熱した食餌の摂取により損傷した粘膜の修復過程では“急速な”細胞増殖を伴い、DNA の複製時に癌抑制遺伝子による生物学的な suppression が十分に機能せず、エラーが増幅してしまい癌化に至ると考えられる。

機械刺激や熱刺激を生体が受容するにあたり、下等生物から高等生物に至るまで共通して環境からの防御を目的とする忌避のため、運動という output を導きだす。故に神経系にその刺激を信号として集めるために受容体は神経細胞であると考えられてきた。

1997 年にカプサイシン受容体である TRPV1 が同定された。TRPV1 は TRP (transient receptor potential) イオンチャネルスーパーファミリーに属する。また、TRPV1 は温度受容体としても機能することが明らかとなった。その後、6 つの温度受容体としての TRPV サブファミリーが同定された。当初、これらの受容体は神経系にのみ発現するとされていたが、皮膚や口腔粘膜などの上皮系にも発現していることが明らかとなりつつあるが、その機能については未だ説明されていない。

TRPV サブファミリー(以下、TRP-X)はその特異的な温度を始めとする外的刺激を受容した後、神経系では細胞内シグナル伝達系として細胞増殖シグナルとして知られる ERK1/2 をリン酸化し、活性化することが明らかとなった。上皮系において ERK1/2 の発現は様々な研究により明らかであり、統合して推察すると、例えば口腔内においては外的刺激により損傷した粘膜組織を修復するために、損傷を免れた上皮細胞が刺激を受容し、細胞増殖シグナルを活性化することで細胞増殖を促進することが想定される。

2. 研究の目的

これまでの知見により、TRPV1 は口腔内 SCC 病変において、その発現量が up-regulate されていることが明らかとなっている。前癌病変での TRPVX の発現、および TRP-X と癌化の相関については明らかとなっていないが、白板症などの前癌病変において、TRP-X の発現が up-regulate されていると仮定すると、上皮での細胞レベルにおける外的刺激に対する感度は高められ、軽微な外的刺激に対しても細胞増殖シグナルが容易に活性化されてしまい、遺伝子複製でのコピーエラーの確率を高める可能性が考えられる。逆に考えれば、前癌病変を有する場合、または外科的切除の待機および化学療法・放射線療法を行っている担癌患者では、これらの受容体に対する外的刺激を抑制することで、癌化および癌の進展を抑制できる可能性がある。

3. 研究の方法

正常粘膜上皮細胞および口腔扁平上皮癌細胞の培養で TRPV の発現様式に変化がないことを確認

ヒト正常粘膜およびヒト口腔扁平上皮癌の TRPV 発現については、これまでのわれわれの実験で扁平上皮癌の方が有意に増加することがわかっている。本研究の目指すところは腫瘍細胞における TRPV の作用の解析であり、比較対照としてヒト正常粘膜での発現様式の解析が必要となる。培養細胞でも同様に扁平上皮癌で有意に増加するという結果が得られることを確認する。これらのデータを基に相対値を求めながら扁平上皮癌における部位的 TRPV 発現様式の解析を行う。

正常および扁平上皮癌培養細胞に外的刺激を与えてカルシウムアッセイにて TRPV 応答を解析
正常粘膜上皮および扁平上皮癌の培養細胞に、TRPV1-4 の stimulator となる外的刺激を与え、カルシウムアッセイにより TRP-X の発現の up-regulation を解析する。対応する外的刺激要因を増加または減少させることで癌化を抑制することが出来る可能性がある。

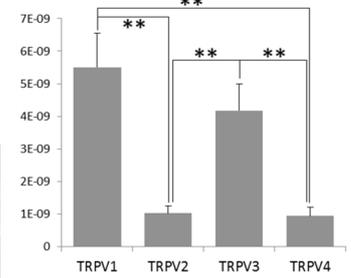
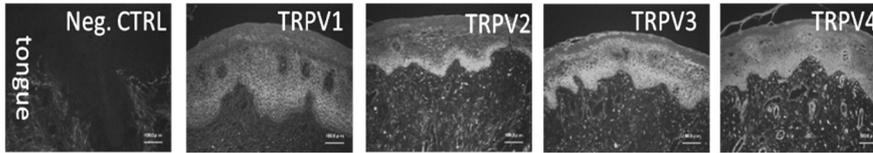
培養細胞で TRPV の stimulator となる外的刺激により細胞応答(増殖 or アポトーシス)を解析

われわれのこれまでの研究により、口腔扁平上皮癌では、TRPV1-4 の発現が亢進することがわかっている。これが癌細胞の増殖に働くか、アポトーシスに働くかを解析する。

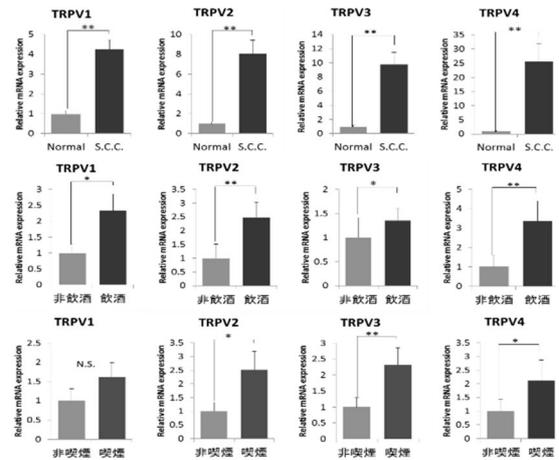
4. 研究成果

①口腔粘膜TRPV発現量 **p<0.01

1 real time PCR法および、免疫組織化学染色法により、TRPV1,2,3,4全てにおいて、ヒト口腔正常粘膜（舌、歯肉、頬粘膜、口底）での発現が確認された。

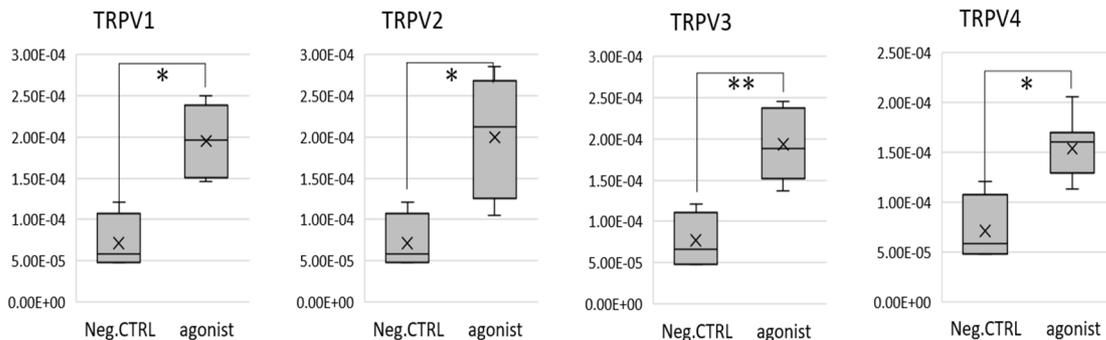


口腔扁平上皮癌と口腔正常粘膜におけるTRPV1,2,3,4の発現量は、扁平上皮癌の方が有意に増加していた。TRPV1,2,3,4全てにおいて、ヒト口腔正常粘膜で‘飲酒あり’群の方が、‘飲酒なし’群よりも有意に増加していた。TRPV2,3,4において、ヒト口腔正常粘膜で‘喫煙あり’群の方が、‘喫煙なし’群よりも有意に増加しており、TRPV1も増加していた。

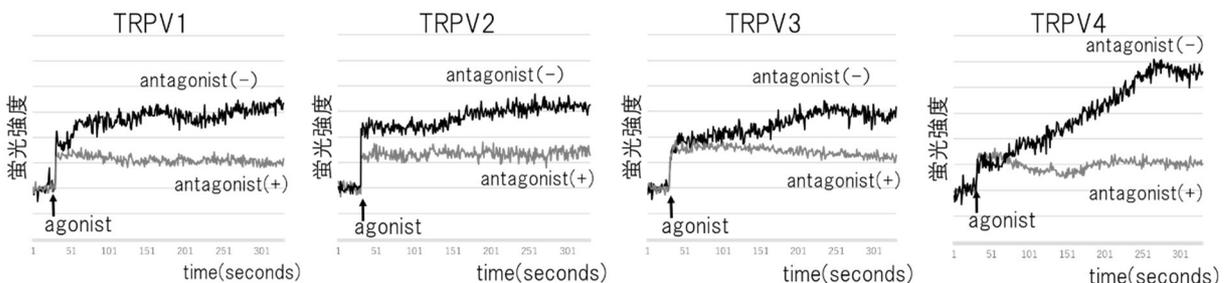


2 real time PCR法により、培養口腔扁平上皮癌と口腔正常粘膜におけるTRPV1,2,3,4の発現量は、上記1 同様に、扁平上皮癌の方が有意に増加していることを確認した。

3 口腔がん細胞におけるルシフェラーゼアッセイでは、MAPキナーゼ経路が亢進しており、TRPV1,2,3,4のアゴニストが細胞増殖にはたらくことが明らかとなった。



4 口腔がん細胞においてTRPV1,2,3,4それぞれアゴニスト、アンタゴニストを添加し、カルシウムアッセイを行ったところ、アゴニストにより、チャネルが開いてカルシウムの取り込みが賦活化されていることが明らかとなった。われわれは、口腔扁平上皮癌でのTRPVの発現量の増加を明らかとした。これが細胞の『増殖』に働くのであれば外刺激の除去を、『アポトーシス』に働くのであれば刺激を与えることで、癌の治療に応用できる。つまりTRPVのアゴニストあるいはアンタゴニストが抗腫瘍薬として使用できる可能性がある。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------