

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11868

研究課題名（和文）口腔粘膜に蓄積する稀少ゲノム異常・エピゲノム異常の同定とリスクマーカーへの応用

研究課題名（英文）Identification of genetic and epigenetic abnormalities in oral mucosa

研究代表者

阿部 雅修（Abe, Masanobu）

東京大学・保健・健康推進本部・講師

研究者番号：10392333

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：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曝露されており、それによるジェネティックおよびエピジェネティック異常の蓄積が、口腔がんの素地を形成すると考えられている。本研究では、新規突然変異検出法を用いた口腔粘膜における発がんリスクを反映する稀少突然変異（ジェネティック異常）とDNAメチル化異常の蓄積（エピジェネティック異常）を探索・同定を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

最新の解析手法を用いて、がん化のリスクが高いと考えられる非がん口腔粘膜において、ジェネティックおよびエピジェネティック異常の同定を試みた。口腔がんの早期発見を可能にする異常の同定に成功すれば、口腔がんのリスクの高い人を見極めることが可能となり、がんの予防や早期発見に大きく貢献することが予測される。

研究成果の概要（英文）：Oral mucosa is affected various stimulation such as food, chemicals and so on. Thus, accumulation of genetic and epigenetic abnormalities is considered to be associated with occurrence of oral cancer. In this study, we tried to identify rare mutations and accumulation of DNA methylation.

研究分野：口腔腫瘍

キーワード：口腔がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔がんは、治療方法や臨床検査・診断技術の発展、基礎研究による学術的知識の蓄積にもかかわらず、明らかな生命予後の改善が得られていない(Mersh D et al., J Pathol 2011)。また、口腔を含めた顔面領域は、摂食や嚥下機能のみならず、対人関係の窓口として重要な役割を担っている。術後の機能的・審美的障害が患者の社会生活の質に与える影響は大きいため、がんの予防および早期発見とそれに直結するリスク診断法の確立が急務の課題である。発がんのリスク因子としては、タバコやアルコール、不適合補綴物、ヒトパピローマウイルスなどが知られている(Ivy F. L. Tsui et al, Am J Surg Pathol, 2009, J Mork, et al, N Engl J Med, 2001)。これらのリスク因子に絶えず曝露されることにより、ジェネティック異常やエピジェネティック異常が蓄積し、がんの素地(Field defect)が形成され则认为される(Ushijima T, BMC proc, 2013, Asada K, Gut, 2015)。

2. 研究の目的

本研究では、口腔粘膜における発がんリスクを反映する稀少突然変異の同定および口腔粘膜における発がんリスクを反映する DNA メチル化異常の同定することを目的とした。

3. 研究の方法

国立がん研究センター研究所エピゲノム解析分野の牛島博士と山下博士が開発した 10⁻⁶~10⁻⁴程度の稀少な突然変異を測定しうる方法(新規突然変異解析法)を用いて口腔がん患者の非がん粘膜に生じた稀少突然変異を探索・同定する。また、ゲノム網羅的 DNA メチル化解析法を用いて、非がん粘膜に蓄積する DNA メチル化異常を探索すると同時に、申請者が同定したがん化のリスクが高い口腔白板症において DNA メチル化異常によりサイレンシングされる 7 つの遺伝子について、定量的メチル化解析を行う。上記の解析結果を集約し、リスクマーカーとして有用な異常を抽出する。

4. 研究成果

口腔がん患者の非がん部口腔粘膜、および、非がん患者の口腔粘膜の組織を採取した。健常人の口腔粘膜に関しては、口腔がんや口腔前がん病変以外の疾患で東京大学医学部附属病院口腔顎顔面外科・矯正歯科を受診した患者のうち、同意が得られた者から、口腔粘膜の細胞(歯肉粘膜が多い)を採取した。口腔がん患者の非がん部粘膜は、口腔がんの手術と同時に採取した。

がん化のリスクが高い口腔白板症において DNA メチル化異常によりサイレンシングされることが知られている 7 つの遺伝子(*CMTM3*, *RBP4*, *NKX2-3*, *TSPYL5*, *CLDN11*, *TRPC4*, *MAP6*)について、MSP (Methylation - Specific PCR) 法によりメチル化解析を行った。口腔がん患者の非がん部口腔粘膜においては、プロモーター領域 CpG アイランドの異常メチル化を認めたら、非がん患者の口腔粘膜の組織においては、異常メチル化はほぼ認められなかった。

突然変異頻度は新規突然変異解析法を用いて解析を試みている。ゲノム DNA のコピー数を定量し、100 コピーの DNA をテンプレートにして、multiplex PCR により 291 領域、計 48,587 塩基について増幅、作製したライブラリについて Ion Proton および PI chip を用いて平均深度 10,000 でシーケンシングを行い、シーケンシングエラーの少ない領域の点突然変異を算出、理論値

1%の頻度を示す変異体の個数を算出するため、頻度 0.8%-10%を示す変異体の検索を行っている。頻度 0.8%以下はシーケンシングエラーの可能性があるため、また、頻度 10%以上は SNP の可能性があるため除外し、得られた変異体の個数から各サンプルの突然変異頻度を求める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 9件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Xiao H, Fu J, Abe M, Ji J, Zong L.	4. 巻 109(8)
2. 論文標題 Prognostic value of CpG island methylator phenotype in gastric cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 2623-2625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21147/j.issn.1000-9604.2017.06.14.	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 該当する
1. 著者名 Tan S, Chen P, Ji J, Guo S, Yu D, Asakawa T, Zhou Y, Abe M, Zong L.	4. 巻 2018:1368617
2. 論文標題 Genomic subtypes of GISTs for stratifying patient response to sunitinib following imatinib-resistance: a pooled-analysis and systematic review.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dis Markers	6. 最初と最後の頁 na
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2018/1368617	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 該当する
1. 著者名 Abe M, Zong L, Abe T, Takeshima H, Ji J, Ushijima K, Hoshi K.	4. 巻 30(6)
2. 論文標題 BRAF inhibitor: a novel therapy for ameloblastomas in the mandible.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chin J Cancer Res	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21147/j.issn.1000-9604.2018.06.12.	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 該当する
1. 著者名 Abe M, Watanabe K, Shinozaki-Ushiku A, Ushiku T, Abe T, Fujihara Y, Zong L, Wang CP, Inaki R, Kinoshita N, Yamashita S, Takai D, Ushijima K, Nagase T, Hoshi K.	4. 巻 19(1)
2. 論文標題 Identification of a metastatic lung adenocarcinoma of the palate mucosa through genetic and histopathological analysis: A rare case report and literature review.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-019-5277-1.	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 該当する

1. 著者名 Zhou Y, Hu W, Chen P, Abe M, Shi L, Song S, Tan S, Li Y, Zong L.	4. 巻 96(34)
2. 論文標題 Ki67 is a Biological Marker of Malignant Risk of Gastrointestinal Stromal Tumors: A Systemic Review and Meta-analysis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e7911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000007911.	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 該当する

1. 著者名 Zong L, Deng J, Wang J, Wu A, Wang J, Sun Z, Maeda M, Abe M, Wang W, Jiang Z, Seto Y and Ji J.	4. 巻 8(31)
2. 論文標題 Feasibility of Laparoscopic Gastrectomy for Elderly Gastric Cancer Patients: Meta-analysis of Non-Randomised Controlled Studies.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget8(31):51878-51887	6. 最初と最後の頁 51878-51887.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.16691.	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 該当する

1. 著者名 Inaki R, Abe M, Zong L, Abe T, Shinozaki-Ushiku A, Ushiku T and Hoshi K.	4. 巻 29(5)
2. 論文標題 Secretory Carcinoma - impact of translocation and gene fusions on salivary gland tumor -	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chin J Cancer Res	6. 最初と最後の頁 379-384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21147/j.issn.1000-9604.	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 Wang G, Guo S, Xiao H, Zong L, Asakawa T, Abe M, Hu W, Ji J.	4. 巻 29(6)
2. 論文標題 Remarkably Different Results between Remarkably different results between two studies from North America on genomic mutations and sensitivity to DNA demethylating agents for myelodysplastic Syndromes.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chin J Cancer Res	6. 最初と最後の頁 587-588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21147/j.issn.1000-9604.	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 該当する

1. 著者名 Abe M, Zong L, Abe T, Hoshi K.	4. 巻 80
2. 論文標題 A turning point in therapy for ameloblastomas.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 95-96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.	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

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 阿部雅修、安部貴大、西條英人、星和人
2. 発表標題 The association between genetic and epigenetic abnormalities in oral squamous cell carcinomas.
3. 学会等名 第63回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Abe M, Abe T, Mori Y, Hoshi K.
2. 発表標題 High-risk oral leukoplakia is associated with promoter methylation of multiple genes.
3. 学会等名 The 13th Asian Congress of Oral & Maxillofacial Surgery (ACOMS) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Abe M, Yamashita S, Abe T, Ushijima T, Hoshi K.
2. 発表標題 Methylation-silencing in high-risk oral leukoplakia.
3. 学会等名 The 11th AACR-JCA Joint Conference on breakthroughs in Cancer Research: Biology to Precision Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究 分担者	小笠原 徹 (Ogasawara Toru) (20359623)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	
研究 分担者	安部 貴大 (Abe Takahiro) (20383250)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	