

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10094

研究課題名(和文) PRMT5の口腔癌EMT機構における役割の解析

研究課題名(英文) Analysis of PRMT5 of epithelial-to-mesenchymal transition in oral cancer

研究代表者

天野 雄介 (Amano, Yusuke)

自治医科大学・医学部・学内准教授

研究者番号：70571587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、前研究課題にて、口腔扁平上皮癌(OSCC)標本を用いて、タンパク質アルギニンメチル基転移酵素(Protein arginine methyltransferases, PRMT)の一つであるPRMT5は、PRMT5の発現は上皮異形成の段階から正常組織に比して細胞質に増加し、PRMT5の局在変化に上皮間葉移行(EMT)が関与することを示唆した。PRMT5とEMT関連因子との更なる検討を免疫組織学的に検討した。その結果、紡錘状の形態を示すYK-4C症例では、PRMT5が強発現し、Slugとの発現増加を見出され、EMTにおける関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PRMT5の口腔癌EMT機構における役割において、Slugとの関連があることが明らかになった。また、別のPRMTファミリーであるPRMT1も口腔癌EMT機構における役割を担っていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We previously showed that the expression of PRMT5 was associated with EMT in OSCC specimen. In the present study, I immunohistochemically examined associations between the expression of EMT markers and PRMT5 in surgically resected OSCC (n=118). In the YK-4C cases, showing spindle cell pattern, PRMT5 and PRMT1, another arginine methyltransferase, were highly expressed in the nuclei and cytoplasm of the cancer cells. Slug was expressed in the nuclei of the cancer cells. Statistical analyses showed that high expressions of PRMT1 and PRMT5 were significantly associated with high expression of slug. These findings raise the interesting possibility that PRMTs might be regulated in a coordinated manner in aggressive cancer cells that undergo EMT.

研究分野：口腔病理学

キーワード：PRMT5 口腔癌 上皮間葉移行

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質アルギニンメチル基転移酵素(Protein arginine methyltransferases, PRMT)の一つである PRMT5 は、多種の癌で遺伝子・タンパクの発現が認められ、oncogenic な性格を有することが明らかになってきた。申請者は、前研究課題にて、口腔扁平上皮癌(OSCC)標本を用いて以下のことを明らかにし、論文発表した (Amano Y, et al. Pathol Int. 2018;68:359-366.)。

1) PRMT5 の発現は上皮異形成の段階から正常組織に比して細胞質に増加した。

2) OSCC の胞巣中心部では細胞質に発現していたが、浸潤先進部では細胞質から核と細胞質へ局在が変化した。さらに、浸潤先進部では、上皮系マーカー(E-cadherin, Cytokeratin17)が減弱し、間葉系マーカー(Vimentin)が増加したことから、PRMT5 の局在変化に上皮間葉移行(EMT)が関与することが示唆された。

上記の結果より PRMT5 と EMT 関連因子との更なる検討が、新たな研究課題と考えられた。

2. 研究の目的

前研究課題の結果で示唆された OSCC の浸潤先進部における PRMT5 と EMT 因子との関連を明らかにすることである。

3. 研究の方法

1)OSCC 切除標本上の PRMT5 と EMT 関連因子の免疫染色による発現解析

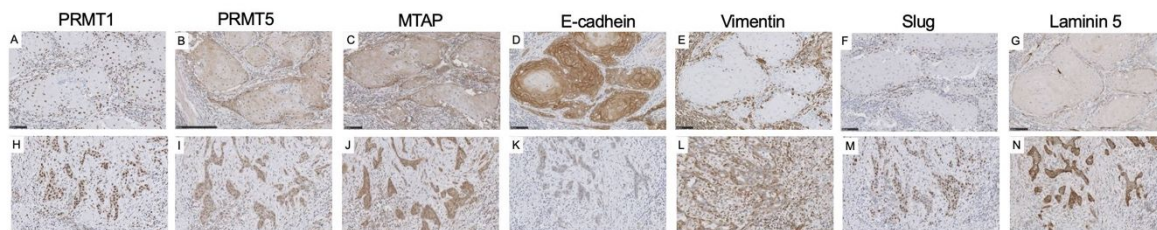
2010 年から 2015 年の間に、自治医科大学附属病院で術前治療なく外科的に切除された口腔上皮異形成(OED)7 症例、上皮内癌(CIS)16 症例、OSCC 118 症例を用いて、免疫組織化学的に PRMT5、他臓器で EMT との関連が報告されている PRMT1、予備検討で PRMT5 との相関が示唆された EMT 関連因子である Slug、PRMT の代謝に関連する Methylthioadenosine phosphorylase(MTAP)の発現と腫瘍先進部の形態分類である山本・小浜(YK)分類との相関も検討した。

2)細胞株を用いた PRMT5 の機能解析

研究室に所有している口腔癌細胞株(SAS, HSC4)にコントロールベクターと、供与を受けた PRMT5 のノックダウンベクターを siRNA を用いて導入し、変動する遺伝子を解析した。

4. 研究成果

1)OSCC 切除標本上の PRMT5 と EMT 関連因子の免疫染色による発現解析



腫瘍先進部が胞巣状の形態を示す YK-3 症例(上記図 A-G)と紡錘状の形態を示す YK-4C 症例(上記図 H-N)では PRMT1,5, MTAP, および EMT 関連因子の発現は異なっていた。詳細は以下の通りである。

YK-3 症例(A)と YK-4C 症例(H)の PRMT1 の発現は、いずれも核に発現していたが、後者がより強く染色されていた。

YK-3 症例(B)と YK-4C 症例(I)の PRMT5 の発現は、前者は細胞質に陽性であったが、後者がより強く細胞質と核に染色されていた。

YK-3 症例(C)と YK-4C 症例(J)の MTAP の発現は、前者は細胞質に陽性であったが、後者がより強く細胞質と核に染色されていた。

YK-3 症例(D)と YK-4C 症例(K)の E-cadherin の発現は、いずれも細胞膜に陽性であったが、後者がより強く染色されていた。

YK-3 症例(E)と YK-4C 症例(L)の Vimentin の発現は、前者は腫瘍細胞に陰性であったが、後者は細胞質に陽性であった。

YK-3 症例(F)と YK-4C 症例(M)の Slug の発現は、前者は腫瘍細胞に陰性であったが、後者は細胞質に陽性であった。

YK-3 症例(G)と YK-4C 症例(N)の Laminin5 の発現は、前者は腫瘍細胞に陰性であったが、後者は細胞質に陽性であった。

2)細胞株を用いた PRMT5 の機能解析

いくつかの候補遺伝子を抽出し、機能別に整理してさらに解析する予定である。

まとめ

PRMT5 のみならず PRMT1 においても紡錘状の形態を示す YK-4C 症例では、強発現し、Slug との発

現増加を見出し、EMT における関与が示唆された。機能解析によって得られた候補遺伝子を含めて、より詳細に検討する予定である。
上記の内容を、**Pathology** 誌に報告した (Amano Y et al. 2022;54:294-301.)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kihara A, Amano Y, Matsubara D, Fukushima N, Fujiwara H, Niki T.	4. 巻 116
2. 論文標題 Infrequent loss of SMARCA4, SMARCA2, and SMARCB1 expression in uterine mesenchymal tumors.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hum Pathol.	6. 最初と最後の頁 12-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.humpath.2021.07.001.	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 -
1. 著者名 Amano Y, Tsuji K, Kihara A, Matsubara D, Fukushima N, Nishino H, Niki T.	4. 巻 100
2. 論文標題 Solitary adrenal metastasis from salivary duct carcinoma of the parotid gland successfully treated by surgery: A case report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e24011
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MD.0000000000024011.	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 Amano Y, Matsubara D, Kihara A, Nishino H, Mori Y, Niki T.	4. 巻 54
2. 論文標題 Expression and localisation of methylthioadenosine phosphorylase (MTAP) in oral squamous cell carcinoma and their significance in epithelial-to-mesenchymal transition.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathology	6. 最初と最後の頁 294-301
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pathol.2021.05.101.	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 Amano Yusuke, Tsuji Kentaro, Kihara Atshushi, Matsubara Daisuke, Fukushima Noriyoshi, Nishino Hiroshi, Niki Toshiro	4. 巻 100
2. 論文標題 Solitary adrenal metastasis from salivary duct carcinoma of the parotid gland successfully treated by surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e24011 ~ e24011
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MD.0000000000024011	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 -

1. 著者名 Kihara Atsushi, Amano Yusuke, Matsubara Daisuke, Fukushima Noriyoshi, Fujiwara Hiroyuki, Niki Toshiro	4. 巻 44
2. 論文標題 BRG1, INI1, and ARID1B Deficiency in Endometrial Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1712 ~ 1724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001581	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 -

1. 著者名 Amano Yusuke, Sakaguchi-Tamba Mio, Sasaki Yumiko, Oshiro Hisashi, Fukushima Noriyoshi, Fujita Takashi, Masuda Shinobu, Niki Toshiro	4. 巻 99
2. 論文標題 Adenomyoepithelioma with a human epidermal growth factor receptor 2-fluorescence in situ hybridization-confirmed ductal carcinoma in situ component	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e22665 ~ e22665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000022665	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 -

1. 著者名 Kihara Atsushi, Takahashi Kazuya, Ishikawa Ayataka, Amano Yusuke, Matsubara Daisuke, Kanda Hiroaki, Sata Naohiro, Fukushima Noriyoshi, Niki Toshiro	4. 巻 53
2. 論文標題 Desmoplastic small round cell tumor showing solid proliferation with limited desmoplasia and confusing immunohistochemical findings: an autopsy report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 177 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-019-00242-5	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 -

1. 著者名 Matsubara Daisuke, Yoshimoto Taichiro, Soda Manabu, Amano Yusuke, Kihara Atsushi, Funaki Toko, Ito Takeshi, Sakuma Yuji, Shibano Tomoki, Endo Shunsuke, Hagiwara Koichi, Ishikawa Shumpei, Fukayama Masashi, Murakami Yoshinori, Mano Hiroyuki, Niki Toshiro	4. 巻 111
2. 論文標題 Reciprocal expression of trefoil factor 1 and thyroid transcription factor 1 in lung adenocarcinomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2183 ~ 2195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14403	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Ishihara A, Hatakeyama S, Suzuki J, Amano Y, Sasahara T, Toshima M, Morisawa Y.	4. 巻 19(1)
2. 論文標題 Histological evidence for the cardiac safety of high-dose pegylated liposomal doxorubicin in a patient with HIV-associated Kaposi sarcoma: a case report and literature review.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Infect Dis.	6. 最初と最後の頁 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12879-019-4500-7.	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 Ozawa T, Tanaka R, Nagaoka R, Anan Y, Kim Y, Matsuzono K, Mashiko T, Koide R, Shimazaki H, Ohtani K, Amano Y, Kawai K, Fujimoto S.	4. 巻 11;27
2. 論文標題 Data on characteristics of reported cases of unilateral posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Data Brief.	6. 最初と最後の頁 104648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dib.2019.104648.	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 -

1. 著者名 Kihara A, Amano Y, Yoshimoto T, Matsubara D, Fukushima N, Fujiwara H, Niki T.	4. 巻 43(11)
2. 論文標題 Stromal p16 Expression Helps Distinguish Atypical Polypoid Adenomyoma From Myoinvasive Endometrioid Carcinoma of the Uterus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol.	6. 最初と最後の頁 1526-1535.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001320.	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 -

1. 著者名 Yoshimoto T, Matsubara D, Soda M, Ueno T, Amano Y, Kihara A, Sakatani T, Nakano T, Shibano T, Endo S, Hagiwara K, Fukayama M, Denda-Nagai K, Irimura T, Mano H, Niki T.	4. 巻 110(9)
2. 論文標題 Mucin 21 is a key molecule involved in the incohesive growth pattern in lung adenocarcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 3006-3011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14129.	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 Noguchi T, Sugiura Y, Okada N, Tsuchiya Y, Hyasaka JI, Sasaguri KI, Sarukawa S, Fujita A, Amano Y, Mori Y.	4. 巻 13(1)
2. 論文標題 A modified preauricular and transmandibular approach for surgical management of osteosarcoma of the mandibular condyle within the masticator space and infratemporal fossa: a case report.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Med Case Rep.	6. 最初と最後の頁 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13256-019-1975-1.	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 -

1. 著者名 天野雄介, 鈴木智子, 大城久, 松原大祐, 福嶋敬宜, 森良之, 仁木利郎	4. 巻 Vol.14 No.2
2. 論文標題 総説 口腔領域の細胞診	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床検査栃木	6. 最初と最後の頁 133-138
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 天野雄介, 木原淳, 長谷川雅世, 三浦珠希, 松原大祐, 福嶋 敬宜, 仁木利郎
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌における腫瘍間質の組織学的評価
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天野雄介, 松原大祐, 木原淳, 吉本多一郎, 仁木利郎
2. 発表標題 The role of hippo pathway protein expression in oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天野雄介, 松原大祐, 木原淳, 仁木利郎
2. 発表標題 The role of MTAP expression in oral cancer
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 天野雄介, 木原淳, 松原大祐, 森良之, 西野宏, 仁木利郎
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌における腫瘍間質の組織学的評価
3. 学会等名 第44回頭頸部癌学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 天野雄介, 松原大祐, 木原淳, 吉本多一郎, 仁木利郎
2. 発表標題 Expressions of YAP and phospho-YAP (S127) in oral cancer
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天野雄介, 松原大祐, 木原淳, 吉本多一郎, 仁木利郎
2. 発表標題 The role of YAP expression in oral cancer
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木原淳, 天野雄介, 吉本多一郎, 松原大祐, 福嶋敬宜, 仁木利郎
2. 発表標題 Atypical polypoid adenomyoma の間質成分の免疫組織化学的検討
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田恵理子, 鈴木智子, 中村香織, 織田智博, 二階堂貴章, 郡 俊勝, 柳田美樹, 吉本多一郎, 天野雄介, 福嶋敬宜
2. 発表標題 術前に腭液細胞診でセロトニン産生神経内分泌腫瘍と診断し得た1例
3. 学会等名 第60回日本臨床細胞学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村香織, 天野雄介, 織田智博, 鈴木智子, 柳田美樹, 郡 俊勝, 池田恵理子, 大城 久, 仁木利郎, 福嶋敬宜
2. 発表標題 腭の EUS-FNA で経験した悪性リンパ腫 3 例の細胞像
3. 学会等名 第60回日本臨床細胞学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

自治医科大学病理学講座統合病理学部門
<http://www.jichi.ac.jp/pathol/>

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
---------	---------