

令和 4 年 4 月 18 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10269

研究課題名（和文）ヘミデスモソーム構造の解離と再構築に着眼したの口腔癌浸潤機構の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanism of oral cancer invasion focusing on hemidesmosome structure

研究代表者

安河内 篤（Yasukochi, Atsushi）

九州大学・歯学研究院・共同研究員

研究者番号：30724968

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）：ヘミデスモソーム構成因子のひとつであるBP180は、ヒトの自己免疫疾患である水疱性類天疱瘡（BP: Bullous Pemphigoid）の主要な抗原のひとつとして知られている。本研究課題では、BP180が仲立ちする類天疱瘡と口腔癌発症の関連性について注視してきた。これまでに、各種ヘミデスモソーム構成因子が皮膚の創傷治癒や癌進展に関わっていることが証明されているものの、BP180については、その発現制御機構や癌の病態における役割は未解明のままである。そこで、本研究課題では、BP180の発現制御機構を解明することで、口腔癌浸潤におけるBP180の役割を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題は「口腔癌進展におけるBP180の存在意義を明らかにすること」を目的として遂行された。正常および癌におけるBP180発現制御機構の解明とそれらの異同、また、癌組織におけるヘミデスモソーム非局在型BP180局在の実証とその機能解析を行うことで、BP180が制御する口腔癌の浸潤機構を新たに提示した。本研究成果によって、BP180が細胞運動調節に関与していることが証明されたことは、癌浸潤のみならず、ヘミデスモソームの解離が病態の主体である類天疱瘡や創傷治癒機転の解明にもつながり、様々な疾患に対する新たな治療標的を提示することに繋がった。

研究成果の概要（英文）：BP180 is one of the hemidesmosome constituents, and it is also known as one of the major antigens of bullous pemphigoid (BP), which is an autoimmune disease. Although various hemidesmosome constituents have been shown to be involved in skin wound healing and cancer progression, the role of BP180 in the pathophysiology of cancer remains unclear. In this research project, the role of BP180 in oral cancer infiltration was clarified by elucidating the mechanism of expression control of BP180.

研究分野：口腔外科

キーワード：ヘミデスモソーム BP180 浸潤 口腔癌

1. 研究開始当初の背景

がんの遠隔転移は複数の過程を経て成立するが、その最初のステップは細胞外マトリックスの破壊に始まる。特に、細胞外マトリックスの一形態である基底膜は、がん細胞浸潤の物理的障壁となっている。実際に、近年の報告によって、癌の浸潤・転移などの細胞運動時に、ヘミデスマソーム構造の解離や再構築が起きていることがわかっている。ヘミデスマソームは中間径線維の付着する細胞・基質間の接着装置であり、皮膚や口腔粘膜など、他の上皮に比べて比較的厳しい外的環境に晒される部位に発達し、上皮と基底膜とを接着している。これまでに主要なヘミデスマソーム構成因子として、分子量の大きなものからプレクチン、BP230 (BPAG1)、インテグリン 4 サブユニット、BP180 (180 kDa bullous pemphigoid antigen, collagen XVII)、インテグリン 6 サブユニットの5種類のタンパク質が同定されている(図1)。なかでも、BP180は、その名前が示すように、水疱性類天疱瘡 (BP: Bullous Pemphigoid) の主要な抗原のひとつとして知られている。類天疱瘡は、ヘミデスマソームを構成する分子(図1)に対する自己抗体(抗基底膜部抗体)が生じることにより表皮下水疱を生じる自己免疫性水疱症疾患である。

研究代表者は、現在までに、免疫学および分子生物学的手法により、水疱性類天疱瘡と粘膜類天疱瘡の病態解明と自己抗体標的抗原の抗体認識部位の同定を行ってきた。それらの解析の中で実際に、類天疱瘡患者に併発した歯肉癌を十数例観察する機会を得たことをキッカケとして、研究代表者は【類天疱瘡における基底膜構造の解離様式が、癌浸潤でみられる様式と類似している】ことに気付き、口腔癌におけるBP180の局在とその存在意義、さらには、類天疱瘡と口腔癌発症の関連性について注視してきた。これまでに、ヘミデスマソーム

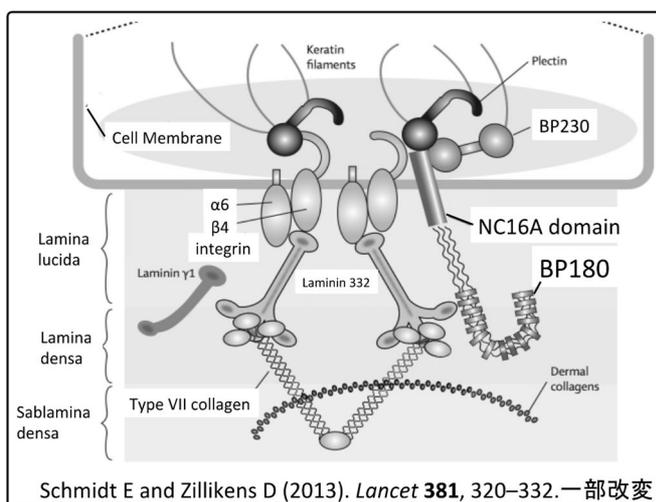


図1. 表皮真皮間結合を構成する分子群

構成因子のうち、プレクチン、BP230、インテグリン 6 4 については、皮膚の創傷治癒や各種がん進展における役割が証明されている。また、BP180は、口腔がんを含め様々な癌種において、その発現制御に異常が生じていることが報告されている。しかしながら、正常組織におけるBP180の発現制御機構のみならず、癌組織でのBP180発現制御機構についても未解明のままであり、本タンパク質は癌浸潤に関わる因子であると想定されているにも関わらず、癌治療のターゲットとしての候補因子として考えられていない。なお、乳がんにおいて、BP180が癌抑制因子であるp53依存性に発現することが報告されているが、p53は口腔癌を含む多くのがん種で欠失または変異をきたしていることから、すべてのがんでp53による発現制御が起きているとは考えにくい。そこで、本研究課題では、「口腔癌浸潤機構におけるBP180の役割とは何か?」という問いに対して、生化学、分子生物学、病理学的手法を用いたアプローチを行うことに至った。

2. 研究の目的

上述の背景から、本研究課題は「口腔癌進展におけるBP180の存在意義を明らかにすること」を目的として遂行された。正常および癌におけるBP180発現制御機構の解明とそれらの異同、また、癌組織におけるヘミデスマソーム非局在型BP180局在の実証とその機能解析を行うことで、BP180が制御する口腔癌の浸潤機構を新たに提示することが可能と考えた。また、本研究によって、BP180が細胞運動調節に関与していることが証明されれば、癌浸潤のみならず、ヘミデスマソームの解離が病態の主体である類天疱瘡や創傷治癒機転の解明にもつながり、様々な疾患に対する新たな治療標的の提示が可能にする。

3 . 研究の方法

近年、BP180 の発現が、ヒト癌細胞において腫瘍抑制因子である p53 依存的に発現誘導されることが報告されたが、p53 は様々な癌で欠失あるいは変異している場合が多い。そのため、本研究では、口腔扁平上皮癌 (OSCC; Oral squamous cell carcinoma) に発現する BP180 に焦点を当て、OSCC での BP180 の発現が p53 以外の要因で制御されている可能性を非コード RNA に着目して検討した。

まず、舌癌 (NA, SAS) および歯肉癌 (Ca9-22, Sa3) の 4 種の OSCC 細胞株を用いて、TP53 遺伝子の変異解析を行った。続いて、BP180 の発現解析は、qPCR、イムノプロット、ルシフェラーアッセイ、および免疫組織学的解析を用いた。

解析の結果、BP180 は、使用したすべての OSCC 細胞株 (NA, SAS, Ca9-22, Sa3) において、p53 の状態に依存せず、マイクロ RNA である miR203a-3p によって調節されていることが確認された。また、DNA 結合ドメインに変異をもつ Ca9-22 および Sa3 においては p53 の活性化と BP180 発現量との相関は得られなかった。これらのことから、p53 機能の欠失を特徴とする癌細胞では、p53 のみならず、miR203a-3p による BP180 の発現制御が行われている可能性が示唆された。

4 . 研究成果

近年、ヘミデスモソーム構成タンパク質が、接着分子としてのみではなく、細胞の運動や癌の浸潤・転移に関与している可能性が示唆されている。例えば、BP230 が扁平上皮癌において発現亢進していることが報告されているが、その分子基盤については未だ証明されていない。特に、本研究で着目してきた BP180 については、水疱性類天疱瘡の主要抗原であるという認識が強く、その他の病態における機能解析は、他のヘミデスモソーム構成タンパク質と比べても非常に遅れている。現在までに、癌における BP180 の解析について、組織学的解析を行うにとどめた報告は多数あるものの、分子レベルでの機能解析はなされていない。例えば、扁平上皮癌細胞を培養条件下で TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) 刺激することでヘミデスモソームの再編成が生じ、その際に BP180 のセリン残基がリン酸化されていることが示された報告もあるが、このことが、癌の病態にどのように関わっているのかは不明である。病態解明に結びつく BP180 の機能解析の進捗が滞っている理由に、BP180 のリガンドが同定されていないことや、BP180 の発現制御機構が解明されていないことが挙げられる。

そのような状況の下、本研究によって、BP180 発現制御機構が解明されたことは、口腔癌や類天疱瘡の臨床研究に貢献するのみならず、ヘミデスモソーム研究の進展に大きく寄与するものと考えられる。なお、細胞運動や癌の浸潤・転移の際の BP180 のリガンドについては、未だ不明であることから、リガンドの同定は、今後の課題となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kawakubo-Yasukochi T, Yano E, Kimura S, Nishinakagawa T, Mizokami A, Hayashi Y, Hatakeyama Y, Ohe K, Yasukochi A, Nakamura S, Jimi E, Hirata M.	4. 巻 54
2. 論文標題 Hepatic glycogenolysis is determined by maternal high-calorie diet via methylation of PygI and this is modified by osteocalcin administration in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Metab	6. 最初と最後の頁 101360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.molmet.2021.101360	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 Yasukochi Atsushi, Kawakubo-Yasukochi Tomoyo, Morioka Masahiko, Hazekawa Mai, Nishinakagawa Takuya, Ono Kazuhiko, Nakashima Manabu, Nakamura Seiji	4. 巻 166
2. 論文標題 Regulation of collagen type XVII expression by miR203a-3p in oral squamous cell carcinoma cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 163 ~ 173
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jb/mvz024	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 Kawakubo-Yasukochi Tomoyo, Morioka Masahiko, Ohe Kenji, Yasukochi Atsushi, Ozaki Yasuhiko, Hazekawa Mai, Nishinakagawa Takuya, Ono Kazuhiko, Nakamura Seiji, Nakashima Manabu	4. 巻 10
2. 論文標題 Maternal folic acid depletion during early pregnancy increases sensitivity to squamous tumor formation in the offspring in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Developmental Origins of Health and Disease	6. 最初と最後の頁 683 ~ 691
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1017/S2040174419000217	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5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kawakubo-Yasukochi T, Yano E, Kimura S, Mizokami A, Hayashi Y, Yasukochi A, Nakamura S, Jimi E, Hirata M.
2. 発表標題 Maternal high calorie diet during pregnancy induces abnormal hepatic glycogenolysis in the offspring and it is mitigated by osteocalcin
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安河内 篤、安河内(川久保)友世、中村 誠司
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるBP180の発現制御機構
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安河内(川久保)友世、森岡政彦、櫛川舞、西中川拓也、安河内篤、中村誠司、中島学
2. 発表標題 miR-200c-3pによる口腔扁平上皮癌の浸潤制御機構
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安河内(川久保)友世、森岡政彦、安河内篤、櫛川舞、西中川拓也、中村誠司、中島学
2. 発表標題 妊娠母体の葉酸不足は仔の皮膚および舌において扁平上皮の発癌感受性を増強させる
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawakubo-Yasukochi T, Morioka M, Yasukochi A, Hazekawa M, Nishinakagawa T, Ono K, Nakamura S, Nakashima M
2. 発表標題 The effect of maternal folic acid deficiency during early pregnancy on the carcinogen sensitivity of offspring in mice
3. 学会等名 The 11th DOHaD World Congress (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
--	---------------------------	-----------------------	----

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