

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592155

研究課題名（和文） プロテオーム解析を応用した口腔扁平苔癬の病態分子の解明

研究課題名（英文） Elucidation of the disease molecules in oral lichen planus using proteome analysis.

研究代表者

小宮山 一雄 (KOMIYAMA KAZUO)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：00120452

研究成果の概要（和文）：

口腔粘膜の難治性病変である口腔扁平苔癬の病態を明らかにする為に、ホルマリン固定パラフィン包埋組織から、LC-MS/MS による解析をおこなった。病変のない口腔粘膜、扁平苔癬組織、上皮異形成および上皮内癌の比較プロテオミクスとプロファイリングを行い検討した。その結果、口腔扁平苔癬で特徴的変動を示した 92 種のタンパクの同定に成功した。これらのタンパクのうち、上皮角化状態の指標となる cytokeratin13 と 17 について、口腔扁平苔癬、上皮内癌、浸潤癌の各組織で比較したところ、その分布パターンに大きな違いが見られ、これらの病変の診断に有意であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：To clarify the disease status of an intractable lesion of oral mucosa, such as oral lichen planus, we have employed the LC-MS/MS analysis. 92 proteins of specific for the oral lichen planus have detected. The data compared with epithelial dysplasia, carcinoma in situ and carcinoma of oral mucosa. We have found different expression pattern of cytokeratins, which is decreased CK13 expression in the oral lichen planus and carcinoma in situ as well as disappearance in the invasive carcinoma. However, CK17 expression increased in a course of progression of the epithelial dysplasia and atypia. This contradict expression pattern of CK is usefulness for the differential diagnosis in these malignant borderline lesions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,050,000	4,650,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：口腔扁平苔癬、プロテオーム解析、Cytokeratin 13、Cytokeratin 17

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平苔癬 (OLP) は、難治性のアレルギー性病変で、未だ原因が未だ明らかでなく解明すべき多くの問題が越されている。

近年、口腔癌への移行が注目され、癌化のハイリスクな病変の 1 つに挙げられている。現在までに多くの症例の報告があるが、我が国においては本病変の発生頻度、予後な

ど病態の実態も明らかにされておらず、治療も対症療法が行われるにすぎない。加えて、我々は、OLP と同様な組織所見を示す、口腔粘膜 DTH モデルマウスを開発し、その病態とサイトカイン、ケモカイン役割を検討し、また、asialoGM1 抗体による治療研究を行ってきた。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト OLP の病変に特徴的な Th1 病巣成立に関与する、あるいは樹状細胞 (DC) の制御に関与するタンパクを網羅的に解析し、本病変に特異的なタンパクの検出を行なう。これにより、OLP 発症メカニズムの解明、および診断の特異的マーカーの開発に応用することを目的とする。

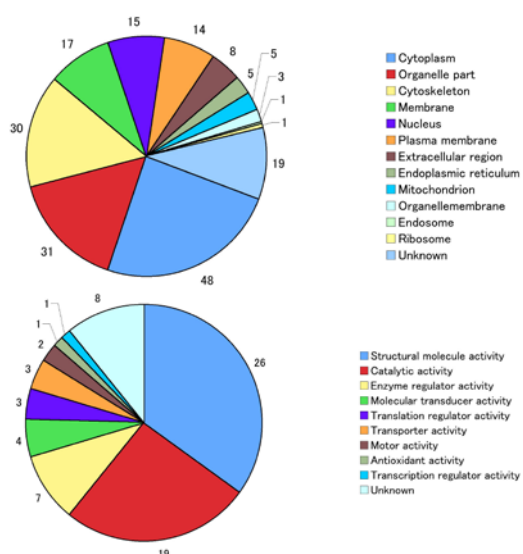
3. 研究の方法

臨床的・病理組織学的に扁平苔癬と診断された症例と、病変のない口腔粘膜組織のホルマリン固定・パラフィン包埋標本から、レーザーマイクロダイセクション法によりターゲット組織を分取し、特製の組織抽出液中でトリプシン処理を行った。組織消化液を簡易型逆相カラムで精製し、LC-MS/MS の試料とした。得られたマススペクトルについて Mascot Search (Matrix Science 社) によるアルゴリズム解析を行い、組織溶解液中に含まれるタンパク質を同定した。さらに病変のない口腔粘膜、扁平苔癬組織、上皮異形成および上皮内癌の比較プロテオミクスとプロファイリングを行うために、Mascot Search で得られたデータを、Scaffold 3 (Matrix Science 社) により検討した。

4. 研究成果

LC-MS/MS により、正常口腔粘膜組織と扁平苔癬組織からそれぞれ 92 種類のタンパク質を同定し得た。これらのうち 30 種類は細胞骨格タンパク、17 種類は膜結合型タンパクであった。

Control:



Scaffold 3 による比較プロテオミクスの結果、Cytokeratin (CK) 13 および 17 の発現量に特徴的な変化を認めた。つまり、口腔扁平苔癬の上皮の異型の増加、あるいは上皮異型の進展に伴う悪性化に従い、CK13 の消失、CK17 の増加がみられた。これらのタンパク発現の変化はヒト病巣の免疫染色による検証の結果、同様の現症が確認された。

現在、HSP を始めとするシグナルタンパクや、Th1 病巣成立に関与するあるいは DC の制御に関与するタンパクについても、同様にプロテオミクスデータを基に解析中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① 小宮山一雄. 【病理形態学キーワード】 頭頸部 白斑と白板. 病理と臨床. 査読無, Vol.28 臨時増刊号, 2010, pp.18-19
- ② Mukae S, Okazaki Y, Tsuda H, Nagai K, Matsumoto N, Ochiai T, Oki H, Komiyama K. Detection of fascin and CCR7 positive mature dendritic cells in oral lichen planus. J Oral Path & Med. 査読有, Vol.38, No.4, 2009, pp.334-342
- ③ 迎章太郎, 岡崎泰尋, 津田宏尚, 金子泰英, 澤田昭仁, 長井幸一, 荒井秀次, 落合豊子, 小宮山一雄. 口腔粘膜遅延型アレルギー反応における成熟型樹枝状細胞の検出. 日大歯学. 査読有, Vol.83, No.1, 2009, pp.13-18
- ④ 小宮山一雄, 落合豊子. 【口腔粘膜病変の臨床と病理】 口腔扁平苔癬と苔癬様口内炎. 病理と臨床. 査読無, Vol.26, No.6, 2008, pp.573-583

[学会発表] (計 10 件)

- ① 小宮山一雄. 口腔がん境界病変の臨床像と病理組織像 早期診断・治療のために. 東京都歯科医師会講習会. 2011.01, 東京都
- ② Kazuo Komiyama, Naoyuki Matsumoto, Koichi Nagai, Hidero Oki. Differential Proteomics defined Keratin-13 and -17 in oral malignancy. 10th Biennial Conference of EAOM Incorporating The World Workshop on Oral Medicine. 2010.09.21, United Kingdom
- ③ Kazuo Komiyama, Naoyuki Matsumoto, Shotaro Mukae, Mariko Esumi. Application of proteomics analysis of formalin fixed paraffin embedded oral lichen planus tissue. 15th

International congress on Oral Pathology and Medicine, 73rd Annual Meeting Korean Academy of Oral & Maxillofacial Pathology. 2010 08 16, Korea

- ④長井幸一, 松本直行, 西村叔枝, 澤田昭仁, 小宮山一雄. LC-MS/MS による口腔粘膜腫瘍性病変のタンパク質プロファイルの解析. 第 99 回日本病理学会総会・学術大会, 2010 04 27, 京王プラザホテル, 東京
- ⑤山下雅子, 神部芳則, 伊藤弘人, 野口忠秀, 草間幹夫, 松本直行, 小宮山一雄. 口腔扁平苔癬として経過観察中に扁平上皮癌の発生をみた 3 例. 第 19 回日本口腔粘膜学会学術大会. 2009 06 05, ロフォス湘南, 神奈川
- ⑥迎章太郎, 荒井秀次, 大木秀郎, 小宮山一雄. 口腔粘膜遅延型過敏症モデルマウスにおける樹枝状細胞の検出. 第 63 回日本口腔科学会学術集会. 2009 04 16, アクトシティ浜松, 静岡県
- ⑦Komiyama K. Histopathological feature of oral lichen planus. 20th Annual Meeting of the Japanese Society of Oral Pathology. 2009 08 01, ロイトン札幌, 北海道
- ⑧Komiyama K. Histopathological Diagnosis of Borderline Malignancy of the Oral Mucosa. Interactive Seminar on Oral Mucosal Lesion, Gothenburg University. 2009 03 24, Sweden
- ⑨迎章太郎, 松本直行, 齋藤康行, 神部芳則, 大木秀郎, 米原啓介, 草間幹夫, 小宮山一雄. Oral lichen planus 病巣における mature dendritic cell の検出. 第 18 回日本口腔粘膜学会総会・学術集会. 2008 09 19, 日本大学会館, 東京都
- ⑩松本直行, 迎章太郎, 天野雄介, 尾曲大輔, 荒井秀次, 大久保光朗, 齋藤康行, 大場育弘, 生木俊輔, 西村敏, 田中孝佳, 石井輝彦, 岩成進吉, 三宅正彦, 清水治, 米原啓之, 大木秀郎, 小宮山一雄. プロテオーム解析を利用した口腔粘膜癌境界病変の分子診断マーカーの検討. 第 60 回日本大学歯学会, 2008 05 17, 日本大学歯学部, 東京都

[図書] (計 1 件)

- ① Komiyama K, Maeda H, International Academic Printing Co. Ltd., Approaches to Correct Diagnosis of the Oral Lichen Planus -Concept of Clinical Status and Histopathology-. Supplement of 20th Annual Meeting of the Japanese Society of Oral Pathology 2009 1-49

[産業財産権]
○出願状況 (計 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計◇件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小宮山 一雄 (KOMIYAMA KAZUO)
日本大学・歯学部・教授
研究者番号 : 00120452

(2) 研究分担者

()
研究者番号 :

(3) 連携研究者

江角 真理子 (ESUMI MARIKO)
日本大学・医学部・准教授
研究者番号 : 30167291

安孫子 宜光 (ABIKO MUNEMITU)
日本大学・松戸歯学部・教授
研究者番号 : 70050086

迎 章太郎 (MUKAE SHOTARO)
日本大学・歯学部・専修医
研究者番号 : 70553105