

平成23年 5月20日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20791337

研究課題名 (和文) 口腔扁平上皮癌における染色体1p36領域の新規癌抑制遺伝子の同定

研究課題名 (英文) Identification of a novel tumor suppressor gene at 1p36 chromosomal region in oral squamous cell carcinomas.

研究代表者

玉村 亮 (TAMAMURA RYO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：00403494

研究成果の概要 (和文)：

口腔扁平上皮癌について、ヘテロ接合性消失 (LOH) 解析を行った結果、染色体1p36の3つの領域に高率にLOHが認められ、本染色体領域に口腔扁平上皮癌発生に関わる新規癌抑制遺伝子が存在する可能性が考えられた。その中でも最も高率にLOHが認められた領域に存在するRIZ遺伝子に焦点を絞り詳細な解析を行った結果、RIZ遺伝子の遺伝子多型が口腔扁平上皮癌の病態に關与する可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

To investigate the presence of tumor suppressor gene (TSG) at 1p36 chromosomal region, I have analyzed loss of heterozygosity (LOH) in oral squamous cell carcinoma (OSCC). As a result of this study three frequently deleted regions that harbor some potential TSG involved in OSCC carcinogenesis were identified. I focused on RIZ gene which existed in the most highest deletion region, and have done genetic analysis. Two polymorphisms of RIZ gene have been found in OSCC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：口腔病理学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：癌抑制遺伝子、扁平上皮癌、口腔癌、LOH解析

1. 研究開始当初の背景

癌は複数の癌関連遺伝子に生じた多段階的な遺伝子異常が蓄積した結果生じる。さらに悪性化に伴い転移を含む憎悪の段階を通じて

さらなる遺伝子の変化を獲得することが知られる。特に癌抑制遺伝子は細胞増殖を抑制する機能を持つ遺伝子であり、その遺伝子の欠失または不活性化により細胞の癌化と深く関

与している。

ヘテロ接合性の消失 (Loss of heterozygosity, LOH) 解析は癌研究における新規癌抑制遺伝子を同定する優れた研究手法である。癌抑制遺伝子の不活化メカニズムに遺伝子欠失があるが、LOH解析では相同染色体の一方の遺伝子の欠失を検索するものである。癌細胞におけるLOHを解析することにより、欠失部位において癌化に関連する癌抑制遺伝子の存在が示唆される。

染色体1p36領域においては脳腫瘍、肝癌、肺癌、乳癌、前立腺癌、大腸癌などで癌抑制遺伝子の存在が疑われ、いくつかの報告がみられる。(Okawa ER, Oncogene, 2007, Zhang YW, Oncogene, 2007, Yanada M, Oncol Rep, 2005) しかしながら本染色体領域における口腔癌における報告は少なく、癌抑制遺伝子p73についての報告が2つみられるのみである。

(Araki D, Int J Oncol, 2002, Adel K. El-Naggar, Carcinogenesis, 2001)

2. 研究の目的

本研究では、口腔扁平上皮癌における染色体1p36領域の新規癌抑制遺伝子の同定および機能解析を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 1p36領域におけるヘテロ接合性消失 (LOH) の解析

①口腔扁平上皮癌の材料収集

岡山大学病院病理部 (口腔病理部門)、岡山大学腫瘍バンクに保存されている新鮮組織 (腫瘍組織と正常組織) を用いた。

②ヘテロ接合性消失 (LOH) の解析

新鮮材料からDNAを抽出後、1p36領域特異的な9種類のマイクロサテライトマーカーを用い

PCRを行った。PCR反応後、8%Poly acrylamide gel電気泳動を行い、銀染色にてDNAを検出、腫瘍組織の相同染色体 (ヘテロ接合) の2本のDNAバンドのうち、1本において、正常組織のDNAバンドに比してバンド強度が50%以下の場合をLOHケースとして計測した。

③候補遺伝子の絞り込み

高いLOHのみられた領域について、gene mapにより候補遺伝子の絞り込みを行った。

(2) RIZ遺伝子の遺伝子解析

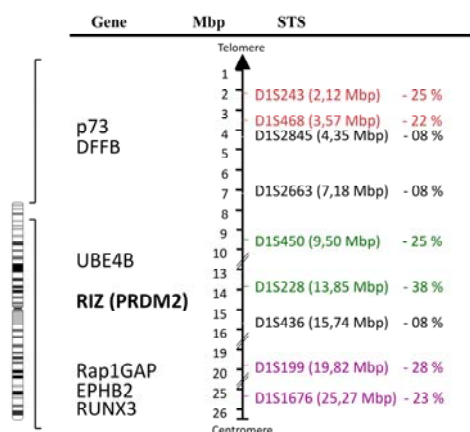
SDS/ProK処理後、フェノール/クロロホルムにてゲノムDNAを抽出、mutationのhot spotであるpoly(A)8 track, poly(A)9 trackをターゲットとしたPCRを行い、Big Dye R terminator sequencing kitで標識後、シーケンサー (ABI prism 3100 R) にて遺伝子変異の検索を行った。同時にRIZ遺伝子の遺伝子多型についても検索した。

4. 研究成果

(1) ヘテロ接合性消失 (LOH) の解析

口腔扁平上皮癌27症例についてヘテロ接合性の消失解析 (LOH解析) を行った結果、3つの領域 (region1-3) において、高率 (約22-38%) にLOHが認められた。このことから、本染色体領域において口腔扁平上皮癌発生に関わる新規癌抑制遺伝子が存在する可能性が考えられた。

口腔扁平上皮癌 1p36 領域における LOH 解析結果と gene map



さらに詳細な検討を行った結果、region2では1つのマイクロサテライトマーカーに局限したLOHが認められたため本領域に存在する癌抑制遺伝子が癌化の初期に関与することが示唆された。また、region3では複数のマイクロサテライトマーカーに渡る広範なLOHが認められた。すなわち複数の癌抑制遺伝子変異が関与していると考えられ、本領域に存在する癌抑制遺伝子が癌化の後期に関与する可能性が示唆された。また、gene mappingからregion1にはDFFB、p73、region2にはRIZ、UBE4B、region3にはEPHB2、Rap1GAP遺伝子など現在までに癌抑制遺伝子候補として報告されている遺伝子が存在し、これら遺伝子が口腔扁平上皮癌の癌抑制遺伝子候補として考えられた。

(2) RIZ遺伝子の遺伝子解析

最も高率にLOHが認められたregion2に存在するRIZ遺伝子に焦点を絞り解析を行った。これまでに報告されているmutationのhot spotであるpoly(A)8 track, poly(A)9 trackをターゲットとしたRIZ遺伝子のmutation解析を行ったが、mutationは見つからなかった。次に、これまでに報告されている2種類のRIZ遺伝子の多型であるP704 polymorphismとAsp283Glu polymorphismについて遺伝子多型解析を行った。その結果、P704 polymorphism

は51症例中4症例(7.8%)、Asp283Glu polymorphismは51症例中16症例(31.4%)に認められた。

以上のことから、RIZ遺伝子の遺伝子多型が口腔扁平上皮癌の病態に関与する可能性が示唆された。

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11件)

①Cengiz B, Gunduz E, Gunduz M, Beder LB, Tamamura R, Bagci C, Yamanaka N, Shimizu K, Nagatsuka H.、Tumor-specific mutation and down-regulation of ING5 detected in oral squamous cell carcinoma.、Int J Cancer.、査読有、2010、127(9)、2088-94.

②Katase N, Gunduz M, Beder LB, Gunduz E, Al Sheikh Ali M, Tamamura R, Yaykasli KO, Yamanaka N, Shimizu K, Nagatsuka H.、Frequent allelic loss of Dkk-1 locus (10q11.2) is related with low distant metastasis and better prognosis in head and neck squamous cell carcinomas.、Cancer Invest.、査読有、2010、28(1)、103-10.

③Gunduz M, Demircan K, Gunduz E, Katase N, Tamamura R, Nagatsuka H.、Potential usage of ING family members in cancer diagnostics and molecular therapy.、Curr Drug Targets.、査読有、2009、10(5)、465-76.

④Katase N, Gunduz M, Beder L, Gunduz E, Lefeuvre M, Hatipoglu OF, Borkosky SS, Tamamura R, Tominaga S, Yamanaka N,

Shimizu K, Nagai N, Nagatsuka H.、Deletion at Dickkopf (dkk)-3 locus (11p15.2) is related with lower lymph node metastasis and better prognosis in head and neck squamous cell carcinomas.、Oncol Res.、査読有、2008、17(6)、273-82.

〔学会発表〕(計 14 件)

①Ryo Tamamura、Fine deletion analysis of 1p36 region in oral squamous cell carcinomas、The 6th Asian Science Seminar、平成 22 年 11 月 20 日、Taiwan

②Hidetsugu Tsujigiwa、Three regions in 1p36 are preferentially deleted in oral squamous cell carcinoma、15th International Congress of Oral Pathology and Medicine (IAOP)、平成 22 年 8 月 18 日、Seoul

③Mathieu Lefeuvre、Three regions are preferentially deleted in 1p36 region in oral squamous cell carcinoma、第 98 回日本病理学会総会、平成 21 年 5 月 3 日、京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

玉村 亮 (TAMAMURA RYO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：00403494