

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861969

研究課題名(和文)電気化学テロメラーゼ活性測定法を用いた口腔粘膜疾患診断システムの開発

研究課題名(英文)Electrochemical telomerase assay for oral cancer screening system

研究代表者

兒玉 正明 (Kodama, Masaaki)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：40423975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：以前我々はテロメラーゼ活性を指標とした電気化学診断システム(ECTA)を応用した口腔癌検診システムを確立した。しかしながらその際使用した臨床サンプルは口腔癌患者、健常者のみであり、口腔癌との鑑別が困難なことが多い口腔粘膜疾患(特に前癌病変)患者のサンプルは含まれていなかった。今回は我々は口腔癌患者、口腔粘膜疾患患者、健常者を用いてECTAのテロメラーゼ検出能力を検討した。

ECTAの感度は88%、特異度は72%、偽陽性率は28%、偽陰性率は12%であった。テロメラーゼ活性を指標とした電気化学診断システム(ECTA)は口腔癌検診システムとして応用可能性であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：To establish an effective oral cancer screening system, we developed a novel electrochemical telomerase assay (ECTA). Previously, we have confirmed that ECTA can detect the telomerase activity from oral cancer patient's clinical sample. Further, we focused on the previous study that telomerase activity can be also detected in mucosa-associated disease such as precancerous lesions and precancerous states. The purpose of this study is to examine the accuracy of telomerase detection of ECTA using cancer patient's samples, mucosa-associated disease patient's samples and Healthy volunteer's samples.

The sensitivity of ECTA was 88% and the specificity was 72%, false positive rate was 28%, false negative rate was 13%. ECTA will be useful as a screening system of oral cancer, since the degree of sensitivity and specificity are high value including mucosa-associated disease.

研究分野：口腔外科

キーワード：テロメラーゼ 口腔癌 口腔粘膜疾患 電気化学

1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜上皮に発生する悪性腫瘍の約80%は扁平上皮癌であると言われているが、その中には口腔粘膜変化から発生するものがあり、その代表的な口腔粘膜疾患として白板症や扁平苔癬がある。これらの病変は日常臨床にて比較的良好に遭遇する角化性白色病変であるが、癌化した症例報告は多数散見され、上皮異形成あるいは扁平上皮癌への伸展を念頭に置いた早期診断、治療が望まれる。

以前の我々の研究において、テロメラーゼ活性を指標とした電気化学診断システム (ECTA) を用い、口腔癌患者のテロメラーゼ活性の測定が可能であることを Clinical Chemistry にて報告した (Mori, K. et al: Oral Cancer Diagnosis via a FerrocenylNaphthalene Diimide-Based Electrochemical Telomerase Assay. Clinical Chemistry 59:1,289-295.2013)。しかしこの報告では癌患者と健常者のサンプルのみを比べた結果であり、粘膜疾患は含まれていない。白板症や扁平苔癬等の粘膜疾患においてもテロメラーゼ活性が認められるとの過去の報告より、ECTA を用いてそれらのテロメラーゼ活性を検出することが可能であると予測した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、日常臨床でよく遭遇し、診断に苦慮することの多い口腔粘膜疾患 (白板症や扁平苔癬) ならびに口腔癌を、簡便かつ客観的に診断するために、テロメラーゼ活性を指標とした電気化学診断システムを用いた口腔癌検診システムを構築することである。

3. 研究の方法

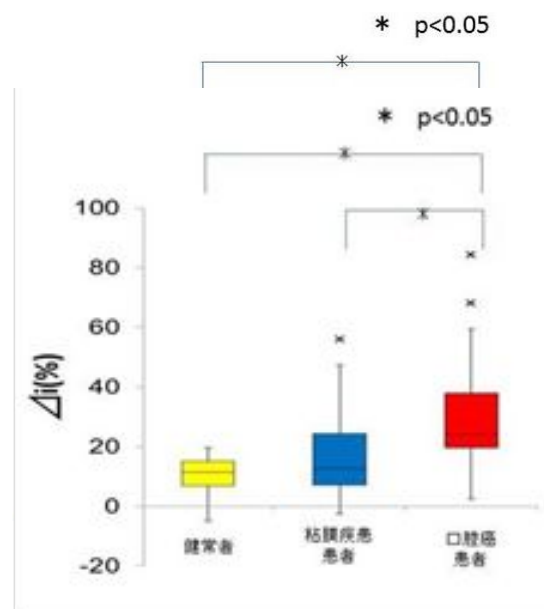
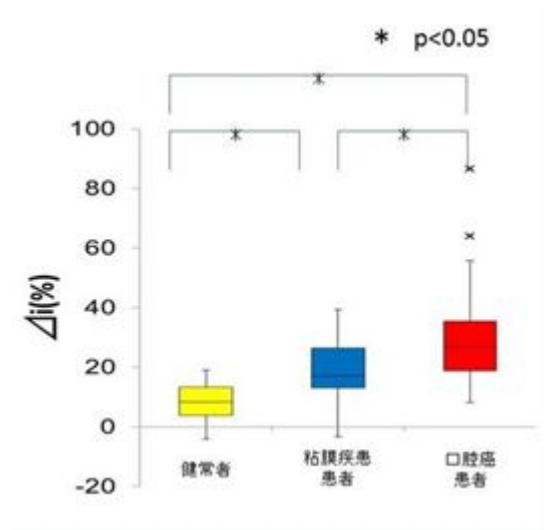
本研究に同意の得られた口腔癌患者30名、口腔粘膜疾患 (白板症あるいは扁平苔癬) 患者30名および健常者30名から臨床サンプルを採取した。臨床サンプルは口腔内全体をブラシで擦過し採取した口腔剥離細胞および生検組織の一部から採取した組織の2種類を用い、それぞれのサンプルの hTERT 遺伝子の mRNA 発現解析および ECTA によるテロメラーゼ活性 (電流増加率: i) の測定を行い、それぞれを比較した。

4. 研究成果

臨床サンプルの種類にかかわらず hTERT 遺伝子の mRNA 発現量は健常者、口腔粘膜疾患患者、口腔癌患者の順で増加していた。また ECTA の電流増加率も同様に、臨床サンプルの種類にかかわらず健常者、口腔粘膜疾患患者、口腔癌患者の順で増加していた (図1・2)。口腔剥離細胞サンプルでは、健常者、粘膜疾患患者、口腔癌のそれぞれの群間に有意差 ($p < 0.05$) を認め、組織サンプルでは健常者と口腔癌患者間および粘膜疾患患者と口腔癌患者間で有意差 ($p < 0.05$) を認めた。

しかしながら、hTERT 遺伝子の mRNA 発現量と ECTA の電流増加率の間には明らかな相関関係は認められなかった。また口腔癌患者と非口腔癌患者 (口腔粘膜疾患患者と健常者) を識別するために ECTA のすべてのサンプルを用いて ROC 解析を行い、ECTA における口腔癌の cut off 値を 17% に設定したところ、感度は 88%、特異度は 72%、偽陽性率は 28%、偽陰性率は 12% であった。テロメラーゼ活性を指標とした電気化学診断システム (ECTA) は口腔癌検診システムとして応用可能性であると考えられた。

図1: 口腔剥離細胞サンプルの ECTA での電流増加率 (i)



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 2 件)

Mori K, Sato S, Kodama M, Habu M, Takahashi O, Nishihara T, Tominaga K, Takenaka S: Ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical telomerase assay as a platform for oral cancer diagnosis. Clin Chem 59:289-95, 2013

Sato S, Saeki T, Tanaka T, Kanazaki Y, Hayakawa M, Haraguchi K, Kodama M, Nishihara T, Tominaga K, Takenaka S.: Ferrocenylnaphthalene Diimide-Based Electrochemical Detection of Aberrant Methylation in hTERT Gene. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014 Oct; 174(3): 869-79.

〔学会発表〕(計 7 件)

Kodama M, Mori K, Sato S, Hayakawa M, Haraguchi K, Habu M, Takenaka S, Tominaga K: Electrochemical telomerase assay for oral cancer screening. The 54rd Congress of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. Daegu, Apr, 2013.

Sato S, Mori K, Hayakawa M, Kodama M, HABU M, Takahashi O, Tominaga K and Takenaka S. : Ferrocenylnaphthalene diimide(FND)-based electrochemical telomerase assay(ECTA) for diagnosis of premalignant oral lesions. 7th ISNM2013 Nov Kitakyushu 2013.

早川真奈、森久美子、兒玉正明、土生学、上原雅隆、國領真也、岩永賢二郎、西川健、高橋理、原口和也、富永和宏：電気チップを用いた口腔粘膜疾患のテロメラーゼ活性測定法の開発。第 73 回九州歯科学会総会 5 月北九州。

早川真奈 兒玉正明 森久美子 原口和也 富永和宏：電気化学テロメラーゼ活性測定法を応用した口腔粘膜疾患検出法の開発。第 58 回日本口腔外科学会総会 10 月 福岡 2013。

佐藤しのぶ、早川真奈、兒玉正明、富永和宏、竹中繁織：電気化学的テロメラーゼ活性測定法による口腔疾患のスクリーニング。日本化学会第 94 春季年会 3 月 名古屋 2014。

Tominaga K, Kodama M, Hayakawa M, Habu M, Sato S and Takenaka S. : Electrochemical

telomerase assay for oral cancer screening. World Automation Congress, Hawaii, Aug, 2014.

Sato S, Hori Y, Hayakawa M, Kodama M, Nishihara T, Tomonaga K and Shigeori Takenaka: Development of electrochemical telomerase assay using ferrocenylnaphthalene diimide derivatives. 47th Heyrovsky Discussion, Electrochemistry of Organic and Bioactive Compounds, Prague, Sep, 2014.

Hayakawa M, Haraguchi K, Kodama M, Nishihara T, Tominaga K, Sato S, Takenaka S: Oral Cancer diagnosis using a ferrocenylnaphthalene diimide-based electrochemical telomerase assay; The 41st International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Kitakyushu, Nov, 2014.

〔図書〕(計 件)

〔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：
出願年月日：
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

兒玉 正明 (KODAMA MASAOKI)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号： 40423975

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：