

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 14日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21791827

研究課題名（和文）：遺伝子多型を用いたヒト舌癌発生に寄与する薬物代謝酵素の同定
ーラットからヒトへー

研究課題名（英文）：Identification of drug-metabolizing enzymes associated with
human tongue carcinogenesis using genetic polymorphisms

研究代表者：

平野 真人 (HIRANO MASATO)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：70381184

研究成果の概要（和文）：

口腔癌および非癌患者の組織から DNA を抽出し、NQO1、CYP1A1 および GSTP1 遺伝子の多型検索および統計学的解析を行った。NQO1 において、野生型をもつヒトに比べホモ変異型を有するヒトは、口腔癌に対して高感受性であることが強く示唆された。また CYP1A1 の野生型頻度は口癌患者と比べ非癌患者のほうが多い傾向にあり、対照的にホモ変異型の頻度は非癌患者に比べ癌患者のほうが多い傾向を示した。GSTP1 の多型頻度については、癌患者と非癌患者との間で統計学的有意差は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：

We have recently reported that a genetic polymorphism of the type II detoxifying enzyme NQO1 may be a major determinant of the susceptibility of rats to oral squamous-cell carcinoma (OSCC) induced by 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO). To test whether this is also the case in human OSCC, polymorphisms of NQO1, CYP1A1 and GSTP1 were examined in a population-based case-control study. In NQO1 and CYP1A1, the homozygous-variant type was much less common among the subjects in the control group than it was among the OSCC cases. Alternatively, GSTP1 have not yet been completely characterised.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学 病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：舌癌、薬物代謝酵素、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

舌癌発生に喫煙や飲酒に代表されるような環境因子が強く関与していることは疫学的調査により明白である。しかしながら発癌に関与する環境因子に同程度曝されていても、癌になるヒトとならないヒトがいるのも事実である。このことは遺伝子レベルでも発癌に対する感受性が規定されていることを示唆している。

4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 誘発ラット舌癌モデルを用いた実験より、舌癌感受性遺伝子座 (*Tscc1*, *Tscc5*)、および舌癌抵抗性遺伝子座 (*Tscc2*, *Tscc3*, *Tscc4*)が知られている。この研究成果に基づき、私は舌癌発生に最も関与していると考えられる舌

癌好発系である Dark-Agouti (DA) 系ラットの *Tscc1* を、舌癌嫌発系である Wistar/Furth (WF) 系ラットに導入したコンジェニック系統を作成し、このコンジェニックラットを用いて 4NQO 誘発ラット舌癌実験を行った。この結果、*Tscc1* は舌癌発生に大いに寄与していることが表現型 (癌の大きさ、個数など) として確認された。

また WF 系ラットに *Tscc1* 上に存在する薬物代謝酵素遺伝子 *NQO1* を強発現させたトランスジェニックラットを作成し、さらに 4NQO による舌癌誘発実験を行った。その結果、Tg ラットおよびコントロール群である WF ラットともに舌癌の発生が見られず、上皮異形成も見られなかった。以上の実験結果から、舌癌発生に

NQ01 遺伝子が関与していない可能性、および薬物代謝酵素である NQ01 蛋白の高発現が発癌剤の活性化よりむしろ解毒として機能した可能性が考えられた（2007～2008 科学研究費若手 B）。しかしながら、これらの実験結果からだけでは、舌癌感受性遺伝子座および舌癌抵抗性遺伝子座に存在するどのような遺伝子がヒト舌癌発生に関与しているか断定することはできない。

2. 研究の目的

前述の 4NQO 誘発ラット舌癌実験にて明らかにされた舌癌関連遺伝子座 (*Tsccl*～*Tsc5*)の存在より、舌癌発生のプロセスには単一遺伝子でなく複数の遺伝子が関与していると推察される。従って本研究では、遺伝子多型を用い 4NQO 誘発ラット舌癌実験で示唆された薬物代謝酵素遺伝子群 (*Tsccl* 上に存在する *NQ01*、*Tsc2* 上に存在する *CYPs* および *Tsc3* 上に存在する *GTPs*) のヒト舌癌発生への関与を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

被験者のプライバシーを完全

に保護することを前提として、インフォームドコンセントにより承諾を得た口腔癌患者の血液、また対照群として非癌患者の組織から DNA を抽出し、PCR および PCR-RFLP 法を用いて NQ01、CYP1A1 および GSTP1 遺伝子の多型検索および統計学的解析を行った。癌患者の DNA は埼玉県立がんセンターにおいて臨床的および病理組織学的に扁平上皮癌と診断された患者で、すでに主治医を通じて遺伝子診断・検査についての了解を得ている 105 症例の末梢血液から抽出したものをを用いた。また対象となる一般集団の非癌患者の DNA は鹿児島大学歯学部口腔病理学講座にパラフィンブロックとして保管されている非癌患者の組織より抽出したものをを用いた。なお、これらの検体を用いて本研究を行うことについては、埼玉県立がんセンターおよび鹿児島大学歯学部において設置された倫理委員会において承認を得ている。

4. 研究成果

- (1) NQ01 遺伝子の各多型における患者数ならびに頻度は、野生型が 42 例・40%、ヘテロ変異型が 49 例・46.7%、ホモ変異型が 14 例・13.3%であり、非癌患者については野生型が 49 例・48%、

ヘテロ変異型が 52 例・51%、ホモ変異型が 1 例・1%であった。この結果より、野生型の頻度は口腔扁平上皮癌患者と比べ、非癌患者のほうが多い傾向にあり、それとは対照的に、ホモ変異型の頻度は非癌患者に比べ、口腔扁平上皮癌患者のほうが多いことがわかった。

また、口腔扁平上皮癌患者と非癌患者において、各多型頻度についてカイ二乗検定を行ったところ、野生型とヘテロ変異型では統計学的な差は認められなかったものの、野生型とホモ変異型との間で明らかな統計学的有意差を認めた。このことは本遺伝子の多型が野生型のヒトに比べ、ホモ変異型のヒトのほうが口腔扁平上皮癌感受性が高いことを示唆している。オッズ比においては、本遺伝子の多型が野生型のヒトに比べ、ホモ変異型のヒトでは 16.3 倍口腔扁平上皮癌感受性のリスクが高いことを示した。

(2) CYP1A1 遺伝子の各多型における患者数ならびに頻度は、野生型が 38 例・36.2%、ヘテロ変異型が 53 例・50.5%、ホモ変異型が 14 例・13.3%であり、非癌患者については野生型が 54 例・53%、ヘテロ変異型が 45 例・

44.1%、ホモ変異型が 3 例・2.9%であった。この結果は、*NQO1* 遺伝子の多型頻度と同様に、野生型の頻度は口腔扁平上皮癌患者と比べ、非癌患者のほうが多い傾向にあり、それとは対照的に、ホモ変異型の頻度は非癌患者に比べ、口腔扁平上皮癌患者のほうが多いことを示していた。

また、口腔扁平上皮癌患者と非癌患者において、各多型頻度についてカイ二乗検定を行ったところ、野生型とヘテロ変異型では統計学的な差は認められなかったものの、野生型とホモ変異型との間で明らかな統計学的有意差を認めた。このことは *NQO1* 遺伝子同様、本遺伝子の多型もまた野生型のヒトに比べ、ホモ変異型のヒトのほうが口腔扁平上皮癌感受性が高いことを示唆している。オッズ比においては、本遺伝子の多型が野生型のヒトに比べ、ホモ変異型のヒトでは 6.6 倍口腔扁平上皮癌感受性のリスクが高いことを示していた。

(3) *GSTP1* 遺伝子の多型頻度については、口腔扁平上皮癌患者と非癌患者との間で、統計学的な有意差は認められなかった。

(4) 口腔扁平上皮癌患者と非癌患者における *NQO1* 遺伝子と *CYP1A1* 遺伝子の多型頻度の組合せについて検討したところ、ホモ変異型 *NQO1* 遺伝子をもち、かつ、ヘテロ変異型あるいはホモ変異型 *CYP1A1* 遺伝子をもつヒトは、これらの遺伝子の多型が両方とも野生型であるヒトに比べ、口腔扁平上皮癌感受性が高いことが示唆された。

さらに、多型の組合せを3つのグループに分けることにより、口腔扁平上皮癌患者と非癌患者における *NQO1* 遺伝子と *CYP1A1* 遺伝子の多型頻度の組合せについて検討してみたところ、変異数が3~4個の群のヒトは、変異数が0~1個の群のヒトに比べ、口腔扁平上皮癌感受性が高いことが示唆された。

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1件)

- (1) Tanuma J, Izumo T, Hirano M, Oyazato Y, Hori F, Umemura E, Shisa H, Hiai H, Kitano M. FGFR4 polymorphism, TP53

mutation, and their combinations are prognostic factors for oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2010; 23(3): 739-44. 査読有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平野 真人 (HIRANO MASATO)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：70381184