

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05043

研究課題名(和文) 口腔癌幹細胞ニッチにおけるサイトカインネットワーク維持機構とその診断治療への応用

研究課題名(英文) Functional Cytokine network in the Oral Cancer Stem Cell Niche and its application for diagnosis and treatment

研究代表者

岡本 哲治 (Okamoto, Tetsuji)

広島大学・医歯薬保健学研究科(歯)・教授

研究者番号：00169153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒト口腔扁平上皮癌(OSCC)における癌幹細胞を標的とした新しい診断・治療法を開発することを目指し、未分化多能性幹細胞の細胞表面上に発現する特異的な糖鎖構造を認識するレクチンであるrBC2LCNを利用し、ヒト口腔扁平上皮癌由来細胞株より分離したrBC2LCN認識糖鎖陽性細胞群の細胞・分子生物学的特性の解析を行った。さらに自己複製能と分化能を制御しているニッチ(niche)機構を明らかにし、ニッチ機能維持に必要なサイトカインネットワーク分子・シグナル群の同定を通して、その細胞・分子生物学的特徴を明らかにし、癌幹細胞を標的とした新しい癌の診断・治療法の確立を目指す。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aim to develop a novel diagnostic and therapeutic method targeting cancer stem cells in human oral squamous cell carcinoma (OSCC), and developed a specific carbohydrate structure expressed on the cell surface of undifferentiated pluripotent stem cells. We analyzed the cell and molecular biological characteristics of rBC2 LCN-recognizing carbohydrate positive cell group isolated from human oral squamous-cell carcinoma-derived cell line using rBC2LCN which recognizes lectin. Furthermore, we clarified a niche mechanism controlling self-renewal ability and differentiation ability, clarify its cell / molecular biological characteristics through identification of cytokine network molecule / signal group necessary for maintaining niche function. We aim to establish diagnostic and therapeutic methods for new cancer targeting stem cells.

研究分野：外科系歯学

キーワード：口腔扁平上皮癌 癌幹細胞 無血清培養 exosome CD133 Side population細胞 rBC2LCN陽性細胞 IGF-2

1. 研究開始当初の背景

癌組織は一様な細胞集団ではなく、多様な細胞集団から構成され、その中でも細胞周期の遅い細胞群はごく少数でも癌を生体内に再構築でき、放射線療法や化学療法に対して抵抗性を示すことから、癌における幹細胞(癌幹細胞)である可能性が示唆されている。近年、癌は幹細胞能力と癌形成能を併せ持つ少数の癌細胞群と同細胞に由来した幹細胞の特性を持たない細胞群により形成、維持されていることが示され、癌幹細胞は癌治療における新たな標的細胞として注目されてきている。

癌幹細胞の特徴として正常幹細胞と同様に、①未分化な表面形質を示す、②自己複製能により癌幹細胞集団を維持する、③多分化能を有し多様な癌細胞に分化する、④高い薬剤耐性を示す、⑤高い腫瘍形成能を示す、などがあげられている。そのため癌幹細胞は癌の発生・進展のみならず再発や転移および治療抵抗性にも深く関与していると考えられている。

癌幹細胞研究においては、他の細胞集団から幹細胞群を正確に分離・同定することが重要である。現在までに癌幹細胞の特徴を利用した色々な分離方法が報告されている。正常幹細胞の機能的特徴を利用した方法として、ABCトランスポーター分子による色素や薬剤排出能力を利用した方法で、幹細胞ではその生存のため非幹細胞と比較してABCトランスポーターが高発現されているため、DNA結合蛍光色素Hoechst33342で処理するとABCトランスポーター高発現細胞はHoechst33342を排出するという染色抵抗性を利用したもので、UV光で励起すると大部分のHoechst33342による蛍光強度の高い細胞集団(main population)よりも蛍光強度の低い細胞群つまりside population(SP)細胞群がフローサイトメトリーで分離されるが、このSP細胞群には高頻度に癌幹細胞が存在するといわれ、乳癌、肺癌および脳腫瘍でがん幹細胞として報告されている。次に、細胞表面マーカーを利用して分離する方法で、急性骨髄性白血病(AML)の癌幹細胞がCD34陽性/CD38陰性細胞群により濃縮されることが報告されて以来、色々な分子が癌幹細胞で特異的に発現する細胞表面マーカーとして検討されている。このような癌幹細胞表面マーカーの発現パターンの同定は、癌幹細胞を検出する有効な手段および抗体治療の標的となると考えられている。最も広く認識されている細胞表面マーカーとしては、組織幹細胞マーカーであるCD44、CD133(prominin 1)、CD34等である。

一方、近年induced pluripotent stem(iPS)細胞に代表されるような幹細胞研究の進展により、多能性幹細胞に関連した知見が集積されてきている。癌幹細胞が通常の幹細胞から発生するという説に基づき、このような多能性幹細胞としての特徴を備えた細胞ががん幹細胞となり得る可能性が考えられている。

本研究では、ヒト口腔扁平上皮癌(OSCC)における癌幹細胞を標的とした新しい診断・治療法を開発することを目指し、未分化多能性幹細胞の細胞表面上に発現する特異的な糖

鎖構造を認識するレクチンであるrBC2LCNを利用し、ヒト口腔扁平上皮癌由来細胞株より分離したrBC2LCN認識糖鎖陽性細胞群の細胞・分子生物学的特性の解析を行った。

2. 研究の目的

本研究では、口腔扁平上皮癌の癌幹細胞の新たな細胞表面マーカーを明らかにし、さらに自己複製能と分化能を制御しているニッチ(niche)機構を明らかにする。さらに、そのニッチ機能維持に必要なサイトカインネットワーク分子・シグナル群の同定を通して、その細胞・分子生物学的特徴を明らかにし、癌化のメカニズムの解明とともに癌幹細胞を標的とした新しい癌の診断・治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

各細胞株を増殖飽和前まで培養し、Trypsin/EDTAにて細胞を分散後、Trypsin inhibitorで中和し、単一細胞とした。次に、この細胞懸濁液をSH800セルソーターにてフローサイトメトリー解析及び、セルソーティングを行い、これら癌細胞株がrBC2LCN認識糖鎖を発現しているか否かを検討した。

セルソーティングにてrBC2LCN認識糖鎖陽性及び陰性細胞を分離後、それぞれの細胞増殖能およびsphere形成能を評価した。また、sphere細胞塊中におけるrBC2LCN認識糖鎖陽性細胞の存在様態を観察した。

Ho-1-U-1細胞由来rBC2LCN認識糖鎖陽性細胞と陰性細胞をそれぞれ分離後、total RNAを抽出し、バイオアナライザー(Agilent USA)を用いてtotal RNA integrity number(分解程度)を確認・評価した。続いて、Agilentラベル化キットを用いてラベル化cRNAを合成し、ハイブリダイズ後、agilentスキャナを用いてスキャニングと定量化を行い、解析した。

Total RNAをテンプレートに、cDNAを合成し、Droplet Digital™ PCR System(Bio-Rad US)を用いたdd-PCR法にてIGF-2 mRNAの発現を絶対定量した。

さらに、rBC2LCN認識糖鎖陽性細胞と陰性細胞におけるIGF-2の発現をウエスタンブロット法で検討した。

レクチン陽性及び陰性細胞におけるAkt-Pathway分子のリン酸化を解析した。また、陽性細胞及び陰性細胞におけるsphere形成能へのヒトリコンビナントIGF-2(rhIGF-2)の影響を評価した。

A431、Ho-1-N-1、Ho-1-U-1細胞株の培養上清をconditioned medium(CM)として回収し、total exosome isolation® kit(invitrogen USA)を用いてCM中のexosomeを精製した。

rBC2LCN認識糖鎖陽性細胞及び陰性細胞を分取し、CMからexosomeを精製した。CD9発現評価を行い、rBC2LCN認識糖鎖陽性細胞に陰性細胞由来exosomeを、陰性細胞に陽性細胞由来exosomeを、0、250、500、1000 ng/ml濃度条件で添加し、Sphere形成能を検討した。

rBC2LCN認識糖鎖陽性細胞、陰性細胞を分取し、rBC2LCN認識糖鎖陽性細胞に陰性細胞由来exosomeを、また陰性細胞に陽性細胞由来exosomeを添加DF6Fで培養後、rBC2LCN認

識糖鎖発現に及ぼす各 exosome の影響を、ウエスタンブロット法で検討した。

4. 研究成果

A431、Ho-1-U-1、Ho-1-N-1 細胞株を DF5%CS 培地での培養条件下で維持培養し、フローサイトメトリーにて rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞の存在の有無を検討した。その結果、これらの細胞株には rBC2LCN 認識糖鎖を発現する陽性細胞が存在することが明らかとなった。またその全細胞中における存在比は、Ho-1-N-1 細胞株では 1.5%、Ho-1-U-1 株では 2.0%、A431 株では 1.3%であった。また、これらの細胞株を DF6F 無血清培地を用いた培養条件下で 20 継代後にフローサイトメトリーにて rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞の存在比を検討したところ、A431 細胞株、Ho-1-U-1 細胞株においては陽性細胞の顕著な増加を認めた。一方、Ho-1-N-1 細胞株ではほとんど差を認めなかった。

A431、Ho-1-U-1、Ho-1-N-1 細胞株よりセルソーターによって rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞と陰性細胞の分離を行い、無血清单層培養を行うと rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞では細胞表面上で rBC2LCN 陽性所見が見られた。一継代後に、rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞率を、セルソーターを用いて検討した結果、わずかに継代で、陽性細胞群からは陰性細胞群が、また陰性細胞群からは陽性細胞群が出現することが明らかとなった。

Ho-1-U-1 細胞株を rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞と陰性細胞に分離し、DF6F を用いた無血清单層培養系にて増殖能を比較したところ、各群の増殖能に有意な差は認められなかった。

rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞における sphere 形成能は陰性細胞のそれと比較し、早期に大きな多数の sphere を形成した。また、sphere 数は有意に陽性細胞で亢進していた。

rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞及び陰性細胞由来 sphere における rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞を、ライブセルイメージングで検討した結果、陽性細胞由来 sphere 及び陰性細胞由来 sphere のいずれにおいても、rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞が存在している事が明らかになった。

DNA マイクロアレイの解析の結果、rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞において陰性細胞と比較して 20 倍以上の発現亢進を示した遺伝子は 10 種類認められた。中でも IGF-2 の発現は、陽性細胞において陰性細胞と比較して 60 倍以上亢進していた。

Droplet digital PCR 法による rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞と陰性細胞における IGF-2 mRNA 発現量比較では陽性細胞は陰性細胞に比較して約 20 倍発現が亢進していた。ウエスタンブロット法による解析では rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞では陰性細胞に比較して細胞内における IGF-2 タンパク発現量が亢進していた。rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞では陰性細胞と比較して IRS-1 (Ser636/Ser639)、PTEN (Ser380)、Akt (Ser473)、GSK-3 α / β (Ser21/Ser9)、BAD (Ser136)、mTOR (Ser2448)、p70 S6Kinase (Thr389)、S6Ribosome Protein (Ser235/Ser236) リン酸化サイトでのリン酸化が亢進していた。これらの結果から

rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞では IGF-Akt Pathway の機能亢進性のリン酸化亢進状態であることが示唆された。IGF-2 は濃度依存的に陰性細胞における sphere 形成能を促進した。一方、IGF-2 中和抗体は陽性細胞の sphere 形成能を低下させた。

IGF-2 は濃度依存的に rBC2LCN 認識糖鎖陰性細胞における糖鎖の発現を上昇させたが、IGF-2 中和抗体は rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞における糖鎖発現を低下させた。

A431、Ho-1-N-1、Ho-1-U-1 細胞株由来 CM からそれぞれ exosome を精製し、評価した。得られた exosome は、ウエスタンブロットにて cytochrome C の発現を認めなかったことから、細胞成分のコンタミネーションは無いことが示された。さらに、exosome マーカーとして知られている CD9、CD63、及び CD81 の精製 exosome における発現を検討した結果、これらのマーカーは細胞分画において発現を認めたが、精製 exosome では CD9 のみが発現されている事が明らかとなった。精製 exosome が細胞に再取り込みされるか否かについて、PKH26 にて標識した exosome を用いて検討したところ、exosome の濃度依存的に赤色の蛍光小胞が標的細胞内に確認されたことから、精製 exosome は細胞内への再取り込み能を有していることが明らかとなった。

rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞由来 exosome は、陰性細胞の sphere 形成能を促進し、sphere 数の増加と大きさの著しい亢進が認められた。特に、500、1000ng/ml の濃度で有意にスフェア形成能を促進した。またさらに、陰性細胞由来の exosome は、陽性細胞の sphere 形成能を抑制する傾向を示し、特に 250ng/ml の exosome 濃度では有意にスフェア形成を低下させた。

また、陽性及び陰性細胞由来 exosome の、それぞれ陰性細胞及び陽性細胞における rBC2LCN 認識糖鎖発現に及ぼす影響を検討した結果、陽性細胞由来 exosome は濃度依存的に陰性細胞における rBC2LCN 認識糖鎖発現を亢進させた。

考察

1994 年に、急性骨髄性白血病 (AML) において癌幹細胞様の細胞集団が同定されて以来、さまざまな固形腫瘍にも幹細胞が存在し、腫瘍の発生・進展・維持に重要な役割を果たしている可能性が明らかにされつつある。つまり、癌組織には自己複製能を有し、半永久的に娘細胞を生み続ける少数の細胞群と、高い増殖能を持つが、最終的には分化や老化により増殖能を失う大多数の細胞群からなることが明らかになってきた。このことは、正常の組織幹細胞とそれから生じた分化細胞のような関係が癌組織にも存在していることを示唆している。このような幹細胞様の癌細胞つまり癌幹細胞は、放射線や抗癌剤に対する抵抗性も高いことが予想されている。事実、化学療法、放射線療法や手術療法後、臨床的に CR を示した症例が数年後に再発する事はよく経験するが、これら治療抵抗性や再発例に癌幹細胞が関与していると考えられる。癌幹細胞は、正常組織幹細胞そのものに遺伝子変化が蓄積した細胞なのか、あるいは正常幹細胞から分化方向へト

ランジット中の細胞に遺伝子変化が蓄積し癌化した細胞なのか、あるいは変異が蓄積したトランジット細胞に何らかのリプログラミングが起こり幹細胞機能を再獲得した細胞なのか不明であるが、癌の起源となる細胞と考えられており、癌幹細胞と組織幹細胞との間には、その自己複製能や分化能の制御機構に多くの共通性があることが予想される。組織幹細胞などの正常幹細胞が未分化性と多分化能を維持するためには、それを可能にする微小環境(ニッチ)が必要と考えられており、ニッチ内で幹細胞の数や細胞分裂、分化が制御されている可能性が高い。したがって、癌幹細胞においても、正常組織幹細胞と類似した自己複製能と分化能を維持する機構すなわちニッチが存在している可能性が高い。

本研究では、ES/iPS細胞などの未分化な多能性幹細胞が特異的に発現する糖鎖構造を認識するレクチンである rBC2LCN の口腔扁平上皮癌細胞の幹細胞マーカーとしての可能性を検討し、その腫瘍形成のメカニズムとがん微小環境(ニッチ)の維持メカニズムを解明し、放射線感受性や腫瘍発生メカニズムを明らかにすることを旨とした。

rBC2LCN 認識糖鎖は未分化多能性幹細胞の細胞表面上に発現する糖タンパクのポドカリクシンに付加される特異的な糖鎖構造を認識していると考えられている。この糖鎖抗原は ES 細胞や iPS 細胞などの未分化多能性幹細胞にのみ発現し、ES 細胞や iPS 細胞から分化した細胞や体性細胞では発現しない。rBC2LCN 認識糖鎖は機能的な側面は未だ不明であるが、未分化多能性幹細胞における機能維持に関連して発現しているものと考えられている。rBC2LCN 認識糖鎖発現細胞は口腔扁平上皮癌細胞株 Ho-1-U-1 細胞株及び Ho-1-N-1 細胞株でそれぞれ 2.0%及び 1.5% 存在した。また、A431 細胞株においても 1.3% 存在した。これら細胞は高い sphere 形成能を示したことから、癌幹細胞としての特徴を持つことが明らかとなった。このことから、未分化多能性幹細胞に特異的な糖鎖抗原と、癌幹細胞における糖鎖抗原の発現が共通である可能性が示唆された。

陽性細胞と陰性細胞を無血清單層培養系で継代をすると、わずか 1 継代後でも陽性細胞群から陰性細胞群が、陰性細胞群から陽性細胞が出現した。さらに、陽性細胞由来 sphere 及び陰性由来 sphere のいずれにも陽性細胞が含まれていたことから、陽性細胞と陰性細胞は互いにトランジットしていると考えられた。DNA マイクロアレイ解析では陽性細胞において陰性細胞と比較し IGF-2 の発現が 60 倍以上亢進しており、dd-PCR 及びウエスタンブロットの結果から、陽性細胞において IGF-2 の遺伝子及び蛋白レベルでの発現亢進が認められたことから、陽性細胞の機能維持において IGF-2 が重要な機能を担っている可能性が考えられた。また、陽性細胞では陰性細胞に比較して、一様に Akt-Pathway 分子のリン酸化が促進していた。Akt-Pathway は細胞の生存、増殖、分化、糖代謝、タンパク質合成の機能を担う重要なシグナル伝達系であり、癌幹細胞としての機能維持に重要な機能を果たしていると考えら

れた。

近年、IGF-2 及びそのシグナル分子をターゲットとした分子標的治療薬のいくつかは臨床試験段階にある。これらは IGF-2 をターゲットとした中和抗体、IGF-2 レセプター IGF-1R に対する拮抗抗体、IGF-1R のチロシンキナーゼ活性阻害剤等である。これら薬剤を用いることで、本研究において明らかになった幹細胞における機能維持に重要な IGF-2 の機能阻害を行うという、癌幹細胞をターゲットとした治療戦略の展開が期待される。糖鎖陽性細胞と陰性細胞における exosome の生物活性の差異を検討することで、各細胞間の相互作用、ニッチ形成についてのメカニズムを明らかにした。Exosome 小胞中にはタンパク質、mRNA、miRNA 等の情報伝達物質が内包されている。このため、細胞間の情報伝達に関わり、形質の伝播や癌細胞ニッチ形成に関わっていることが考えられる。本研究ではまず、扁平上皮細胞株よりポリマー沈殿法にて exosome の精製を行った。精製 exosome にはミトコンドリア内膜成分である cytochrome C は検出されず、細胞成分のコンタミネーションが無いことが確認された。また、本精製 exosome は exosome マーカーとして CD9 陽性である事が明らかになった。今回、無血清培養系で長期間培養された細胞の CM 由来 exosome は CD9 のみを発現していた。腫瘍細胞由来 exosome では、CD9 に加えて CD63 及び CD81 の発現が報告されている。これらは血清添加培地を用いて培養した細胞から精製した exosome の解析であることから、CD63 や CD81 発現 exosome は血清由来のものである可能性が考えられた。rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞と陰性細胞の CM 由来 exosome の陰性細胞及び陽性細胞における rBC2LCN 認識糖鎖の発現及び sphere 形成能に及ぼす影響を検討したところ、陽性細胞由来の exosome は陰性細胞における rBC2LCN 認識糖鎖の発現及び sphere 形成能を濃度依存的に亢進した。一方、陰性細胞由来 exosome は陽性細胞における sphere 形成能を低下させる傾向を認め、250ng/ml の濃度では有意に低下させた。このことから、陽性細胞由来の exosome には陰性細胞を陽性細胞へトランジットさせる活性を有している事が考えられた。このことは、陽性細胞と陰性細胞は exosome を介して communicate し、癌細胞ニッチ形成において重要な機能を果たしていると考えられた。Exosome に内包する細胞増殖因子、miRNA やその他の活性物質の存在が単独あるいは連携してその機能を果たしているものと考えられた。したがって、rBC2LCN 認識糖鎖陽性細胞由来 exosome は、癌幹細胞を含む扁平上皮癌の診断・治療のターゲットとなり得る可能性が示された。

本研究では未分化多能性幹細胞に発現し rBC2LCN 認識糖鎖抗原が扁平上皮癌細胞株においても発現し、かつ癌幹細胞としての特徴を有していたことから、同様の戦略により、選択的・効果的に rBC2LCN 認識糖鎖発現癌幹細胞を殺滅できる可能性が考えられた。

以上、ES/iPS 細胞が特異的に発現する、rBC2LCN レクチンで認識される糖鎖構造を有する細胞が、各扁平上皮癌細胞株においても存在し、同細胞が癌幹細胞として機能し

ている可能性が示され、糖鎖発現細胞は癌化に深く関わっていることが考えられた。

また、IGF-2 及び exosome は癌幹細胞ニッチの機能維持に重要な機能を果たしていることが考えられ、rBC2LCN 認識糖鎖発現細胞、IGF-Akt Pathway 及び exosome を標的とした口腔扁平上皮癌細胞の診断・治療への応用が考えられた。

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 13 件)

1. A tribute to Dr. Gordon Hisashi Sato (December 17, 1927-March 31, 2017) Sato JD, Okamoto T, Barnes D, Hayashi J, Serrero G, McKeehan WL. 査読有 *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2018. Mar; 54(3): 177-193. doi: 10.1007/s11626-018-0230-1. Epub 2018 Feb 12. Review
2. New Crambescidin-Type Alkaloids from the Indonesian Marine Sponge *Clathria bulbotoxa*. Kasmia K, Yoshioka Y, Okamoto T, Ojika M. 査読有 *Marine Drugs*, 2018 Mar 8;16(3) pii: E84. doi: 10.3390/md16030084.
3. Neurofibromatosis type I の遺伝子診断及び同疾患特異的 induced pluripotent stem cells (iPSC) のインテグレーションフリー・フィーダー細胞フリー・無血清培養系での樹立による疾患研究、福谷 多恵子、濱田 充子、岡本 哲治、査読無 *日本口腔組織培養学会誌* 27 巻 1 号、Page 17-18, 2018.
4. VD 誘導体 ED-71 の口腔扁平上皮癌細胞における HBp17/FGFBP-1 及び regulatory chemical messengers の発現に及ぼす影響、檜垣美雷、濱田充子、岡本哲治、査読無 *日本口腔組織培養学会誌* 27 巻 1 号 Page9-10, 2018.
5. Eldecalcitol, an analog of 1 α , 25(OH)₂D₃, inhibits the growth of squamous cell carcinoma cells in vitro and in vivo by down-regulating expression of heparin-binding protein 17/fibroblast growth factor-binding protein-1 (HBp17/FGFBP-1) and FGF-2. Shintani T, Okamoto T (他 7 名) 査読有 *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. Oct; 53(9):810-817, 2017.
6. フィーダー細胞フリー・無血清培養系での各種口腔顎顔面遺伝性疾患特異的 iPSC の樹立、濱田 充子、岡本 哲治、査読無 *口腔組織培養学会誌* 26 巻 1 号: 29-30, 2017.
7. 口腔扁平上皮がん細胞株における rBC2LCN レクチン認識糖鎖発現細胞の機能解析、中峠 洋隆、濱田 充子、岡本 哲治、査読無 *口腔組織培養学会誌* 26 巻 1 号 Page25-26, 2017.
8. 口腔扁平上皮癌の浸潤・増殖における HDM2 の機能解析、津島 康司、林堂安貴、岡本 哲治、査読無 *口腔組織培養学会誌* 26 巻 1 号 Page7-8, 2017.
9. Eldecalcitol (ED-71), an Analog of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ as a Potential Anti-cancer agent for oral squamous cell

carcinomas. Shintani T, Okamoto T, (他 6 名) 査読有 *J Steroid Biochem Mol Biol*., Nov; 164:79-84, 2016.

10. Photodynamic therapy using Photofrin and excimer dye laser treatment for superficial oral squamous cell carcinomas with long-term follow up. Toratani S, Yoshioka Y, Okamoto T. (他 4 名) 査読有 *Photodiagnosis Photodyn Ther*, Jun;14:104-10, 2016.
11. Generation of Cleidocranial dysplasia-specific induced pluripotent stem cells in integration-, feeder-, and serum- free culture, Yamasaki S, Hamada A, Okamoto T (他 6 名) 査読有 *In Vitro Cell & Devel Biol-Anim*, Feb;52(2):252-64, 2016.
12. Comparison of the prognosis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw caused by oral and intravenous bisphosphonates, Shintani T, Yoshioka Y, Okamoto T. (他 12 名) 査読有 *Int J Oral Maxillofac Surg* Jul; 44(7): 840-4, 2015.
13. Weekly paclitaxel plus cetuximab reduces the lung metastasis of adenoid cystic carcinoma arising from the salivary gland, Yoshioka Y(1 番目)、OKAMOTO T. (最後)(他 4 名) 査読有 *Oral Science International* 12 (2) 67-71, 2015.

[学会発表] (計 17 件)

招待講演 (計 3 件)

1. 招待講演：岡本哲治、無血清培養法を用いた細胞内分泌学的研究による顎顔面口腔疾患の診断・治療法の開発、宿題報告、第 71 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会、平成 29 年 4 月 28 日、松山
2. 国際学会 招待講演：Tetsuji Okamoto、Overview and perspective in 20 years research of my laboratory/clinic; Cellular Endocrinological study of oral stem cells、The 14th International Conference on cellular endocrinology、Hiroshima、Japan、13-14 Nov、2016.
3. 国際学会 招待講演：S.Yamasaki、A Hamada、T. Okamoto、Establishment and characterization of normal and disease-specific human iPSC in serum-, integration- and feeder-free culture、Plenary Symposium: Infinite Potential of Stem Cells; 2016 In Vitro Biology World Congress、San Diego、CA、May 30-June 3、2016.

国際学会発表 (計 3 件)

1. 国際学会：Function of rBC2LCN Lectin-recognizing Glycoprotein-positive Cells in Squamous Cell Carcinoma Cell Lines. H. Nakatao、A. Hamada、T. Okamoto、In Vitro Biology Meeting 2017、Raleigh、NC、10-14 June、2017.
2. 国際学会：H. Nakatao、A. Hamada、T. Okamoto、Generation and Maintenance of Integration-free Human Induced Pluripotent Stem (hiPS) Cells from Peripheral Blood

Mononuclear Cells in Serum- and Feeder-free Growth Factor Defined Medium, 2015 In Vitro Biology Meeting, Tucson, Arizona, May 30- June 3, 2015.

3. 国際学会: Shintani T, Okamoto T, et al, Eldecalcitol (ED-71), an Analog of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D3 as a Potential Anti-Cancer Agent for Oral Squamous Cell Carcinomas (OSCC), VitaminD Workshop, Delft, Netherlands 21-24 April, 2015.

国内一般講演:

1. 超高齢口腔がん患者の臨床病態の検討、松岡 美玲、岡本 哲治、日本口腔科学会雑誌 66 巻 2 号 167 頁(2017 年 7 月)
2. 完全無血清・フィーダーフリー・ウイルスインテグレーションフリー培養系での疾患特異的 iPS 細胞(iPSC)の樹立と病態モデル研究、濱田 充子、岡本 哲治、日本口腔科学会雑誌 66 巻 2 号 166 頁(2017 年 7 月)
3. 扁平上皮がん細胞株における rBC2LCN レクチン認識糖鎖発現細胞の機能解析、中峠 洋隆、濱田 充子、岡本 哲治、日本口腔科学会雑誌 66 巻 2 号 165 頁(2017 年 7 月)
4. Cowden 症候群特異的 iPS 細胞の樹立研究、大林 史誠、濱田 充子、岡本 哲治、日本口腔科学会雑誌 66 巻 2 号 133 頁(2017 年 7 月)
5. 口腔扁平上皮癌の浸潤における HDM2 の機能解析、津島 康司、林堂安貴、岡本 哲治、日本口腔科学会雑誌 66 巻 2 号 115 頁(2017 年 7 月)
6. 口腔扁平上皮癌における focal adhesion kinase(FAK)およびリン酸化 FAK の発現と臨床病態に関する研究、櫻井 繁、林堂安貴、岡本 哲治、日本口腔科学会雑誌 66 巻 2 号 110 頁(2017 年 7 月)
7. 完全無血清・フィーダーフリー・ウイルスインテグレーションフリー培養系での疾患特異的 iPS 細胞の樹立と病態モデル研究、濱田 充子、岡本 哲治、日本細胞生物学会大会講演要旨集 69 回 138 頁(2017 年 5 月)
8. Nivolumab 投与中に口腔粘膜炎を発症した 1 例、伊藤 奈七子、岡本 哲治、日本癌治療学会学術集会抄録集 55 回 157 頁(2017 年 10 月)
9. リプログラミングを応用したがん幹細胞研究 テトラサイクリン誘導性リプログラミングシステムを用いたがん幹細胞の休眠・再発モデル、嶋本 顕、濱田 充子、岡本 哲治、組織培養研究 36 巻 3 号 85 頁(2017 年 5 月)
10. 活性型ビタミン D3 ($1\alpha, 25$ (OH)2D3) とその誘導体エルデカルシトール(ED-71)の口腔扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果の検討、鷹津冬良、岡本 哲治、第 52 回日本口腔組織培養学会 徳島大学 2015 年 11 月 21 日
11. 口腔扁平上皮癌細胞(OSCC)における rBC2LCN の癌幹細胞マーカーとしての有用性の検討、中峠 洋隆、濱田 充子、岡本 哲治、第 69 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会 大阪国際会議場 2015 年

4 月 21 日

[図書] (計 1 件)

[図書] 産学・地域連携と人材育成、大学はコミュニティーの知の拠点になれるか一少子化・人口減少時代の生涯学習—岡本 哲治 (編著者: 上杉孝實、香川正弘、河村能夫、350 ページ 2016, 株式会社ミネルバエ書房

[産業財産権]

○出願状況 (計 4 件)

名称: 癌リスクの判定方法、
発明者: 岡本 哲治、谷亮治、大友剛、徳丸浩一郎、

出願人: 広島大学、
共同出願人: 日本ケフィア株式会社

特許出願: 特願 2018-084480

基礎出願日 2018 年

国内外の別: 国内

名称: 癌治療後に予後良好群に属するかを判定する方法及び若年性癌発症リスク群に属するかを判定する方法、

発明者: 岡本 哲治、谷亮治、徳丸浩一郎、

出願人: 広島大学、

共同出願人: 日本ケフィア株式会社

特許出願: 特願 2018-084491

基礎出願日 2018 年

国内外の別: 国内

名称: 癌治療生存率向上剤、

発明者: 岡本 哲治、谷亮治、徳丸浩一郎、

出願人: 広島大学、

共同出願人: 日本ケフィア株式会社

特許出願: PCT/JP2017/038961

出願日 2017 年

国内外の別: 国外

名称: 癌治療生存率向上剤

発明者: 岡本 哲治、谷亮治、徳丸浩一郎

出願人: 広島大学、

共同出願人: 日本ケフィア株式会社

種類: 特願 2016-210972

出願年月日: 2016 年

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 哲治 (OKAMOTO TETSUJI)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究科・

教授

研究者番号: 00169153

(2) 研究分担者

林堂 安貴 (HAYASHIDO YASUTAKA)

広島大学・病院・講師

研究者番号: 70243251

(3) 連携研究者

()

研究者番号: