

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11669

研究課題名(和文) 腫瘍内不均一性を反映する新たな薬剤感受性評価システムの構築

研究課題名(英文) Development of Novel Assay Systems to Evaluate Drug Sensitivity and Resistance that Reflects Tumor Heterogeneity

研究代表者

大山 和美 (Ohyama, Kazumi)

岡山大学・歯学部・博士研究員

研究者番号：00253021

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「腫瘍内不均一性を反映する新たな薬剤感受性評価システムの構築」を目的とし、成果として、上皮環境転換(EMT)制御機構、エクソソーム機能解析法、およびオルガノイド培養システムを確立した。この手法に基づき、三次元癌オルガノイドにおけるIn Vitro腫瘍内低酸素環境における脂質排出ポンプABCG1および低酸素誘導因子HIF-1の発現と癌促進機能、エクソソーム等細胞外小胞分泌に基づく新規薬剤耐性機構、癌幹細胞様オルガノイドの遺伝子発現プロファイルおよび薬剤耐性、を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、エクソソームによって分子標的抗体薬(抗EGFR抗体セツキシマブ)が排出されることが解明された。同様の薬剤耐性機構が、免疫チェックポイント阻害剤でも起こると想定される。従って、エクソソーム性薬剤耐性機構は今後の医学において重要課題を示すこととなった。癌種に限定されない難治性癌・転移性癌の共通分子基盤として同定した細胞外HSP90およびEpCAMエクソソームは、学術的に広く汎用性の高い指標と言える。多剤耐性遺伝子ABCG2と共発現する脂質排出ポンプABCG1がエクソソーム脂質排出に関わるという独自の発見は、今後の脂質代謝研究・エクソソーム研究を加速すると目される。

研究成果の概要(英文)：We aimed to establish a novel system to evaluate drug sensitivity and resistance that reflects intratumoral heterogeneity. We demonstrated: 1) a novel cancer exosome-driven epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), 2) pro-tumorigenic roles of the lipid excretion pump ABCG1 and hypoxic inducible factor 1 alpha (HIF-1) in the intratumoral hypoxic environment in three-dimensional cancer organoids, 3) a novel exosome-driven drug resistance mechanism by which antibody-based drugs such as anti-EGFR medication (cetuximab) is secreted with exosomes from resistant cancer cells, and 4) gene expression profile of cancer stem cell-like organoids and drug resistance to cisplatin.

研究分野：病態系口腔科学、外科系歯学、薬理学、分子腫瘍学

キーワード：癌オルガノイド(Tumoroid) 転移性頭頸部癌 転移性大腸癌 抗癌剤耐性(治療抵抗性) 細胞外小胞性薬剤耐性 エクソソーム 腫瘍随伴マクロファージ(TAM) M2型 薬剤排出ポンプABCG2 HSP90

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦においては、国民の約半数が生涯に一度はがんに罹患し、約 1/3 ががんにより死亡すると
の疫学調査の結果が報告されている。がんの早期発見・治療において、一定の成果が挙げられて
きたものの、転移と再発の問題が残されている。近年、癌幹細胞 (CSC) と腫瘍微小環境 (TME)
が関わる「がん治療抵抗性」指摘されている (Hanahan and Weinberg 2011 Cell)。

近年、上皮間葉転換 (EMT) や腫瘍内に存在する EpCAM/CD326 陽性の癌幹細胞様細胞 (CIC) および
エクソソームが、薬剤耐性等の腫瘍抵抗性に関与することが示唆されている。本課題では、
口腔扁平上皮癌 (OSCC)、去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) および転移性大腸がん (MCRC) におけ
る腫瘍抵抗性に着目し、「腫瘍内不均一性を反映する新たな薬剤感受性評価システム構築」を推
進することとした。腫瘍内不均一性を反映する新たな薬剤感受性評価システム構築のためには、

腫瘍抵抗性に関わる腫瘍微小環境への深い理解、生体再現性が高く、高感度・高効率のレ
ポーターシステムの発明の 2 点が必要と考えられていた。については、薬剤耐性や腫瘍抵抗性
に関わる細胞として腫瘍関連マクロファージ (TAM) の役割が示唆されている。我々は OSCC 細胞
から分泌された HSP90 およびエクソソームが TAM に伝達され、TAM の機能を変容させる可能性を
見出し、これについて詳細に検討することとした。については、種々の癌細胞および腫
瘍微小環境を構成する細胞 (マクロファージ、線維芽細胞、間葉系幹細胞、血管内皮細胞等) に、
エクソソームを標識する蛍光または発光レポーターを恒常的に組み込み、汎用性が高く高感度・
高効率のレポーターシステムを作製して本研究を推進することとした。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の通りである。

- (1) 本研究は、腫瘍微小環境および腫瘍内不均一性における癌幹細胞 (CSC) 特性ならびに
その代謝活性等の評価を基に最適化した薬剤感受性試験の選択を可能とし、個別の癌におけ
る治療抵抗性予測・評価システムを構築することを目的とする。
- (2) CSC マーカー発現、代謝活性、3D 培養による spheroid 形成能、抗がん剤排出活性等の
細胞特性プロファイリングを確立し、薬剤感受性・耐性を評価する。
- (3) CSC 特性と薬剤抵抗性に関連する候補分子の Loss-of-Function による薬剤抵抗性への
影響について検討を行う。さらに、腫瘍微小環境に関与する液性因子の検討を行う。
- (4) 単層培養と比較し、生体内腫瘍微小環境を如実に再現しうる腫瘍オルガノイドの作製
を推進する。
- (5) 転移性頭頸部癌と転移性大腸癌を対象とし、癌オルガノイド (Tumoroid, スフェロイド)
を基盤とした薬剤評価システム構築および腫瘍微小環境の鍵を握る腫瘍随伴マクロファージ
(TAM) を検討する。

3. 研究の方法

- (1) **細胞** マウス大腸癌細胞株 Colon26、その高転移性亜株 LuM1 および非転移性亜株 NM11、
マウス由来細胞株 (RAW264.7, RAW-D, MC3T3-E1)、ヒト頭頸部癌細胞株 (HSC-3, 高転移性亜
株 HSC-3-M3 等) とヒト口腔上皮細胞株 (RT7)、ヒト白血病由来単球様細胞株 THP-1 およ
びこれを PMA で刺激後に分化したマクロファージ様細胞、を用いた。
- (2) **MMP9 プロモーター駆動性 ZsGreen 発現細胞の樹立** マウス MMP9 遺伝子のプロモータ
ー領域約 600bp を ZsGreen 遺伝子に接続し、LuM1 細胞にプラスミド導入後、安定形質レ
ポーター細胞を樹立した。
- (3) **三次元培養 (スフェロイド・オルガノイド)** ナノカルチャープレート (NCP) および
低吸着 (ULA) プレートを用いた。培地は、10% 血清入り DMEM または mTeSR1 幹細胞用培
地を用いた。エクソソーム抽出の 24~48 時間前に無血清培地に交換した。細胞播種の翌
日から 14 日後までの細胞凝集体をキーエンス社製顕微鏡 BZ-X で写真撮影した。オルガ
ノイド形成のライブイメージング解析では、アレイスキャンシステムを用いて 72 時間
までの In vitro 腫瘍形成およびエクソソーム取込みを定量解析した。
- (4) **In vitro 腫瘍形成アッセイ** 三次元培養した、スフェロイド・オルガノイドを写真撮
影し、大きさおよび数を定量した。蛍光標識細胞の 1 ウェル当たりの蛍光強度および蛍
光面積を ArrayScan システムを用いて定量した。
- (5) **細胞の遊走アッセイ、浸潤アッセイ** Transwell システムを用いて、マトリゲルなし
(遊走) およびマトリゲル有 (浸潤) のアッセイを実施した。
- (6) **細胞増殖、生存性、細胞ダメージ** 細胞数計測 (細胞増殖) ATP 量測定 (生存性、
Viability) LDH 活性 (細胞ダメージ) 測定により定量した。
- (7) **上皮間葉転換の解析** 二次元培養した細胞の顕微鏡写真において、細胞直径 80nm 以上
または 100 nm 以上を紡錘形細胞として、一視野におけるその割合を定量した。
- (8) **抗体** 下記抗体を、免疫染色、フローサイトメトリー、クロマチン免疫沈降、ウェスタン
ブロッティングに用いた。

細胞ストレス関連: CDC37, HSP90-Alpha, HSP90-Beta

ヒストン: ヒストン H3

シグナル伝達分子 (STAT3, p-STAT3, NF-kB p65, カテニン)

エクソソームおよび多小胞体 (MVB) マーカー: CD9, CD63, CD81, EpCAM

EGFR (上皮マーカーおよびEGFR陽性癌細胞マーカー)
 細胞増殖マーカー (Ki-67)
 転移性マーカー (MMP3、PEX ドメイン)
 血管新生、マクロファージ、転移性マーカー (MMP9)
 マクロファージマーカー: M0 マクロファージ (CD14、CD68、MMP9)、M2 型マクロファージマーカー (CD326)、M1 型マクロファージマーカー (CD80)
 低酸素マーカー: HIF-1 (および低酸素プローブ LOX-1)
 脂質排出ポンプ ABCG1
 内在性コントロール: GAPDH、アクチン、COX-4

- (9) **免疫染色** 二次元培養細胞および三次元癌オルガノイドを固定後、切片を作成し、HE 染色および免疫染色し、タンパク質の発現と局在の定性解析には Zeiss 社製の LSM780 META 共焦点レーザー顕微鏡を用い、定量解析にはアレイスキャンシステムを用いた。
- (10) **フローサイトメトリー** 上記抗体を用い CD44v9、CD14、CD68、CD80、CD326 を解析した。細胞内タンパク質解析では NP-40 で浸透化した。細胞の大きさおよび複雑性を解析した。
- (11) **Side Population (SP) 解析** Hoechst33342 低染色性 (排出性) の癌幹細胞様 SP は FACS キャリバー (BD 社製) で検討した。ABCG2 阻害薬ベラパミルを細胞に作用させて SP 減少を定量した。
- (12) **細胞外小胞 (エクソソーム等) の抽出** 超遠心法、ポリマー沈殿 (PBP) 法と濃縮フィルターを組合わせた mPBP 法、PS アフィニティー法、サイズ除外クロマトグラフィー (SEC) 法と濃縮フィルターを組合わせた SEC-CF 法を用い、これらを比較した。また、非細胞外小胞画分も調製した。基本特性は、タンパク質量 (micro-BCA)、ネガティブ染色後に透過型電子顕微鏡 (日立 H-7650) での写真撮影、ゼータサイザーを用いての粒子径分布解析を実施した。
- (13) **SDS-PAGE およびウェスタンブロットティング** 上記抗体を用い、通法で行った。
- (14) **薬剤** PMA (TPA)、LiCl、5 フルオロウラシル、デキサメタゾン、シスプラチン、カルボプラチンを用いた。
- (15) **RNAi** ヒト (HSP90-alpha、HSP90-beta、CDC37)、マウス (MMP3、MMP9、ABCG1) を標的とする siRNA を 2 種類ずつ設計し、合成した。2 種類の siRNA の混合物を細胞に導入した。
- (16) **遺伝子導入** 電気穿孔法では NEPA21 を用いて、細胞種毎に条件最適化してから、遺伝子導入を行った。試薬による遺伝子導入では Lipofectamin 3000 を用いた。
- (17) **qRT-PCR 解析** ヒト遺伝子 (HSP90AA1、HSP90AB1、GAPDH) およびマウス遺伝子 (MMP3、MMP9、MMP2、MMP14、ABCG1、ABCG2、EpCAM/CD326、HIF1A、NANOG、SOX2、OCT4) に対する独自プライマーを設計して qRT-PCR 解析した。
- (18) **マイクロアレイ解析** Colon26、LuM1、NM11 を培養し、総 RNA を調製し、マイクロアレイ解析した。
- (19) **腫瘍形成と転移** LuM1、LuM1/m9、Colon26 細胞株を BALB/c マウスに同系移植し、皮下腫瘍および肺転移を解析した。遺伝子発現プラスミドあるいは siRNA を電気穿孔法で高効率遺伝子導入した培養細胞を、皮下移植し、腫瘍形成および転移を計測した。肺転移は、写真撮影、ノジュール形成およびその緑色蛍光、肺重量により定量した。
- (20) **臨床検体データベース** TCGA、Human Protein Atlas を検索し、カプランマイヤー曲線、遺伝子発現 患者予後相関を調査した。
- (21) **バイオインフォマティクスおよび統計** GraphPad Prism v8 を用い、ヒートマップ作製、Student's t-test (片側検定または両側検定) および ANOVA (分散分析) した。

4. 研究成果

(1) マウス高転移性大腸癌細胞を用いた研究成果

急速転移性マウス大腸癌細胞株 LuM1 においては、低転移性株 Colon26 および NM11 と比べて、治療抵抗性に寄与しうる CSC マーカーであるインテグリン群、抗がん剤排出ポンプを含む数種の ABC トランスポーターファミリーメンバー、低酸素耐性に寄与する HIF-1 の遺伝子発現レベルが高いことが明らかとなった (Namba, Eguchi et al 2018 Front Oncol)。

マウス大腸癌 (MCRC) オルガノイドでは多剤耐性遺伝子 ABCG2 / BCRP 発現上昇と同時に脂質排出ポンプ ABCG1 の発現上昇を認め、ABCG1 によるエクソソーム脂質排出は MCRC の抵抗性および腫瘍形成能を上昇させることが判明した。またマイクロアレイデータベース解析から、ABCG1 発現上昇が CRPC、OSCC、および乳癌の予後不良と相関し、予測因子として有用である可能性を示唆した (Namba, Eguchi et al 2018 Front Oncol)。

癌オルガノイドは、中心から表層へと立体的レイヤー構造をとり、中心部は増大に伴い低酸素となった後、壊死が起こる。一方、表層付近では Ki67 陽性細胞が増殖する。高凝集性転移性大腸癌細胞 LuM1 オルガノイドは、二次元培養細胞と比べて、細胞外小胞 (EV) 高産生であり、エクソソームだけでなく直径 200nm ~ 500nm の大オンソームを分泌した (Taha, Eguchi et al 2020 Cancers)。したがって、癌オルガノイドは「細胞外小胞性薬剤耐性」研究にも有用である。

同オルガノイドは、薬剤排出ポンプ ABCG2 を高発現し、抗癌剤低感受性であった。シスプラチン耐性どころか、シスプラチンやイマチニブによって癌オルガノイド形成が促進された。5 フルオロウラシル (5-FU) は、癌オルガノイドを縮小したものの、MMP9 発現が亢進したため、5-FU 耐性細胞は、転移性を維持すると考えられた。同オルガノイドは、転移性マーカー (MMP3/9, EGFR, インテグリン), 癌幹細胞マーカー (Notch リガンド, オンコスタチン M 受容体, ポドプラニン, STAT3/1/5, EpCAM, Muc1, ALDH1), 多能性幹細胞マーカー (Sox4, Sox7, N-Myc, GATA3, Nanog, Oct4) を高発現した (Sogawa, Eguchi et al 2021 Cells)。以上より、高転移性かつ CSC 特性の高い癌細胞集団は、高い可塑性を有し、環境に応じて薬剤感受性を変化させることが示唆された。

(2) ヒト転移性頭頸部癌細胞を用いた研究成果

転移性の異なる OSCC 細胞株に由来するエクソソームのプロテオミクスを実施し、がん細胞生存因子 HSP90Alpha および HSP90Beta を同定し、臨床検体データベース解析により予後予測バイオマーカーとしての可能性を示した (Ono, Eguchi et al 2018 J Cell Biochem)。

エクソソーム等の細胞外小胞には、細胞外マトリックス、膜輸送因子、癌関連因子、転写因子等も含まれることが明らかとなり、今後の解析が期待される (Ono, Eguchi et al 2018 J Cell Biochem)。

OSCC 細胞に由来するエクソソームは、OSCC 細胞の EMT を促進しただけでなく、正常口腔上皮細胞株の EMT をも誘導したため、エクソソーム中に癌化因子が含まれると考えられた (Fujiwara, Eguchi et al 2018 Oral Oncol)。

OSCC エクソソーム誘導性 EMT は、抗 EGFR 抗体薬セツキシマブによって一部阻害できたものの、セツキシマブが OSCC エクソソームとともに分泌されるという新規薬剤耐性機構を発見した (Fujiwara, Eguchi et al 2018 BBRC)。

転移性癌・難治性癌に共通の腫瘍抵抗性分子基盤として、細胞外 HSP90 の分泌および EpCAM エクソソームの増加が判明した (Eguchi, Sogawa et al 2018 PLOS One; Ono, Eguchi et al 2018 J Cell Biochem)。

分子レベルでは、長年 CIC マーカーとされてきた CD44 に代わって CD44 ヴァリアントが新規 CIC マーカーであることを示せた (Eguchi* et al 2018 PLOS One)。

腫瘍随伴マクロファージ (TAM) は、転移性頭頸部癌 (舌癌) 患者の臨床検体では、腫瘍内部へと浸潤した TAM 検出され、HSP90 高陽性であった。マクロファージは、他の細胞種 (単球, 線維芽細胞, 癌細胞自身) と比べて、エクソソーム分子取込み効率が高い。実際に、転移性口腔癌細胞由来 HSP90 陽性エクソソームをマクロファージが取込んで M2 型 TAM に分極した (Ono, Eguchi et al 2020 J Extracell Vesicles)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 16件／うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Ono K, Sogawa C, Kawai H, Tran MT, Taha EA, Lu Y, Oo MW, Okusha Y, Okamura H, Ibaragi S, Takigawa M, Kozaki K, Nagatsuka H, Sasaki A, Okamoto K, Calderwood SK, Eguchi T	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Triple knockdown of CDC37, HSP90-alpha, and HSP90-beta diminishes extracellular vesicles-driven malignancy events and macrophage M2 polarization in oral cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Extracell Vesicles	6. 最初と最後の頁 1769373
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/20013078.2020.1769373.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Okusha Y, Eguchi T, Tran MT, Sogawa C, Yoshida K, Itagaki M, Taha EA, Ono K, Aoyama E, Okamura H, Kozaki KI, Calderwood SK, Takigawa M, Okamoto K.	4. 巻 12(4).
2. 論文標題 Extracellular Vesicles Enriched with Moonlighting Metalloproteinase Are Highly Transmissive, Pro-Tumorigenic, and Trans-Activates Cellular Communication Network Factor (CCN2/CTGF): CRISPR against Cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers (Basel).	6. 最初と最後の頁 pii: E881.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers12040881.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Eguchi T, Sogawa C, Ono K, Matsumoto M, Tran MT, Okusha Y, Lang BJ, Okamoto K, Calderwood SK.	4. 巻 9(3).
2. 論文標題 Cell Stress Induced Stressome Release Including Damaged Membrane Vesicles and Extracellular HSP90 by Prostate Cancer Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells.	6. 最初と最後の頁 pii: E755.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells9030755.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Eguchi T, Taha EA, Calderwood SK, Ono K.	4. 巻 9(3).
2. 論文標題 A Novel Model of Cancer Drug Resistance: Oncosomal Release of Cytotoxic and Antibody-Based Drugs.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology (Basel).	6. 最初と最後の頁 pii: E47.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biology9030047.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Sogawa C, Eguchi T, Tran MT, Ishige M, Trin K, Okusha Y, Taha EA, Lu Y, Kawai H, Sogawa N, Takigawa M, Calderwood SK, Okamoto K, Kozaki KI.	4. 巻 12(2).
2. 論文標題 Antiparkinson Drug Benztropine Suppresses Tumor Growth, Circulating Tumor Cells, and Metastasis by Acting on SLC6A3/DAT and Reducing STAT3.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers (Basel).	6. 最初と最後の頁 pii: E523.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12020523.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Seyama M, Yoshida K, Yoshida K, Fujiwara N, Ono K, Eguchi T, Kawai H, Guo J, Weng Y, Haoze Y, Uchibe K, Ikegame M, Sasaki A, Nagatsuka H, Okamoto K, Okamura H, Ozaki K.	4. 巻 1866(6)
2. 論文標題 Outer membrane vesicles of Porphyromonas gingivalis attenuate insulin sensitivity by delivering gingipains to the liver.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.	6. 最初と最後の頁 165731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbadis.2020.165731.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Taha EA, Ono K, Eguchi T.	4. 巻 20(18).
2. 論文標題 Roles of Extracellular HSPs as Biomarkers in Immune Surveillance and Immune Evasion.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 pii: E4588.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20184588.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshida S, Kawai H, Eguchi T, Sukegawa S, Oo MW, Anqi C, Takabatake K, Nakano K, Okamoto K, Nagatsuka H.	4. 巻 8(7).
2. 論文標題 Tumor Angiogenic Inhibition Triggered Necrosis (TAITN) in Oral Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells.	6. 最初と最後の頁 pii: E761.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells8070761.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sogawa C, Eguchi T, Okusha Y, Ono K, Ohyama K, Iizuka M, Kawasaki R, Hamada Y, Takigawa M, Sogawa N, Okamoto K, Kozaki KI.	4. 巻 25(19-20)
2. 論文標題 A Reporter System Evaluates Tumorigenesis, Metastasis, -catenin/MMP Regulation, and Druggability.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tissue Eng Part A.	6. 最初と最後の頁 1413-1425.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ten.TEA.2018.0348.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu R, Ibaragi S, Eguchi T, Kuwajima D, Kodama S, Nishioka T, Okui T, Obata K, Takabatake K, Kawai H, Ono K, Okamoto K, Nagatsuka H, Sasaki A.	4. 巻 54(1)
2. 論文標題 Nicotine promotes lymph node metastasis and cetuximab resistance in head and neck squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Oncol.	6. 最初と最後の頁 283-294.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4631.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ono K, Eguchi T, Sogawa C, Calderwood SK, Futagawa J, Kasai T, Seno M, Okamoto K, Sasaki A, Kozaki KI.	4. 巻 119(9)
2. 論文標題 HSP-enriched properties of extracellular vesicles involve survival of metastatic oral cancer cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cellular Biochemistry	6. 最初と最後の頁 7363-7376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.27039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujiwara T, Eguchi T, Sogawa C, Ono K, Murakami J, Ibaragi S, Asami JI, Okamoto K, Calderwood SK, Kozaki KI.	4. 巻 503
2. 論文標題 Anti-EGFR antibody cetuximab is secreted by oral squamous cell carcinoma and alters EGF-driven mesenchymal transition.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1267-1272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.07.035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujiwara T, Eguchi T, Sogawa C, Ono K, Murakami J, Ibaragi S, Asaumi J, Calderwood SK, Okamoto K, Kozaki K.	4. 巻 86
2. 論文標題 Carcinogenic epithelial-mesenchymal transition initiated by oral cancer exosomes is inhibited by anti-EGFR antibody cetuximab.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 251-257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2018.09.030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Eguchi T, Sogawa C, Okusha Y, Uchibe K, Iinuma R, Ono K, Nakano K, Murakami J, Itoh M, Arai K, Fujiwara T, Namba Y, Murata Y, Ohyama K, Shimomura M, Okamura H, Takigawa M, Nakatsura T, Kozaki KI, Okamoto K, Calderwood SK.	4. 巻 13 (2)
2. 論文標題 Organoids with cancer stem cell-like properties secrete exosomes and HSP90 in a 3D nanoenvironment.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0191109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0191109. eCollection 2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Namba Y, Sogawa C, Okusha Y, Kawai H, Itagaki M, Ono K, Murakami J, Aoyama E, Ohyama K, Asaumi J, Takigawa M, Okamoto K, Calderwood SK, Kozaki K, Eguchi T.	4. 巻 8 (376)
2. 論文標題 Depletion of lipid efflux pump ABCG1 triggers the intracellular accumulation of extracellular vesicles and reduces aggregation and tumorigenesis of metastatic cancer cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2018.00376	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Okusha Y, Eguchi T, Sogawa C, Okui T, Nakano K, Okamoto K, Kozaki KI.	4. 巻 119 (9)
2. 論文標題 PEX domain of MMP involves proliferation, migration, and metastasis of aggressive adenocarcinoma cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cellular Biochemistry	6. 最初と最後の頁 7350-7362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.27040	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu R, Ibaragi S, Eguchi T, Kuwajima D, Kodama S, Nishioka T, Okui T, Obata K, Takabatake K, Kawai H, Ono K, Okamoto K, Nagatsuka H, Sasaki A.	4. 巻 54(1)
2. 論文標題 Nicotine promotes lymph node metastasis and cetuximab resistance in head and neck squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 283-294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4631	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 T. Eguchi, C. Sogawa, Y. Okusha, K. Uchibe, R. Iinuma, K. Ono, K. Nakano, J. Murakami, M. Itoh, K. Arai, T. Fujiwara, Y. Namba, Y. Murata, K. Ohyama, M. Shimomura, H. Okamura, M. Takigawa, T. Nakatsura, K. Ichi Kozaki, K. Okamoto, S.K. Calderwood.	4. 巻 13(2): e0191109.
2. 論文標題 Organoids with cancer stem cell-like properties secrete exosomes and HSP90 in a 3D nanoenvironment, 2018.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0191109.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kisho Ono, Takanori Eguchi, Chiharu Sogawa, Stuart K Calderwood, Junya Futagawa, Tomonari Kasai, Masaharu Seno, Kuniaki Okamoto, Akira Sasaki and Ken-ichi Kozaki	4. 巻 119(9)
2. 論文標題 HSP-enriched properties of extracellular vesicles involve survival of metastatic oral cancer cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cellular Biochemistry	6. 最初と最後の頁 7350-7362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcb.27039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計39件(うち招待講演 4件/うち国際学会 10件)

1. 発表者名 江口 傑徳
2. 発表標題 シンポジウム: Heat Shock Proteinとがん温熱療法の前線, 「悪性腫瘍の微小環境におけるCDC37とHSP90の重要性 (Crucial roles of CDC37 and HSP90 in the resistance and microenvironment in tumor malignancy)」
3. 学会等名 第36回日本ハイパーサーミア学会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江口 傑徳
2. 発表標題 アップデートシンポジウム：がんの多様性と新規治療法への展望（誌上開催）, 「口腔癌の進展と抵抗性における細胞外小胞の重要な役割 (Crucial roles of extracellular vesicles in progression and resistance in oral cancer)」
3. 学会等名 第61回日本歯科基礎医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江口 傑徳
2. 発表標題 シンポジウム：顎口腔領域の発生と疾患に見る細胞間情報伝達機構の新たなカタチ, 「三次元腫瘍オルガノイドの開発と細胞外小胞の新機能」
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会（誌上開催）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 江口 傑徳
2. 発表標題 中枢神経作用薬に見出した抗癌作用 ～独創的研究を志して～
3. 学会等名 岡山大学歯学部第14期生卒後20周年記念同窓会記念講演（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takanori Eguchi, Kisho Ono, Chiharu Sogawa, Yuka Okusha, Eman Ahmed Taha, Manh Tien Tran, Yanyin Lu, Kuniaki Okamoto
2. 発表標題 Cancer exosomes initiate EMT involving drug resistance and tumorigenesis
3. 学会等名 TEM TIA IX The 9th EMT International Association Meeting, The 35th International Kumamoto Medical Bioscience Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eman A. Taha, Yuka Okusha, Chiharu Sogawa, Abdellatif El-Seoudi, Satoshi Kubota, Ayano Satoh, Kuniaki Okamoto, Takanori Eguchi
2. 発表標題 <Young Investigator Award受賞> Roles of MMP3-containing extracellular vesicles in tumorigenesis, CD9-exosome release, and cell-cell communication in cancer
3. 学会等名 The First International Symposium of Intercellular Communication and Extracellular Vesicles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yanyin Lu, Toshiki Nara, Chiharu Sogawa, Eman A Taha, Noa Matsuda, Kuniaki Okamoto, Takanori Eguchi
2. 発表標題 Monitoring of exosome using multiplexing fluorescent and bioluminescent reporter systems
3. 学会等名 The First International Symposium of Intercellular Communication and Extracellular Vesicles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chiharu Sogawa, Takanori Eguchi, Masayuki Ishige, Hotaka Kawai, Keisuke Nakano, Yuka Okusha, Norio Sogawa, Ken-ichi Kozaki, Kuniaki Okamoto
2. 発表標題 Drug repositioning using the three-dimensional tumor organoid monitoring system for anti-cancer drug screening
3. 学会等名 The First International Symposium of Intercellular Communication and Extracellular Vesicles (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eman A. Taha, Takaori Eguchi, Chiharu Sogawa, Kuniaki Okamoto
2. 発表標題 <Poster Competition Award受賞> Roles of MMP3 in Cargo Signature and Transmissive Activity of Cancer Extracellular Vesicles
3. 学会等名 The 4th International Symposium of Medical and Dental Education in Okayama (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江口傑徳, 十川千春, 難波友里, 奥舎有加, 河合穂高, 小野喜章, 板垣まみ, 村上純, 大山和美, 浅海淳一, 岡元邦
2. 発表標題 脂質・コレステロール排出ポンプ ABCG1 標的による腫瘍内エクソソーム蓄積および腫瘍縮小
3. 学会等名 第 92 回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 十川千春, 江口傑徳, 奥舎有加, 大山和美, 小野喜章, 十川紀夫, 岡元邦彰
2. 発表標題 MMP9 プロモーター活性を指標とした三次元培養システムを用いた抗がん剤スクリーニングによる薬剤再開発
3. 学会等名 第 92 回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江口傑徳, 小野喜章, 河合穂高, チャン マン, 十川千春, 奥舎有加, 岡元邦彰
2. 発表標題 口腔癌エクソソームによるマクロファージ分極および腫瘍悪性化における分子シャペロントリオの重要性
3. 学会等名 第6回日本細胞外小胞学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野喜章, 江口傑徳, 河合穂高, チャン マン, 十川千春, 奥舎有加, 岡元邦彰
2. 発表標題 口腔癌エクソソームによる腫瘍悪性化及びマクロファージM2分極における分子シャペロントリオCDC37/HSP90の重要性と標的性
3. 学会等名 第11回日本RNAi研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 エマン・タハ, 江口傑徳, 奥舎有加, 十川千春, アブレラティブ・エルソウディ, 久保田聡, 佐藤あやの, 岡元邦彰
2. 発表標題 細胞外小胞の積荷・伝達機能および腫瘍形成におけるMMP3の役割 (Roles of MMP3 in cargo signature and transmissive activity of cancer extracellular vesicles and in tumorigenesis)
3. 学会等名 第11回日本RNAi研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野喜章, 江口傑徳, 中野敬介, 河合穂高, 佐々木朗
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌診断・治療における分子シャペロンHSP90含有エクソソームの可能性
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥舎有加, 江口傑徳, エマン・タハ, 十川千春, 岡元邦彰
2. 発表標題 高転移性癌細胞で高発現するMMP3が有するCtgf/Ccn2発現調節機能と細胞外小胞との関連
3. 学会等名 第11回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 エマン・タハ、江口傑徳、奥舎有加、十川千春、アブレラティブ・エルソウディ、久保田聡、佐藤あやの、岡元邦彰
2. 発表標題 細胞外小胞の積荷・伝達機能および腫瘍形成におけるMMP3の役割
3. 学会等名 第11回日本CCNファミリー研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 十川千春, 江口傑徳, 大山和美, 奥舎有加, 中野敬介, 十川紀夫, 岡元邦彰
2. 発表標題 新しい腫瘍オルガノイド多元評価システムの開発
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 十川千春, 江口傑徳, Tran Tien Manh, 石毛真行, 河合穂高, 奥舎有加, 中野敬介, 十川紀夫, 小崎健一, 岡元邦彰
2. 発表標題 オルガノイドを応用したドラッグリポジショニング開発
3. 学会等名 第40回岡山歯学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 十川千春, 江口傑徳, Tran Tien Manh, 石毛真行, 河合穂高, 奥舎有加, 中野敬介, 十川紀夫, 小崎健一, 岡元邦彰
2. 発表標題 パーキンソン病治療薬の抗癌作用 (ドラッグリポジショニングの提案)
3. 学会等名 第45回岡山脳研究セミナー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 江口傑徳
2. 発表標題 RASP: 難治性がんに見られるストレス抵抗性と小胞/HSP分泌特性 (RASP: Resistance-associated secretory phenotype in refractory cancer)
3. 学会等名 第13回 日本臨床ストレス応答学会 シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eguchi T
2. 発表標題 New Approaches Revealing Novel Secretory Phenotype, Pathology, and Therapeutic Targets in Resistant / Refractory Cancer (最優秀発表賞受賞講演)
3. 学会等名 Brainstorming 2018 (岡山大学)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ono K, Eguchi T, Sogawa C, et al.
2. 発表標題 HSP-enriched properties of extracellular vesicles involve survival of metastatic oral cancer cells (細胞外小胞のHSPに富む特性は、転移性口腔癌細胞の生存を担う)
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会 International Session "The emerging role of exosome in carcinogenesis"
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 江口傑徳
2. 発表標題 オルガノイド研究の創薬応用
3. 学会等名 神戸再生医療勉強会 (公益財団法人神戸医療産業都市推進機構クラスター推進センター) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 江口傑徳
2. 発表標題 エクソソームの基礎, 最新知見, 展望 (Basic, latest findings, and future prospects of Exosomes)
3. 学会等名 第35回ARCOCSセミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eguchi T, Ono K, Sogawa C, Okusha Y, et al.
2. 発表標題 Secretion of Extracellular Vesicles with Heat Shock Proteins by Resistant Adenocarcinomas and Metastatic Oral Cancer
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia meeting for Biology of Extracellular Vesicles
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sogawa C, Eguchi T, Okusha Y, Nakano K, Namba Y, Ohyama K, et al.
2. 発表標題 Establishment of high metastatic evolved clone of adenocarcinoma cells with Mmp9 promoter-driven fluorescence reporter
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Wcp) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野喜章, 江口傑徳, 十川千春, 奥含有加, 他
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌診断・治療における分子シャペロンHSP90含有細胞外小胞の可能性 (モリタ優秀発表賞受賞)
3. 学会等名 第60回 歯科基礎医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤原敏史, 江口傑徳, 十川千春, 他
2. 発表標題 EGFR標的抗体薬セツキシマブによる口腔癌由来のEGFR陽性エクソソームの制御 (日本口腔科学会優秀ポスター賞受賞)
3. 学会等名 第72回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清水理恵子, 伊原木聡一郎, 江口傑徳, 他
2. 発表標題 ニコチンは口腔扁平上皮癌細胞のセツキシマブ耐性を促進する
3. 学会等名 岡山歯学会総会・学術集会 第39回
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 十川 千春, 江口傑徳, 小野 喜章, 奥舎 有加, 他
2. 発表標題 がん幹細胞特性をもつオルガノイドによるEPCAMエクソソームおよびHSP90の分泌 (Organoids with Cancer Stem Cell-like Properties Secrete EpCAM-Exosomes and H SP90 in a 3D NanoEnvironment)
3. 学会等名 日本癌学会学術総会 第77回
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 江口傑徳, 小野喜章, 奥舎有加, 十川千春, 他
2. 発表標題 癌の治療抵抗性と転移におけるHSP90およびMMP3の役割 (Roles for HSP90 and MMP3 in tumor resistance and metastasis)
3. 学会等名 歯科基礎医学会 第60回
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 難波友里, 江口傑徳, 村上純, 十川千春, 浅海淳一, 小崎健一
2. 発表標題 転移性癌細胞クローンの薬剤耐性
3. 学会等名 第71回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野喜章、江口傑徳、十川千春、村上純、藤原敏史、笠井智成、妹尾昌治、佐々木朗、小崎健一、岡元邦彰
2. 発表標題 転移能の異なる2種類の舌癌細胞株由来エクソソームの比較検討
3. 学会等名 第9回日本RNAi研究会 第4回日本細胞外小胞学会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kisho Ono, Takanori Eguchi, Chiharu Sogawa, Jun Murakami, Toshifumi Fujiwara, Tomonari Kasai, Masaharu Seno, Jun-ichi Asaumi, Akira Sasaki, Ken-ichi Kozaki
2. 発表標題 舌癌細胞株由来エクソソーム解析による頸部リンパ節転移マーカーの探索
3. 学会等名 日本癌学会学術集会2017（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野喜章、江口傑徳、十川千春、村上純、藤原敏史、笠井智成、妹尾昌治、佐々木朗、小崎健一、岡元邦彰
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌細胞由来エクソソームに含まれる分子シャペロンについての検討
3. 学会等名 臨床ストレス応答学会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 難波友里、江口傑徳、十川千春、奥舎有加、村上純、浅海純一、岡元邦彰、小崎健一
2. 発表標題 薬剤耐性遺伝子を標的としたがん幹細胞制御
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会（日本分子生物学会年会・日本生化学会大会）ConBio 2017（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野喜章, 江口傑徳, 十川千春, 村上純, 藤原敏史, 笠井智成, 妹尾昌治, 佐々木朗, 小崎健一, 岡元邦彰
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌細胞由来エクソソームに含まれるプロテオームの特性
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会 (日本分子生物学会年会・日本生化学会大会) ConBio 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野喜章, 江口傑徳, 佐々木朗
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌細胞株が分泌するエクソソーム中に見つかった腫瘍進展・転移因子
3. 学会等名 第36回 日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Takanori Eguchi, Kisho Ono, Kazumi Kawata, Kuniaki Okamoto, Stuart K. Calderwood.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 pp. 3-17
3. 書名 Regulatory Roles of HSP90-rich Extracellular Vesicles. In Heat Shock Protein 90 in Human Diseases and Disorders, Heat Shock Proteins, Vol. 19, Alexander A. A. Asea, Punit Kaur (Eds.)	

1. 著者名 Taka Eguchi, Benjamin J. Lang, Ayesha Murshid, Thomas Prince, Jianlin Gong and Stuart K Calderwood.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE.	5. 総ページ数 123
3. 書名 Regulatory Roles for Hsp70 in Cancer Incidence and Tumor Progression. In: Mario D. Galigniana (ed) Frontiers in Structural Biology, vol. 1. Role of Molecular Chaperones in Structural Folding, Biological Functions, and Drug Interactions of Client Proteins.	

1. 著者名 Toshiki Kijima, Takanori Eguchi, Len Neckers, Thomas L. Prince.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Humana Press, New York, NY.	5. 総ページ数 12
3. 書名 Chaperones. Methods in Molecular Biology. vol. 1709	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	江口 傑徳 (Eguchi Takanori) (20457229)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	
研究分担者	十川 千春 (Sogawa Chiharu) (10253022)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授 (15301)	
研究分担者	奥舎 有加 (Okusha Yuka) (50762027)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	ハーバード大学医学大学院	ベイスラエル・ディーコネス 医療センター	
エジプト	Ain Shams University		