

平成 22 年 3 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19390520

研究課題名（和文）：口腔癌のエピジェネティクス解析 DNA メチル化異常の解析と診断、治療への応用

研究課題名（英文）：Epigenetic investigation of oral squamous cell carcinoma  
- Application of epigenetic changes to cancer diagnosis and treatment -

研究代表者

篠原 正徳 （SHINOHARA MASANORI）

研究者番号：90117127

## 研究成果の概要：

癌において DNA メチル化によるがん抑制遺伝子の不活化が重要な役割をなしていることが判ってきている。今回の研究で、癌細胞の DNA メチル化異常の検索で癌の存在や癌の性質の診断が可能となることが示唆された。また、正常組織に蓄積した DNA メチル化異常を検索することで発癌リスクを診断することが可能となることが示唆された。さらに、腫瘍細胞の転写抑制を回復させる脱メチル化剤による治療の可能性が示唆された。

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	8,300,000	2,490,000	10,790,000
平成 20 年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：DNA メチル化、エピジェネティクス、がん抑制遺伝子、CpG アイランド、口腔扁平上皮癌、転移、薬剤耐性、CGH 分析

## 1. 研究開始当初の背景

癌は遺伝子の変異、すなわち特定の癌遺伝子や癌抑制遺伝子における DNA 塩基配列上の変異により、それらの本来の機能、制御が失活あるいは活性化し、正常な制御から逸脱することが主たる原因と考えられてきた。これらを検索する目的で、これまでわれわれは CGH 法を用いて扁平上皮癌のゲノムコピー数異常の解析を行ってきた。その結果、特定の染色体領域でのコピー数の増加が認められ、これらが癌の発生や悪性度、薬剤耐性機構と関連することが解明された。しかし、実際には染色体領域でのコピー数

の異常だけでは説明の付かない事象も多く認められ、塩基配列の変化を伴うことなく特定の遺伝子発現が変化し、この変化が細胞分裂後も維持され、結果的に癌の発生や発育、病態に関わる可能性が示唆された。正常細胞ではほとんどのプロモーター領域 CpG アイランド(CGI)は脱メチル化状態に保たれている。しかし、癌細胞では、一部の CGI が異常にメチル化されている。この異常メチル化された CGI がプロモーター領域にある場合、下流の遺伝子はサイレンシングされる。癌抑制遺伝子の不活化機構としてこれまでは突然変異や染色体欠失が重要な原因とし

て考えられてきたが、このサイレンシングによる癌抑制遺伝子の不活化の方が高頻度に認められることが判ってきた。口腔癌とも関連する p16、RB、CDH1、TSLC1 などの癌抑制遺伝子もこのサイレンシングで不活化されると考えられている。このことは、遺伝子発現の増幅を決めるのは転移因子の働きであるが、遺伝子発現のオン/オフを決めるのは DNA メチル化とクロマチン構造である可能性を示している(Egger 2004)。そして、実際にエピジェネティクスを制御するのは DNA の化学修飾(メチル化)とヒストンの翻訳後修飾によるクロマチン(DNA とタンパク質の複合体)に生じる化学修飾が本体で、これが重要な働きをしていると考えられる。それゆえ、こうした修飾反応を解明することによって、癌の病態を明かにし、さらに治療への活用を可能とすることが期待できる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、(1)DNA メチル化異常の診断的応用と、(2)DNA メチル化異常の治療的応用である。診断への応用としては、癌の存在診断、癌の性質診断、発癌リスク診断などであり、治療への応用としては、脱メチル化剤による治療の検討である。

### (1) DNA メチル化異常の診断的応用

癌の存在診断: 癌細胞または癌由来の DNA を、DNA メチル化異常をもつ DNA として検出し、癌の存在を診断する。DNA メチル化異常は多くの非メチル化 DNA が混在する場合でも MSP 法で高感度に検出可能である。それゆえ、病巣部(前癌病変部、腫瘍性病変部)の細胞、唾液やさらに血漿中に存在する癌由来の遊離 DNA を利用して検出が可能である。そこで、扁平上皮癌で高頻度にメチル化異常を示す CGI 出現状態を検索する。

癌の性質診断: DNA のメチル化異常が癌細胞の性質に関連することがある。また、CGI がメチル化される性質それ自体が臨床に有用な情報との報告もある。これらの点に着目し、癌細胞のメチル化されている CGI の差異と臨床病態との関連性について検索する。さらに、これまでに検索してきた CGH 法により検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化異常の状態を検索し、両者の関連性を検討する。

発癌リスク診断: 正常な組織に蓄積した DNA メチル化異常を利用して発癌リスクを診断する。前癌病変組織では一部の CGI のメチル化が高度に認められたとの報告がある。そこで、正常粘膜組織ならびに各種の前癌病変での蓄積した DNA メチル化異常を検索し、CGH 法による遺伝子解析結果と比較検討する。

(2) DNA メチル化異常の治療的応用: DNA がメチル化された領域は凝縮したクロマチン構造に誘導されるヒストン修飾がおこる。そして、DNA メチル化やクロマチン凝縮により、遺伝子領域は不活性となり、転写因子の有無にかかわ

りなく遺伝子発現はみられなくなる。ゲノム上には多数の DNA メチル化が起こり、その際メチル化シトシン結合タンパク質やヒストン修飾酵素が重要な働きをもつ。ヒストンアセチル化のレベルはアセチル化酵素(HAT)と脱アセチル化酵素(HADC)によって制御され、HADC は DNA メチル化酵素(DNMT)などと協同してサイレンシングと発癌に関与する。しかし、クロマチン修飾を介したエピジェネティクスは DNA の塩基置換と異なり、可逆的な過程であり、その異常を修復することが可能である。DNA メチル化酵素(DNMT)阻害剤によって DNA メチル化を抑え、HADC 阻害剤によってアセチル化を誘導する併用療法を行うと、転写抑制を回復させることができ治療への応用が可能である。

脱メチル化剤による治療: メチル化による癌抑制遺伝子のサイレンシングを解除すれば、治療効果が期待できると予想される。脱メチル化剤 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-dC. : Decitabine)は、低用量、持続的投与によって脱メチル化剤としての作用を発揮する。そこで、扁平上皮癌を脱メチル化剤 5-aza-2'-deoxycytidine で処理し、その生物学的動態の変化ならびに脱メチル化された CGI の状態について検討する。

## 3. 研究の方法

今回の検索では、DNA メチル化異常のゲノム網羅的な解析は MS-RDA 法で、個々の遺伝子のメチル化状態の解析は Methylation-specific PCR (MSP)法にて行う。

遺伝子の解析は(1)CGH 分析による遺伝子領域の増幅(コピー数)の異常(CNA)の解析、(2)STS(sequence tagged sites)マーカーを用いての遺伝子領域のポジショナルクローニング、(3)染色体領域内の遺伝子の定量的 RT-PCR により測定、(4)CGH アレイおよび cDNA アレイ解析による検索、(5)LSC(laser scanning cytometry)法を用いて FISH シグナルの定量、遺伝子コピー数変化の検索を行う。

(1) MS-RDA 法(methylation-sensitive representational difference analysis 法): 2つのゲノムについて、メチル化状態の違いを検出する。ゲノム DNA をメチル化感受性の制限酵素で消化、ユニバーサルなアダプタを用いて増幅し、メチル化されていない CpG に富むゲノム領域のライブラリーを作製する。次に、2つの材料由来のライブラリーを、ゲノムサブトラクション法である representational difference analysis 法により比較することで、メチル化により一方のライブラリーで消失している DNA 断片を分離する。

(2) Methylation-specific PCR (MSP)法: ゲノム DNA を重亜硫酸処理し、メチル化された C はそのままに、メチル化されていない C はウラシルに変換する。その違いを PCR 産物の有無で、メチル化 DNA および非メチル化 DNA の有無を判定する。しかし、MSP 法では定量性に問題があり、

この点を解消する目的で解析できる範囲は限られているがハイスループットな解析と定量が可能な Pyrosequencing 法を必要に応じて併用する。

(3) Comparative genomic hybridization (CGH) 法: 蛍光 insitu hybridization (FISH) 法の応用である CGH 法は腫瘍 DNA 中の遺伝子コピー数の増加ないしは減少を、1回のハイブリダイゼーションで同時に検出し、しかもそれらの領域をすべての染色体上にマッピングできる。すべての染色体において、ユニークシーケンスのコピー数の増加ならびに減少を同時に検出し、1回のハイブリダイゼーションですべての染色体の異常をスクリーニングし、1回の実験で単一座位をターゲットとする RFLP による遺伝子欠失の検索法よりも有利である。また、特別なプローブを必要とせず、未知の塩基配列のコピー数の変化が検出できる。このことから容易にいろいろの病型の腫瘍においてゲノムコピー数異常の解析を行うことが可能である。

1. DNA メチル化異常の診断的応用: 今回の検索では、(1)癌の存在診断、(2)癌の性質診断、(3)発癌のリスク診断について検討する。

(1)癌の存在診断: 癌細胞株で高頻度にメチル化異常を示す CGI 出現状態を検索する。さらに、CGH 法などにより検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化 DNA および非メチル化 DNA の有無を判定し、両者の関連性を検討する。臨床材料(癌患者の生検材料ならびに血漿中に存在する癌由来の遊離 DNA)を用いてメチル化異常を示す CGI 出現状態を検索する。

(2)癌の性質診断:

癌細胞株の内、高浸潤細胞株と低浸潤細胞株、高転移細胞株と非転移細胞株、薬剤耐性株と非耐性株でのメチル化されている CGI の差異について検索する。さらに、CGH 法などにより検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化異常の状態を検索し、両者の関連性を検討する。

癌患者の生検材料を用いて高浸潤症例と低浸潤症例、高転移症例と非転移症例、薬剤耐症例と非耐性症例でのメチル化されている CGI の差異について検索する。

(3)発癌リスク診断: 正常な組織に蓄積した DNA メチル化異常を利用して発癌リスクを診断する。正常粘膜組織ならびに各種の前癌病変よりの採取した材料を用いて蓄積した DNA メチル化異常を検索し、これらの結果を免疫組織染色で検索した各種の細胞増殖マーカーの結果、ならびに CGH 法などによる遺伝子解析結果と比較検討する。

2. DNA メチル化異常の治療的応用:

(1)脱メチル化剤による治療: メチル化による癌抑制遺伝子のサイレンシングを解除すれば、治

療効果が期待できると予想されることより以下の検索を行う。癌細胞株の内、高浸潤細胞株、高転移細胞株、薬剤耐性株を脱メチル化剤 5-aza-2'-deoxycytidine で処理し、浸潤能、転移能、薬剤耐性能が消失するかどうかを検索する。また、処理された細胞株と処理前の細胞株とでメチル化されている CGI の差異について検討する。さらに、CGH 法により検出されたコピー数の異常を示す染色体領域とメチル化異常の状態改善した領域との関連性を検討する。なお、臨床能の判定は細胞レベルの運動能、薬剤耐性能とヌードマウス内に移植した腫瘍細胞の病態で判定する。また、実験は細胞レベルでの処理と癌細胞を移植されたヌードマウスへの薬剤投与の両方で確認する。

4. 研究成果

1. DNA メチル化異常の診断的応用:

(1)癌の存在診断:

(A)癌細胞株、生検癌組織: CGH 法などにより検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化 DNA および非メチル化 DNA の有無の判定: CGH 分析結果: 癌抑制遺伝子: a) CDKN2B (p15)、CDKN2A (P16)、PTC、WT1、MLH1 の増加で浸潤、転移能の亢進が認められた。b) RB、CDH1 (E-カドヘリン) の増加で浸潤能の低下が認められた。c) P53、BRCA1 の低下で浸潤、転移能の低下が認められた。

MS-PCR 法検索結果: APC、ARF、BNIP3、BRCA1、CDKN2A (P16)、CDKN2B (P15)、CDH1 (E-cadherin)、CHFR、Cyclin D2、PTC、ER、FHIT、GSTP1、LOX、MGMT、MLH1、PTC、RARB、RASSF2A、RB、RUNX3、SFRP1、TSLC1、VHL、WT1、の癌抑制遺伝子について検索した。

その結果、扁平上皮癌細胞での DNA メチル化により著明に不活化されたがん抑制遺伝子は APC、ARF、BRCA1、CDH1、CDKN2A (p16)、CDKN2B (p15)、DAPK1、GSTP1、MLH1、MGMT、PTC、RASSF2A、RB、WT1、であった。以上より、多くの癌抑制遺伝子は染色体欠失・点突然変異によって不活化されると同様に、DNA メチル化異常によっても不活化されていた。

口腔扁平上皮癌ではがん細胞特異的な DNA メチル化異常が高感度で検出され、癌細胞の存在が診断可能である。しかし、癌で認められる DNA メチル化異常には、癌特異性が低いものも多く、癌細胞を本当に検出しているかどうかの確認することが必要である。

(B)唾液、血漿中に存在する癌由来の遊離 DNA を用いてのメチル化異常の検出:

a) 唾液でのメチル化異常の検出感度; APC (40%), ARF (27%), CDKN2A (37%), CDH1 (56%), CLDN5 (45%), DAPK1 (20%), MGMT (13%), NPTX2 (45%), RERB (25%), RASSF1A (15%), SARP2 (45%) であった。b) 唾液腺洗浄液; APC (45%), ARF (38%), CALCA (27%), CCND2 (37%), CDKN2A (24%),

CDH1 (35%), DCC (15%), GSTP1 (36%), MGMT (50%), MINT31 (25%), RASSF1A (15%), RBM6 (45%), RARB (27%)であった。

c) 血漿中の遊離 DNA 分子での検出: APC (25%), CDKN2A (INK4A) (8%), DAPK1 (3%), DAPK1 (18%), GSTP1 (5%), MGMT (18%)であった。

口腔扁平上皮癌の場合は、唾液、唾液腺洗浄液の検索からもこれらの遺伝子の異常メチル化の診断は可能であり、がん細胞特異的な DNA メチル化異常の検索で癌の存在が診断可能である。

(2) 癌の性質診断: 口腔扁平上皮癌症例中より、転移症例 40 例、非転移症例 50 例、山本小浜の発育浸潤様式 4 型 20 例、1, 2 型 25 例と、さらに、非転移細胞株群、転移細胞株群、高度転移細胞株群、薬剤耐性株について検索した。口腔扁平上皮癌由来 CDDP 感受性培養細胞株 (CDDP に対する IC50 値: 350ng/ml) とそれより誘導された耐性細胞株 (CDDP に対する IC50 値: 1100ng/ml) を、さらにこの耐性細胞から樹立した高度耐性細胞株 (CDDP に対する IC50 値: 10000ng/ml) を使用した。

(A) 転移能: 1) 転移、高度転移細胞株群で CAN の増加が認められ、FISH シグナルの遺伝子コピー数変化を認めた染色体領域と遺伝子は 1q25 (GLUL) 5p13 (SKP2) 8q24 (c-myc) 9p21 (P16) 9q22 (PTC) 15q24.3 (BL2A1) 17q21 (erbB2) 17q25.3 (EVIN1) 18p11 (GNAL) 20q13.2 (ZNF217) 20p23 (CST3) の内、高度転移細胞株群でのみ増幅が認められた染色体領域は 11p13 (WT1) 13q11-q12 (GF9) 15q24 (SH3GL3) Xq22 (GAL) Xp22 (DIAPH2) であった。

MS-PCR 法検索でメチル化異常が認められた遺伝子: a) HER2 (ERBB2) (17q21), c-MYC 遺伝子 (8q24), MTSS1 (8q22), TIMP3, CDKN2B (p15), CDKN2A (P16), PTC, WT1, MLH1 の増加で転移能の亢進が認められた。

2) 転移細胞株群、高度転移細胞株群で CAN の低下がみられた領域は 8q13 (TERF1) 16q22 (E-カドヘリン) 17pter-q21 (BRCA1) Xp22 (COL4A6) であった。DNA メチル化異常: a) RB, CDH1 (E-カドヘリン) の増加で転移能の低下が認められた。b) P53, BRCA1 の低下で転移能の低下が認められた。

(B) 浸潤能: 高浸潤症例で CGH 法において増幅が認められた遺伝子は 1q25 (GLUL) 5p13 (SKP2) 13q11-q12 (GF9) 15q24 (SH3GL3) 20q13.2 (ZNF217) Xp22 (DIAPH2) であった。

MS-PCR 法検索でメチル化異常が認められた遺伝子: a) HER2 (ERBB2), c-MYC, サイクリン D1 (CCND1), SFRP1, SFRP2, RASSF2, MTSS1, CDKN2B (p15), CDKN2A (P16), PTC, WT1, MLH1 の増加で浸潤能の亢進が認められた。b) RB, CDH1 (E-カドヘリン) の増加で浸潤能の低下が認められた。c) P53, BRCA1 の低下

で浸潤能の低下が認められた。

(C) 薬剤耐性能: 口腔扁平上皮癌の CDDP に対する薬剤耐性遺伝子の検索: CAN の増加が認められ、FISH シグナルの遺伝子コピー数変化を認めたもの: a) コピー数の増幅と薬剤抵抗性と関連性がみとめられた遺伝子領域: 6q22-24, 11q13, 14q, 1q21-22 領 (MUC1) 13q12-14 b) コピー数の減少と薬剤耐性は関係が示唆された領域: 6p13.1 (MRP) 17q13.1 (TP53) 17q25, 18q21.33 (BCL2, 20q13, Xp22.1-21) メチル化で薬剤感受性が下がる遺伝子: hMLH1, CHFR, HER2 (ERBB2), c-MY, SRC, MGMT, HRK, DAPK, BASSF2, BUB1, MAD2L1, MAD2L2, CENP-P, EB1

(D) 予後関連因子: CDKN2A, P16, RASSF1A, HIC-1, RARB, RASSF1A, GSTP1, CDH13, DNMT1, UCHL の高メチル化が関連する。a) p16, hMLH1, MINT1, MINT2, MINT25, MINT31 のメチル化は予後良好 b) APC, CCND2, GSTP1, RARB2, RASSF1A などのメチル化は予後不良と関連した。

3) 発癌リスク診断: 正常な組織に蓄積した DNA メチル化異常を利用しての発癌リスクを診断: CAN の増加が認められ、FISH シグナルの遺伝子コピー数変化を認めたもの: a) 前癌病変、癌組織で増幅認めたもの: 1q25 (GLUL) 5p13 (SKP2, 13q11-q12 (GF9) 15q24 (SH3GL3) 20q13.2 (ZNF217) Xp22 (DIAPH2) b) 癌組織のみで増幅が認められたもの: 11p13 (WT1) 13q11-q12 (GF9) 15q24 (SH3GL3) Xq22 (GAL) Xp22 (DIAPH2)

メチル化異常を認めたもの: a) 前癌病変部でもメチル化の頻度は高かったもの: HAND1, LOX, THBD, CDKN2A (p16), CDH1 (E-cadherin), MGMT, D17S5, THBS-1, MINT25, hMLH1, b) メチル化異常が正常粘膜と比較して増加は認められなかったもの: CDKN2A, THBS-1, ER, MYOD, CKDN24, CSPG2, APC, ESR1, SOCS1, RASSF1A, COX2, RAR, CYP26A1, VHL, MINT1, MINT2

DNA メチル化異常は前癌状態において染色体不安定性に先行し、DNA のメチル化亢進が多数の染色体部位におけるヘテロ接合性喪失に先行すると考えられる。形態学的に癌を認めない組織においても一部の遺伝子はメチル化され、メチル化異常をもつ細胞の量が発癌を反映していることが示唆された。DNA メチル化異常が蓄積した状態では、クロソナルな病変はなくてもすでに発癌リスクがたかまった状態であり、エピジェネティックな発癌の素地 (Epigenetic field for cancerization) が形成されていると考えられる。また、プロモーター領域 CpG アイランドばかりでなく、エクソン領域の CpG アイランドもメチル化されていた。何らかの刺激がエピジェネティック調節機構の異常を誘発し、ある程度特異性がある遺伝子群がメチル

化されると考えられる。変化が非癌部組織にも大量に存在している点は、エピゲノム変化がゲノム変化と大きく異なる点である。遺伝子の不活化に直接関与していない領域の DNA メチル化状態こそ、癌化に先んじて変化するため、発癌リスク評価の良い指標となる。

## 2. DNA メチル化異常の治療的応用：

(1) 脱メチル化剤による治療：癌細胞株の内、高浸潤細胞株、高転移細胞株、薬剤耐性株を脱メチル化剤で処理し、浸潤能、転移能、薬剤耐性能が低下した細胞株について、処理された細胞株と処理前の細胞株とでメチル化されている CGI の差異について検討した。なお、臨床能の判定は細胞レベルの運動能、薬剤耐性能は細胞レベルでの処理と癌細胞を移植されたヌードマウスへの薬剤投与の両方で確認した。メチル化阻害剤 (5-aza-dC) とヒストンアセチル化阻害剤 (trichostatin A) を使用した。ヌードマウスモデルでの脱メチル化治療：ヌードマウス舌に、扁平上皮癌 CDDP 耐性株を移植し、これを DNA メチル化阻害剤 (5-aza-2'-deoxycytidine) で脱メチル化後、CDDP で治療し治療効果を判定した。

(A) DNA メチル化により不活化されていたがん抑制遺伝子：APC, ARF, BNIP3, BRCA1, CCND1、CDH1(E-cadherin), CDKN2A(P16), CDKN2B (P15), CHFR, CLDN5, Cyclin D2, DAPK1, ER, FHIT, FOXE1, GSTP1, HER2(ERBB2)、LHX1, LOX, MGMT, MLH1, NPTX2, p53, PTC, RARB, RASSF2A, RB, RUNX3, SFRP1, TSLC1, UCHL1, VHL, WNT7A, WT1 であった。

(B) 細胞株でメチル化阻害剤、ヒストンアセチル化阻害剤でサイレンシングが著明に解除された癌関連遺伝子：APC, ARF, BRCA1, CCND1、CDH1, CDKN2A(p16), CDKN2B(p15), CHFR, CLDN5, DAPK1, FOXE1, GSTP1, HER2(ERBB2)、LHX1, NPTX2, MLH1, MGMT, PTC, p53, RASSF2A, RB, UCHL1, WNT7A, WT1 であった。これらの遺伝子がメチル化治療の標的となりえる可能性がある。

転移の改善：a) HER2(ERBB2), CDKN2B (p15)、CDKN2A(P16)、PTC、WT1、MLH1 の脱メチル化で転移能の減少が認められた。

浸潤の改善：HER2(ERBB2), CCND1 (cyclin D1), RASSF2A, CDKN2B(p15)、CDKN2A (P16)、PTC、WT1、MLH1、RB、CDH1 (E-cadherin)、P53、BRCA1 の脱メチル化で浸潤能の減少が認められた。

薬剤耐性の改善：BASSF2, BNIP3, BRCA1、BUB1, BUB3, CENP-P, CHFR, c-MYC, DAPK, EB1, HER2(ERBB2), HRK, hMLH1, MAD2L1, MAD2L2, MGMT, SRC の脱メチル化で薬剤耐性能の減少が認められた。分裂期チェックポイントに関連する遺伝子、アポトーシス関連遺伝子の脱メチル化が薬剤耐性治療として有効であることが示唆された。しかし、DNA メチル化

阻害剤による DNA 脱メチル化の程度は各細胞株で反応濃度が異なり、高濃度の薬剤は細胞毒性をしめし、高度のメチル化は染色体不安定性を誘発する。脱メチル化剤は癌細胞での DNMT1 の枯渇を誘導する最低濃度を用いることが有用と考えられた。

まとめ：(1) 癌細胞または癌由来の DNA を、DNA メチル化異常をもつ DNA として検出し検索することによって癌の存在診断が可能となることが示唆された。(2) DNA のメチル化異常と癌細胞の性質の関連について検索することによって癌の性質診断 (浸潤能、転移能、薬剤耐性能の診断) が可能となることが示唆された。(3) 正常な組織に蓄積した DNA メチル化異常を利用して発癌リスクを診断することが可能となることが示唆された。(4) メチル化 DNA の脱メチル化によって腫瘍細胞の転写抑制を回復させることができ、治療への応用が可能であることが示唆された。

## 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8件)

1. Oe Y, Soejima H, Nakayama H, Fukunaga T, Sugamura K, Kawano H, Sugiyama S, Matsuo K, Shinohara M, Izumi Y, Ogawa H: Significant Association Between Score of Periodontal Disease and Coronary Artery Disease. *Heart and Vessels* 24: 103-107, 2009. 有

2. Shinriki S, Ueda M, Ota K, Nakamura M, Kudo M, Ibusuki M, Kim J, Yoshitake Y, Fukuma D, Jono H, Kuratsu JI, Shinohara M, Ando Y.: Aberrant expression of serum amyloid A in head and neck squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2009. [Epub ahead of print] 有

3. Shinriki S., Jono H., Ota K., Ueda M., Kudo M., Ota T., Oike Y., Endo M., Ibusuki M., Hiraki A., Nakayama H., Yoshitake Y., Shinohara M., Ando Y.: Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody suppresses tumor angiogenesis and vivo growth of human oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 15: 5426-5434, 2009. 有

4. Tsuji Y., Watanabe K., Araki K., Shinohara M., Tamagata Y., Tsurimoto T., Hanaoka F., Yamamura K., Yamaizumi M., Tateishi S.: Recognition of forked and single-stranded DNA structures by human RAD18 complexed with RAD6B protein triggers its recruitment to stalled replication forks. *Genes to Cell* 13: 343-354, 2008. 有

5. Takamune Y, Ikebe T, Nagano O, Shinohara M: Involvement of NF- $\kappa$ B-mediated

of ADAM-17 in the invasion of oral squamous cell carcinoma. Biochem Biophys Res Commun. 365:393-398, 2008. 有

6. Sawatani Y., Miyamoto T., Nagai S., Maruya M., Imai J., Miyamoto K., Fujita N., Ninomiya K., Suzuki T., Iwasaki R., Toyama Y., Shinohara M., Koyasu S., Suda T. : The role of DC-STAMP in maintenance of immune tolerance through regulation of dendritic cell function. Int Immunol. 20(10):1259-68. 2008. 有

7. Ota K., Fujimori H., Ueda M., Shiniriki S., Kudo M., Jono H., Fukuyoshi Y., Yamamoto Y., Sugiuchi H., Iwase H., Shinohara M., Ando Y.: Midkine as a prognostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. Br J Cancer 99: 655-662, 2008. 有

8. Soejima H, Oe Y, Nakayama H, Matsuo K, Fukunaga T, Sugamura K, Kawano H, Sugiyama S, Shinohara M, Izumi Y, Ogawa H: Periodontal Status And Prevotella Intermedia Antibody In Acute Coronary Syndrome Int J Cardiol 2008 . [Epub ahead of print] 有

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Takamune Y., Ikebe T., Yoshitake Y., Ogi H., Nakayama H., Ota K., Obayashi T., Hiraki A., Shinohara M. : Relationship between expression of ADAM17 and CD44 cleavage in mechanism for the metastasis of oral squamous cell carcinoma. American Association of Oral and Maxillofacial Surgery 2007 Annual Meeting Oct 8 ,2007. Hawaii USA

2. Takamune Y., Ikebe T., Yoshitake Y., Ogi H., Nakayama H., Ota K., Obayashi T., Hiraki A., Shinohara M. : TNF $\alpha$  activates ADAM17 in order to cleave CD44 during the invasion of oral squamous cell carcinoma. 58<sup>th</sup> Congress of the Germany Society for Cranio-maxillofacial Surgery May 14, 2008. Munster Germany.

3. Nagata M., Namayama H., Nakahata A., Tanaka T., Hirose A., Ota K., Namba A., Yoshitake Y., Ota K., Obayashi T., Hiraki A., Shinohara M. Preoperative concurrent chemoradiotherapy with S-1 for oral squamous cell carcinoma. 12<sup>th</sup> International Congress on Oral Cancer. May 22, 2008. Shanghai China

4. Hirose A., Ishihara K., Nakao M: Epigenetic regulation INK4/ARF locus by CTCF insulators. 2008 Global COR-IMEG Joint Summer Retreat Semina in ASO. Aug 28, 2008. Kumamoto JAPAN

5. Shiniriki S., Ota K., Jono H., Ueda M., Ota T., Kudo M., Sueyoshi T., Shinohara M., Ando Y.: Inhibition of interleukin-6 receptor suppresses tumor growth of human oral squamous cell carcinoma cells by suppressing angiogenesis. 8<sup>th</sup> International Conference of the Asian Clinical Oncology Society Sep 21 2008. Manila Philippine

6. Ota K., Fujimori H., Ueda M., Shiniriki S., Kudo M., Jono H., Fukuyoshi Y., Ota T., Shinohara M., Ando Y.: Midkine as a prognostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. 8<sup>th</sup> International Conference of the Asian Clinical Oncology Society Sep 21 2008. Manila Philippine

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

篠原 正徳 (SHINOHARA MASANORI)  
熊本大学大学院・医学薬学研究部・教授  
研究者番号：90117127

(2) 研究分担者

平木 昭光 (HIRAKI AKIMITSU)  
熊本大学大学院・医学薬学研究部・講師  
研究者番号：60404034

中山 秀樹 (NAKAYAMA HIDEKI)  
熊本大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：70381001

(3) 連携研究者