

令和 3 年 8 月 19 日現在

機関番号：35503

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03000

研究課題名(和文) 口腔癌幹細胞ニッチにおける制御性ケミカルメッセンジャー機能の解明と診断治療応用

研究課題名(英文) Elucidation of regulatory chemical messengers in oral cancer stem cell niche and its diagnostic and therapeutic application

研究代表者

岡本 哲治 (OKMOTO, TETUJI)

東亜大学・その他の研究科・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)：癌は増殖能の高い細胞集団やある程度分化および成熟をした細胞集団などからなり、これらは癌幹細胞(Cancer Stem Cell)から派生している。本研究ではOSCCで高発現し増殖や血管新生に関与しているHBp17/FGFBP-1(HBp17)のmicro RNAによる制御について明らかにした。また放射線療法(RT)は主要な治療法であるが、放射線耐性(RR)を示す。また治療後CRを示しても後に再発する症例が見られる。これは癌幹細胞の存在による。OSCCのRT耐性機序を解明するためOSCC細胞株からHDR及びLDRの放射線照射系でRR-SCC株を単離し放射線耐性に関する遺伝子群を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VD3/ED-71はOSCC細胞に対してregulatory chemical messengerとしてexosomal miR-6887-5pの培養上清中への分泌を上昇させ腫瘍細胞及び周囲細胞に働きHBp17の発現を制御し増殖を抑制していた。ED-71の扁平上皮癌に対する治療薬としての有用性が示された。放射線耐性OSCC細胞ではIGF2やkrt13遺伝子が過剰発現され癌幹細胞の性質を持った細胞集団が蓄積し、腫瘍原性が亢進し、放射線・化学療法後の癌再発をもたらすと考えられた。RR-SCCモデルの確立は放射線耐性メカニズムを解明する強力なツールとなり、新規診断及び治療法の開発に有用と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Cancers consist of multiple cell populations, including highly proliferative cell populations and cells that have undergone some differentiation and maturation, and these consist of a small number of cancer stem cells (CSC). In this study, HBp17/FGFBP-1 (HBp17), which is highly expressed in OSCC and is closely involved in its growth and angiogenesis, is studied. In addition, surgical/radiation/chemo-therapy are effective in treating many cancers, and radiation therapy (RT) plays a major role in the treatment of OSCC. However, some tumors show radiation resistance. In addition, even if the case exhibited a clinically complete-response, there are cases where it recurs later. This is believed to be due to the presence of CSC. In order to elucidate the mechanism of Radiation resistance in OSCC, RR-SCC strains were isolated using two types of irradiation systems, HDR and LDR. The characteristics of the RR cells were clarified, and the genes involved in RR were clarified.

研究分野：口腔外科学

キーワード：無血清培養 癌幹細胞 放射線耐性細胞 HBp17/FGFBP-1 miRNA exosome krt13 IGF2

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、未分化な表面形質を示す、自己複製能により癌幹細胞集団を維持する、多分化能を有し多様な癌細胞に分化する、高い薬剤耐性を示す、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。

口腔扁平上皮癌（OSCC）を含む扁平上皮癌（SCC）は、世界で増加しており、特に betel-quid や areca-nut を噛む習慣を有する東南アジア諸国では最も発症頻度の高い癌である。近年、癌は増殖能の高い細胞集団やある程度分化および成熟をした細胞集団など複数の細胞集団からなり、これらは少数の癌幹細胞（Cancer Stem Cell: CSC）から派生していると考えられている。したがって、癌の治癒は、CSC 集団が排除された場合にのみ達成可能であると考えられている。

2. 研究の目的

(1) HBp17/FGFBP-1 (heparin binding protein17/fibroblast growth factor binding protein-1)は、外陰部扁平上皮癌細胞株 A431 の conditioned medium (CM)より分離精製された 17kDa の分泌タンパクで、扁平上皮細胞で特異的に発現され、FGF-1、-2 と可逆的に結合し、FGFs のスイッチ分子として FGFs の安定性・遊離・活性化に深く関与していると考えられている。さらに、同分子は、口腔扁平上皮癌(OSCC)で高発現し、その増殖や血管新生に密接に関与していることが報告されている。

活性型ビタミン D₃(1 α ,25(OH)₂D₃ (VD₃))は骨代謝において重要な働きをするとともに、心臓病や癌の予防効果も報告されている。また、VD₃は、NF- κ B 経路を抑制することで上皮細胞の増殖を制御していることが知られている。著者の所属する研究室の先行研究で、VD₃および誘導体 ED-71(中外製薬より供与)は、ビタミン D レセプター(VDR)—NF- κ B経路を介し HBp17/FGFBP-1 の発現を抑制することで *in vitro* および *in vivo* で SCC の増殖を抑制することを報告してきた。

従来、増殖因子などの蛋白因子、ホルモンや脂質が regulatory chemical messenger (RCM)として正常あるいは癌細胞の autocrine あるいは paracrine 制御に重要な機能をしていると考えられてきたが、近年、細胞が細胞外に分泌/放出する exosome も RCM として機能していることが明らかにされてきている。

本研究では、ED-71 の扁平上皮癌に対する治療薬としての有用性をさらに明らかにすることを旨として、ED-71 による SCC / OSCC 細胞における HBp17/FGFBP-1 の発現低下や増殖抑制における exosomal microRNAs (exo-miRs)の発現とその機能解析を行った。

(2) 口腔扁平上皮癌（OSCC）を含む扁平上皮癌（SCC）は、世界で増加しており、特に betel-quid や areca-nut を噛む習慣を有する東南アジア諸国では最も発症頻度の高い癌である。近年、癌は増殖能の高い細胞集団やある程度分化および成熟をした細胞集団など複数の細胞集団からなり、これらは少数の癌幹細胞（CSC）から派生していると考えられている。したがって、癌の治癒は、CSC 集団が排除された場合にのみ達成可能であると考えられている。手術、放射線

療法や化学療法などの治療は、OSCC を含む多くの癌治療に有効であり、中でも放射線療法 (RT) は OSCC の治療において主要な役割を果たしている。しかしながら、一部の腫瘍では治療中に放射線耐性を示したり、治療後、臨床的に Complete response 症例であっても数年後に再発する症例が見られる。高線量率放射線 (HDR) を用いた RT は有効な癌治療法として広く使用されている。また、低線量率放射線 (LDR) を用いた RT は、前立腺癌および口腔癌の治療において導入されている。したがって、HDR や LDR を用いた放射線療法における癌細胞の放射線耐性機構を解明することは、放射線耐性を克服する有効な治療法を開発するために重要である。これまでに、*in vitro*での放射線耐性癌細胞樹立の報告はあるが、これら放射線耐性 (RR) 細胞は血清添加培地を用いて、HDR 照射系で分離されている。血清添加培地は未知のタンパク質、因子および脂質を多く含むため、癌細胞自身が産生する種々の因子を明らかにすることはできない。一方、無血清培養系は細胞の正確な生物学的特性を明らかにすることができる

本研究では、OSCC を含む SCC における RT に対する耐性機構を解明するために、無血清培養系で SCC および OSCC 細胞株から HDR および LDR の 2 種類の放射線照射系を用いて RR-SCC 株を単離し、その細胞・分子生物学的特性を明らかにし、さらにこれら細胞を用いて放射線耐性に関する遺伝子群を明らかにした。

3. 研究の方法

(1) OSCC 由来細胞株 HO-1-N-1 (NA), KO, Ca9-22 および A431 を用いた。細胞培養は DMEM と Ham-F12 培地を 1:1 の比率で混合した DF 培地に、insulin (10 μ g/ml), transferrin (5 μ g/ml), 2-mercaptoethanol (10 μ M), 2-aminoethanol (10 μ M), sodium selenite (10nM), oleic acid (4.7 μ g/ml) の 6 因子を加えた無血清培地 DF6F を用いた。Conditioned Medium (CM) の採取は以下の方法で行なった。80%コンフルエントまで DF6F で A431 細胞を培養後、DF 基礎栄養培地のみでさらに 48 時間培養後の CM を採取し、限外濾過法にて 50 倍に濃縮した。A431-CM 中の exosome は、Phosphatidylserine アフィニティー法で精製し、ウェスタンブロットング法および走査型電子顕微鏡 (SEM) で exosome を評価した。Exosome 中の miR (exo-miR) の発現に及ぼす ED-71 の影響を明らかにするため、各 exosome よりフェノール/グアニジン法で miR を抽出後、miR マイクロアレイにて網羅的解析を行ない、ED-71 により A431 および Ca9-22 で発現上昇する *exo-miRs* を同定した。HBp17/FGFBP-1 遺伝子の 3'-untranslated region (UTR) の配列を含んだルシフェラーゼレポーターと、同定した miR mimic を SCC/OSCC 細胞に共導入し、HBp17/FGFBP-1 発現が抑制されるか否かをレポーターアッセイ法で評価した。次に、同 miR の各細胞における発現量を定量 RT-qPCR 法 (qPCR) で検討した。また、miR-mimic および対照として scramble RNA-mimic を SCC/OSCC 細胞に導入し、細胞増殖能、コロニー形成能、HBp17/FGFBP-1 および FGF-2 の発現を検討した。

(2) 本研究では、外陰部 SCC 由来 A431 および OSCC 由来 NA (HO-1-N-1) を使用した。無血清培地 DF6F (ダルベッコ変法イーグル培地および Ham-F12 培地の 1:1 混合物に、インスリン (10 μ g/ml)、トランスフェリン (5 μ g/ml)、2-アミノエタノール (10 μ M)、亜セレン酸ナトリウム (10nM)、2-メルカプトエタノール (10 μ M)、および脂肪酸不含ウシ血清アルブミンと結合させたオレイン酸 (9.4 μ g/ml) を加えた無血清培地)。

各細胞を、低線量率 (LDR) システム (RM1000、中外テクノス、日本) を用いて 2.2Gy/日で毎週 4 日間、また、高線量率 (HDR) システム (Gamma cell 40 Exactor、Best Theratronics、カナダ) を用いて 5Gy/5.75min で週 2 回照射し、LDR および HDR システムにより全線量 60Gy 照射した後、A431-HDR、A431-LDR、NA-HDR、NA-LDR 細胞を単離した。これらの耐性細胞の放射線耐性

を明らかにするために、colony survival assay(CSA)を以下の方法で行った。野生型(WT)およびRR株に0Gy、2Gy、4Gy、6Gyおよび8Gyの線量で照射し、培養14日後、コロニーをギムザ染色しコロニー数を測定し、生存率を37%まで減ずるのに必要な線量 D_{37} 値を算出した。さらに、これらRR細胞の生物学的特性を明らかにするために、単層培養系における増殖能、浮遊培養系におけるsphere形成能およびBoyden-chamber法を用いた細胞運動能などを無血清培養系で以下のごとく検討した。細胞を24ウェルプレートに 10^4 細胞/ウェルで播種し、Coulter Counterにて毎日細胞数を計数した。sphere形成は、細胞を 10^3 細胞/皿で35mm一次表面(低付着性皿)に播種し、sphere数を5日目に測定した。細胞運動試験のために、細胞を24ウェル中 5×10^4 細胞/0.1%BSAを添加したDF培地にI型コラーゲンコートし、細胞を加え、ギムザ染色後チャンパー下面に移動した細胞数/ mm^2 を測定した。各細胞におけるCD133陽性細胞の比率はフローサイトメトリーを用いて検討した。すべての細胞株から抽出・精製したRNAをDNAマイクロアレイ解析およびリアルタイム定量PCR(RT-qPCR)に使用した。WTおよびRR株における多能性幹細胞マーカーNanog、Oct4およびSox2の発現をRT-qPCRで検討した。ヌードマウス(BALB/c-nu/nu)の背側皮下にWTおよびRR-株(0.25×10^6 , 1×10^6 細胞)に播種し、腫瘍サイズを毎週測定した。腫瘍を切除し、秤量し、4%パラホルムアルデヒドで24時間固定し、H&Eおよび免疫組織化学染色のためにパラフィンに包埋した。

各細胞のDNAマイクロアレイ解析の結果、*IGF2*および*krt13*は、WTと比較してRR株において高度に発現され、さらなる研究のために選択された。RT-qPCR分析、ウェスタンブロットおよびヌードマウス腫瘍の免疫組織化学染色によって、RNAレベルおよびタンパク質レベルにおけるRR株の高い発現が確認された。siRNAによるRR株におけるこれらの遺伝子のサイレンシングも、それらの耐放射線性との関係を確認するために行った。RR感受性、多能性幹細胞マーカー発現、単層成長および球形成能の確認のために、siRNAによるサイレンシングおよび安定トランスフェクタント*krt13*-A431細胞の産生による過剰発現によって、*IGF2*および*krt13*の機能を研究した。

4. 研究成果

(1) A431-CM-exosomeは、CD9陽性を示し、SEM解析では50~100nmの小胞様構造物の存在が認められた。miRマイクロアレイ解析の結果、ED-71で発現上昇するexosomal miRとして、miR-6887-5pを同定した。HBp17/FGFBP-1遺伝子の3'UTR配列を遺伝子導入したSCC/OSCC細胞を用いたレポーターアッセイ法で、miR-6887-5p mimicは約20~40%ルシフェラーゼ活性を抑制した。

ED-71は、A431およびCa9-22におけるexosomal-miR-6887-5pの発現上昇を誘導した。miR-6887-5pは、OSCC細胞株の増殖能およびコロニー形成能を有意に抑制した。一方、A431では細胞増殖およびコロニー形成能の抑制はみられなかった。また、miR-6887-5pは、全細胞株におけるHBp17/FGFBP-1のmRNA・蛋白発現を抑制したが、FGF-2のmRNA・蛋白発現には影響を示さなかった。

(2) LDRおよびHDRシステムを使用することにより、A431-LDL、NA-LDR、A431-HDRおよびNA-HDRと称されるA431-WTおよびNA-WT細胞からのRR株が、無血清定常培養において首尾よく単離された。

A431-HDR、A431-WT、NA-LDR、NA-HDRおよびNA-WTの D_{37} 値はそれぞれ5Gy、3.7Gy、2.3Gy、7.5Gy、5.5Gyおよび4.6Gyであった。

これらの細胞は、CD133 などの癌幹細胞マーカーのより高い発現を示し、より高い球形形成およびより高い移動能力を WT 細胞株のものと比較して示した。

LDR-RR 細胞は、WT および HDR-RR 細胞よりも多能性幹細胞マーカー Nanog の顕著な高発現を示した。さらに、RR 細胞は、ヌードマウス異種移植において WT 細胞と比較してより高い腫瘍形成能を示した。

LDR 照射は、HDR 系よりも癌細胞の放射線耐性が高く、ナノググの発現が高く、移動能力が高く、腫瘍形成能が高い。DNA マイクロアレイ分析により、WT 細胞と比較して 500 種以上の遺伝子が RR 株において過剰発現されていることが明らかになった。そのうち、IGF2 および *krt13* 遺伝子は、WT 細胞と比較して RR 株において高発現であった。RT-qPCR 分析はさらに、両方の RR 株が IGF2 および *krt13* を過剰発現することを確認した。さらに、DNA マイクロアレイ分析の経路分析により、MAPK、JAK / STAT シグナル伝達経路、アポトーシス経路、TGF シグナリング経路およびサイトカイン-サイトカイン受容体相互作用などの様々な経路が RR-株において活性化されることが明らかにされた。マイクロアレイ分析の遺伝子オントロジー分析はまた、ケラチン化、炎症反応、創傷治癒およびサイトカイン刺激に対する応答に関連する遺伝子が豊富であることを示した。siRNA による RR 株における IGF2 のサイレンシングは、ネガティブコントロール siRNA (NC) を導入した RR 株と比較して、放射線感受性になった。A431-LDR-siNC、A431-HDR-siNC および A431-LDR-siIGF2、A431-HDR-siIGF2 の D37 値は、それぞれ 5.5Gy、5.9Gy および 3.8Gy、3.2Gy で、放射線感受性を示した。さらに、NA-LDR-siNC、NA-HDR-siNC および NA-LDR-siIGF2、NA-HDR-siIGF2 の D37 はそれぞれ 5.5Gy、5.6Gy および 3.8Gy、4.5Gy で、放射線感受性となった。siRNA-*krt13* を用いて *krt13* をサイレンシングすると、A431-HDR-siNC、A431-HDR-siNC A431-LDR-si*krt13* および A431-HDR-si*krt13* の D37 値は 5.5Gy、5Gy、2.8Gy、1.9Gy を示し、WT と同様の放射線感受性を示した。A431-LDR における IGF2 のサイレンシングは、mRNA レベルにおいて *krt13*、Nanog および Oct4 の発現低下を示した。*krt13* 過剰発現 WT-A431 細胞は、増殖能、sphere 形成、細胞運動などのより高い細胞能力を示し、コントロール細胞よりも mRNA レベルで IGF2、Nanog および Oct4 の発現の上昇を示した。

VD₃ および ED-71 は、SCC / OSCC 細胞に対して、VDR-*NF-κB* 経路を介した増殖抑制機構に加えて、regulatory chemical messenger として exosomal miR-6887-5p の condition medium(CM)中への分泌・産生を上昇させ、腫瘍細胞自身および周囲細胞に働き、HBp17 の発現を制御することで増殖を抑制していることが考えられた。したがって、VD₃/ED-71 活性が代謝消失後も、exosomal miR-6887-5p が autocrine 的に機能するだけでなく、周囲細胞に対しても paracrine 的に機能する bystander 効果が期待され、ED-71 の扁平上皮癌に対する治療薬としての有用性がさらに示唆された。

放射線耐性 SCC 細胞では、IGF2 および *krt13* などの遺伝子が過剰発現されることで、癌幹細胞の性質を持った細胞集団が蓄積することで、腫瘍原性が亢進し、放射線療法や化学療法後の癌再発をもたらすことが考えられた。

無血清培養系を用いた放射線耐性癌細胞モデルの確立は、放射線耐性の獲得メカニズムを解明する強力なツールとなり、新規診断および治療法の開発に有用と考えられた。

本研究は、放射線耐性 SCC 細胞が、IGF2 および *krt13* などの様々な遺伝子を過剰発現させることにより、癌幹細胞集団がより高く、腫瘍原性が高い、放射線療法後の癌再発をもたらすことができることを明確に示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Atsuko Hamada, Eri Akagi, Sachiko Yamasaki, Hiroataka Nakatao, Fumitaka Obayashi, Manami Ohtaka, Ken Nishimura, Mahito Nakanishi, Shigeaki Toratani, Tetsuji Okamoto	4. 巻 56(1)
2. 論文標題 Induction of integration-free human-induced pluripotent stem cells under serum- and feeder-free conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In Vitro Cell Dev Biol Animal	6. 最初と最後の頁 85-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11626-019-00412-w	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 M. Higaki, T. Shintani, A. Hamada, S. N. Z. Rosli, T. Okamoto	4. 巻 56(3)
2. 論文標題 Eldecalcitol (ED-71)-induced exosomal miR-6887-5p suppresses squamous cell carcinoma cell growth by targeting heparin-binding protein 17/fibroblast growth factor binding protein-1 (HBp17/FGFBP-1)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In Vitro Cell Dev Biol Animal	6. 最初と最後の頁 222-233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11626-020-00440-x	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 Fujita Y, Myoken Y., T. Okamoto	4. 巻 78 (3)
2. 論文標題 Comment on Surgical Management of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw Is Associated With Improved Disease Resolution: A Retrospective Cohort Study by El-Rabbany et al	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joms.2019.09.029	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 Myoken Y, Fujita Y., Okamoto T.	4. 巻 78(1)
2. 論文標題 Modified Submental Island Flap for the Surgical Treatment of 4 Patients With Stage 3 Medication-Related Osteonecrosis of the Mandible	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 29-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.joms.2019.08.028	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 Yukio Yoshioka, Yasutaka Hayashido, Yoku Ito, Shigeaki Toratani, and Tetsuji Okamoto	4. 巻 4
2. 論文標題 Reconstruction of an upper lip and intraoral defect following resection of an upper lip melanoma using a lower lip musculomucosal flap combined with a tongue flap	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Surgical Case Reports	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jscr/rjaa072	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 濱田 充子、岡本 哲治	4. 巻 28巻1号
2. 論文標題 無血清培養系を用いた扁平上皮癌細胞株からの放射線耐性細胞の樹立とその機能解析、	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 口腔組織培養学会誌	6. 最初と最後の頁 33-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 中瀬 洋司、岡本 哲治	4. 巻 28巻1号
2. 論文標題 疾患特異的 induced pluripotent stem cell (DS-iPSC) の樹立と疾患研究	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 口腔組織培養学会誌	6. 最初と最後の頁 23-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 佐藤 成紀、岡本 哲治	4. 巻 28巻1号
2. 論文標題 口腔原発神経内分泌癌由来細胞株の樹立 初代培養腫瘍細胞の増殖様態から診断されるに至った口腔原発神経内分泌癌	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 口腔組織培養学会誌	6. 最初と最後の頁 9-10.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Kasmiati K, Yoshioka Y, Okamoto T, Ojika M	4. 巻 8:16(3)
2. 論文標題 New Crambescidin-Type Alkaloids from the Indonesian Marine Sponge <i>Clathria bulbotoxa</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mar Drugs.	6. 最初と最後の頁 84-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/md16030084.	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 Toratani S, Yoshioka Y, Kanda T, Tani R, Okamoto T	4. 巻 48(2)
2. 論文標題 Pathological factors involved in local failure in squamous cell carcinoma of the oral cavity: retrospective study and proposal of a new clinical classification	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Oral Maxillofac Surg.	6. 最初と最後の頁 143-151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijom.2018.07.005.	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 Sato JD, Okamoto T, Barnes D, Hayashi J, Serrero G, McKeehan WL.	4. 巻 54(3):
2. 論文標題 A tribute to Dr. Gordon Hisashi Sato (December 24, 1927-March 31, 2017)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 In Vitro Cell Dev Biol Anim.	6. 最初と最後の頁 177-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11626-018-0230-1.	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 Yoshioka Y, Nakatao H, Hamana T, Hamada A, Kanda T, Koizumi K, Toratani S, Okamoto T.	4. 巻 50
2. 論文標題 Suture granulomas developing after the treatment of oral squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Surg Case Rep.	6. 最初と最後の頁 68-71.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijscr.2018.07.021.	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 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 A. Hamada, Y. Nakase, F. Obayashi, T. Fukutani, H. Nakatao, E. Sakaue, S. Yamasaki, T. Kanda, K. Koizumi, Y. Yoshioka, R. Tani, S. Toratani, JD. Sato, T. Okamoto
2. 発表標題 Establishment and Characterization of Disease-specific Human iPSCs in Serum-, Integration- and Feeder-free Cultures
3. 学会等名 Annual Meeting of Society for In Vitro Biology Meeting (Tampa, Florida, USA) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuji Okamoto
2. 発表標題 Award Lecture, 2019 SIVB Lifetime Distinguished Achievement Award,
3. 学会等名 Annual Meeting of Society for In Vitro Biology Meeting (Tampa, Florida, USA) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuji Okamoto
2. 発表標題 Microbiome related to oral cancer and Immunotherapy in oral cancer
3. 学会等名 Invited lecture, Taipei Medical University Oct 21, 2019. (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuji Okamoto
2. 発表標題 Disease-specific Human iPSCs in Serum-, Integration- and Feeder-free Cultures,
3. 学会等名 Tufts University School of Dental Medicine, Boston, 12 Nov, 2019. (招待講演)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 T.Okamoto
2 . 発表標題 Examination and diagnosis based on oral and gut microbiome characteristic of oral cancer, and establishment and characterization of disease-specific induced pluripotent stem cells
3 . 学会等名 Symposium organized by the Japan Science Council co-sponsored by the Japan Oral Test Society (招待講演)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 T.Okamoto
2 . 発表標題 Establishment and characterization of cranio-maxillofacial disease-specific induced pluripotent stem cells in feeder cell-, integration-, and serum-free defined culture
3 . 学会等名 Kuopio University School of Oral Medicine, Kuopio, Finland (招待講演)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 T. Okamoto
2 . 発表標題 Examination and diagnosis based on oral and gut microbiome characteristic of oral cancer, and establishment and characterization of disease-specific induced pluripotent stem cells
3 . 学会等名 Taipei Medical University (招待講演)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Quang Nguyen, A. Hamada, S. Toratani, T. Okamoto
2 . 発表標題 Establishment and characterization of radiation resistant strains from squamous cell carcinoma cell lines in serum-free defined culture
3 . 学会等名 7th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, (Hiroshima) (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Fukutani, A. Hamada, H. Nakatao, F. Obayashi, S. Yamasaki, T. Kanda, K. Koizumi, S. Toratani, T. Okamoto
2. 発表標題 Genetic diagnosis of Neurofibromatosis type I (von Recklinghausen's disease, NF1) and establishment of NF1-specific induced pluripotent stem cells (iPSCs) for the study of disease mechanisms
3. 学会等名 7th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, (Hiroshima) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M.Higaki, T.Shintani, A.Hamada, S.N.Z. Rosli, E.Usui, T.Okamoto
2. 発表標題 Growth regulation by ED-71 of human squamous cell carcinoma cell lines through exosomal microRNA production in serum-free culture
3. 学会等名 7th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, (Hiroshima) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉岡幸男, 濱田充子, 中峠洋隆, 小鹿 一, 岡本哲治
2. 発表標題 海洋生物由来生理活性物質の探索研究
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 檜垣美雷, 新谷智章, 濱田充子, S.N.Z. Rosli, 笛吹恵美子, 岡本哲治
2. 発表標題 活性型ビタミンD3誘導体ED-71によるexosomal microRNAを介した扁平上皮癌細胞の増殖制御
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福谷多恵子, 濱田充子, 中峠洋隆, 大林史誠, 山崎佐知子, 神田 拓, 小泉浩一, 虎谷茂昭, 岡本哲治
2. 発表標題 レックリングハウゼン病由来 i P S 細胞のインテグレーションフリー・フィーダーフリー・無血清培養系での樹立による疾患研究
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tam Quang NGUYEN, Atsuko HAMADA, Shigeaki TORATANI, Tetsuji OKAMOTO
2. 発表標題 Establishment and characterization of radiation resistant strains from squamous cell carcinoma cell lines in serum-free defined culture
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷 亮治, 山崎佐知子, 松井健作, 濱田充子, 三島健史, 内迫香織, 笹原妃佐子, 虎谷茂昭, 岡本哲治
2. 発表標題 口腔癌患者におけるMICA遺伝子多型と臨床病態
3. 学会等名 第72回日本口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井健作, 谷 亮治, 山崎佐知子, 濱田充子, 三島健史, 内迫香織, 笹原妃佐子, 虎谷茂昭, 大友 剛, 徳丸浩一郎, 岡本哲治
2. 発表標題 口腔癌における免疫チェックポイント関連分子の発現と腸内ならびに口腔内細菌叢の影響研究
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井健作, 山崎佐知子, 濱田充子, 三島健史, 内迫香織, 笹原妃佐子, 虎谷茂昭, 大友 剛, 徳丸浩一郎, 岡本哲治
2. 発表標題 口腔癌患者における腸内ならびに口腔内細菌叢の多様性解析
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱田充子, 中瀬洋司, 中峠洋隆, 大林史誠, 福谷多恵子, 山崎佐知子, 神田 拓, 小泉浩一, 虎谷茂昭, 岡本哲治
2. 発表標題 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第二報
3. 学会等名 第72回口腔科学会学術総会, (愛知)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 白砂兼光・古郷幹彦 編著; 良性腫瘍: 岡本哲治、林堂安貴	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 884
3. 書名 口腔外科学 第4版	

1. 著者名 サリー・ヒル 編/岡本哲治、松田良一 監訳	4. 発行年 2020年
2. 出版社 白水社	5. 総ページ数 240
3. 書名 生きるための生物学	

1. 著者名 千葉 俊美 編、岡本哲治、新谷智章	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 300
3. 書名 最新歯科内科学「神経内科疾患の認知症、アルツハイマー型認知症」	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 癌リスクの判定方法	発明者 岡本哲治	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-084480	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 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	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-084491	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	吉岡 幸男 (YOSHIOKA YUKIO) (20335665)	広島大学・医系科学研究科(歯)・助教 (15401)	
研究分担者	工藤 保誠 (KUDO YASUSEI) (50314753)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・准教授 (16101)	
研究分担者	浜名 智昭 (HAMANA TOMOAKI) (40397922)	広島大学・医系科学研究科(歯)・助教 (15401)	

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
---------	---------