

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15823

研究課題名(和文)顎顔面口腔疾患iPS細胞における病原変異遺伝子の人工ヌクレアーゼによるゲノム手術

研究課題名(英文) Genomic surgery by genome editing of pathogenic mutant genes in oral maxillofacial disease-specific iPS cells

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) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：無血清培地hESF9およびSeVdpを用いて、健常人および種々の遺伝性顎顔面口腔疾患患者由来末梢血リンパ球よりiPSCを樹立し、その細胞特性及び特定の細胞系列への分化能を無血清オーガノイド形成法などで評価する。また、SCIDマウス背部皮下でのiPSC由来teratomaにおける3胚葉への分化能および各誘導組織像を比較検討する。次世代シーケンシング(NGS)で遺伝性疾患患者由来DNAの全ゲノム解析を行い、病原変異遺伝子及びその他の変異を明らかにし、新たな遺伝性顎顔面口腔疾患の治療法の開発を目指す。

研究成果の概要(英文)：iPSCs were established from peripheral lymphocytes of healthy subjects and patients with various inherited oral-maxillofacial diseases using serum-free medium hESF 9 and SeVdp, and their cellular characteristics and ability to differentiate into specific cell lineages were examined in serum-free organoid culture. In addition, we compare the differentiation potential to 3 germ layers and the structure of each induction tissue in iPSC-derived teratoma in the dorsal back of SCID mouse. We conducted a full genome analysis of DNA from patients with genetic diseases by the next generation sequencing (NGS), clarified pathogenic mutant genes and other mutations, and aimed to develop a new treatment method for the genetic disease.

研究分野：外科系歯学

キーワード：遺伝性顎顔面口腔疾患 疾患特異的iPS細胞 病原変異遺伝子 人工ヌクレアーゼ ゲノム手術 無血清培養 オーガノイド von Recallinghausen病

1. 研究開始当初の背景

顎顔面口腔領域に病変を生じる遺伝性疾患においては、その発症メカニズムの解明や診断・治療法が十分に確立されていない。そこで疾患患者由来人工多能性幹細胞 (hiPSC) を用いてこれら疾患研究をブレークスルーする必要がある。一方、現在ヒト胚性幹細胞 (hESC) や hiPSC は、フィーダー細胞 (不活化マウス線維芽細胞などの支持細胞) 上で、血清添加培地で培養されているが、不安定要素、異種抗原や血清中の未知蛋白の存在のため、細胞増殖・分化制御機構や制御因子を検討することは非常に困難である。また、このような培養条件で研究を進めても、増殖因子・分化誘導因子の機能を再現性よく明らかにすることは困難である。代表研究者は、hESC の未分化性と多分化能をフィーダー細胞を用いずに維持可能な無血清培地 ESF 及び hESF9 培地を報告した (In Vitro:2008, PNAS, 欧米国際特許, 国内特許)。また同培地で miPSC の長期培養 (Int.J.Dev.Biol. 2013)、同培養系でヒト線維芽細胞及び歯髄細胞 (DPC) にレトロウイルス (ReV) を用いて初期化し hiPSC を誘導・長期培養に成功した (PLoS One.2014,9(1):e87151)。しかし ReV はゲノム DNA への挿入による、癌遺伝子活性化や癌抑制遺伝子不活性化リスクの可能性が高いため、宿主細胞質で全生活環を行うゲノム遺伝子挿入のないセンダイウイルスベクター (SeVsp) (産総研; 中西真人博士より供与) を用い、末梢単核球 (PBMC) からの iPSC 誘導・長期培養に成功した。当研究室では、センダイウイルスを用いたインテグレーションフリー・フィーダーフリー・無血清培養系を用いて、鎖骨頭蓋異形成症 (CCD) およびヌーナン症候群 (NS) 患者歯髄細胞由来 iPSC (CCD-iPSC, NS-iPSC)、また、Cowden 症候群 (CS) 患者末梢血リンパ球由来 iPSC (CS-iPSC) など、疾患特異的 iPSC の樹立・維持に成功し、同細胞を用いた疾患研究を行ってきた。CCD-iPSC, NS-iPSC では、形成された teratoma 内の軟骨組織において、疾患の特徴を反映した組織像が見られたことから、有用な病態モデルとなった。CS-iPSC は、*Pten* 遺伝子変異が起因で起こる Cowden 症候群における過誤腫形成や発癌機構を解明するためのモデル細胞として有用性があり、*Pten* 遺伝子の新規変異を同定するなど、*Pten* 遺伝子変異に伴う発癌機構の解明や予防に貢献できる研究を進めてきた。

2. 研究の目的

無血清培地 hESF9 および SeVdp を用いて、健常人および種々の遺伝性顎顔面口腔疾患患者より iPSC を樹立し、その細胞特性及び特定の細胞系列への分化能を無血清オーガノイド形成法などで評価する。また、SCID マウス背部皮下での iPSC 由来 teratoma における 3 胚葉への分化能および各誘導組織像を比較検討する。次世代シーケンサーで遺伝性疾患患者由来 DNA の全ゲノム解析を行い、病原変異遺伝子及びその他の変異を明らかにし、新たな遺伝性顎顔面口腔疾患の治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

Neurofibromatosis type I (NF1) (von Recklinghausen's disease)、神経線維腫症 1 型は、神経線維腫とカフェオレ斑を主徴候とする疾患である。その後、その責任遺伝子が 17 番染色体長腕に位置 (17q11.2) する *NF1* 遺伝子であることが同定された。*NF1* の遺伝子産物ニューロフィブロミン (Neurofibromin: NF) は、健常人では Ras 蛋白の機能を制御して細胞増殖や細胞死を抑制する、癌抑制遺伝子として機能しており、NF1 では NF 蛋白の機能不全が生じるため発症すると考えられているが、その分子機構や発症機構は不明な点が多い。一方、近年このような遺伝性疾患の発症機構を解明するために、疾患特異的 iPSC を用いた研究の有用性が注目されている。

本研究者が開発した完全無血清培養系を用いることで、iPSC の増殖・分化を正確に評価するとともに、これらに關与する各種因子を明らかにすることが可能となることから、病態モデル樹立およびその解析に大変有用であると考えられる。さらに、本培養系を用いて NF1 に代表される多発性腫瘍疾患由来 iPSC を樹立することは、ヒト疾患の病態解明や疾患治療や発症予防だけではなく、体細胞変異における発癌機構を解明する上で極めて重要であると考えられる。

本研究では、広島大学病院 顎・口腔外科を受診し臨床的に NF1 と臨床診断されていた 2 名の患者より、広島大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会にて承認を得た研究計画 (第ヒ-58 号) に基づいて遺伝子診断および iPSC 樹立研究の同意を取得後、得られた患者末梢血単核細胞 Peripheral Blood Mononuclear Cell: PBMC) から、フィーダーフリー、インテグレーションフリーおよび完全無血清培養系で NF1-iPSC を誘導・樹立し、同細胞を用いて原因遺伝子の発現解析や疾患研究を行うことを目指した。

4. 研究成果

1. NF1 特異的 iPSC の樹立

NF1 患者由来末梢血より単核球 (PBMC) を分離し、RD6F に IL-2 を添加した無血清培地で培養することで細胞障害性活性化リンパ球を誘導した。続いて、同リンパ球を初期化 4 遺伝子 (*Klf4*, *Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc*) を搭載したセンダイウイルスベクター SeVdp (KOSM302L) を用いて初期化した。

ALP 活性陽性コロニー数を計測し、 10^5 個あたりの ALP 陽性コロニー数を誘導効率として算出した。コントロール群である WT-iPSC の誘導効率は約 0.05% であったが、NF1-iPSC の誘導効率は NF1-1 で約 0.124%、NF1-2 で約 0.088% を示し、WT-iPSC の誘導効率と比較して有意に高いことが明らかとなった。NF1-iPSC は、WT-iPSC と同様の未分化コロニーの形態を示し、継代および長期維持が可能であった。

NF1-iPSC は *Oct3/4*, *Nanog*, および *SSEA3* 蛋白などの未分化マーカーを発現していたことから、未分化性を維持していることが明らかとなった。また、各種未分化マーカー遺伝子の発現を RT-PCR 法にて解析した結果、誘導前の PBMC ではいずれの未分

化遺伝子も発現していなかったが、NF1-iPSCでは、*Oct3/4*, *Nanog*, *Sox2*, および *Rex1* のすべての未分化マーカー遺伝子を発現していた。続いて、胚様体形成を行い、三胚葉への分化誘導を行い、分化多能性を検討した結果、いずれの分化マーカー蛋白も発現されていたことから、NF1-iPSCは *in vitro* での三胚葉への分化多能性を有していることが明らかとなった。

NF1-iPSC (NF1-1-iPSC, NF1-2-iPSC) を免疫不全マウス背部皮下に移植することで腫瘍形成を認めた。腫瘍は神経、軟骨、消化管など、外胚葉、中胚葉、内胚葉に由来する組織像を認めたことから、本腫瘍は *teratoma* であることが明らかになり、いずれのNF1-iPSCも、*in vivo* においても三胚葉への分化多能性を有していることが示された。

2. NGSによる先天性疾患関連遺伝子の網羅的遺伝子変異解析

NGS解析の結果、NF1-1およびNF1-2では、神経線維腫1型の原因遺伝子である *NF1* 遺伝子に1カ所ずつ変異が検出された。NF1-1では exon18 に一塩基変異を検出された。これは2034番目の塩基GのAへの変異であり(c.2034 G>A)、678番目のアミノ酸である proline をコードするコドンであったが、同じく proline をコードする silent mutation で (CCG→CCA)、NF1-1ではアミノ酸を置換する塩基配列の変異を検出できなかった。NF1-2では exon40 に一塩基変異が検出された(NCBI:SNP:rs137854552C>T)。これは、5902番目の塩基CのTへの変異であり(c.5902C>T)、1968番目のアミノ酸である arginine をコードするコドンが stop codon にかわる nonsense mutation であることが示唆された (CGA→TGA)。また、*NF1* 遺伝子と同一の第17番染色体上に存在する腫瘍関連遺伝子、*TP53*, *BRCA1*, *ERBB2(HER2)*, *TOP2A*, *STAT3* 遺伝子の変異の有無を検討したが、NF1-1およびNF1-2ともに、これら遺伝子群にアミノ酸置換を示唆する変異は検出されなかった。

CEQerによるCNA解析およびDroplet Digital PCR (ddPCR)法を用いた染色体コピー数の解析より、NF1-1では *NF1* 遺伝子が欠失している可能性が示された。

NF1-2-PBMCにおいてNGSで明らかとなった変異と同一の変異がサンガー法でも確認された。この変異(c.5902C>T)により、1968番目の arginine をコードする塩基配列 CCG が CCA に変化することで stop codon が生じ、NF1蛋白のC末端部(1968~2801)が翻訳されずにトランケートされている可能性が示唆された。また、mRNAにおいても同様の結果を得たことから、メッセンジャーレベルでもゲノム上の変異が継承されていることがわかった。

3. 蛍光免疫染色法を用いた神経分化WTおよびNF1-iPSCにおける神経分化マーカーの発現検討

神経分化誘導10日目のWTおよびNF1-iPSCをNF1とS100抗体で染色し、共焦点顕微鏡像を用いて観察した結果、NF1蛋

白発現は、WTおよびNF1-iPSCのいずれも陽性を示し、両者の間に差異は認めなかった。一方、S100発現はWT-iPSCでは弱陽性であったが、NF1-1およびNF1-2-iPSCでは、ともに強陽性を示した。

神経分化誘導21日目の各細胞では、いずれの細胞においても神経分化マーカーである Nestin を強発現していたが、Pax6の発現は認めなかった。一方、神経分化誘導21日目の各細胞におけるNF1とS100の発現を検討すると、誘導10日目においては、NF1-iPSCはS100を強発現していたが、誘導21日目では、WT、およびNF1-iPSCともにS100の発現は低下、NF1蛋白の発現はいずれも陽性で、差異は認めなかった。

4. 神経分化WTおよびNF1-iPSCにおけるRas/MAPシグナルの検討

WT-iPSCでは、時間の経過とともにERKのリン酸化レベルは低下したが、NF1-1、NF1-2-iPSCともに、1時間後もリン酸化レベルが維持されていた。

5. 完全無血清培養条件下でのNF1-iPSCの軟骨・骨分化誘導

1) 完全無血清培養条件下でのiPSCからのMSCへの誘導効率および軟骨・骨分化誘導

WTおよびNF1-iPSCから誘導したMSCの80%以上は、フローサイトメトリー解析にて、間葉系幹細胞マーカーであるCD73、CD90、およびCD105抗体全てに陽性を示したことから、WTおよびNF1-iPSC間でMSCへの誘導効率に差はないことが明らかとなった。また、ペレット培養で誘導した軟骨組織はPAS / Alcian blue染色で陽性を示した。

2) 免疫不全マウスを用いた軟骨・骨形成およびその組織学的検討

(1) 免疫不全マウス背部皮下へのNF1-iPSC由来軟骨ペレットの移植による骨分化誘導

WT-iPSC由来軟骨ペレットの大きさ(直径)は、移植前の4.8mmから6.3mmに、NF1-1 iPSC由来軟骨では2.5mmから4.8mmに、NF1-2-1 iPSC由来軟骨組織では1.8mmから2.5mmに、それぞれ増大していた。

(2) PAS / Alcian blue染色およびSafraninO染色

SCIDマウス背部皮下で誘導された軟骨・骨組織を、脱灰後、PAS/ Alcian blue染色およびSafraninO染色し、組織学的に比較検討したところ、NF1-1 iPSC由来軟骨組織ではWT-iPSC由来軟骨組織と同様に骨梁が観察され骨分化が進行していることが明らかとなった。一方、NF1-2 iPSC由来軟骨組織では大部分の組織はSafraninO陽性の軟骨組織からなっており、骨への分化は遅延していた。

6. STR解析

各NF1-iPSC由来DNAおよび各NF1-iPSC軟骨・骨組織由来DNAのSTR解析を行った結果、16のlocusがすべて一致したことから、SCIDマウス背部皮下で誘導された軟骨・骨組織は誘導前のNF1-iPSC由来であることが確認された。

考察

本研究では、Neurofibromatosis type I (NF1) (von Recklinghausen's disease, 神経線維腫 1 型)の臨床診断を受けていた患者 2 名の末梢血リンパ球よりフィーダー細胞フリー、ウイルスインテグレーションフリーおよび完全無血清培養系で、同症候群特異的 iPSC (NF1-iPSC)を樹立し、その細胞特性を検討するとともに、NGS および ddPCR を用いて詳細な遺伝子解析を行い、その病因の一端を明らかにした。

NF1-1 においては、NGS 解析の結果アミノ酸置換などを示唆する変異を検出できなかったため、NF1-1 の全染色体の CEQer による CNA 解析を行った。その結果、17 番染色体上の NF1 遺伝子領域の CNA が、コントロールのそれと比較して約 60%減少していたことより、NF1-1 の染色体上の NF1 遺伝子領域が広範囲に欠失している可能性が示唆された。また、PBMC でも iPSC でも同様の結果を得たことから、患者の遺伝子異常が iPSC に反映されることも示された。さらに、NF1 mRNA の発現量および NF 蛋白の発現も、コントロールと比較して半減していたことから、NF1-1 の発症原因は、17 番染色体上の NF1 遺伝子領域の広範な欠失による、NF1 遺伝子の haploinsufficiency (ハプロ不全)である可能性が示唆された。

NF1-2 では、NGS の結果、NF1 遺伝子の exon 40 にヘテロの一塩基変異が存在することが明らかとなった。NGS で変異が明らかとなった領域をサンガーシークエンス法でさらに解析した結果、mRNA レベルにおいても同一の変異が検出され、変異アレルが転写されていることが示された。同変異により、NF1 蛋白の 1968 番目のアミノ酸をコードするコドンが stop codon に変化することが示唆された。また、ddPCR 解析で、NF1-2 の NF1 mRNA 発現量は健常人と比較して差がなかった。しかし、NF1-2 の NF 蛋白の発現量は健常人と比べ半減していたことから、NF1-2 の病因も NF1 遺伝子の haploinsufficiency (ハプロ不全)に起因している可能性が強く示唆された。

神経分化誘導実験において、蛍光免疫染色で神経分化マーカーである S100 蛋白が WT-iPSC が弱陽性であったのに対し、NF1-iPSC は神経分化早期に強陽性で、NF1-iPSC は WT-iPSC と比較して神経分化が早いことが示唆され、本疾患の症状である神経線維腫やカフェオレ斑、前述した染色体の不安定化などに関連し得ることも示唆された。また、NF1-1 は神経線維腫を多数発症しており、NF1-2 は脳病変を発症していることから、S100 蛋白が神経分化初期にコントロールと比べて早期に強陽性を示したことは、神経線維腫や脳病変の発症機序の一端を現している可能性もあり、本 iPSC は NF1 の病態モデルになる可能性が考えられた。

本研究では、NF1-iPSC からまず MSC を誘導し、さらに MSC から in vitro および in vivo で、軟骨・骨組織を誘導した。WT および NF1-iPSC から誘導された MSC は、MSC マーカーである CD73、CD90、CD105 陽性細胞がいずれも約 80%を占めたことから、両 iPSC 間で MSC への分化誘導能には差がな

いことが明らかとなった。このことは、NF1-1 は 15 歳時、NF1-2 は 24 歳時、いずれも身体の急速な成長を示す思春期以降に発症・診断されたことから、NF1 遺伝子異常が存在しても、発生時の個体成長や生存を脅かすような異常を起こさないことを裏付けていると考えられた。軟骨・骨分化誘導により分化した軟骨組織を組織学的に比較検討したところ、NF1-1-iPSC では WT-iPSC と同様に骨梁が観察され、軟骨組織の骨への内軟骨性化骨が進行していることが分かった。一方、NF1-2-iPSC では大部分の組織は SafraninO 陽性の軟骨組織からなり、軟骨から骨への軟骨性骨化は遅延していた。臨床症状の違いを示す NF1-iPSC を用いて再現可能であることが示された。したがって、同じ NF1 と臨床診断されながら臨床症状や経過が大きく異なっているのは、NF1 の変異の質的差異を反映している可能性が示唆された。

以上、本研究では、疾患特異的 iPSC は罹患組織へ分化誘導することで、病態モデルとしての可能性を見出した。

本疾患は遺伝子疾患の中では比較的発症率が高く、以前は主徴候である神経線維腫、および、カフェオレ斑が主に研究の対象とされていたが、最近では、本疾患の半数で学習障害、注意欠陥多動性障害や脳神経病変が見られることが報告されている。また、骨病変についても、骨欠損だけでなく骨吸収に関する報告も見られ、本疾患の全面的な病態の解明や根本的な治療薬の開発が大きな課題である。

NF1 遺伝子によって制御される Ras/MAP シグナルは、種々の増殖因子により制御されることが知られていることから、成分や組成が不確定な血清やフィーダー細胞を用いた培養条件では、iPSC における Ras/MAP シグナルの正確な検討は不可能である。本研究で樹立した本疾患特異的 NF1-iPSC が大きく研究に貢献できる可能性を示唆した。さらに、本研究では神経と骨・軟骨組織の分化誘導に成功しており、本疾患特異的 NF1-iPSC から特徴的な症状を示す臓器や組織に分化させることで、生体を模倣した本疾患の表現型を再現できており、臨床応用を視野にいたした研究の可能性も考えられた。

以上、フィーダーフリー、インテグレーションフリー完全無血清培養系で 2 名の NF1 患者から、NF1 特異的 iPSC の樹立に成功した。NF1-iPSC を用いた検討から、その高い神経分化能や軟骨・骨分化異常が明らかになるとともに、2 症例における遺伝子変異は質的には異なるものの、いずれも NF1 の haploinsufficiency (ハプロ不全)が生じ、発症していることが強く示唆された。本疾患特異的 NF1-iPSC を用いることで、本疾患の的確な病態解明や治療法の開発研究が可能となると考えられた。

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*(1347-6661) 27 巻 1 号 Page17-18. 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* (1347-6661) 27 巻 1 号 Page9-10, 2018.
 5. Eldecacitol, 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*、(1347-6661) 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. Eldecacitol (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
 1. 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.
 2. 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, Eldecacitol (ED-71), an Analog of 1 α , 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 (計 1 1 件)
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 Page133 (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、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、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 α , 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ー少子化・人口減少時代の生涯学習ー岡本 哲治 (編著者: 上杉孝實、香川正弘、河村能夫、350 ページ 2016, 株式会社ミネルバ書房

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○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

濱田 充子 (HAMADA ATSUKO)
 広島大学・病院・歯科診療医
 研究者番号: 30760318

(3) 連携研究者

()

研究者番号: