

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390360

研究課題名(和文) 蛍光イメージングを用いた骨軟部腫瘍の進展機序解明と治療戦略

研究課題名(英文) Treatment strategy and analysis of progression mechanism of musculoskeletal tumors using fluorescent imaging

研究代表者

土屋 弘行 (Tsuchiya, Hiroyuki)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：40227434

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円、(間接経費) 3,630,000円

研究成果の概要(和文)：蛍光標識骨肉腫細胞をin vivoでの継代で転移能の異なる細胞を作成し転移能が上昇するにつれてPAI-1・u-PAの濃度が上昇していた。カフェインの抗腫瘍効果はPTEN/Akt経路に加え、NF- κ B、ERKを抑制することを明らかにした。Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicatorを用いて、カフェインが細胞周期の停止を阻害し抗癌剤を増強させることが分かった。テオブロミンの作用について検討し、抗腫瘍作用があることが分かった。骨軟部悪性腫瘍の蛍光イメージング目的に、ICGを用いて骨軟部腫瘍患者で施行し手術のナビゲーションとなり得た。

研究成果の概要(英文)：Fluorescent labeled osteosarcoma cell line was transplanted in nude mice and harvested in lung metastasis to obtain higher metastatic cell line. The more metastatic potential, the more PAI-1 and u-PA levels increased. We previously reported that caffeine-assisted chemotherapy. We found caffeine affects tumor cells through various pathways, such as PTEN, AKT, NF- κ B, and ERK activities. Modulation of cisplatin efficacy induced by caffeine was visualized at the subcellular level by fluorescent ubiquitination-based cell cycle indicator in the nucleus. Caffeine overcame the cell-cycle arrest induced by cisplatin, thereby increasing its efficacy. Theobromine, a caffeine derivative, was investigated as a new anti-cancer effect. It elevates intracellular cAMP levels and inhibits cell proliferation. Surgical navigation for bone and soft tissue tumor in mouse and human was also performed using ICG and near-infrared fluorescent imaging.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：骨・軟部腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

蛍光タンパクは、これまで目に見えなかった生物の現象を目に見えるようにし、生物学に革命的变化をもたらした。即ち、蛍光タンパクは腫瘍細胞の動き、浸潤、転移や血管新生などのような生きた動物の体内での癌の重要な側面を目で見ることができるようになった。

これまで申請者らは、米国カリフォルニア大学サンディエゴ校外科学教室およびアンチキャンサー社との共同実験で、癌細胞の生体内イメージングを世界でも先駆的に行ってきた。まず、GFP (緑蛍光タンパク) またはRFP (赤蛍光タンパク) を、レトロウイルスを用い癌細胞に遺伝子導入し、安定して蛍光を発する細胞株を樹立した。これをヌードマウスに移植し、マルチカラーイメージングシステムを使用することで、マウス内での血行転移、リンパ節転移などのリアルタイムイメージングに成功した (Yamauchi et al. *Cancer Res* 2008;68:516, Hayashi et al. *Cancer Res* 2007;67:8223)。原発巣から癌細胞が離脱し、脈管内を流れ、転移巣を形成するまでの一連の現象が蛍光を発する癌を用いることで、明瞭に可視化された。多様な蛍光タンパクを用いることで *in vivo* で成育する癌細胞と宿主細胞を細胞レベルで識別することを可能にした。さらに、これまで非常に困難であるといわれてきた肺でのイメージングにも取り組み、生きたままで且つ繰り返し肺を観察できるマウスモデルを確立し、肺転移形成の過程を蛍光蛋白発現がん細胞を用いて観察することに成功した。

血液凝固因子や線溶因子が悪性腫瘍の増殖や転移に強く関連していることはこれまで多く報告されており、我々も、プラスミノゲン活性化因子インヒビター-1 (PAI-1) やウロキナーゼ型プラスミノ-ゲン活性化因子 (uPA) の肉腫細胞における発現が肺転移発生に強く関連していることを報告してきた。しかし、これまでの研究ではこれらの因子が転移形成のどの過程に関連しているかは解析が困難であった。

当科では骨軟部腫瘍の症例の治療で、化学療法にカフェインを併用することで良好な成績を得ている (Hayashi et al, *J Orthop Sci* 2009;14:253)。DNA に障害を受けた腫瘍細胞は細胞周期を延長し、DNA の修復を図るが、カフェインはその細胞周期の延長を阻害することにより DNA に障害を受けた細胞のアポトーシスを誘導するといわれている。しかし、そのメカニズムには不明な点が多い。

2. 研究の目的

肺のリアルタイムイメージングは、がん細胞の肺に対する生体内接着アッセイとも言える実験であり、これまで *in vitro* でしかできなかった接着アッセイを *in vivo* で行うことを可能とした非常に独創的なモデルであるといえる。このモデルを利用して、血液凝

固・線溶関連因子とがん細胞の肺への接着との関係を検討する。まず *in vitro* で骨肉腫細胞が産生する血液凝固・線溶関連因子の量を測定し、転移能との相関を確認する。

腫瘍の発生、増殖に関与する2つの主要な経路である PTEN 活性化、Ras-MAPK 経路の不活性化をカフェインやその代替物質で証明し、抗腫瘍効果を *in vitro*, *in vivo* で確認する。新たなアポトーシス経路の検索、さらに、カフェインは不眠や動機などの副作用が知られるが、これを軽減する目的に、リポソーム化カフェインや代謝物のテオプロミンなどにも着目して実験する。

これらの研究は、あらかじめ蛍光で標識した癌をマウスに移植するといった方法でやっていくが、さらなる応用として、すでに体内にある腫瘍を外から標識してイメージングすることを考えている。これにより、最終的には人間の生体内で癌細胞を可視化し、それをガイドとして安全な腫瘍切除術が可能になる。標識の方法は、癌に特異的な抗原をターゲットにした蛍光抗体や、インドシアニングリーン (ICG) などの物質を用いることができる。

蛍光イメージングガイド可での腫瘍摘出手術が可能となれば、切除範囲の確認、微小なスキップリージョンの切除など、利点が多い。また、腫瘍手術に限らず、神経や血管の標識を行い、脊椎手術や皮弁手術などを安全に行うことが可能となる。

3. 研究の方法

マウス肺転移のリアルタイムイメージングモデルでの血液凝固・線溶関連因子と転移のメカニズム解明について、まず転移能の異なる腫瘍細胞を用意し、その分泌蛋白の違いを検討することにした。ヒト骨肉腫 cell line 143B の、核に GFP・細胞質に RFP が発現するようにした2色の蛍光を有する 143B-dual を作成。ヌードマウス内で移植、肺転移巣の切除、継代を繰り返し、転移能の異なる sub line をえた。ELISA 法で各 cell line の培養液上清に分泌された線溶関連因子 Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1)、urokinase-type plasminogen activator (u-PA)、Tissue Factor (TF) の濃度を測定した。また RT-PCR で各 cell line における線溶因子の mRNA 発現を調べた。

既存抗がん剤の作用増強に関して、MG63, HOS, SaOS2 (ヒト骨肉腫細胞), HT1080 (ヒト線維肉腫細胞) をカフェイン刺激し、Western blotting にて cAMP, PTEN, Akt の活性などを測定した。各濃度刺激での Cell proliferation アッセイを Cell counting kit 8 で評価した。さらに、siRNA により PTEN をノックダウンして、カフェインによる Akt 抑制を調べた。他の経路として、カフェインの NF- κ B, ERK への作用についても評価した。ヒト骨肉腫細胞である HOS 細胞をカフェインまたはラパマイシンで刺激し、Western blotting にて

ERK、NF- κ B の発現をみた。

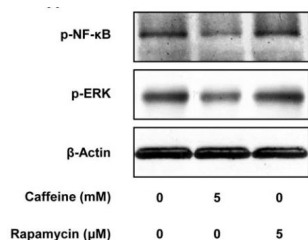
骨軟部悪性腫瘍の蛍光イメージング目的に、赤外線撮影カメラを購入した。インドシアニンググリーンを用いて担癌マウスでの新生血管のイメージング、その観察深度、血管、リンパ管の描出情報などを記録した。ヒトへの応用のため、骨軟部腫瘍患者での使用に倫理委員会申請を行ない、腫瘍リンパ管造影を中心に使用した。

4. 研究成果

マウス肺転移のリアルタイムイメージングモデルでの血液凝固・線溶関連因子と転移のメカニズム解明について、ヒト骨肉腫 cell line 143B の、核に GFP・細胞質に RFP が発現した 2 色の蛍光を有する 143B-dual、および in vivo での継代を繰り返すことで得られた転移能の異なる sub line 143B-LM1, 143B-LM2, 143B-LM3, 143B-LM4 を使用し実験を行った。

ELIZA法で各cell lineの培養液上清に分泌された線溶関連因子Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1)、urokinase-type plasminogen activator (u-PA)、Tissue Factor (TF) の濃度を測定した。その結果、転移能が上昇するにつれてPAI-1・u-PAの濃度が上昇していた。TFに関しては転移能と上清中の濃度に関して差は認めなかった。またRT-PCRで各cell lineにおける線溶因子のmRNA発現を調べたところ、同様の結果であった。

既存抗がん剤の作用増強に関しては、カフェインが Phosphodiesterase を抑制することにより cAMP を上昇させ、その結果 PTEN を活性化、Akt を不活性化することで抗腫瘍効果を示し、また cAMP が Epac (Exchange protein directly activated by cAMP) を介して PTEN を活性化することを発見した。しかし、siRNA により PTEN をノックダウンしてもカフェインによる Akt 抑制の減弱はわずかであった。このことから、カフェインが PTEN 以外の経路にも作用していると考え、NF- κ B、ERK への作用についても評価した。ヒト骨肉腫細胞である HOS 細胞をカフェインまたはラパマイシンで刺激し、Western blotting を行ったところ、カフェイン、ラパマイシンは ERK を抑制し、さらにカフェインは NF- κ B も抑制することを確認できた。この結果から、カフェインは PTEN/Akt 経路のみでなく、NF- κ B、ERK を抑制することで抗腫瘍効果を示すこ

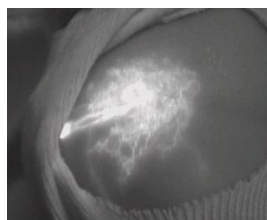


とを明らかにした。癌細胞の細胞周期を継続的に観察することにより、カフェインによる抗腫瘍増強作用の機序について検討した。Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator を用いて各細胞の細胞周期を識別しながら癌細胞

を継続的に観察した。シスプラチン・カフェイン併用刺激では細胞周期の停止は少ない傾向を示し、ほぼ全ての細胞がアポトーシスを誘導した。カフェインは抗がん剤による細胞周期の停止を阻害することにより抗腫瘍剤の作用を増強させることが分かった。カフェインと同様にカカオに含まれるメチルキサンチン誘導体としてテオプロミンがあげられる。今回、新規抗がん剤の増強剤として、テオプロミンの腫瘍細胞に対する作用についても検討した。U87-MG 細胞において、テオプロミンは cAMP 上昇、p38、JNK を活性化、Akt、mTOR、NF κ B を不活性化させた。テオプロミンは濃度依存的に U87-MG 細胞の増殖を抑制した。以上のことから、カフェインと同様にテオプロミンも抗腫瘍作用があることが分かった。

骨軟部悪性腫瘍の蛍光イメージング目的に、赤外線撮影カメラを用い、インドシアニンググリーンを用いて担癌マウスでの新生血管のイメージングが確認した。その観察深度、血管、リンパ管の描出情報を得たので、ヒトへの応用のため、骨軟部腫瘍患者での使用に倫理委員会承認の上、被験者 3 人で施行した。腫瘍周囲のリンパ管を中心に映像化され、センチネルリンパ節の同定、リンパ管造影、腫瘍近辺のリンパ管分布などの情報がえられ、手術のナビゲーションとなり得た。

腫瘍近辺への ICG 注射後



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 24 件)

1. Sugimoto N, Miwa S, Hitomi Y, Nakamura H, Tsuchiya H, Yachie A. Theobromine, the primary methylxanthine found in Theobroma cacao, prevents malignant glioblastoma proliferation by negatively regulating phosphodiesterase-4, extracellular signal-regulated kinase, Akt/mammalian target of rapamycin kinase, and nuclear factor-kappa B. Nutr Cancer. 2014;66(3):419-23. 査読有 doi: 10.1080/01635581.2013.877497
2. Fang X, Murakami H, Demura S, Hayashi K, Matsubara H, Kato S, Yoshioka K, Inoue K, Ota T, Shinmura K, Tsuchiya H. A novel

- method to apply osteogenic potential of adipose derived stem cells in orthopaedic surgery. *PLoS One*. 2014 Feb 19;9(2):e88874. 査読有 DOI 10.1371/journal.pone.0088874
3. Miwa S, Yano S, Hiroshima Y, Tome Y, Uehara F, Mii S, Efimova EV, Kimura H, Hayashi K, Tsuchiya H, Hoffman RM. Imaging UVC-induced DNA damage response in models of minimal cancer. *J Cell Biochem*. 2013 Nov;114(11):2493-9. 査読有 DOI 10.1002/jcb.24599.
 4. Miwa S, Yano S, Tome Y, Sugimoto N, Hiroshima Y, Uehara F, Mii S, Kimura H, Hayashi K, Efimova EV, Fujiwara T, Tsuchiya H, Hoffman RM. Dynamic color-coded fluorescence imaging of the cell-cycle phase, mitosis, and apoptosis demonstrates how caffeine modulates cisplatin efficacy. *J Cell Biochem*. 2013 Nov;114(11):2454-60. 査読有 DOI 10.1002/jcb.24593.
 5. Miwa S, Tome Y, Yano S, Hiroshima Y, Uehara F, Mii S, Kimura H, Hayashi K, Tsuchiya H, Bouvet M, Efimova EV, Hoffman RM. Single Cell Time-lapse Imaging of Focus Formation by the DNA Damage-Response Protein 53BP1 after UVC Irradiation of Human Pancreatic Cancer Cells. *Anticancer Res*. 33:1373-7, 2013 査読有
 6. Hayashi K, Tsuchiya H, Yamamoto N, Shirai T, Nishida H, Takeuchi A, Kimura H, Miwa S, Inatani H, Okamoto H, Yamada S, Ikeda H, Sawada-Kitamura S, Nojima T, Ooi A, Otsuka T. Diagnosis and treatment of low-grade osteosarcoma: experience with nine cases. *Int J Clin Oncol*. 2013 Jul 24. 査読有 DOI 10.1007/s10147-013-0592-z
 7. Shimozaki S, Yamamoto N, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Tanzawa Y, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Inatani H, Kato T, Tsuchiya H. Pedicle versus free frozen autograft for reconstruction in malignant bone and soft tissue tumors of the lower extremities. *J Orthop Sci*. 2013 19(1):156-63. 査読有 DOI 10.1007/s00776-013-0487-x.
 8. Miwa S, Takeuchi A, Ikeda H, Shirai T, Yamamoto N, Nishida H, Hayashi K, Tanzawa Y, Kimura H, Igarashi K, Tsuchiya H. Prognostic value of histological response to chemotherapy in osteosarcoma patients receiving tumor-bearing frozen autograft. *PLoS One*. 2013 Aug 15;8(8):e71362. 査読有 DOI 10.1371/journal.pone.0071362
 9. Yamamoto N, Tsuchiya H. Chemotherapy for osteosarcoma - where does it come from? What is it? Where is it going? *Expert Opin Pharmacother*. 2013 14(16):2183-93. 査読有 doi: 10.1517/14656566.2013.827171.
 10. Tsuchiya H, Shirai T, Nishida H, Murakami H, Kabata T, Yamamoto N, Watanabe K, Nakase J: Innovative antimicrobial coating of titanium implants with iodine. *J Orthop Sci*. 5: 595-604. 2012 査読有 DOI 10.1007/s00776-012-0247-3
 11. Yamamoto N, Hayashi K, Tanzawa Y, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Inatani H, Shimozaki S, Kitamura S, Tsuchiya H: Treatment strategies for well-differentiated liposarcomas and therapeutic outcomes. *Anticancer Res*. 32: 1821-5, 2012. 査読有
 12. Yamamoto N, Inatani H, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Shimozaki S, Kato T, Tsuchiya H: Histological study on liquid nitrogen-treated tumor-bearing bone of the proximal femur excised eight years after transplantation. *Low Temp Med*. 38: 5-8, 2012. 査読有
 13. Kimura H, Tome Y, Momiyama M, Hayashi K, Tsuchiya H, Bouvet M, Hoffman RM.: Imaging the inhibition by anti- $\beta 1$ integrin antibody of lung seeding of single osteosarcoma cells in live mice. *Int J Cancer*. 131: 2027-33, 2012. 査読有 DOI 10.1002/ijc.27475.
 14. Miwa S, Taki J, Yamamoto N, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Tanzawa Y, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Ooi A, Tsuchiya H: A novel combined radiological method for evaluation of the response to chemotherapy for primary bone sarcoma. *Journal of Surgical Oncology* 106: 273-9, 2012. 査読有 DOI 10.1002/js0.23074.
 15. Miwa S, Sugimoto N, Yamamoto N, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Yachie A, Tsuchiya H: Caffeine induces apoptosis by inhibiting Akt/mTOR/S6K, NF- κ B and MAPK pathways in osteosarcoma cell. *Anticancer Research* 32: 3643-9, 2012. 査読有
 16. Miwa S, Nishida H, Tanzawa Y, Takeuchi A, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Tsuchiya H: TNF- α and tumor lysate promote the maturation of dendritic cells for immunotherapy for advanced malignant bone and soft tissue tumors. *PLoS ONE* 2012, 926 査読有 DOI 10.1371/annotation/7c0f14e6-cfba-4f5f-b93d-1a149eaec96
 17. Suganuma S, Tada K, Hayashi K, Takeuchi A, Sugimoto N, Ikeda K, Tsuchiya H: Uncultured adipose-derived regenerative cells promote peripheral nerve regeneration. *J Orthop Sci* 18: 145-51, 2012. 査読有 DOI

- 10.1007/s00776-012-0306-9.
18. Tsuchiya H. Basic science and clinical frontiers of sarcoma treatment. *Int J Clin Oncol* (16) 82-83,2011. 査読有 DOI 10.1007/s10147-011-0219-1
 19. Yamamoto N, Tsuchiya H. Tumor imaging with multicolor fluorescent protein expression. *Int J Clin Oncol.* 16:84-91, 2011 査読有 DOI 10.1007/s10147-011-0201-y
 20. Tsuchiya H High-grade undifferentiated pleomorphic sarcoma of pelvis treated with curettage and bone graft after complete remission following caffeine-potentiated chemotherapy. *J Orthop Sci.* 16:476-481, 2011 査読有 DOI 10.1007/s00776-011-0056-0
 21. Hayashi K, Kimura H, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Kishimoto H, Hasegawa A, Bouvet M, Hoffman RM. Comparison of Cancer-Cell Seeding, Viability and Deformation in the Lung, Muscle and Liver, Visualized by Subcellular Real-time Imaging in the Live Mouse. *Anticancer Res* (2011) 31:3665-72 査読有
 22. Tanzawa Y, Tsuchiya H, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Takeuchi A, Kawahara M, Tomita K. Potentiation of the antitumor effect of calcium phosphate cement containing anticancer drug and caffeine on rat osteosarcoma. *J Orthop Sci* 16:77-84, 2011 10.1007/s00776-011-0045-3 査読有
 23. Miwa S, Shirai T, Taki J, Sumiya H, Nishida H, Hayashi K, Takeuchi A, Ooi A, Tsuchiya H. Use of (99m)Tc-MIBI scintigraphy in the evaluation of the response to chemotherapy for osteosarcoma: comparison with (201)Tl scintigraphy and angiography. *Int J Clin Oncol* 16:373-8, 2011 査読有 10.1007/s10147-011-0194-6
 24. Miwa S, Sugimoto N, Shirai T, Hayashi K, Nishida H, Ohnari I, Takeuchi A, Yachie A, Tsuchiya H. Caffeine activates tumor suppressor PTEN in sarcoma cells. *Int J Oncol* 39:465-72, 2011 査読有 DOI 10.3892/ijo.2011.1051.

〔学会発表〕(計 28 件)

1. 土屋弘行 Biological reconstruction in tumor surgery Annual Meeting of Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology (招待講演) 2013年10月02日~2013年10月05日 DIVANI CARAVEL HOTEL (Greece)
2. 土屋弘行 骨軟部腫瘍学の進歩 東日本整形外科学会特別講演(招待講演) 2013年09月21日~2013年09月21日 軽井沢プリンスホテル(長野)
3. 土屋弘行 骨腫瘍 日本小児整形外科学会(招待講演) 2013年08月24日~2013年08月25日 京都府立医科大学青蓮会館(京都)
4. 土屋弘行 骨腫瘍における機能再建術 第9回整形外科アップデートセミナー(招待講演) 2013年07月27日~2013年07月27日 東京ドームホテル(東京)
5. 土屋弘行 骨肉腫に対する挑戦 平成25年度十全同窓会新任教授就任記念講演会(招待講演) 2013年07月06日~2013年07月06日 十全講堂(金沢)
6. 土屋弘行 Invasion and metastasis: from basics to real-time imaging European Musculoskeletal Oncology Society Meeting (招待講演) 2013年06月11日~2013年06月13日 Swedish Exhibition and Congress Center (Sweden)
7. 土屋弘行 悪性骨軟部腫瘍再建術の未来 日本整形外科学会学術集会(招待講演) 2013年05月23日~2013年05月26日 リーガロイヤルホテル広島(広島)
8. 土屋弘行 骨軟部腫瘍学の現状 第46回 東海地区整形外科教育研修会(招待講演) 2012年10月20日 ミッドランドホール(名古屋)
9. Tsuchiya H Progress of osteosarcoma treatment: Ultimate conservative surgery in conjunction with caffeine-potentiated chemotherapy 17th World Congress on Advances in Oncology and 15th International Symposium on Molecular Medicine (招待講演) 2012年10月11日~2012年10月13日 Creta Maris Hotel (Greece)
10. 土屋弘行 患肢温存手術の動向-そして未来へ 第119回 中部日本整形外科学会災害外科学会特別講演(招待講演) 2012年10月05日~2012年10月06日 福井市フェニックスプラザ(福井)
11. Tsuchiya H Update of Caffeine-potentiated chemotherapy for osteosarcoma The 9th Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society Meeting (招待講演) 2012年09月07日~2012年09月09日 Hilton Kularunpul (Malaysia)
12. Hayashi K, Tsuchiya H, et al Multicenter study of caffeine-potentiated chemotherapy for bone and soft tissue sarcoma. 9th Asian Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS) 2012年09月06日~2012年09月09日 Hilton Kularunpul (Malaysia)
13. Kimura H, Tsuchiya H, et al Anti-β1 integrin antibody inhibits osteosarcoma lung seeding and metastasis. 9th Asian Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS) 2012年09月06日~2012年09月09日 Hilton Kularunpul (Malaysia)

14. 土屋弘行 骨軟部腫瘍の最先端 第7回 斯整会骨軟部腫瘍検討会特別講演会(招待講演) 2012年08月18日 東急ホテル(名古屋)
 15. 土屋弘行 腫瘍外科医の限りなき挑戦 第45回 日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(招待講演) 2012年07月14日~2012年07月15日 東京国際フォーラム(東京)
 16. Kimura H, Tsuchiya H, et al Effect of anti- β 1 integrin antibody on lung seeding of osteosarcoma cells in live mice visualized by single-cell in vivo imaging. 2012 Annual Meeting of American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2012年06月01日~2012年06月05日 McCormick Place (USA)
 17. 土屋弘行 ここまで来た骨腫瘍再建術 第85回 日本整形外科学会学術総会 教育研修講演(招待講演) 2012年05月17日~2012年05月20日 国立京都国際会館(京都)
 18. 土屋弘行 骨腫瘍の再建術:過去・現在・未来 第7回つくば運動器セミナー(招待講演) 2011年12月2日 オークラフロンティアホテルつくば(茨城県)
 19. 木村浩明, 土屋弘行 他 抗 β 1インテグリン抗体は骨肉腫細胞の肺への接着および肺転移の発生を抑制する 第26回日本整形外科学会基礎学術集会 2011年10月21日 ベイシア文化ホール(群馬県)
 20. 林克洋, 土屋弘行 他 肉腫細胞の可視化モデルを用いた肉腫転移機構の解明 第26回日本整形外科学会基礎学術集会 2011年10月20日 ベイシア文化ホール(群馬県)
 21. Kimura H, Tsuchiya H, et al Real-time imaging of single cancer-cell dynamics of lung metastasis International Society of Limb Salvage/Musculoskeletal Tumor Society Combined Meeting 2011年9月18日 China National Convention Center (China)
 22. Takeuchi A, Tsuchiya H, et al Benefit of caffeine-potentiated chemotherapy for high-grade soft tissue sarcoma International Society of Limb Salvage/Musculoskeletal Tumor Society Combined Meeting 2011年9月17日 China National Convention Center (China)
 23. Hayashi K, Tsuchiya H, et al Comparison of Sarcoma Cell Seeding, Viability and Deformation in the Lung, Muscle and Liver, Visualized by Subcellular Real-Time Imaging in the Live Mouse International Society of Limb Salvage/Musculoskeletal Tumor Society Combined Meeting 2011年9月17日 China National Convention Center (China)
 24. 土屋弘行 腫瘍外科医の挑戦 第20回 近整会夏季研究会(招待講演) 2011年8月27日 ホテルシーガルてんぼーざん 大阪(大阪府)
 25. 山本憲男, 土屋弘行 他 蛍光蛋白を用いたがん細胞の in vivo 動態イメージング 第44回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 2011年7月15日 国立京都国際会館(京都府)
 26. 木村浩明, 土屋弘行 他 蛍光蛋白発現がん細胞を用いた肺転移形成のリアルタイムイメージング 第44回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会 2011年7月15日 国立京都国際会館(京都府)
 27. Miwa S, Tsuchiya H, et al A novel combined radiological method for evaluation of the response to chemotherapy for primary bone sarcoma American Society of Clinical Oncology Annual Meeting 2011年6月5日 Mc Cormick place (USA)
 28. Kimura H, Tsuchiya H, et al Anti- β 1 integrin antibody inhibits osteosarcoma lung seeding and metastasis. 102th Annual meeting of American Association for Cancer Research 2011年4月4日 Orange county convention center (USA)
6. 研究組織
- (1)研究代表者
土屋 弘行 (TSUCHIYA Hiroyuki)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号: 4022743
 - (2)研究分担者
()
研究者番号:
 - (3)連携研究者
山本 憲男 (YAMAMOTO Norio)
金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任教授
研究者番号: 90332668
- 白井 寿治 (SHIRAI Toshiharu)
京都府立医科大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 20397186
- 林 克洋 (HAYASHI Katsuhiko)
金沢大学・大学病院・助教
研究者番号: 80507054