

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390396

研究課題名（和文）骨軟部悪性腫瘍の生体内蛍光イメージング－原発巣から転移，治療まで

研究課題名（英文）Fluorescent in vivo imaging of bone and soft tissue tumor -primary, metastasis and therapy-

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

研究成果の概要（和文）：蛍光をつかった生体内の肉腫イメージングに関して研究した。骨代謝に関連するアルカリフォスファターゼの抗体などを用いることで、骨肉腫を蛍光標識できることがわかった。蛍光色は GFP（緑）が広く使われるが、直視下での観察の際は自家蛍光による問題があり、赤色または、赤外線を用いることでより良好な観察ができた。マウス肺転移モデルでのリアルタイムイメージングを行い、肺転移早期と免疫細胞の関係をみた。また、液体窒素処理を行った腫瘍による免疫活性作用を樹状細胞の培養を行い、抗腫瘍効果の増強を確認した。

研究成果の概要（英文）：We have investigated in vivo sarcoma fluorescent imaging. Fluorescent alkaline phosphatase antibody can label osteosarcoma. Although GFP (green) is widely used for fluorescent imaging, it has a problem of autofluorescence. Red or infrared were better observed to detect cells without autofluorescence. Real-time imaging performed in mouse lung metastasis model, the contribution of immune cells for early step of metastasis was observed. Dendritic cells for immunotherapy combined with tumor lysate of cryo-treatment were effective.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	13,300,000	3,990,000	17,290,000

研究分野：癌

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科

キーワード：骨・軟部腫瘍学、蛍光タンパク、イメージング、転移

## 1. 研究開始当初の背景

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、オリンパス社から提供された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 (Hayashi et al. Cancer Res

2007;67:8223, Yamauchi et al. *Cancer Res* 2006;66:4208). 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。また、骨の中の腫瘍も蛍光蛋白を使うことで観察に成功した。RFPを発現する骨腫瘍を、新生血管が GFP を発現するトランスジェニックマウスに移植することで、腫瘍と血管新生がマルチカラーで観察された (Hayashi et al. *J Surg Res* 2007;140:165)。このように、安定した蛍光を発する細胞と、高感度のカメラを使用することで、これまで観察できなかったものを観察することができるようになった。この技術を更なる癌研究、すなわち生体内での腫瘍の可視化、転移の機序や抑制方法、免疫療法の可能性などに応用を行った。

## 2. 研究の目的

主目的は、骨軟部腫瘍の蛍光を使用したイメージングを生体内で可能にし、癌治療研究の根本である腫瘍進展の動態の観察、転移のメカニズムの解明、そして有効な治療をイメージングで追求することである。更に臨床に応用し、腫瘍切除手術の際のガイド、腫瘍細胞を検出する検査技術への適応などを考えた。

また、申請者らは、臨床で世界でもオリジナルの手術として、骨腫瘍を骨ごと摘出した後、液体窒素処理し腫瘍細胞を不活化して骨の再建に利用している (Tsuchiya et al. *J Bone Joint Surg* 2005;87B:218)。この液体窒素で不活化した腫瘍片には、免疫増強作用があると報告されている (Sabel MS et al. *Immunologic response to cryoablation of breast cancer. Breast Cancer Res Tr* 2005;90:97)。また、イメージングを利用して、その免疫作用を証明することも計画した。

更に、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きたが、次のステップとして、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た。これにより、最終的には人間の生体内で癌細胞を可視化することをめざした。このためには、癌細胞を特異的に標識する必要があり、今回は、蛍光抗体を使用した標識を中心に実験を進めた。腫瘍に特異的な一次抗体と蛍光の二次抗体を使用することは、蛍光染色として、病理ではすでに広く行われている手法であるが、生体内で使用した報告はまだ散見されるのみである (Koyama et al. *Clin Cancer Res* 2007;13:2936)。人体での応用はまだ報告がない。適切な抗体と、これまでの実験で使用した高感度のカメラの環境で、これは十分可能と考えられる。申請者らは骨軟部腫瘍 (主に骨肉腫) の標識を行う予定であるが、上皮系の癌と異なり、骨肉腫などには共通の抗原は現在のところ発見されていない。手術標本

から、より有用なマーカーとなりうる遺伝子を模索した。

## 3. 研究の方法

蛍光をつかった生体内のイメージングを以下の4つのテーマにわけ、平行して研究した。

### 1) 蛍光抗体を使った生体内の腫瘍のイメージング

蛍光抗体を使った骨肉腫のイメージングには、骨代謝で増加するアルカリフォスファターゼ (ALP) を一時抗体とし、二次抗体に AlexaFluor および Zenon を用いて蛍光標識した。骨肉腫細胞 SaOS2 および陰性コントロールである線維肉腫細胞 HT-1080 を抗 ALP 抗体で蛍光染色し、標識を確認した。一般的な波長である緑色に加え、赤色、近赤外線についても検討した。さらに動物内でもそれぞれの波長で腫瘍観察を行った。

### 2) 骨軟部腫瘍のマーカーの検索

臨床で切除検体の骨肉腫を免疫染色することで、マーカーとなりうるタンパクを検索した。同様に培養細胞でも染色を行った。また、マウスの低転移腫瘍と高転移腫瘍のサンプルから、マイクロアレイで悪性度の高い骨軟部腫瘍の発現遺伝子の同定を行い、mRNA で培養細胞、臨床検体の確認を行った。転移に密着し関与するといわれる接着因子に注目して実験を行った。

### 3) マウス肺転移モデルでのリアルタイムイメージング

レトロウイルスで蛍光蛋白を導入した腫瘍細胞をマウスの尾静脈に注射し、実験的肺転移を得ることができる。マウスを人口呼吸下で開胸し、呼吸や心拍の振動をおさえて肺を直接イメージングした。細胞レベルの観察が可能であり、線維肉腫と乳癌細胞の尾静脈注射による0~7日後の肺転移の観察を行い、細胞の性質の違いによる転移の時間経過の違いを計測した。免疫細胞と肺転移の腫瘍細胞のインターアクションをみるために、免疫細胞を集めるモデルを使用した。Ovalbumin を抗原感作として喘息発作 GFP マウスを作製し、正常マウスに GFP (+) 免疫細胞を移植し、腫瘍との関係を可視化させる方向とした。免疫不全マウスと正常マウスでの転移初期の相違点も観察した。さらに、肺、肝臓、筋肉内の転移形式の違いをイメージングにて観察を行った。

4) マウス内に骨肉腫細胞を移植、腫瘍塊に成長した後摘出、液体窒素で不活化する。この不活化した腫瘍片を別の GFP マウスに移植、抗原として認識させる。感作させたマウスから脾細胞 (GFP 陽性) を摘出し、さらに別の正常マウスに移植する。このマウスに RFP の腫瘍を移植し、GFP の免疫細胞とのインターアクションをみる。腫瘍に対して集まってくる細胞の数、種類、時間などが、生体内でリア

ルタイムに観察できる。更に免疫応答を高めるため、単球から分化した樹状細胞も使い、抗原提示の増強を試みた。

#### 4. 研究成果

本研究である蛍光腫瘍イメージングは、2011年米国整形外科学会の scientific exhibit に選出され、ポスター7枚とビデオ展示により総括の発表を行った。また、2011年の整形外科学会基礎学術集会のシンポジウムとして蛍光イメージングの演題を指名され、発表予定である。

1) 蛍光抗体を使った生体内の腫瘍のイメージングとして、腫瘍特異的な抗体と蛍光二次抗体を利用し、骨軟部腫瘍を蛍光標識することを目的とした。骨代謝で増加するALPを使用し、培養細胞を抗ALP抗体で免疫染色すると、抗体は陽性であった。この抗体と蛍光二次抗体を使用し、骨肉腫培養細胞を標識した。通常のAlexaFluor 蛍光抗体で標識されることが確認されたが、可視化が不明瞭であり、蛍光標識の方法をZenon法に変えたところ、標識が良好となった。

骨代謝に関連するアルカリフォスファターゼの抗体を用いることで、骨肉腫培養細胞が標識できることは確認された。in vivoの実験の橋渡しとして、in vitroで線維肉腫HT-1080株と共培養して骨肉腫細胞の特異度をみたが、蛍光抗体がHT-1080にもやや停留する蛍光があり、偽陽性の問題があると考えられた。

蛍光色は、一般にGFP(緑)が広く使われるが、直視下での観察の際は自家蛍光による正常組織の蛍光の問題があり、最適な波長のものを選択する必要がある。赤色または、赤外線を使用することで自家蛍光の問題は解消され、観察が可能であった。

#### 2) 骨軟部腫瘍のマーカーの検索

当院で手術を行った骨肉腫患者の免疫染色の結果でKi-67抗体は悪性度が強い症例で陽性度が高かったため、これをマーカーとすることが示唆された。また、ALPやVimentinもマーカーとして有用と考えられた。骨肉腫に完全な特異的なマーカーとしては不適合であるが、生体内で腫瘍を他と区別する目的であれば応用可能と考えた。

接着因子の解析を行っているが、遺伝子の検索で、接着因子であるプラコグロビンの発現が、骨軟部肉腫の悪性度に相関する結果が得られている。プラコグロビン mRNA の発現はdownregulate されている傾向があった。その上流のupregulate するものでマーカーとなりうると考えた。

#### 3) マウス肺転移モデルでのリアルタイムイメージング

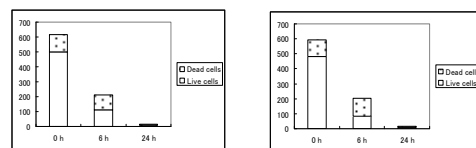
マウスを人口呼吸下で開胸し、呼吸や心拍の

振動をおさえて肺転移のイメージングを行った。これまで、高輝度の蛍光発現細胞、高感度カメラなどを使用することで、連続8時間の肺の観察や、同一マウスでの数回の開胸と閉創の繰り返しに成功している。

ヒト線維肉腫細胞とマウス由来乳癌細胞を尾静脈注射して0、1、7病日に観察したところ、ヒト線維肉腫細胞はマウス乳癌細胞に比べトラップされる数は多いが、7病日にはほとんど消えていた。これは細胞がトラップされる際は、接着因子などの関与、その後の生着は免疫などの関与が示唆された。

Ovalbumin(喘息抗原)による喘息マウスモデルを作成した。転移と免疫細胞の関係をイメージングすることを試みた。GFPトランスジェニックマウスを抗原感作し、脾細胞より監査済みの血球で採取、白血球を別の正常マウスに移植し、移植した免疫細胞のみGFPを発現するホストを得た。その後、喘息抗原の吸入を行い、喘息を誘発した。肺でのGFP陽性細胞のダイナミクスをリアルタイムでイメージングを試みたが、GFP陽性細胞は、喘息発作を誘発しても集積は乏しく、腫瘍細胞とのインターアクションを見ることまではできなかった。

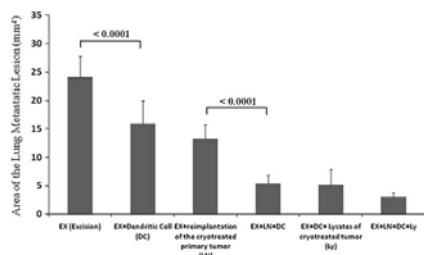
尾静脈から蛍光標識した腫瘍細胞を注射し、開胸して直視下に観察すると、トラップされた細胞が観察可能である。これを繰り返し観察することで、同一個体で経時的な腫瘍の転移が観察された。肺、肝臓、筋肉内のトラップされた腫瘍を継時的に観察し、それぞれ細胞の生存の特徴が観察された。肺の細胞は、多臓器に比べ速やかに消失し、かつ免疫不全マウスと正常免疫マウスでの差は認められず、転移早期には免疫細胞の関与は少ないと考えた。



腫瘍をマウスに尾静注して肺転移を継時的に観察。免疫不全マウス(左)と正常マウスに差がなく、転移早期には免疫細胞の関与は少ないと考えた。

4) 液体窒素処理腫瘍の免疫増強反応。マウスに生育した腫瘍を摘出、液体窒素処理して腫瘍細胞を殺したのち、マウスに接種することで、癌免疫が高まることを確認する目的とした。蛍光標識したリンパ球を用いることで、液体窒素処理した群でリンパ球の集積が期待されたが、有意差がなかった。液体窒素処理を行った腫瘍による免疫活性化作用を研究しているが、さらにその作用を増強する方法にとりくんだ。腫瘍抗原の認識を

高めるため、樹状細胞の培養を行い、抗腫瘍効果の増強を確認した。樹状細胞は単球から成熟させるが、OK432を用いることで効率よく分化を誘導することができた。



担癌マウスにおいて、腫瘍切除のみに比べ、切除した腫瘍を液体窒素処理し抗原提示として使用し、樹状細胞を移植したものは、その後の肺転移の面積が少ない傾向となった。

#### 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)

- Kimura H, Hayashi K, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Kishimoto H, Bouvet M, Hoffman RM. Real-time imaging of single cancer-cell dynamics of lung metastasis. *J Cell Biochem* 109(2010): 58-64, 査読有
- Hasegawa A, Hayashi K, Kishimoto H, Yang M, Tofukuji S, Suzuki K, Nakajima H, Hoffman RM, Shirai M, Nakayama T. Color-coded real-time cellular imaging of lung T-lymphocyte accumulation and focus formation in a mouse asthma model. *J Allergy Clin Immunol* 125(2010): 461-468 e6, 査読有
- Kimura H, Zhang L, Zhao M, Hayashi K, Tsuchiya H, Tomita K, Bouvet M, Wessels J, Hoffman RM. Targeted therapy of spinal cord glioma with a genetically modified *Salmonella typhimurium*. *Cell Prolif* 43(2010): 41-8, 査読有
- Tsuchiya H, et al. Pedicle frozen autograft reconstruction in malignant bone tumors. *J Orthop Sci* 15(2010): 340-349, 査読有
- Kawano M, Nishida H, Nakamoto Y, Tsumura H, Tsuchiya H. Cryoimmunologic antitumor effects enhanced by dendritic cells in osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res* 468(2010): 1373-1383, 査読有

- 林克洋. 転移リアルタイムイメージング. *臨床整外* 45(2010): 1134-1138, 査読有
- Kimura H, Lee C, Tsuchiya H, et al. UV light killing efficacy of fluorescent protein-expressing cancer cells in vitro and in vivo. *J Cell Biochem* 110(2010): 1439-46, x
- Kimura H, Momiyama M, Tomita K, Tsuchiya H, Hoffman RM. Long-working-distance fluorescence microscope with high-numerical-aperture objectives for variable-magnification imaging in live mice from macro- to subcellular. *J Biomed Opt* 15(2010): 066029, 査読有
- Hayashi K, Zhao M, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Hoffman RM. Cancer metastasis directly eradicated by targeted therapy with a modified *Salmonella typhimurium*. *J Cell Biochem* 106(2009): 992-8
- Tome Y, Tsuchiya H, et al. In vivo gene transfer between interacting human osteosarcoma cell lines is associated with acquisition of enhanced metastatic potential. *J Cell Biochem* 108(2009): 362-367, 査読有
- Hayashi K, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Bouvet M, Wessels J, Hoffman RM. A color-coded orthotopic nude-mouse treatment model of brain-metastatic paralyzing spinal cord cancer that induces angiogenesis and neurogenesis. *Cell Prolif* 42(2009): 75-82, 査読有
- 林克洋, 土屋弘行. 骨・軟部腫瘍のバイオイメージング 関節外科 27(2008): 245-251, 2008, 査読有
- Hayashi K, Zhao M, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Kishimoto H, Bouvet M, Hoffman RM. Systemic targeting of primary bone tumor and lung metastasis of high-grade osteosarcoma in nude mice with a tumor-selective strain of *Salmonella typhimurium*. *Cell Cycle* 8(2009): 870-5, 査読有

[学会発表] (計 31 件)

- Katsuhiro Hayashi, Norio Yamamoto, Toshiharu Shirai, Hideji Nishida, Akihiko Takeuchi, Hiroaki Kimura, Robert M Hoffman, Hiroyuki Tsuchiya. Leading technology for in vivo

- fluorescent sarcoma imaging. AAOS American Academy of Orthopaedic Surgeons 2011. 2. 15-19 (USA)
2. 土屋 弘行. 骨腫瘍の治療における創意と工夫. 京都運動器疾患フォーラム (招待講演) 2010. 12. 5 京都ホテルオークラ(京都府)
  3. 土屋弘行. 骨腫瘍に対する最近の外科的治療. 第223回大阪臨床整形外科医会研修会 (招待講演) 2010. 11. 20 ANA クラウンプラザホテル大阪(大阪府)
  4. Tsuchiya H. #1 “State of Art” Lecture: Impact of caffeine-potentiated chemotherapy on musculoskeletal sarcoma treatment #2 Surgical management of skeletal metastatic tumour. 17th Hong Kong International Cancer Congress (招待講演) 2010. 11. 3-5 Cheung Kung Hai Conference Centre (Hong Kong)
  5. Kimura H, Tsuchiya H, et al. Anti  $\beta$  lntegrin antibody inhibits osteosarcoma cell lung seeding and metastasis. combined meeting of orthopedic research society 2010. 10. 16-20 京都国際会議場(京都府)
  6. 林克洋, 土屋弘行. サルモネラ変異株を応用したリンパ節転移の治療と蛍光イメージング. 日本整形外科学会基礎学術集会 2010. 10. 14 京都国際会議場(京都府)
  7. 土屋弘行. 骨腫瘍の診断と治療: 悪性腫瘍に対する治療. 日本小児整形外科学会第17回研修会(招待講演) 2010. 8. 22 大正製薬株式会社(東京都)
  8. Hayashi K, Tsuchiya H. Targeting of primary tumor and lung metastasis of high-grade osteosarcoma in nude mice with a tumor-selective strain of Salmonella typhymurium. 日本整形外科学会学術総会 2010. 5. 27 東京国際フォーラム(東京都)
  9. 土屋弘行. カフェイン併用化学療法の過去・現在・未来. ひむかセミナー (招待講演) 2010. 5. 15 ホテル JAL シティ宮崎(宮崎県)
  10. Tsuchiya H. Cryoimmunology in bone sarcoma. ブラジル骨軟部腫瘍学会(招待講演) 2010. 4. 21-24 Porto de Galinhas (Brazil)
  11. Kimura H, Tsuchiya H, et al. Real-time in vivo color-coded imaging of the interaction between immunocytes and tumor cells during cancer therapy. American Association for Cancer Research 2010. 4. 17-21 Washington Convention Center (USA)
  12. Kimura H, Tsuchiya H, et al. Real-time imaging of nuclear-cytoplasmic dynamics in UV light killing of cancer cells expressing fluorescent proteins. American Association for Cancer Research 2010. 4. 17-21 Washington Convention Center (USA)
  13. 林 克洋, 土屋弘行. 蛍光蛋白を使用した悪性腫瘍の転移リアルタイムイメージング. 第24回日本整形外科学会基礎学術集会 2009. 11. 5-6 パシフィコ横浜(神奈川県)
  14. 土屋弘行 Biological reconstruction after tumor resection. 5th International Scientific Symposium of Total Knee Arthroplasty 2009. 10. 8 City Hall of Krakow (Poland)
  15. 林克洋 土屋弘行 山本憲男 白井寿治 山内健輔 ロバートホフマン 富田勝郎. 蛍光蛋白を使用した癌細胞のリンパ節転移のリアルタイムイメージング. 第18回日本がん転移学会学術集会・総会 2009. 7. 23-24 札幌
  16. 林 克洋, 土屋弘行. 蛍光蛋白を使用した癌細胞のリンパ節転移のリアルタイムイメージング. 第42回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 2009. 7. 17-18 パシフィコ横浜(神奈川県)
  17. 土屋弘行 骨腫瘍再建術の Up-to-Date. 第83回東京医科歯科大学整形外科集談会 2009.7.4 東京医科歯科大学(東京)
  18. 土屋弘行 Biological reconstruction for tumor surgery. The 50th Memorial International Orthopaedic Symposium in Kyungpook National University 2009. 5. 30 Kyungpook National University (韓国)
  19. 土屋弘行 Biological reconstruction in lim-saving surgery. 台北荣民総医院 50周年院慶骨科医学最新進展国際検討会 2009. 5. 23 台北荣民総医院(台湾)
  20. 林 克洋, 土屋弘行 Dual color imaging of angiogenesis and its inhibition in bone and soft tissue sarcoma. 第52回日本整形外科学会学術総会 2009. 5. 14-17 福岡国際会議場(福岡)
  21. 土屋弘行 Biological Reconstruction. Orthopedic Seminar at South Valley University 2009. 4. 27 South Valley University (Egypt)
  22. K Hayashi, H Tsuchiya, N Yamamoto, T Shirai, H Nishida, K Yamauchi, A Takeuchi, H Kimura, K Tomita, M Bouvet, RM. Hoffman. Real Time Imaging of Cancer Cell Seeding to the Lung in Live Mouse. 100th American Association for

- Cancer Research 2009. 4. 12-16 Colorado Convention Center (USA)
23. 林克洋, ミンジョ, 山内健輔, 山本憲男, 土屋弘行, 富田勝郎, 岸本浩行, マイケルブベイ, ロバートホフマン Targeted therapy of bone tumor and lung metastasis in mice with a tumor-selective strain of Salmonella typhymurium. 第 67 回日本癌学会 2008. 12. 20 名古屋国際会議場 (名古屋)
24. 林克洋, 土屋弘行, 山本憲男, 白井寿治, 山内健輔, 大成一誓, 武内章彦, 河野正典, 富田勝郎 マウス内での蛍光蛋白を使った腫瘍と血管新生のイメージング. 第 111 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会 2008. 10. 17 石川音楽堂 (石川)
25. Katsuhiro Hayashi, Hiroyuki Tsuchiya, Norio Yamamoto, Toshiharu Shirai, Kensuke Yamauchi, Akihiko Takeuchi, Hiroaki Kimura, Yasunori Tome, Masanori Kawano, Robert M. Hoffman, Katsuro Tomita Imaging angiogenesis in bone and soft tissue tumors in nestin-driven green fluorescent protein transgenic nude mouse. 7th Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society 2008. 9. 26 China National Convention Center (China)
26. 林克洋, 土屋弘行, 山本憲男, 白井寿治, 山内健輔, 大成一誓, 武内章彦, 河野正典, 富田勝郎 蛍光イメージングとがん治療. 第 11 回骨軟部腫瘍セミナー 2008. 9. 6 金沢都ホテル (石川)
27. 林克洋, ミンジョ, 山内健輔, 山本憲男, 土屋弘行, 富田勝郎, ロバートホフマン サルモネラ変異株を応用したリンパ節転移の治療と蛍光イメージング. 第 17 回日本がん転移学会 2008. 7. 24 サンロイヤルホテル鹿児島 (鹿児島)
28. 林克洋, 土屋弘行, 山本憲男, 白井寿治, 山内健輔, 武内章彦, 木村浩明, 當銘保則, 河野正典, ロバートホフマン, 富田勝郎 蛍光蛋白を使った腫瘍と血管新生のイメージング. 第 41 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会 2008. 7. 18 アクトシティ浜松 (静岡)
29. Katsuhiro Hayashi, Ming Zhao, Kensuke Yamauchi, Norio Yamamoto, Hiroyuki Tsuchiya, Katsuro Tomita, Hiroyuki Kishimoto, Michael Bouvet, Robert M. Hoffman An imageable nude-mouse treatment model of metastatic paralyzing spinal-cord cancer. 99th American Association for Cancer Research 2008. 4. 12 San Diego Convention Center (USA)
30. Katsuhiro Hayashi, Ming Zhao, Kensuke Yamauchi, Norio Yamamoto, Hiroyuki Tsuchiya, Katsuro Tomita, Hiroyuki Kishimoto, Michael Bouvet, Robert M. Hoffman Cancer metastasis cured by specific targeting of a modified Salmonella Typhymurium. 99th American Association for Cancer Research 2008. 4. 12 San Diego Convention Center (USA)
31. Katsuhiro Hayashi, Ming Zhao, Kensuke Yamauchi, Norio Yamamoto, Hiroyuki Tsuchiya, Katsuro Tomita, Hiroyuki Kishimoto, Michael Bouvet, Robert M. Hoffman Targeting of primary bone tumor and lung metastasis of high-grade osteosarcoma in nude mice with a tumor-selective strain of Salmonella typhymurium. 99th American Association for Cancer Research 2008. 4. 12 San Diego Convention Center (USA)

〔その他〕

ホームページ

[http://web.kanazawa-u.ac.jp/~med27/kenkyu/pages/bone\\_group.html](http://web.kanazawa-u.ac.jp/~med27/kenkyu/pages/bone_group.html)

## 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：40227434

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

富田 勝郎 (TOMITA KATSURO)  
金沢大学・医学系・教授  
研究者番号：92792

白井 寿治 (SHIRAI TOSHIHARU)  
金沢大学・医学系・助教  
研究者番号：20397186

林 克洋 (HAYASHI KATSUHIRO)  
金沢大学・附属病院・助教  
研究者番号：80507054