

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15658

研究課題名(和文) 癌骨転移の機序解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Investigation of mechanism of bone metastasis and the novel treatment of metastatic bone tumor

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) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子導入によりGFPを発現するヒト前立腺癌細胞PC-3を作成し、ヌードマウスの脛骨に注射することにより骨転移モデルを作成した。注射から1週後、抗CEAモノクローナル抗体をDyLight 650で標識してマウスに尾静脈注射した。コントロール群のマウスに対して明視野で腫瘍切除術(BLS)を行い、13匹のマウスに対して蛍光ガイド下で腫瘍切除術(FGS)を行った。結果として、FGSは有意に遺残腫瘍を減少させ、無再発生存率を改善した。FGSは骨転移モデルにおいて、遺残腫瘍、腫瘍再発を減少させることが示された。この手法を応用することにより様々な癌腫における遺残腫瘍、腫瘍再発の減少が期待できると思われる。

研究成果の概要(英文)：The present report demonstrates efficacy of fluorescence-guided surgery (FGS) to resect and prevent recurrence of experimental skeletal metastasis in a nude-mouse model of human prostate cancer. Green fluorescent protein (GFP)-expressing PC-3 human prostate cancer cells were injected into the intramedullary cavity of the tibia in 25 nude mice. One week after implantation, monoclonal antibodies, specific for carcinoembryonic antigen (CEA), labeled with DyLight 650, were injected into the tail vein of 13 mice. Thirteen mice underwent FGS and 12 mice underwent bright-light surgery (BLS). Weekly GFP fluorescence imaging of the mice was performed to observe tumor recurrence. FGS group showed only slight tumor growth and significantly improved disease-free survival of the treated mice. Our study demonstrated that FGS significantly reduced residual tumor as well as the recurrence of experimental prostate-cancer bone metastasis.

研究分野：腫瘍

キーワード：骨転移 蛍光タンパク 腫瘍切除術 蛍光イメージング

1. 研究開始当初の背景

全世界において、1年間に約50万人の前立腺癌患者が発生している(Gronberg, 2003)。前立腺癌は骨組織への転移することが多く、骨転移により疼痛、高カルシウム血症、病的骨折、神経の圧迫をきたし、進行癌患者のQOLを著しく低下させる(Gralow, 2009)。骨転移の標準的治療として、ビスフォスフォネート、放射線療法、外科的切除があげられ、骨転移の局所的根治には外科的切除が必要となる。骨腫瘍の切除において、切除縁における腫瘍組織の存在は局所再発の上昇に大きく影響する(Wedin, 1999)。したがって、切除縁における腫瘍の存在が悪性腫瘍の治療において重要な因子といえる。

我々はこれまでに、カリフォルニア大学サンディエゴ校との共同研究により蛍光タンパクで腫瘍を標識することにより腫瘍を可視化させて生体内で観察する技術を確立してきた。近年、生体内で腫瘍を可視化させる技術を手術に応用する試みを行っており、蛍光ガイド下で腫瘍を再発することにより再発率を減少させることを報告してきた。

2. 研究の目的

本研究の目的はヌードマウスを用いて骨転移モデルを作成し、腫瘍の増大、腫瘍再発に対する蛍光ガイド下腫瘍切除術(Fluorescence-guided surgery, 以下 FGS)の有用性を調査することである。

3. 研究の方法

レトロウイルスを用いた遺伝子導入により、緑色蛍光タンパクを発現するヒト前立腺癌細胞PC-3(PC-3-GFP)を作成した。PC-3-GFP細胞は1%のペニシリン/ストレプトマイシン(Invitrogen, Carlsbad, CA), 10%のFBS(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を含むDMEMで培養した。

実験動物として、6-8週のヌードマウスを用いた。麻酔にはKetamine, xylazine, acepromazine混合液の皮下注射を用いた。左脛骨粗面の上に約5mmの皮膚切開を加えて進入して骨孔を作成し、28Gの注射針を用いて 1×10^6 個のPC-3-GFP細胞と5 μ Lのマトリゲル(BD Bioscience, San Jose, CA)を骨孔内に注射した(Fig.1a)。細胞を移植後に皮膚を6-0ナイロンで縫合した。1週間後、蛍光イメージングOV100 Small Imaging System(Olympus Corp)を用いてGFP発現を確認した。

蛍光標識の方法として、Carcinoembryonic antigen (CEA)特異的モノクローナル抗体(Aragen Biosciences, Morgan Hill, California)をDyLight650 Amine-reactive Dye (Thermo Fisher Scientific, Rockford, Illinois)で標識した。DyLight650標識抗CEA抗体(anti-CEA DyLight650)を骨転移モデルマウスの尾静脈に注射した。注射から24時間後、Maestro fluorescence imaging system (CRi, Caliper, Perkin-Elmer Inc., Hopkinton, MA)を用いてマウスを蛍光イメージングで観察した。

腫瘍細胞を移植してから1週間後、25匹のマウ

スを明視野で切除するグループ(bright light surgery, 以下 BLS 群)、蛍光ガイド下で切除するグループ(FGS 群)に分類した。BLS 群のマウスにおいて、約1.5cmの皮膚切開を加えて進入し、腫瘍を周囲組織から剥離して切除した。FGS 群では、Maestro fluorescence imaging systemでanti-CEA DyLight™ 650の蛍光を観察して腫瘍を観察して切除範囲を確認して腫瘍を切除し、切除後にイメージングで遺残腫瘍の有無を観察し、遺残腫瘍を認めた場合には追加切除を行い、蛍光イメージングで腫瘍を認めなくなるまで切除と観察を繰り返した。術後、Olympus OV-100 Small Animal Imaging System (Olympus Corp)を用いて術野を観察して遺残腫瘍を観察した。腫瘍遺残率を以下の式で算出した。

腫瘍遺残率(%) = (術後の蛍光領域) / (術前の蛍光領域) × 100

腫瘍再発の評価として、Illumatool Imaging System (Lightools Research, Encinitas, CA, USA)を用いてGFPの発現を観察した。術後の腫瘍サイズの変化について、iBOX Scientia Small Animal Imaging System (UVP LLC, Upland, CA, USA)を用いて1週毎にGFP発現領域を測定した。手術から5週間後、蛍光発現腫瘍を有するマウスを安楽死させて腫瘍の重量を測定した。蛍光発現のないマウスは12週まで経過観察した。

外科的切除から再発までの期間を無再発生存期間として、無再発生存率をKaplan-Meier法で算出し、両群をlog-rank testを用いて比較した。P < 0.05を有意差ありとした。統計解析はEZR (Saitama Medical Center, Jichi Medical University)を用いた。

4. 研究成果

25匹のヌードマウスにおいてPC-3-GFPを発現する骨転移モデルを作成した。 1×10^6 個の細胞を移植して1週間後にヌードマウスをBLS群とFGS群に分類した。腫瘍切除前の蛍光領域は、BLS群で $24.0 \pm 2.3 \text{ mm}^2$ 、FGS群で $24.1 \pm 2.3 \text{ mm}^2$ であり、両群間に有意な差を認めなかった(P = 0.490)(Fig. 3a)。FGS群のマウスでは、抗CEA DyLight™ 650により正常組織と腫瘍組織を明確に識別することができた。腫瘍切除後のBLS群、FGS群の蛍光領域は $3.0 \pm 0.7 \text{ mm}^2$ 、 $0.2 \pm 0.1 \text{ mm}^2$ であった(P < 0.001)。また、BLS群、FGS群の腫瘍遺残率は $13.1 \pm 3.5 \%$ 、 $1.0 \pm 0.6 \%$ であった(P < 0.001)。

GFP発現領域の継時的観察では、BLS群で急速な腫瘍の増大を示したのに対し、FGS群では腫瘍の増大はわずかであった。腫瘍切除から5週間後の時点での蛍光領域は、BLS群で $200.6 \pm 43.9 \text{ mm}^2$ 、FGS群で $31.1 \pm 13.2 \text{ mm}^2$ であった(Fig. 5a; P < 0.001)。腫瘍の体積はBLS群で $2230.0 \pm 797.2 \text{ mm}^3$ 、FGS群で $269.5 \pm 156.2 \text{ mm}^3$ であった(P = 0.009)。また、腫瘍の重量はBLS群で $3.2 \pm 1.1 \text{ g}$ 、FGS群で $0.6 \pm 0.3 \text{ g}$ であった(P = 0.009)。BLS群のすべてのマウスが2週以内に再発をきたしたのに対し、術後2週の時点で61.5%のマウスが無再発の状態であった。

術後 12 週の時点での無再発生存率は BLS 群で 0% , FGS 群で 36.9% であり, FGS 群で有意に高い無再発生存率を示した ($P < 0.001$) .

我々の DyLight™ 650 標識抗 CEA 抗体を用いた蛍光ガイド下腫瘍切除術は マウス骨転移モデルにおいて, 腫瘍の再発を抑制することが示された. 腫瘍特異的な蛍光抗体を用いた蛍光ガイド下腫瘍切除術は骨転移手術における有用性が期待できる.

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 33 件)

1. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Miyake K, Miyake M, Li Y, Nelson SD, Dry SM, Singh AS, Elliott IA, Russell TA, Eckardt MA, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Temozolomide regresses a doxorubicin-resistant undifferentiated spindle-cell sarcoma patient-derived orthotopic xenograft (PDOX): precision-oncology nude-mouse model matching the patient with effective therapy. *J Cell Biochem*. 2018 May 8. [Epub ahead of print]
2. Igarashi K, Kawaguchi K, Li S, Han Q, Tan Y, Gainor E, Kiyuna T, Miyake K, Miyake M, Higuchi T, Oshiro H, Singh AS, Eckardt MA, Nelson SD, Russell TA, Dry SM, Li Y, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Recombinant methioninase combined with doxorubicin (DOX) regresses a DOX-resistant synovial sarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model. *Oncotarget*. 2018 Apr 10;9(27):19263-19272.
3. Higuchi T, Yamamoto N, Shirai T, Hayashi K, Takeuchi A, Kimura H, Miwa S, Abe K, Taniguchi Y, Tsuchiya H. Treatment outcomes of the simple bone cyst: A comparative study of 2 surgical techniques using artificial bone substitutes. *Medicine (Baltimore)*. 2018 May;97(18):e0572.
4. Higuchi T, Takeuchi A, Munesue S, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Inatani H, Shimozaki S, Kato T, Aoki Y, Abe K, Taniguchi Y, Aiba H, Murakami H, Harashima A, Yamamoto Y, Tsuchiya H. Anti-tumor effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug zaltoprofen on chondrosarcoma via activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma and suppressing matrix metalloproteinase-2 expression. *Cancer Med*. 2018 May;7(5):1944-1954.
5. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Miyake K, Miyake M, Li Y, Nelson SD, Dry SM, Singh AS, Elliott IA, Russell TA, Eckardt MA, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Temozolomide combined with irinotecan regresses a cisplatin-resistant relapsed osteosarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) precision-oncology mouse model. *Oncotarget*. 2017 Dec 4;9(8):7774-7781.
6. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Miyake K, Miyake M, Singh AS, Eckardt MA, Nelson SD, Russell TA, Dry SM, Li Y, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Singh SR, Eilber FC, Hoffman RM. Tumor-targeting Salmonella typhimurium A1-R is a highly effective general therapeutic for undifferentiated soft tissue sarcoma patient-derived orthotopic xenograft nude-mouse models. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Mar 18;497(4):1055-1061.
7. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Miyake K, Miyake M, Li S, Han Q, Tan Y, Zhao M, Li Y, Nelson SD, Dry SM, Singh AS, Elliott IA, Russell TA, Eckardt MA, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Tumor-targeting Salmonella typhimurium A1-R combined with recombinant methioninase and cisplatin eradicates an osteosarcoma cisplatin-resistant lung metastasis in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model: decoy, trap and kill chemotherapy moves toward the clinic. *Cell Cycle*. 2018;17(6):801-809.
8. Takeuchi A, Suwanpramote P, Yamamoto N, Shirai T, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Higuchi T, Abe K, Tsuchiya H. Mid- to long-term clinical outcome of giant cell tumor of bone treated with calcium phosphate cement following thorough curettage and phenolization. *J Surg Oncol*. 2018 Jan 8.
9. Igarashi K, Kawaguchi K, Li S, Han Q, Tan Y, Murakami T, Kiyuna T, Miyake K, Miyake M, Singh AS, Eckardt MA, Nelson SD, Russell TA, Dry SM, Li Y, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Singh SR, Eilber FC, Hoffman RM. Recombinant methioninase in combination with doxorubicin (DOX) overcomes first-line DOX resistance in a patient-derived orthotopic xenograft nude-mouse model of undifferentiated spindle-cell sarcoma. *Cancer Lett*. 2018 Mar 28;417:168-173.
10. Miwa S, Nishida H, Tsuchiya H. Current status of immunotherapy for sarcomas. *Immunotherapy*. 2017

- Dec;9(16):1331-1338.
11. Igarashi K, Li S, Han Q, Tan Y, Kawaguchi K, Murakami T, Kiyuna T, Miyake K, Li Y, Nelson SD, Dry SM, Singh AS, Elliott IA, Russell TA, Eckardt MA, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Growth of doxorubicin-resistant undifferentiated spindle-cell sarcoma PDOX is arrested by metabolic targeting with recombinant methioninase. *J Cell Biochem.* 2018 Apr;119(4):3537-3544.
 12. Miwa S, Shirai T, Yamamoto N, Hayashi K, Takeuchi A, Tada K, Kajino Y, Inatani H, Higuchi T, Abe K, Taniguchi Y, Tsuchiya H. Risk factors for postoperative deep infection in bone tumors. *PLoS One.* 2017 Nov 9;12(11):e0187438.
 13. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Murakami T, Miwa S, Nelson SD, Dry SM, Li Y, Singh AS, Kimura H, Hayashi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Temozolomide combined with irinotecan caused regression in an adult pleomorphic rhabdomyosarcoma patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) nude-mouse model. *Oncotarget.* 2017 Mar 24;8(44):75874-75880.
 14. Igarashi K, Kawaguchi K, Murakami T, Kiyuna T, Miyake K, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Nelson SD, Dry SM, Li Y, Singh AS, Miwa S, Odani A, Eilber FC, Tsuchiya H, Hoffman RM. A novel anionic-phosphate-platinum complex effectively targets an undifferentiated pleomorphic sarcoma better than cisplatin and doxorubicin in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX). *Oncotarget.* 2017 Jun 28;8(38):63353-63359.
 15. Igarashi K, Kawaguchi K, Murakami T, Kiyuna T, Miyake K, Nelson SD, Dry SM, Li Y, Yanagawa J, Russell TA, Singh AS, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Intra-arterial administration of tumor-targeting Salmonella typhimurium A1-R regresses a cisplatin-resistant relapsed osteosarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model. *Cell Cycle.* 2017 Jun 18;16(12):1164-1170.
 16. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Murakami T, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Hoffman RM. Antimetastatic Efficacy of the Combination of Caffeine and Valproic Acid on an Orthotopic Human Osteosarcoma Cell Line Model in Nude Mice. *Anticancer Res.* 2017 Mar;37(3):1005-1011.
 17. Miwa S, Nishida H, Tanzawa Y, Takeuchi A, Hayashi K, Yamamoto N, Mizukoshi E, Nakamoto Y, Kaneko S, Tsuchiya H. Phase 1/2 study of immunotherapy with dendritic cells pulsed with autologous tumor lysate in patients with refractory bone and soft tissue sarcoma. *Cancer.* 2017 May 1;123(9):1576-1584.
 18. Igarashi K, Kawaguchi K, Murakami T, Kiyuna T, Miyake K, Singh AS, Nelson SD, Dry SM, Li Y, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. High Efficacy of Pazopanib on an Undifferentiated Spindle-Cell Sarcoma Resistant to First-Line Therapy Is Identified With a Patient-Derived Orthotopic Xenograft (PDOX) Nude Mouse Model. *J Cell Biochem.* 2017 Sep;118(9):2739-2743.
 19. Inatani H, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Miwa S, Higuchi T, Abe K, Taniguchi Y, Yamada S, Asai K, Otsuka T, Tsuchiya H. Do Mesenchymal Stem Cells Derived From Atypical Lipomatous Tumors Have Greater Differentiation Potency Than Cells From Normal Adipose Tissues? *Clin Orthop Relat Res.* 2017 Jun;475(6):1693-1701.
 20. Hayashi K, Yamamoto N, Shirai T, Takeuchi A, Kimura H, Miwa S, Higuchi T, Abe K, Taniguchi Y, Aiba H, Kiyohara H, Imai R, Ikeda H, Tsuchiya H. Sequential histological findings and clinical response after carbon ion radiotherapy for unresectable sarcoma. *Clin Transl Radiat Oncol.* 2017 Feb 6;2:41-45.
 21. Rosario MS, Hayashi K, Yamamoto N, Takeuchi A, Miwa S, Taniguchi Y, Tsuchiya H. Functional and radiological outcomes of a minimally invasive surgical approach to monostotic fibrous dysplasia. *World J Surg Oncol.* 2017 Jan 5;15(1):1.
 22. Tome Y, Kimura H, Sugimoto N, Tsuchiya H, Kanaya F, Bouvet M, Hoffman RM. The disintegrin echistatin in combination with doxorubicin targets high-metastatic human osteosarcoma overexpressing $\alpha\beta 3$ integrin in chick embryo and nude mouse models. *Oncotarget.* 2016 Dec 27;7(52):87031-87036.
 23. Igarashi K, Kawaguchi K, Kiyuna T, Murakami T, Miwa S, Nelson SD, Dry SM, Li Y, Singh A, Kimura H, Hayashi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Eilber FC, Hoffman RM. Patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model of adult rhabdomyosarcoma invades and recurs after resection in contrast to the subcutaneous ectopic model. *Cell Cycle.* 2017 Jan 2;16(1):91-94.
 24. Shimozaki S, Yamamoto N, Domoto T,

- Nishida H, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Miwa S, Igarashi K, Kato T, Aoki Y, Higuchi T, Hirose M, Hoffman RM, Minamoto T, Tsuchiya H. Efficacy of glycogen synthase kinase-3 β targeting against osteosarcoma via activation of β -catenin. *Oncotarget*. 2016 Nov 22;7(47):77038-77051.
25. Hayashi K, Niu X, Tang X, Singh VA, Asavamongkolkul A, Kawai A, Yamamoto N, Shirai T, Takeuchi A, Kimura H, Miwa S, Tsuchiya H. Experience of total scapular excision for musculoskeletal tumor and reconstruction in eastern Asian countries. *J Bone Oncol*. 2016 Oct 15;9:55-58.
26. Igarashi K, Yamamoto N, Hayashi K, Takeuchi A, Kimura H, Miwa S, Hoffman RM, Tsuchiya H. Non-toxic Efficacy of the Combination of Caffeine and Valproic Acid on Human Osteosarcoma Cells In Vitro and in Orthotopic Nude-mouse Models. *Anticancer Res*. 2016 Sep;36(9):4477-82.
27. Tome Y, Uehara F, Miwa S, Yano S, Mii S, Efimova EV, Bouvet M, Kimura H, Tsuchiya H, Kanaya F, Hoffman RM. Efficacy of the Combination of a PARP Inhibitor and UVC on Cancer Cells as Imaged by Focus Formation by the DNA Repair-related Protein 53BP1 Linked to Green Fluorescent Protein. *Anticancer Res*. 2016 Aug;36(8):3821-6.
28. Tome Y, Yano S, Sugimoto N, Mii S, Uehara F, Miwa S, Bouvet M, Tsuchiya H, Kanaya F, Hoffman RM. Use of α v Integrin Linked to Green Fluorescent Protein in Osteosarcoma Cells and Confocal Microscopy to Image Molecular Dynamics During Lung Metastasis in Nude Mice. *Anticancer Res*. 2016 Aug;36(8):3811-6.
29. Takeuchi A, Yamamoto N, Shirai T, Hayashi K, Miwa S, Munesue S, Yamamoto Y, Tsuchiya H. Clinical relevance of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression in myxoid liposarcoma. *BMC Cancer*. 2016 Jul 11;16:442.
30. Tome Y, Kimura H, Kiyuna T, Sugimoto N, Tsuchiya H, Kanaya F, Bouvet M, Hoffman RM. Disintegrin targeting of an α v β 3 integrin-over-expressing high-metastatic human osteosarcoma with echistatin inhibits cell proliferation, migration, invasion and adhesion in vitro. *Oncotarget*. 2016 Jul 19;7(29):46315-46320.
31. Abe K, Yamamoto N, Hayashi K, Takeuchi A, Miwa S, Inatani H, Higuchi T, Taniguchi Y, Tsuchiya H. Balancing Prolonged Survival with QoL Using Low-dose Pazopanib Maintenance: A Comparison with the PALETTE Study. *Anticancer Res*. 2016 Jun;36(6):2893-7.
32. Tome Y, Yano S, Sugimoto N, Mii S, Bouvet M, Tsuchiya H, Kanaya F, Hoffman RM. Use of α v Integrin Linked to GFP to Image Molecular Dynamics in Trafficking Cancer-Cell Emboli. *J Cell Biochem*. 2017 Jan;118(1):26-30.
33. Miwa S, Toneri M, Igarashi K, Yano S, Kimura H, Hayashi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Hoffman RM. Real-Time In Vivo Confocal Fluorescence Imaging of Prostate Cancer Bone-Marrow Micrometastasis Development at the Cellular Level in Nude Mice. *J Cell Biochem*. 2016 Nov;117(11):2533-7.
- (学会発表) (計 33 件)
1. Tsuchiya H. Antimicrobial implants (iodine-coating) for bone infections. 38th SICOT Orthopaedic World Congress(2017年11月29日—12月2日, Cape Town, 南アフリカ共和国)
 2. Tsuchiya H. Distraction osteogenesis for bone infections. 38th SICOT Orthopaedic World Congress(2017年11月29日—12月2日, Cape Town, 南アフリカ共和国)
 3. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍の診断と治療の進歩. 運動器疾患/骨・関節フォーラム(2017年11月25日, 仙台市)
 4. 土屋弘行. 変形矯正と患肢温存手術の神髄. 第6回 Knee Osteotomy フォーラム・ランチョンセミナー(2017年11月11日, 金沢市)
 5. 土屋弘行. 骨再建術の進歩と骨再生促進の試み. 第32回日本整形外科学会基礎学術集会教育研修講演(2017年10月26—27日, 宜野湾市)
 6. Tsuchiya H. Joint-sparing surgery for Ewing's sarcoma of the tibia. Catholic Cancer Symposium 2017 on Bone & Soft Tissue Tumors and 2017 2nd Case Conference of the Korean Bone & Joint Tumor Society-Celebrating Professor Yong-Koo Kang's Retirement-"Recent progression in Musculoskeletal Oncology"(2017年9月22日, Seoul, Korea)
 7. Tsuchiya H. Immunologic effects of liquid nitrogen treated tumor tissue re-implantation. Catholic Cancer Symposium 2017 on Bone & Soft Tissue Tumors and 2017 2nd Case Conference of the Korean Bone & Joint Tumor Society-Celebrating Professor Yong-Koo Kang's Retirement-"Recent progression in Musculoskeletal Oncology"(2017年9月22日, Seoul, Korea)
 8. Tsuchiya H. Instructional Lecture: #2 Regenerate Formation In The Recycled Bone - A New Era In Oncologic Orthopedics. 3rd World Ortho ReCon,

- ILLRS&ASAMI Congress (2017年8月31日-9月2日, Estoril, Portugal)
9. Tsuchiya H. Instructional Lecture: #1 Joint-Sparing Surgery Using Frozen Tumor Autografts. 3rd World Ortho ReCon, ILLRS&ASAMI Congress (2017年8月31日-9月2日, Estoril, Portugal)
 10. Tsuchiya H. Magistral Lecture: Biological Reconstruction After Tumor Resection -More Than 30 Years Experience at Kanazawa University. 3rd World Ortho ReCon, ILLRS&ASAMI Congress (2017年8月31日-9月2日, Estoril, Portugal)
 11. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍における液体窒素処理骨移植. 第18回 RFA・凍結療法研究会 (2017年8月26日, 金沢市)
 12. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍の診断と治療の進歩. 第28回日本骨軟部放射線診断セミナー (2017年8月5日, 富山市)
 13. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍外科におけるカスタムメイドインプラントの課題と展望. 第50回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会ランチョンセミナー (2017年7月13-14日, 東京)
 14. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍に対する創外固定の応用. 第90回日本整形外科学会学術総会教育研修講演 (2017年5月18-21日, 仙台市)
 15. Tsuchiya H. Joint-Sparing Surgery Using Frozen Tumor Autograft. Introductory Lecture, The 19th General Meeting of ISOLS (2017年5月10-12日, 金沢市)
 16. Tsuchiya H. Iodine-Coating Technology. Luncheon Lecture, The 19th General Meeting of ISOLS (2017年5月10-12日, 金沢市)
 17. Tsuchiya H. Tumor reconstruction. AAOS Specialty Day-LLRS (Limb Lengthening and Reconstruction Society) (San Diego, USA, 2017年3月13-18日)
 18. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍に対する創外固定を用いた治療. 第30回日本創外固定・骨延長学会 (2017年3月3-4日, 久留米市)
 19. 土屋弘行. ヨードコーティングテクノロジー. つくば再生医療研究会特別講演会 (2017年1月13日, つくば市)
 20. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍における手術とリハビリテーション. 第11回日本リハビリテーション医学会専門医会学術集会 (2016年10月29-30日, 金沢市)
 21. Tsuchiya H. Correction of the deformity related to benign bone tumor. 第60回韓国整形外科学会 (2016年10月19-22日, インチョン, 韓国)
 22. Tsuchiya H. Biological reconstruction using frozen tumor bone. 第60回韓国整形外科学会 (2016年10月19-22日, インチョン, 韓国)
 23. Tsuchiya H. External fixation techniques in tumor surgery. 26th Annual Baltimore Deformity Course (2016年8月26-28日, Baltimore, USA)
 24. Tsuchiya H. Iodine-coated titanium plates, rods and ex fix pins. 26th Annual Baltimore Deformity Course (2016年8月26-28日, Baltimore, USA)
 25. Tsuchiya H. Case presentation-Femoral infected non-union. 26th Annual Baltimore Limb Deformity Pre-course Masters of Disaster: Managing Osteomyelitis in the 21st Century (2016年8月25日, Baltimore, USA)
 26. Tsuchiya H. Cierny-Mader Stage 3 tibial osteomyelitis. 26th Annual Baltimore Limb Deformity Pre-course Masters of Disaster: Managing Osteomyelitis in the 21st Century (2016年8月25日, Baltimore, USA)
 27. Tsuchiya H. Orthopaedic hardware modifications for osteomyelitis. 26th Annual Baltimore Limb Deformity Pre-course Masters of Disaster: Managing Osteomyelitis in the 21st Century (2016年8月25日, Baltimore, USA)
 28. 土屋弘行. 整形外科医の夢・挑戦・実現 (Dream, Dare and Do.)—“かがやき”はなてるか? . 第5回 JASA (Japan Association of Spine Surgeons with Ambition) (2016年8月6日, 金沢市)
 29. 土屋弘行. 骨軟部腫瘍に対する患肢温存手術とリハビリテーション. 第53回日本リハビリテーション医学会学術集会教育講演 (2016年6月10日, 京都市)
 30. 土屋弘行. 骨欠損に対する生物学的再建術—未来に向けて—. 第89回日本整形外科学会学術総会教育研修講演 (2016年5月12-15日, 横浜市)
 31. Tsuchiya H. Antimicrobial implant technology with iodine-coating. 第10回ブラジル整形外科腫瘍学会 (2016年4月20-22日, Foz do Iguassu, Brazil)
 32. Tsuchiya H. Frozen autograft reconstruction. 第10回ブラジル整形外科腫瘍学会 (2016年4月20-22日, Foz do Iguassu, Brazil)
 33. Tsuchiya H. Correction of tumor-related deformities. 第10回ブラジル整形外科腫瘍学会 (2016年4月20-22日, Foz do Iguassu, Brazil)
- [図書] (計 0 件)
 ○出願状況 (計 0 件)
 ○取得状況 (計 0 件)
- [その他]
 ホームページ: <http://ortho.w3.kanazawa-u.ac.jp/>
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