

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462328

研究課題名(和文) 光感受性物質アクリジンオレンジによる放射線治療効果増幅法の研究

研究課題名(英文) Study for the effect of radiation therapy amplification by acridine orange photosensitizer

研究代表者

松原 孝夫 (MATSUBARA, TAKAO)

三重大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：30422827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：光感受性物質であるアクリジンオレンジ(AO)は、骨肉腫において、腫瘍特異的細胞外環境(酸性・低酸素・高静水圧)環境下で、約1.5-2倍の集積増幅効果があり、より高悪性である腫瘍に対しより高い殺細胞効果を有することが確認された。耐性株についても同様の光線および放射線力学的効果を示す研究を行ったが、AOは耐性株においても、良好な殺細胞効果を有する一方、腫瘍特異的細胞外環境に起因する遺伝子発現を解析で得られたタンパク質を併用しても、殺細胞効果の増幅は少なかった。しかし、ターゲット遺伝子であるCA9は腫瘍転移、浸潤を抑制することが明らかとなり、これらを併用することで、腫瘍制御の可能性が見出された。

研究成果の概要(英文)：Acridine orange (AO) which is a photosensitizer accumulated to human osteosarcoma, lung cancer and breast cancer cell lines under the tumor microenvironmental condition (acidic, low oxygen and high hydrostatic pressure). There was amplification effect of about 1.5-2 times by changing tumor microenvironment, and, it was confirmed to have a higher cytotoxic effect against tumors in such specific condition. In the study of AO therapy for registrant strains, AO have a good cytotoxic effect for registrant strains, but there was no amplification effect in combination with AO and the protein obtained gene expression due to the tumor-specific extracellular environment analysis. While we revealed that CA9 is one of good target for osteosarcoma therapy, and that CA9 inhibitor suppressed the invasiveness and metastatic potential. In future, combination with CA9 and anti-tumor therapy can control local tumor recurrence and metastatic potential for sarcoma patients.

研究分野：骨軟部腫瘍

キーワード：放射線耐性 アクリジンオレンジ療法 低酸素耐性 CA9

1. 研究開始当初の背景

癌・肉腫などの悪性腫瘍は、その高い分裂能力と転移・浸潤能により、ホストである人の健常組織へ侵食・転移し生命を脅かす。さらに、その高い転移・浸潤能により抗がん剤治療にも耐性を示し、手術切除も不可能となる結果、放射線治療が行われることも多い。

しかし、放射線治療は、抗がん剤同様、正常組織にも障害を与えてしまい、放射線による副作用や合併症のため、十分な線量が照射できない場合も多い。

我々は、これまで、悪性骨軟部腫瘍に対する補助療法として、光感受性物質である**アクリジンオレンジ** (AO) を利用した光線力学的療法を開発してきた。そのAOは、腫瘍に特異的な高酸性オルガネラに集積し、そのオルガネラは腫瘍微小細胞外環境 (低酸素・酸性環境) に依存することが明らかになり、集積度に相関して光線および放射線による殺細胞効果を発揮する。一方、腫瘍に特異的な低酸素および酸性環境で生存する腫瘍は、その環境刺激により放射線および抗がん剤耐性を獲得することが知られているが、AOは、そういった微小環境下にある高悪性腫瘍に、より選択的に取り込まれる。

以上のことは、放射線感受性の低い腫瘍や、進行期の高悪性腫瘍に対し、AOが放射線治療効果を増幅し、低線量で、副作用の少ない放射線治療効果を発揮できる可能性が期待できる。そこで我々は、放射線および抗がん剤耐性を示す低酸素および酸性腫瘍微小環境下の悪性腫瘍に対し、それら環境を逆手に利用して集積するAOを投与し、AOが腫瘍に選択的に集積したところで、深部まで到達できる放射線治療や、抗がん剤治療を行い、より低線量、低容量で、より高い治療効果を発揮させるための治療法の開発研究を計画した。

2. 研究の目的

今回の研究では、我々の開発した *in vitro* - *in vivo* 腫瘍外環境再現システムを用い、*in vitro* で *in vivo* での腫瘍外環境を再現するとともに、その細胞外環境を意図的に変化させ、AO や各種薬剤の集積が増大するような細胞外環境を検討し、*in vivo* における集積のメカニズムを解明することで、光線力学的療法や抗がん剤の効果増幅を図る。

3. 研究の方法

in vitro - *in vivo* 再現システムを用い、低酸素、酸性、低栄養、高静水圧の4つの腫瘍細胞外環境を複合的に再現する。今回の研究では、まず、*in vitro* - *in vivo* 再現システムを用い、まず、化学療法および放射線抵抗性に関与する**低酸素、酸性**の腫瘍細胞外環境を中心に複合的に再現し研究を行う。

具体的には、骨肉腫細胞株に対し、*in vitro*

で腫瘍細胞外環境を複合的に変化させ、その細胞外環境変化により、AO や薬剤の腫瘍細胞内への取り込みに有利な環境因子を検討する。また、我々の予測では、*in vivo* における薬剤・放射線耐性に相関する腫瘍内酸性度の増加は、酸性度と低酸素の複合環境下で増強すると考えられるため、そういった *in vivo* 環境を、*in vitro* で構築し、*in vivo* モデルを *in vitro* で再現する。

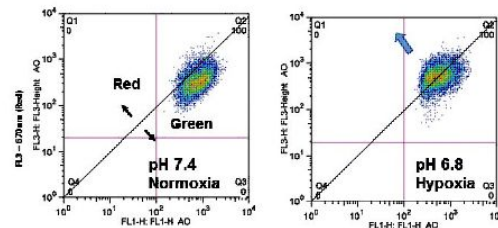
薬剤の一つとして光感受性物質であるAOと、細胞外環境調整因子 (CA IX、VEGF、HIF、PDGF のほか、環境間におけるRT-PCRで差異のあった遺伝子など) をターゲットとしたインヒビターを作成し、*in vitro* で抗腫瘍効果を確認するとともに、*In vitro* で得られたデータをもとに、それら細胞外環境因子を事前に施し、その後、AO とインヒビターによる治療を行うことで、*in vivo* における殺細胞効果の違いを検討する。

4. 研究成果

(1) 人骨肉腫株に対する、*in vitro* 腫瘍細胞外環境 (酸性・低酸素・高静水圧) 下でのAOの腫瘍細胞内への取り込み変化と、放射線治療効果の検証

骨肉腫、胃癌、肺癌細胞株を、各複合環境下で培養。AOの集積は全細胞株で、低酸素および酸性複合環境で、約1.5-2倍の集積増加をFacs-scanで確認した (図1)。

図1 Facs-scanによるAO集積度 (SaOS2)



pH7.4 Normoxia (左) に比べ、酸性、低酸素環境 (右) では蛍光分布が左上方へ移動しており、AOがより細胞内に集積している。

酸性・低酸素下でAOの集積は増加したが *in vitro* の放射線耐性試験では、AO集積により、低酸素酸性環境下でも、高い放射線感受性を示したため、非放射線耐性株では、いかなる環境変化でも効率にAO-RDTが有効であった。

放射線耐性株については、放射線照射を継続し培養を行ったが、放射線耐性株の樹立は困難であったため、放射線耐性獲得を有するといわれる低酸素下で継続培養を行い、継代後の細胞培養株で、放射線耐性を確認したが、明らかな放射線耐性は獲得できなかった。一方、低酸素環境下での継代培養により、骨肉腫細胞株の一部は抗がん剤耐性を示した (図2)。

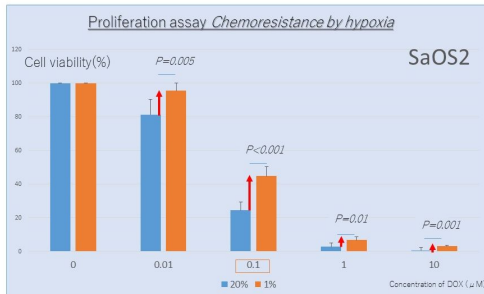


図2 低酸素におけるドキシソルピシン殺細胞効果
骨肉腫細胞株は低酸素状態において通常酸素よりもドキシソルピシンの殺細胞効果が抑制され、低酸素下での抗がん剤耐性を示した

(2) 骨肉腫細胞株における低酸素薬剤耐性環境下でのAO治療効果の検討

放射線耐性株樹立が(1)において困難なため、低酸素耐性株を作成しドキシソルピシンによる薬剤耐性株で実験を継続した。

(3) 各腫瘍微小環境下におけるオリジナル細胞株の遺伝子発現の検討

恒常的放射線および抗がん剤耐性株の樹立が困難であったため、先の結果より、抗がん剤耐性を示す低酸素を中心とした環境を変化させ、細胞間でマクロアレイすることにより、放射線および薬剤耐性に関する(腫瘍微小環境変化に関する調整因子)遺伝子を解析する計画とした。

骨肉腫細胞株(U2OS)をin vivo-in vitro環境システムを用い24時間培養後、各環境下での遺伝子発現をマクロアレイにて解析し

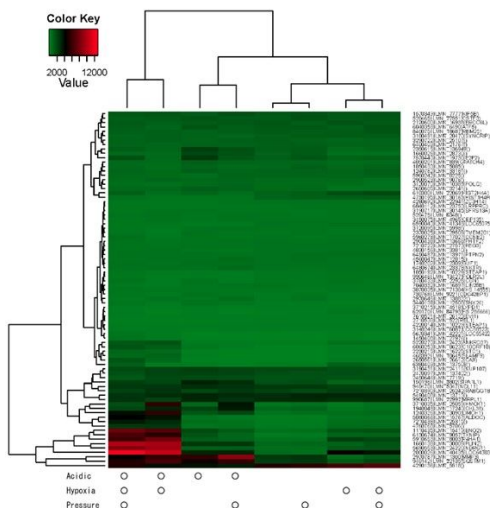


図3 各腫瘍微小環境下での遺伝子発現 (RT-PCR) Heat map
酸性、低酸素、高静水圧複合環境で最も遺伝子発現を認める

た(図3)。解析の結果、図3のごとく、遺伝子発現は、低酸素を中心に、低酸素、酸性、高静水圧の複合環境で最も遺伝子発現が見られ、低酸素環境では、1.5倍以上の遺伝子発現の増幅が113遺伝子、酸性環境刺激では386遺伝子の増幅が認められた。高静水圧では、増幅される遺伝子の比率は最大2.1倍と低値であったが、1.5倍以上の発現遺伝子は640遺伝子認められた。低酸素、酸性の複

合環境下では、単独環境に比べより多くの592遺伝子の発現増幅が認められた。また、CA9、ALDOCをはじめとするターゲットとした遺伝子発現は10倍以上と高発現であることを確認した(図4)。

Genes affected by microenvironment identified by microarray expression analysis of osteosarcoma cells. Functions were derived from GeneCards. The symbol of ★ showed relation of glycolysis, ♦ cell cycle and cell growth proliferation, ■ apoptosis, ★ migration, and □ angiogenesis.

Gene symbol	Affected fold Max/Min	Ontology
CA9	16.05	one-carbon compound metabolism; carbonate dehydratase activity; catalytic function
MMP3	11.58	peptidoglycan metabolism; proteolysis and peptidolysis; collagen catabolism; stromelysin 1 activity
ALDOC	10.53	★ glycolysis; fructose-bisphosphate aldolase activity
HMOX1	9.68	♦ positive regulation of I-kB kinase/NF-kB cascade; heme oxygenase activity
BNP	9.06	♦ regulation of blood vessel size; negative regulation of □ angiogenesis; regulation of vascular permeability; regulation of blood pressure; negative regulation of cell growth
CCER1	8.79	amino acid transport, amino acid permease activity, cystine glutamate antiporter activity
OSGIN1	8.42	♦ negative regulation of cell growth; cell differentiation; growth factor activity
OKL38	8.42	♦ negative regulation of cell growth; cell differentiation; growth factor activity
TGFB1	7.23	♦ cell proliferation; negative regulation of cell adhesion
CD151	7.19	cell-cell signaling; transforming growth factor beta receptor signaling pathway; cytokine activity; growth factor activity
LOX	7.17	transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway; oxidoreductase activity
LIMCH1	6.56	actomyosin structure organization and biogenesis
HIST2AC	6.47	meiosis assembly; chromosome organization and biogenesis (sensu Eukaryota)
HYRC	6.45	DNA recombination; double-strand break repair; protein serine/threonine kinase activity; transferase activity
RFC8	6.29	transcription from RNA polymerase III promoter; transcription, DNA-directed RNA polymerase activity
GPR103	6.06	signal transduction, G-protein coupled receptor protein signaling pathway; rhodopsin-like receptor activity
RGI	5.92	response to metal ion; cell differentiation; catalytic activity
CD342EP1	5.92	regulation of cell shape; positive regulation of ionopseudium formation
MXD4	5.63	♦ regulation of transcription, DNA-dependent; negative regulation of cell proliferation
SIPAH1	5.57	biological process unknown; GTPase activator activity
HHRF3	5.54	chromatin assembly or disassembly
RNS4	5.46	mRNA cleavage; pancreatic ribonuclease activity
EPAS1	5.45	□ transcription from RNA polymerase II promoter; response to hypoxia; angiogenesis; cell differentiation
NQO1	5.44	response to toxin; oxidoreductase activity; NAD(P)H dehydrogenase (quinone) activity
PRRS2	5.32	regulation of transcription, DNA-dependent; development; transcription factor activity
RAB11FIP3	5.31	calcium ion binding; Rab GTPase binding

図4 遺伝子発現変化一覧

最も遺伝子発現に変化が見られた遺伝子を一覧に示す。遺伝子発現変化は、以下の変換式で定量化した

$$\{\text{Affected genes by tumor microenvironment}\} = \{\text{maximum gene expression value in a condition}\} / \{\text{minimum gene expression value in another condition}\}$$

CA9の発現をWestern blottingにて、各骨肉腫株にて確認を行った(図5)。

Western blotting (hypoxia: 1%O₂, normoxia 20%O₂)

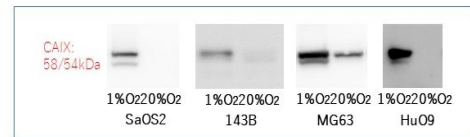


図5 骨に屈細胞株における低酸素下CA9発現

CAIXはすべての細胞株において低酸素状態で発現が亢進MG63のみ通常酸素下でもCAIXの発現を認めた。

いずれの骨肉腫細胞株でもCA9は低酸素下に高発現し、MG63では、通常酸素下においても発現の更新が認められた。一方、低酸素環境下での細胞増殖を継続的に確認すると、細胞増殖は、各細胞株で多様で、SaOS2については、低酸素、通常酸素とも同様の増殖曲線であったが、その他細胞株では、継代により増殖が亢進したり、低下したりするVariationがあり(図6)、以下、SaOS2による実験の継続を行った。

The growth curve analysis of osteosarcoma cells in hypoxia

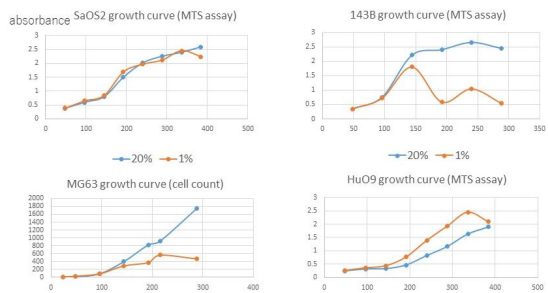


図6 低酸素環境下における骨肉腫細胞増殖曲線
SaOS2は低酸素でも通常酸素と同様の増殖を示したが、143B、MG63では低酸素の持続で、細胞増殖がよく英される傾向にあり、Hu09では細胞増殖が亢進される傾向であった。

(4) **In vivo**における放射線耐性および低酸素耐性株に対するAO-RDT効果の検討
骨肉腫、胃癌、肺癌細胞株における恒常的放射線耐性株の樹立が困難であったため、放射線耐性を獲得すると考えられる低酸素環境下における培養細胞株を樹立し、放射線耐性株として実験を継続した。

耐性株（低酸素環境下で2週間培養）およびオリジナル細胞株を、ヌードマウスの背部および脛骨に移植し、腫瘍が8mmφとなったところで、10mg/kgのAOを尾静脈投与し、2時間後、それぞれヌードマウスの皮膚を通して、蛍光イメージングシステムを用いて、AOの集積を確認した。

耐性株におけるAO集積は、1.2-1.5倍程度であるが集積の増加が確認されたが、腫瘍病変に対し、5Gyの放射線照射を行っても、単回照射では、非耐性株と比べても、有意な腫瘍縮小効果は見られなかった。

さらに、腫瘍増殖速度については、非照射群の耐性株が、最も急速な腫瘍増大を示す結果となった。

過去の報告と同様に、放射線治療は週1回、計4回の複数回照射を行い、非照射群に比べ照射群では、腫瘍増殖は減少したが、耐性株および非耐性株間での有意差は見られなかった。

(5) **放射性および抗がん剤耐性をもたらすと考えられる低酸素環境発現因子(CA9)阻害剤によるin vitro治療効果の検証**

低酸素耐性株からCA9のmRNA遺伝子が、最も増幅されていたことから、CA9阻害剤を用いて、in vitroで、抗腫瘍効果および組織サンプルにおける免疫染色を検討した。低酸素環境下でドキソルピシンおよびCA9併用では、通常酸素下に比べ、併用による抗腫瘍効果が見られ、薬剤耐性下における抗腫瘍効果の増幅が認められた(図7)。

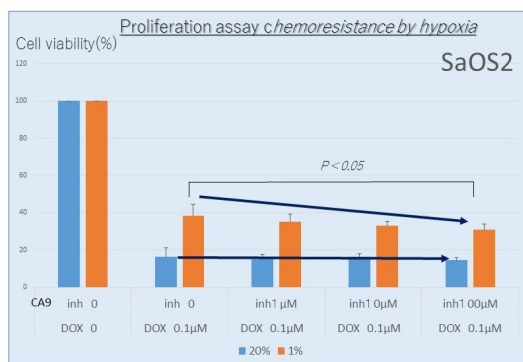


図7 低酸素環境(抗がん剤耐性環境)下におけるCA9阻害剤とドキソルピシン併用抗腫瘍効果
1%低酸素環境下では、阻害剤併用により、ドキソルピシンの殺細胞効果の増幅を認めた。

また、CA9阻害剤は、Scratch migration assayにおいて、低酸素・通常酸素いずれの状態においても、CA9阻害剤併用環境下では、腫瘍細胞移動能は抑制された(図8)。

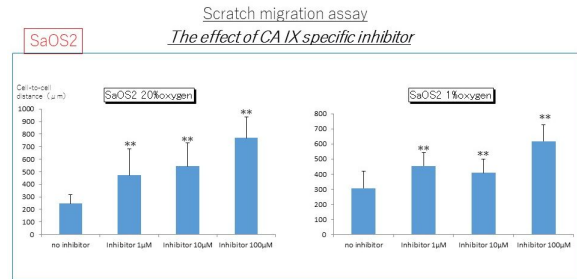


図8 CA9阻害剤による腫瘍細胞移動能抑制効果の検討
CA9阻害剤存在下では、濃度依存性に通常酸素、低酸素いずれの環境でも移動能の抑制を認めた。

骨肉腫生検サンプルにおけるCA9の発現と予後を検討。CA9の発現は、予後に関係し、高発現群で、予後不良となる結果であ

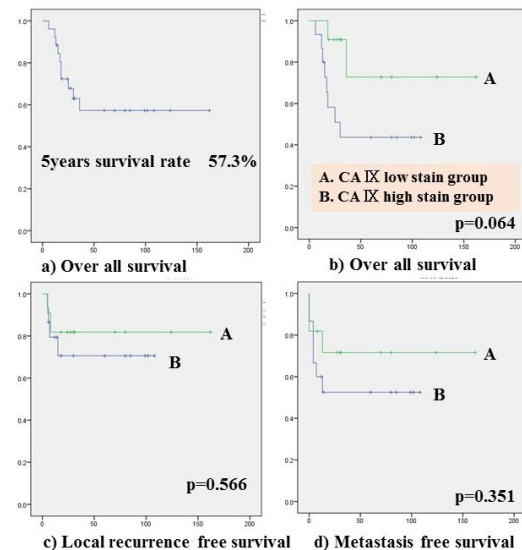


図10 CA9発現における予後、局所再発、転移率曲線

った(図10)。

また、抗がん剤治療前のCA9の発現は、抗がん剤耐性指数(Rosen&Huvos grade)に関係し、高発現群では、従来の抗がん剤耐性を示した。以上の結果は、CA9の発現が、予後を規定するBiomarkerとなり得ることを示唆し、さらに、CA9の高発現は既存の術前抗がん剤治療に耐性を示す可能性を示唆され、これら結果をもとに、抗がん剤の選定を考慮する判断材料となる可能性を示唆された。また、in vitroの結果からも、CA9阻害剤は、ドキソルピシンの抗腫瘍効果を増幅したことから、臨床現場において、既存の抗がん剤治療にCA9阻害剤を併用することで、抗がん剤耐性腫瘍においても、抗腫瘍効果が期待できる可能性を示唆された。

(6) **CA9阻害剤併用によるAO腫瘍細胞集積増幅効果の確認と放射線効果増幅効果の検討**

実験計画で予定したアクリジンオレンジの集積増幅効果が、抗がん剤効果増幅作用の認められたCA9阻害剤を併用することで、

認められるかどうかを検討した。

まず、AOにCA9阻害剤を結合したが、CA9が膜表面タンパクであり、AOの細胞内移行が起こらず、細胞内傾向として確認できなかった。

CA9阻害剤とAO結合新薬では、殺細胞効果が得られないため、CA9阻害剤を単独で使用することとした。

CA9阻害剤を使用し、腫瘍増殖をin vitroで検討したところ、CA9阻害剤は、腫瘍増殖抑制効果は、それほど見られなかったが、CA9阻害剤により、細胞浸潤が有意に抑制され、骨肉腫および軟骨肉腫患者血清では、CA9は高値であり、CA9が転移、浸潤に寄与していること、CA9阻害剤が、それら転移、浸潤を抑制する可能性があることが明らかとなった。CA9阻害剤処理後にAOを投与したが、CA9阻害剤処理の有無ではFacs-scanで定量できるほどのAO集積に有意差はなかった。しかし、いずれの群でも良好な殺細胞効果は得られた。

今回の研究により、腫瘍細胞外環境因子は、細胞増殖、浸潤等に強く関連しており、その因子は相乗効果が認められることや、環境因子により、環境に適応するための各種サイトカインが発現して、生存、浸潤に有利に働いているが、CA9は、その代表的因子であり、その発現は腫瘍患者におけるBiomarkerとなり、さらにそれら因子をブロックすることで、薬剤耐性株でも、殺細胞効果が認められること、転移抑制効果が認められることが判明し、今後はこれら環境因子関連タンパクを分子標的治療薬等で制御することで、新たな悪性腫瘍治療法の開発が期待できると考える。

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 12 件)

1. Impact of plasma fibrinogen levels in benign and malignant soft tissue tumors. Asanuma K, Matsumine A, Nakamura T, Matsubara T, Asanuma Y, Oi T, Goto M, Okuno K, Kakimoto T, Yada Y, Sudo A: Cancer biomarkers : section A of Disease markers 2016;16:453-458. 査読有
2. Treatment of bone defect with calcium phosphate cement subsequent to tumor curettage in pediatric patients. Nakamura T, Matsumine A, Asanuma K, Matsubara T, Sudo A: Oncology letters 2016;11:247-252. 査読有
3. The value of the high-sensitivity modified Glasgow prognostic score in predicting the survival of patients with a soft-tissue sarcoma. Nakamura T, Matsumine A, Asanuma K, Matsubara T, Sudo A. Bone Joint J. 2015, 97-B(6):847-52. 査読有
4. The role of C-reactive protein in

predicting post-metastatic survival of patients with metastatic bone and soft tissue sarcoma. Nakamura T, Matsumine A, Asanuma K, Matsubara T, Sudo A. Tumour Biol. 2015, 36(10):7515-20. 査読有

5. Determination of the LD50 of acridine orange via intravenous administration in mice in preparation for clinical application to cancer therapy. Nakamura T, Kusuzaki K, Matsubara T, Matsumine A, Asanuma K, Satonaka H, Uchida A, Sudo A. In Vivo. 2014, 28(4):523-7. 査読有
6. Bisphosphonate release profiles from magnetite microspheres. Miyazaki T, Inoue T, Shiroaki Y, Kawashita M, Matsubara T, Matsumine A. J Biomater Appl. 2014, 29(4):543-7. 査読有
7. Role of high-sensitivity C-reactive protein in the differentiation of benign and malignant soft tissue tumors. Nakamura T, Matsumine A, Iino T, Matsubara T, Asanuma K, Uchida A, Sudo A. Anticancer Res. 2014, 34(2):933-6. 査読有
8. Radiofrequency ablation for the treatment of recurrent bone and soft-tissue sarcomas in non-surgical candidates. Yamakado K, Matsumine A, Nakamura T, Nakatsuka A, Takaki H, Matsubara T, Asanuma K, Sudo A, Sugimura Y, Sakuma H. Int J Clin Oncol. 2014, 19(5):955-62. 査読有
9. Additive Influence of Extracellular pH, Oxygen Tension, and Pressure on Invasiveness and Survival of Human Osteosarcoma Cells. Matsubara T, DiResta GR, Kakunaga S, Li D, Healey JH. Front Oncol. 2013, 29(3): 199. 査読有
10. The combined use of the neutrophil-lymphocyte ratio and C-reactive protein level as prognostic predictors in adult patients with soft tissue sarcoma. Nakamura T, Matsumine A, Matsubara T, Asanuma K, Uchida A, Sudo A. J Surg Oncol. 2013, 108(7):481-5. 査読有
11. Deep-vein thrombosis after resection of musculoskeletal tumours of the lower limb. Yamaguchi T, Matsumine A, Niimi R, Nakamura T, Matsubara T, Asanuma K, Hasegawa M, Sudo A. Bone Joint J. 2013 95-B(9):1280-4. 査読有
12. Can a Less Radical Surgery Using Photodynamic Therapy With Acridine Orange Be Equal to a Wide-margin Resection? Matsubara T, Kusuzaki K, Matsumine A, Nakamura T, Sudo A. Clin Orthop Relat Res. 2013 471(3):792-802. 査読有

〔学会発表〕(計 9 件)

1. 2016.3.1-5 2015 AAOS Annual Meeting, Orlando, FL, USA. Multi-institutional Study of a New Limb Salvage Surgery Using Acridine Orange in Patients with Bone Sarcomas Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Kyoji Okada, Takashi Tsuchiya, Takahiro Goto, Ryu Tsunoda, Hiroyuki Tsuchiya, Akihiko Matsumine, Akihiro Sudo
2. 2016.3.5-8 2016 ORS Annual Meeting, Orlando, FL, USA. A Genomic Analysis of the Effects of Acidic Extracellular pH, Low pO₂, and Elevated Pressure on Human Osteosarcoma Cells Takao Matsubara, Kazuma Okuno, Akihiro Sudo, Shigeki Kakunaga, Gene R. DiResta, John H. Healey
3. 2015.3.24-28 2015 AAOS Annual Meeting, Las Vegas, Nevada, USA. Acridine Orange Therapy as a New Less-invasive Limb Salvage Surgery for Bone and Soft Tissue Sarcomas Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Kyoji Okada, Takashi Tsuchiya, Takahiro Goto, Ryu Tsunoda, Hiroyuki Tsuchiya, Akihiko Matsumine, Akihiro Sudo
4. 2014.3.11-15 2014 AAOS Annual Meeting, New Orleans, Louisiana, USA. Acridine Orange Therapy as a New Less-invasive Surgery for Recurrent or Aggressive Giant Cell Tumor of Bone Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Akihiko Matsumine, Tomoki Nakamura, Kunihiro Asanuma, Atsumasa Uchida, Akihiro Sudo
5. 2014.3.15-18 2014 ORS Annual Meeting, New Orleans, Louisiana, USA. Tumor Microenvironmental Factors and Acridine Orange Intensity Can Predict Clinical Outcome in Soft Tissue Sarcoma Patients Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Akihiko Matsumine, Kunihiro Asanuma, Tomoki Nakamura, Kazuma Okuno, Atsumasa Uchida, Akihiro Sudo
6. 2014.4.9-11 10th APMSTS Meeting Melbourne, Australia. ACRIDINE ORANGE PHOTODYNAMIC THERAPY WITH HYDROXYAPATITE REPAIRING REDUCING THE RISK OF LOCAL RECURRENCE AND OSTEOARTHRITIS FOR AGGRESSIVE GIANT CELL TUMOR OF BONE Takao Matsubara, Katsuyuki Kusuzaki, Akihiko Matsumine, Kunihiro Asanuma, Tomoki Nakamura, Kazuma Okuno, Toru Oi, Mikinobu Goto, Akihiro Sudo
7. 2014.5.22-25 87th JOA Meeting, Kobe, Japan. Tumor Microenvironmental Factors Can Predict Clinical Outcome in Soft

Tissue Sarcoma Patients Takao Matsubara, Akihiko Matsumine, Kunihiro Asanuma, Tomoki Nakamura, Akihiro Sudo

8. 2014.7.22-23 47 回 日本整形外科学会 骨軟部腫瘍学術集会、大阪国際会議場 (大阪, 大阪市) 軟部肉腫におけるアクリジンオレンジ療法併用腫瘍内切除の治療成績 松原孝夫 楠崎克之 松峯昭彦 浅沼邦洋 中村知樹 内田淳正 須藤啓広
9. 2014.7.22-23 47 回 日本整形外科学会 骨軟部腫瘍学術集会、大阪国際会議場 (大阪, 大阪市) デスマイド腫瘍に対する外科的および非外科的治療成績 松原孝夫 松峯昭彦 浅沼邦洋 中村知樹 内田淳正 須藤啓広

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

松原 孝夫 (TAKAO MATSUBARA)

三重大学・医学系研究科・講師

研究者番号： 30422827

(2)研究分担者

松峯昭彦 (AKIHIKO MATSUMINE)

三重大学・医学系研究科・准教授

研究者番号： 00335118

(3)連携研究者

()

研究者番号：