

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390397

研究課題名（和文）腫瘍性骨破壊における血管新生と破骨細胞分化・骨吸収の相互作用の解明

研究課題名（英文）Analysis of correlation of angiogenesis and osteoclastogenesis/  
osteoclastic bone resorption in tumore-induced destruction of bone

研究代表者

岩本 幸英（IWAMOTO YUKIHIDE）

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：00213322

研究成果の概要（和文）：

悪性腫瘍の骨破壊の病態解明と治療法の開発を行った。その結果、腫瘍性骨破壊において、細胞性因子としては腫瘍随伴マクロファージが、液性因子ではVascular endothelial growth factor およびbasic Fibroblast growth factor が腫瘍性骨破壊を制御する重要な因子であることを見いだした。これらを分子標的とし、腫瘍性骨破壊を複数のステップで阻止することは、分子細胞生物学に基づいた新しい腫瘍性骨破壊治療法となりうることが予想された。

研究成果の概要（英文）：

The molecular mechanism of tumor-induced bone destruction was investigated in this study. In tumor-induced bone destruction, tumora-associated macropahges (TAM) play major roles as a cell factor. As soluble factors, vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) are found to be critical in the tumor-induced bone destruction. Together, TAM, VEGF, and bFGF would be promising molecular targets for treating the tumor-induced bone destruction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2010年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

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：腫瘍性骨破壊、破骨細胞、血管新生、Vascular endothelial growth factor (VEGF) basic Fibroblast growth factor (bFGF)、腫瘍随伴マクロファージ

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎え、死因の第一位である悪性腫瘍は増加の一途をたどっている。集学的

治療法の進歩により悪性腫瘍患者の長期生存率(quantity of life)は向上し、quality of life(QOL)という概念が重要視されるようになった。癌の骨転移、あるいは原発性骨腫瘍

による骨破壊は、激しい疼痛と運動制限をもたらす患者の QOL を著しく低下させる。QOL を重視する現代医療において、腫瘍性骨破壊の病態解明と治療法の開発は社会的急務である。

## 2. 研究の目的

腫瘍性骨破壊において、腫瘍細胞は破骨細胞 (Osteoclast: OC) の分化や骨吸収を直接的、間接的に促進する。OC による骨吸収により、腫瘍増殖に必要な物理的空間が供給されると同時に、骨に含まれる Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)、basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) など多様なサイトカインや成長因子が放出される。一方、骨破壊局所での血管新生は、腫瘍に酸素、栄養を供給すると共に、腫瘍細胞の播種の経路となり、腫瘍の増殖・浸潤を強力に促進する。しかし、これまで腫瘍性骨破壊における血管新生と破骨細胞分化・骨吸収の間の相互作用についての解析は十分になされていない。本研究では血管新生と破骨細胞の分化/骨吸収の相互作用を中心とした腫瘍性骨破壊における微小環境の解明を行い、新しい腫瘍性骨破壊治療法の開発に必要な、分子細胞生物学的基盤の構築を目指す。

## 3. 研究の方法

腫瘍性骨破壊を来す代表的疾患として Ewing 肉腫ファミリー (ESFT) および骨巨細胞腫 (Giant cell tumor: GCT) を用いた。まず ESFT の細胞株および GCT の初代培養細胞を用いて、*in vitro* での分子細胞生物学的検討を行った。ESFT 細胞株を用いて *in vivo* での腫瘍性骨破壊メカニズムの検討した。さらに、ESFT、GCT の臨床検体を使用して、生体内で腫瘍性骨破壊を制御している因子の同定を行った。

## 4. 研究成果

### (1) ESFT の骨浸潤メカニズムの解明

ESFT は主に若年者に発生する悪性小円形細胞腫瘍で、著明な骨破壊を特徴とし、高率に転移を来す。化学療法導入に伴いその予後は改善してきたが、転移を来した症例では未だ不良である。他の悪性腫瘍と同様、原発巣での骨破壊浸潤、転移の制御が予後の改善に必要であると考えられるが、これまで ESFT の転移・浸潤メカニズムの詳細については明らかにされていない。近年、生体内の微小環境中において腫瘍細胞は周囲から様々な影響を受けその性質を変化させているという報告が集積されている。特に骨組織

中には種々の成長因子、サイトカインといった直接腫瘍細胞に生物学的変化をもたらす因子が豊富に蓄積されており、ESFT の主な発生部位であるとともに転移好発部位であることを考慮すると、骨髄内での ESFT の転移を促進する因子の存在が推測された。よって、骨髄内に含まれる因子の中でも成長因子に注目し、それらの ESFT の転移・浸潤能に関わる細胞運動能に与える影響を解析した。

ESFT 細胞株、RD-ES、SK-ES1、SK-N-MC の運動能の各成長因子に対する反応について、Wound-healing assay、chemotaxis assay によりケモカイネシスおよびケモタキシスの両方を検討したところ、bFGF による顕著な運動能亢進作用を認めた。さらにマトリゲルを用いた *in vitro* invasion assay でも、bFGF による浸潤能亢進が認められた。これらの作用は bFGF 中和抗体および FGF レセプター 1 (FGFR1) 阻害剤によって抑制されることも確認した。興味深いことに、骨肉種および滑膜肉腫細胞株で同様の実験を行ったところ、bFGF の有無による運動能の差は認められず、bFGF と ESFT 細胞の特異的な反応であることが示唆された。ESFT 細胞株では FGF レセプター (FGFRs) が mRNA およびタンパクレベルで確認され、さらに ESFT 患者の病理組織では 9 例中 7 例で活性型 FGFR1 が中等度～高度に発現しており、ESFT 腫瘍では bFGF-FGFR1 シグナルが高率に活性化していることが示唆された。

骨髄中では骨髄間質細胞 (BMSCs) が bFGF の産生能をもつという報告があることから、BMSCs の培養上清による ESFT 細胞に対する影響を検討したところ、FGFR1 は活性化され、運動能は亢進し、さらに bFGF 中和抗体および FGFR1 阻害剤によってその作用は抑制された。この結果、生体の骨組織中では BMSCs は bFGF を産生することで ESFT 細胞の運動能に関与していることが考えられた。さらに、FGFR1 下流の各シグナル伝達経路中の各分子、MEK、PLC $\gamma$  そして PI3K に対する化学阻害剤を用いて阻害したところ、PI3K 阻害によりもっとも bFGF による細胞運動に対する作用が抑制された。bFGF 刺激により ESFT 細胞の細胞形態が著明に変化しラメリポディア (葉状仮足) 形成が顕著であることから、細胞骨格を制御する低分子量 GTP 蛋白質である Rho ファミリーの中でも特に Rac1 の関与が想定された。実験では bFGF 刺激による細胞内の Rac1 の活性化および Rac1 阻害剤による bFGF の運動能促進作用の抑制が確認され、bFGF/FGFR1 の下流における PI3K-Rac1 のシグナルによる ESFT 細胞の運動能促進への関与が示唆された。

今回の結果は bFGF が Ewing 肉腫の運動能を亢進させることで腫瘍の浸潤に関与することを初めて報告するものであり、さらに近年注目されている腫瘍微小環境と腫瘍進展との関わりとして、骨髄間質細胞により産生された bFGF が腫瘍細胞の転移・浸潤に寄与している可能性を示した。転移は最も大きな予後規定因子であるため、bFGF および下流の FGFR1-PI3K-Rac1 経路は ESFT 治療の新たな分子標的として、転移の制御しうる可能性があるという点で予後改善に有望であると考えられる。また、これらの各分子に対する抗体や阻害剤の臨床応用は他の悪性腫瘍で実施されており、ESFT の治療への応用およびその有用性は十分期待できると考える。

(Kamura et al., Br. J. Cancer 2010)

## (2) ESFTにおける腫瘍関連マクロファージの役割

腫瘍関連マクロファージ (Tumor associated macrophages; TAMs) は様々な悪性腫瘍で、種々のサイトカインやプロテアーゼを産生することで、腫瘍の進展、血管新生、転移を促進し、予後に影響を与えると報告されているが、悪性骨軟部腫瘍における TAMs の役割は不明な点が多い。また、TAMs は自身が破骨細胞に分化することによって、骨における腫瘍の進展を促進している。予後不良で広範な骨破壊と炎症を特徴とする ESFT において、TAMs の役割とその予後との関係について検討した。

ヒト ESFT2 種 (RDES, TC71) を使用し、ヌードマウス背部皮下に移植、ESFT の xenograft を作製した。その腫瘍より、CD11b 抗体磁気ビーズを用いて、TAMs を分離した。コントロールマクロファージとして、マウス脾臓・肝臓より分離し、TAMs と比較することとした。分離後の培養上清をそれぞれ Luminex system を用いて網羅的にサイトカイン及びケモカインを測定した。この採取した TAMs の培養上清を、Ewing 肉腫細胞株と共培養して VEGF の濃度を ELISA で測定した。さらに分離した細胞を receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) 及び macrophage colony stimulating factor (M-CSF) 存在下に 4 日間培養し、OC への分化能を比較した。最後に利用可能な Ewing 肉腫臨床サンプル 41 例の CD68 免疫染色を行い、腫瘍への TAMs の浸潤と予後との関連性を調べた。

まず、ヌードマウス背部皮下に作製した ESFT の xenograft より TAMs を分離し、フローサイトメトリーでマクロファージ特異的表面抗原である F4/80 と CD11b 陽性細胞は 90% 以上であることを確認した。この分離した細胞を 72

時間培養し、その培養上清を回収し、サイトカインを測定した結果、interleukin (IL)-6、monocyte chemotactic protein (MCP) -1、keratinocyte-derived chemokine (KC) といった炎症性サイトカイン・ケモカインの上昇を TAMs において認めた。一方、対照群のマクロファージからはほとんど検出されなかった。

回収した TAMs の培養上清を ESFT 細胞株と共培養を行い、48 時間後に培養上清を回収すると、Ewing 肉腫細胞株から産生される VEGF の量が 3 倍以上増加していた。OC への分化能は TAMs においてのみ、TRAP 陽性多核巨細胞の形成を認めた。臨床サンプルの免疫染色においては、CD68 陽性マクロファージの浸潤が多い群は少ない群と比較して有意に予後不良であった。また、腫瘍血管数が多いほど予後は不良であり、TAMs の数と腫瘍血管数の間には関連性を認めた。

ESFT に浸潤する TAMs は様々な炎症性サイトカインやケモカインを産生しており、これらの液性因子により、単球・マクロファージの腫瘍へのさらなる動員や、臨床的特徴である著名な炎症反応に関与している可能性がある。また、自身は VEGF を産生していなかったが、ESFT 細胞に作用して、VEGF 産生を上昇させ、腫瘍の血管新生を促進している可能性が示唆された。この分離した TAMs はコントロールマクロファージと比較しても、OC への分化能を持っていた。临床上、骨軟部腫瘍の中でも腫瘍性骨破壊が特に強い ESFT において、骨破壊が急速に進行する理由の 1 つと考えられる。さらに、臨床サンプルにおいても、TAMs の浸潤が多く、炎症が強いほど予後が不良であり、TAMs の数は腫瘍血管数と関連性があった。実験データよりも、TAMs は腫瘍血管新生を助長することにより、腫瘍の進展を促進し、その不良予後に関連していることが考えられた。TAMs は ESFT の悪性進展において非常に重要な役割を持っていることが分かり、TAMs を制御することが、新たな ESFT に対する治療につながる事が考えられた。

(Fujiwara et al., 投稿中, 2011)

## (3) 骨巨細胞腫における、腫瘍性骨破壊メカニズムの解析

骨巨細胞腫 (Giant Cell Tumor; GCT) は、多数の OC 様巨細胞の出現を特徴とする良性の原発性骨腫瘍である。GCT は著明な骨破壊および間質の血管新生を認めることが多い。そのため、生体内における血管新生と破骨細胞分化/骨吸収の相互作用解析のための理想的なモデルとして用いた。

GCT において実際の腫瘍細胞は単核紡錘形細胞 (spindle cell) であり、単核小円形細胞

や多核巨細胞は反応性に集積した破骨前駆細胞 (Osteoclast Precursor Cell: OPC) および破骨細胞 (OC) であると考えられている。GCT 中の OPC、OC は CD68 陽性であることも知られている。また、我々は既に代表的な血管新生促進因子である VEGF が、OPC の増殖、運動能を亢進させることも明らかとしている。

GCT における VEGF 情報伝達経路の役割を解明するため、まず GCT の手術摘出標本を外科的、酵素的に処理して単離細胞浮遊液とした後、初代培養を行った。抗 CD68 抗体および I 型 VEGF 受容体 Flt1 を用いて免疫染色を行った結果、CD68 陽性の OPC、OC が Flt1 陽性であること、腫瘍組織中には豊富な VEGF が含まれていることを見いだした。さらに、GCT の本体と思われる spindle cell を継代、培養上清を回収した (GCT-conditioned medium: GCT-CM)。GCT-CM には VEGF が含まれていることを ELISA 法にて確認した。OPC の細胞株である Raw 細胞を GCT-CM で刺激することにより、Raw 細胞の増殖能、運動能は促進し、その際 Flt1 の下流のエフェクター分子である Focal adhesion kinase (FAK) のリン酸化が亢進していた。Flt1 の阻害薬の同時投与により GCT-CM の作用は抑制された。これらの結果より、GCT-CM により OPC の VEGF-Flt1-FAK 経路が活性化され、増殖、運動能が促進されていることが *in vitro* で示された。

引き続き、GCT の臨床標本を用いて、FAK, Flt-1 の活性化を検討したところ、それらの発現強度と単純 X 線写真における GCT の骨破壊進行度が関連していることを明らかにした。これらの成果は、GCT における骨破壊には VEGF-Flt1-FAK 経路が関与していることを示している。よって、VEGF の抑制により、血管新生と腫瘍性骨破壊が同時に阻害することが可能であると考えられ、VEGF は腫瘍性骨破壊に対する新たな分子標的として、極めて有望であることが示唆された。  
(Matsumoto et al., J Orthop. Surg. Res. 2010)

#### 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 52 件)

- ① Okada S, Iwamoto Y, et al. :  
Flow cytometric sorting of neuronal and glial nuclei from central nervous system tissue. J Cell Physiol, 226(2):552-8, 2011 査読有
- ② Kamura S, Matsumoto Y, Fukushi J, Iwamoto Y, et al. :

Basic fibroblast growth factor in the bone microenvironment enhances cell motility and invasion of Ewing's sarcoma family of tumours by activating the FGFR1-PI3K-Rac1 pathway. Br J Cancer, 103(3):370-81, 2010 査読有

- ③ Saiwai H, Iwamoto Y, et al. :  
The LTB4-BLT1 axis mediates neutrophil infiltration and secondary injury in experimental spinal cord injury. Am J Pathol, 176(5):2352-66, 2010 査読有
- ④ Li Y, Iwamoto Y, et al. :  
Inhibition of the transcriptional function of p53 by EWS-Flil1 chimeric protein in Ewing Family Tumors. Cancer Lett, 294(1):57-65, 2010 査読有
- ⑤ Kohashi K, Oda Y, Iwamoto Y, et al. :  
Reduced expression of SMARCB1/INI1 protein in synovial sarcoma. Mod Pathol, 23(7):981-90, 2010 査読有
- ⑥ Matsumoto Y, Fukushi J, Sakamoto A, Iwamoto Y, et al. :  
Role of the VEGF-Flt1-FAK pathway in the pathogenesis of osteoclastic bone destruction of giant cell tumors of bone. J Orthop Surg Res, 5(1):85, 2010 査読有
- ⑦ Endo M, Iwamoto Y, Oda Y, et al. :  
Prognostic significance of p14ARF, p15INK4b, and p16INK4a inactivation in malignant peripheral nerve sheath tumors: a comprehensive assessment of gene alteration, mRNA level and protein expression. Clin Cancer Res, in press
- ⑧ Matsuura S, Oda Y, Iwamoto Y, et al. :  
Overexpression of ADAM28 is correlated with high histological grade in conventional chondrosarcoma: a helpful tool for evaluation of cartilaginous bone tumors with a spectrum between low-grade chondrosarcoma and enchondroma. Hum Pathol 41(3):343-51, 2010 査読有
- ⑨ Oda Y, Iwamoto Y, et al. :  
Chemokine receptor CXCR4 expression is correlated with VEGF expression and poor survival in soft-tissue sarcoma. Int J Cancer, 124(8):1852-9, 2009 査読有

- ⑩ Naka T, Iwamoto Y, Oda Y, et al. :  
Expression of c-MET, low-molecular-weight cytokeratin, matrix metalloproteinases-1 and -2 in spinal chordoma. *Histopathology*, 54(5):607-13, 2009 査読有
- ⑪ Hayashida M, Fukushi J, Iwamoto Y, et al. : CCAAT/enhancer binding protein beta mediates expression of matrix metalloproteinase 13 in human articular chondrocytes in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum*, 60(3):708-16, 2009 査読有
- ⑫ Iwamoto Y, et al. :  
Multiinstitutional phase II study of neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma (NECO study) in Japan: NECO-93J and NECO-95J. *J Orthop Sci*, 14(4):397-404, 2009 査読有
- ⑬ Matsunobu T, Iwamoto Y, et al. :  
Critical roles of the TGF-beta type I receptor ALK5 in perichondrial formation and function, cartilage integrity, and osteoblast differentiation during growth plate development. *Dev Biol*, 332(2):325-38, 2009 査読有
- ⑭ Oyamada A, Iwamoto Y, et al. :  
Tyrosine Kinase 2 Plays Critical Roles in the Pathogenic CD4 T Cell Responses for the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Immunol*, 183(11):7539-46, 2009 査読有
- ⑮ Oda Y, Tsunevoshi N, :  
Recent advances in the molecular pathology of soft tissue sarcoma: implications for diagnosis, patient prognosis, and molecular target therapy in the future  
*Cancer Sci*, 100(2):200-8, 2009 査読有
- ⑯ Oda Y, Iwamoto Y, et al. :  
Different expression profiles of Y-box-binding protein-1 and multidrug resistance-associated proteins between alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma. *Cancer Sci*, 99(4):726-32, 2008 査読有
- ⑰ Yamamoto S, Iwamoto Y, et al. :  
Suberoylamide Hydroxamic acid(SAHA) induces apoptosis or autophagy-associated cell death in chondrosarcoma cell lines. *Anticancer Res*, 28(3A):1585-92, 2008 査読有
- ⑱ Matono H, Iwamoto Y, et al. :  
Correlation between beta-catenin widespread nuclear expression and matrix metalloproteinase-7 overexpression in sporadic desmoid tumors. *Hum Pathol*, 39(12):1802-8, 2008 査読有
- ⑲ Okada A, Iwamoto Y, et al. :  
ADAM-12 (meltrin alpha) is involved in chondrocyte proliferation and cleavage of insulin-like growth factor binding protein 5 in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*, 58(3):778-89, 2008 査読有
- ⑳ Takenaka S, Iwamoto Y, et al. :  
Prognostic implication of SYT-SSX fusion type in synovial sarcoma: A multi-institutional retrospective analysis in Japan. *Oncol Rep*, 19(2):467-476, 2008 査読有
- ㉑ Naka T, Iwamoto Y, et al. :  
Expression of hepatocyte growth factor and c-MET in skull base chordoma. *Cancer*, 112(1):104-10, 2008 査読有
- ㉒ Imamura T, Iwamoto Y, et al. :  
A novel tumor necrosis factor- $\alpha$  responsive CCAAT/Enhancer-binding protein site regulates cartilage Cd-Rap expression. *Arthritis Rheum*, 58(5):1366-76, 2008 査読有
- ㉓ Sakimura R, Iwamoto Y, et al. :  
The effects of histone deacetylase inhibitors on the induction of differentiation in chondrosarcoma cells. *Clin Cancer Res*, 13(1):275-82, 2007 査読有
- ㉔ Izumi T, Iwamoto Y, et al. :  
Dysadherin expression as a significant prognostic factor and as a determinant of histologic features in synovial sarcoma: special reference to its inverse relationship with e-cadherin expression. *Am J Surg Pathol*, 31(1):85-94, 2007 査読有
- ㉕ Nakamura T, Iwamoto Y, et al. :  
The mechanism of cross-resistance to

proteasome inhibitor bortezomib and overcoming resistance in Ewing's family tumor cells. Int J Oncol, 31(4):803-11, 2007 査読有

- ②⑥ Li Y, Iwamoto Y, et al.: Cyclin-dependent kinase inhibitor, flavopiridol, induces apoptosis and inhibits tumor growth in drug-resistant osteosarcoma and Ewing's family tumor cells. Int J Cancer, 121(6):1212-8, 2007 査読有
- ②⑦ Oda Y, Tsunevoshi N, et al.: Prognostic implications of the nuclear localization of Y-box-binding protein-1 and CXCR4 expression in ovarian cancer: their correlation with activated Akt, LRP/MVP and P-glycoprotein expression. Cancer Sci, 98(7):1020-6, 2007 査読有
- ②⑧ Takahira T, Oda Y, Tsunevoshi N et al.: Detection of COL1A1-PDGFB fusion transcripts and PDGFB/PDGFRB mRNA expression in dermatofibrosarcoma protuberans. Mod Pathol, 20(6):668-75, 2007 査読有

[学会発表] (計 56 件)

- ① Iwamoto Y: Recent advance in the treatment of bone and soft tissue sarcomas. (The combined academic conference of 16th Asia-Pacific Orthopaedic Association (APOA) and the 59th Annual meeting of Taiwan Orthopaedic Association (TOA), 2010. 11. 4-7, Taipei, Taiwan)
- ② 岩本幸英: 悪性骨・軟部腫瘍の治療成績改善を目指して: 基礎研究テーマの策定とその実績における指導(第 25 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2010. 10. 14-15, 京都)
- ③ Iwamoto Y: Oncogenic fusion gene, EWS-Fli-1, as a target for the treatment of Ewing's sarcoma. (NIH Seminar, 2009. 9. 21, Bethesda, Maryland, USA)
- ④ 岩本幸英: 悪性骨・軟部腫瘍の転移-研究の歴史と臨床応用への課題-(第 42 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 2009. 7. 16-17, 横浜)
- ⑤ 岩本幸英: 骨・軟部腫瘍治療の現状と未来

(第 82 回日本整形外科学会学術総会, 2009. 5. 14-17, 福岡)

- ⑥ 岩本幸英: 小児の骨・軟部腫瘍の診断と治療(第 112 回中部日本整形災害外科学会・学術集会, 2009. 4. 10, 京都)

[図書] (計 7 件)

- ① 岩本幸英: 悪性骨腫瘍・整形外科専門医テキスト, 南江堂, 8, 2010
- ② 岩本幸英 (分担執筆): 骨腫瘍・小児整形外科の実際, 南山堂, 242-249, 2008
- ③ 岩本幸英 (分担執筆): 軟部腫瘍・小児整形外科の実際, 南山堂, 250-254, 2008
- ④ 岩本幸英 (分担執筆): 悪性骨腫瘍の治療体系最新整形外科学大系 20骨・軟部腫瘍および関連疾患, 中山書店 88-93, 2007

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩本 幸英 (IWAMOTO YUKIHIRO)  
九州大学大学院医学研究院・教授  
研究者番号: 0 0 2 1 3 3 2 2

### (2) 研究分担者

恒吉 正澄 (TSUNEYOSHI MASAZUMI)  
九州大学・大学院医学研究院・名誉教授  
研究者番号: 2 0 0 9 1 2 5 9

小田 義直 (ODA YOSHINAO)  
九州大学・大学院医学研究院・教授  
研究者番号: 7 0 2 9 1 5 1 5

福士 純一 (FUKUSHI JUNICHI)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号: 4 0 4 4 4 8 0 6

松本 嘉寛 (MATSUMOTO YOSHIHIRO)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号: 1 0 3 4 6 7 9 4

坂本 昭夫 (SAKAMOTO AKIO)  
九州大学・大学院医学研究院・助教  
研究者番号: 4 0 3 3 5 9 6 4

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: