

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462935

研究課題名(和文) 口腔癌細胞のマウス同所移植モデルにおける腫瘍リンパ管新生と前転移ニッチ形成

研究課題名(英文) Lymphoangiogenic interaction of tumor and stromal environment in oral cancer xenograft mouse model

研究代表者

添野 雄一 (Soeno, Yuuichi)

日本歯科大学・生命歯学部・准教授

研究者番号：70350139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株をヌードマウス舌に移植し、癌細胞による脈管新生誘導と脈管侵襲・リンパ節転移の促進に働く癌細胞-間質相互作用について検索した。移植により、リンパ節転移病巣由来株OSC19、HSC2、OSC20はリンパ節転移病巣形成率100% (高転移性)、原発巣由来株KOSC2、HO-1-u-1では40%未満 (低転移性)となることを突き止めた。免疫組織学的検索では癌細胞形質変化に加え、高転移性株の癌病巣内外間質における脈管密度の上昇を捉えた。さらに3次元構築と組織要素の比較定量により細胞株毎に異なる癌微小環境(血管・リンパ管の分布と走行パターン)を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We developed a xenograft mouse model to explore the heterogeneity of the tumor microenvironment. We transplanted five oral carcinoma cell lines into the tongues of nude mice and determined tongue tumor growth and micrometastatic dissemination. All cell lines tested were tumorigenic in mouse tongue. The metastatic lesion-derived carcinoma cell lines (OSC19, OSC20, and HSC2) yielded a 100% nodal metastasis rate, whereas the primary tumor-derived cell lines (KOSC2 and HO-1-u-1) showed < 40% metastatic potential. Immunohistochemistry showed that the individual cell lines gave rise to heterogeneous tumor architecture and phenotypes. Notably, OSC19 and OSC20 cells shared similar aggressive tumorigenicity in both the tongue and lymph node environments but displayed markedly diverse immunophenotypes and gene expression profiles. The results support that tumorigenicity and tumor architecture in the host tongue environment depend on the origin and properties of the carcinoma cell lines.

研究分野：実験病理学

キーワード：腫瘍 扁平上皮癌 リンパ節転移 リンパ管新生 遺伝子発現 移植モデル

1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜に発生する扁平上皮癌（口腔癌）は早期にリンパ節転移を起こしやすい。頸部リンパ節転移をきたした症例の5年生存率は50%にとどまることや、治癒後の口腔機能障害によるQOLの低下が問題となっており、口腔癌の早期発見・治療を達成していくうえで、癌細胞 宿主反応を理解し、転移環境の成立機序を解明することが急務の課題であった。

本研究課題立案当時の癌研究分野では、癌実質・間質要素間の相互作用を包括的に捉えた“癌微小環境”の理解が進み、癌間質細胞は単なる組織充填物ではなく、癌細胞の増殖・浸潤・転移などの悪性形質に影響を与えることが明らかとなってきた。癌微小環境では、特異な性質を獲得した間質細胞が出現しており、腫瘍関連線維芽細胞（CAF）、腫瘍関連マクロファージ（TAM）として非腫瘍性間質と区別されるようになった。同様に、腫瘍血管も腫瘍血管内皮細胞（TEC）として区別され、健常組織の血管と比べて、血管透過性の亢進、基底膜や周皮細胞などの構造に異常がみられることも明らかにされた。一方、腫瘍組織に含まれるリンパ管の構造や内皮細胞の由来についての理解は遅れていたが、リンパ管内皮特異マーカー（Prox1, Lyve1, Podoplanin など）が充実しつつあり、リンパ管解析が可能な状況になっていた。リンパ管の発生に関しては、胎生期では静脈内皮細胞の一部が転写因子Prox1を発現してリンパ管内皮前駆細胞として発芽し、VEGFR3を発現したリンパ管内皮細胞へ分化を遂げるとリガンド（VEGF-Cや-D）に誘導されて標的組織へ遊走する。成体では、炎症や腫瘍病変においてリンパ管新生が起こっており、病変部に集積したマクロファージ系細胞がVEGFリガンドを産生してリンパ管内皮細胞の誘導に働くと想定されている。癌細胞の向リンパ走化性に関してはケモカインシグナル回路が注目されているが、早期リンパ節転移を起こす口腔癌ではVEGF発現の亢進とリンパ管新生が認められており、口腔癌細胞との共培養下でリンパ管内皮細胞の表現型に変化を生じることが注目されていた。病態検証実験の分野では、動物モデルによる浸潤・転移メカニズムの解析が進められてきたが、文献ごとに移植条件、転移の判定基準、定量方法などが異なっており、癌微小環境の病理組織学的な理解は困難であった。

研究代表者らはヒト口腔粘膜由来の扁平上皮癌細胞株を用いたヌードマウス舌組織への移植モデルを用いて癌細胞株間の造腫瘍活性について解析を行ってきた。申請に先行して実施したスクリーニングでは、観察期間内（移植後1週～3週間）で顕著な腫瘍塊を形成する癌細胞株5種（OSC19, OSC20, HSC2, KOSC2, H0-1-u-1）を選別できた。これらの癌細胞移植試料を用いた組織形態解析結果では、移植した癌細胞株間で移植後の宿主環

境での動態（周囲組織浸潤様式、リンパ管内浸潤など）や血管新生・リンパ管新生量が大きく異なることが判明した。以上の背景から、ヒト口腔癌細胞株のマウス舌移植モデルで得られる癌微小環境を精査・比較することにより、宿主環境再構成に寄与する癌細胞-間質相互作用を明らかにするとこの着想を得た。

2. 研究の目的

本研究では、口腔癌の早期リンパ節転移メカニズムの解明を長期目標として掲げ、ヒト口腔癌細胞株のヌードマウス同所移植モデルを用いて、癌細胞によるリンパ管新生誘導と脈管侵襲・リンパ節転移の促進に働く癌細胞 間質間相互作用の解明を目指した。特に、高転移能を有する舌由来扁平上皮癌細胞株を同所移植し、舌移植環境とリンパ節転移環境における癌細胞形質と実質・間質要素（血管・リンパ管網）の空間配置を明らかにするとともに、特に腫瘍リンパ管に注目し、非腫瘍部リンパ管内皮細胞との表現型の相違を検証することを目標とした。

3. 研究の方法

(1) 口腔癌細胞株のマウス舌への移植

マウス系統の飼育管理は日本歯科大学組換えDNA実験安全委員会および生物科学実験委員会のガイドラインに従って、生物科学施設SPF室内において癌細胞移植と試料採取を行った。口腔癌細胞株は、10%ウシ胎仔血清を添加したRPMI1640培地に懸濁し、5%炭酸ガス雰囲気下（37℃）で培養した。マウス舌への癌細胞移植では、 8×10^6 細胞/ml PBSに調製した癌細胞浮遊液 25 μ l（ 2×10^6 細胞）をBALB/c-nu/nuヌードマウス舌側縁部に26Gシリンジで注入した。移植個体ごとに安定した組織所見を得るための工夫として、細胞懸濁液をマウス舌の右側縁部、中央より反対側臼歯を指標として角度45度にて注入するよう統一し、移植後1～4週間、腫瘍塊の増大を視診によりモニタリングし、試料採取時期を判定した。

(2) 舌組織・頸部リンパ節の試料作製

直径2ミリメートル程度の腫瘍塊形成を指標として、頸椎脱臼による安楽死後速やかに舌組織および頸部リンパ節（4～6個/個体）を摘出した。癌を含む舌組織を採取後、組織形態学的解析には固定時の組織変形を防止するためコルク台にピン留めして4%ホルムアルデヒド固定した。固定後、腫瘍塊の最大径で切断し、パラフィン包埋した。移植個体におけるリンパ節転移については、同時に摘出したリンパ節をすべて連続薄切・染色観察して微小転移巢の有無を厳密に判定した。遺伝子発現解析用試料についてはOCTコンパウンド包埋後に冷アセトンで凍結した。

(3) 組織観察・免疫染色

組織立体構築に向けたパラフィン包埋試料では、セクショントランスファー装置付き回転式マイクロトームで4 μmで連続薄切した。癌細胞株のマウス舌移植モデルにおいて、移植部位での癌巣構築とリンパ節転移病巣の成立を時間軸での追跡を目指した。組織観察では、ヌードマウス舌組織における既存の血管・リンパ管網および癌移植部位での内皮細胞の局在・増殖活性を検証した。組織観察に向けては、同所移植による担癌状態の舌組織とリンパ節転移巣をパラフィン包埋試料とし、連続薄切・免疫多重標識を行った。染色画像はバーチャルスライド装置を使用してデジタル情報として記録し、画像解析システムにより特異抗体により免疫標識された細胞・組織要素を分画した。

立体構築に関しては、癌病巣の連続薄切切片については、ヒト上皮形質マーカー（サイトケラチン、Eカドヘリン、CD44）、マウス血管内皮（PECAM）・リンパ管内皮（Lyve1）の特異抗体を用いて、異なる発色剤（青色のVector blue、茶色のDAB、赤色のAEC）を組み合わせてABC法による多重免疫標識を行った。染色画像はバーチャルスライド装置（NanoZoomer、浜松ホトニクス）でデジタル記録した。画像処理システム（ImageJ/Fiji; NIH, TRI-SRF2; RATOC Inc.）にて連続組織画像の位置あわせ操作、RGB色調に基づく特定の組織要素分画を行った。

(4) 網羅的遺伝子発現解析

培養条件下から宿主環境下で癌細胞形質に生じる変化と、異なる表現型の癌細胞間での競合条件下で浸潤・転移に優位に働く表現型について検証を行うため、マイクロアレイ法による遺伝子発現解析用に増生した腫瘍塊（移植後2週前後）から凍結切片を作製した。レーザーマイクロダイセクションでは、薄膜（4 μm厚さ）を貼ったスライドグラスにRNase free条件下で凍結切片（8 μm厚さ）を貼付し、メタノール処理後に1%トルイジン青で染色、DEPC処理水で洗浄、検鏡下でレーザービームにより癌巣領域を切り出し、RNA抽出カラム（RNeasy）で精製し解析まで-80で保存した。移植前の培養細胞についてもRNAを精製・抽出、解析に供した。マイクロアレイデータの検証の目的では、得られたtotal RNAからcDNAを合成し、リアルタイムPCRによる発現量の定量解析を行った。データ処理・解析にはGeneChip®およびGeneSpring GX解析ソフト（Affymetrix）を使用した。

4. 研究成果

(1) ヒト口腔癌細胞株の同所移植と転移

移植後日数と舌に形成された腫瘍サイズとの関連では、OSC19, OSC20, HSC2は腫瘍増

生速度が速く、移植後約7日で直径2 mmを超える腫瘍塊を確認でき、頸部リンパ節組織所見では、全ての移植個体で転移病巣を検出した（OSC19; n=7, OSC20; n=7, HSC2; n=5）。一方、KOSC2とHO-1-u-1では腫瘍増殖速度は比較的緩やかで、KOSC2では移植後約14日、HO-1-u-1の腫瘍塊検知では移植後20-30日を要した。両細胞株の転移病巣形成率は各々33%（2/6）、38%（3/8）であった。本研究では、これらの結果に基づき、OSC19, OSC20, HSC2を高転移性群、KOSC2, HO-1-u-1を低転移性群と区分した。

(2) 宿主環境における癌細胞の形質変化

移植癌細胞の増殖活性について、（担癌舌組織の腫瘍最大断面試料（前頭断）の免疫染色によりKi67陽性核の出現頻度と分布を比較すると、高転移性株OSC19, OSC20は癌実質全域が高い増殖活性を示した。HSC2およびKOSC2は癌巣中央部で角化細胞への分化傾向を示しており、いずれも癌巣周縁部（浸潤先端部）で増殖活性が高まっていた。HO-1-u-1は索状に伸展する特徴を有していたが、増殖活性は同様に浸潤先端部に認められた。

移植癌細胞の上皮形質をサイトケラチン、Eカドヘリン、CD44の免疫染色で確認した結果、いずれの細胞株においても腫瘍塊の周縁（浸潤先端部）におけるEカドヘリン発現の減弱を認めた（図1）。また、癌細胞の悪性形質の指標とされるCD44もEカドヘリンの減弱がみられた癌巣周縁部で強発現しており、宿主組織との近接部において癌細胞の移行形質が高まっていることが示された。また、上皮系細胞の間葉形質転換（EMT）の指標に用いられるビメンチンについて検証したところ、OSC20とHO-1-u-1では浸潤先端部にビメンチン発現細胞が集簇していることが判明した。ただし、両癌細胞株では培養時点でもビメンチン陽性細胞が存在しており、EMTを確認するには至らなかった。また、リンパ節転移病巣の解析から、これらの癌細胞形質は、転移後の間質環境においても維持されていることがわかった（図1）。

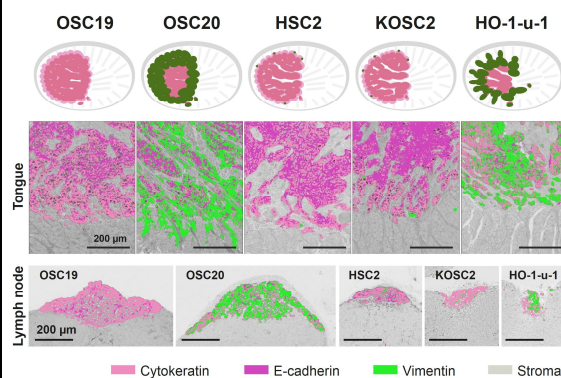


図1 免疫染色による癌細胞表現型の解析。上段：癌巣全体での発現模式図。中段：舌癌巣・浸潤先端部における陽性細胞分布の解析画像（疑似カラー）。下段：リンパ節における表現型。

(3) 脈管間質形成の多様性

癌微小環境として脈管形成能を確かめる目的で、PECAM(血管内皮マーカー)とLyve-1(リンパ管内皮マーカー)およびサイトケラチンによる多重免疫染色を実施した。この解析では、癌胞巣内外の間質の違いを捉えるため、前処理としてサイトケラチン陽性の抽出領域に対し、仮想演算処理にてピクセル膨張し、間質空隙が埋まった時点の輪郭を腫瘍内外の境界として設定し、宿主間質と腫瘍内間質を分画する操作を行った。この区画ごとに血管内皮・リンパ管内皮の面積密度としてPECAM および Lyve1 陽性率を計測すると、非移植群との比較において、血管では HSC2 と KOSC2、リンパ管では高転移性株のみで有意な密度上昇を認め、特に OSC19 では顕著であることが確認できた(図2)。

尚、腫瘍分泌シグナルとして特に組織浸潤・リンパ節転移に関わる VEGF ファミリーに着目し、リンパ管内皮誘導能の顕著であった OSC19 腫瘍塊の免疫組織学的検索を行ったが、VEGF-C や-D タンパク発現レベルは腫瘍胞巣内外で低く留まっていた。

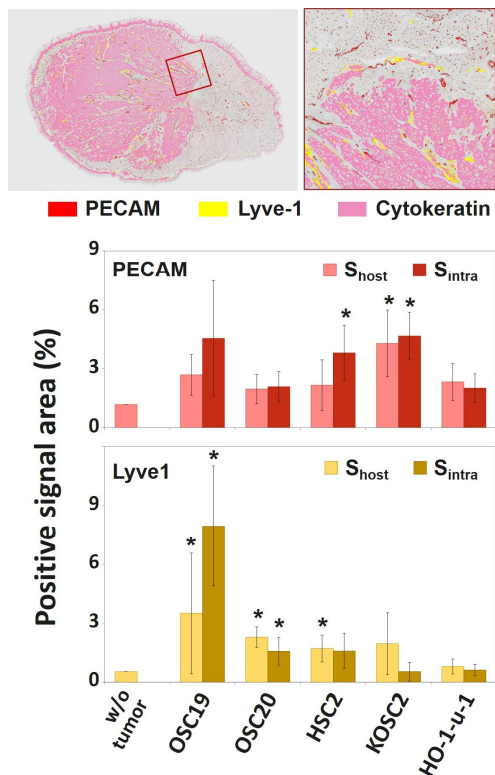


図2 脈管間質の定性・定量解析。上図：癌胞巣の解析画像(疑似カラー)。下グラフ：組織間質(S_{host})と腫瘍内間質(S_{intra})におけるPECAMおよびLyve-1陽性細胞密度の定量解析結果。*健康舌の脈管密度との差異を検定(P < 0.05)。

(4) 癌胞巣の3次元組織形状

2次元平面では得がたい脈管走行経路や分布局在などの属性を分析するため、連続薄切片(4μm厚、200枚)の多重免疫染色画像データから組織立体構築を行い、3次元組織

空間での脈管間質の構造特性について定性・定量解析を行った。癌 宿主間質境界面情報を最大限に得る方策として、腫瘍塊の半側端部全域(本解析では円錐状に拡大伸展する腫瘍の舌尖側を選択)を立体構築することにより、半円形ドーム状に広がる癌胞巣表面を得ることができた(図3)。癌実質-間質割合を計算してみると、低転移性株では7:3~5:5まで幅がみられたが、高転移性株は平均7:3を維持していた。特にOSC20では8:2となる充実性胞巣であることも判明した。

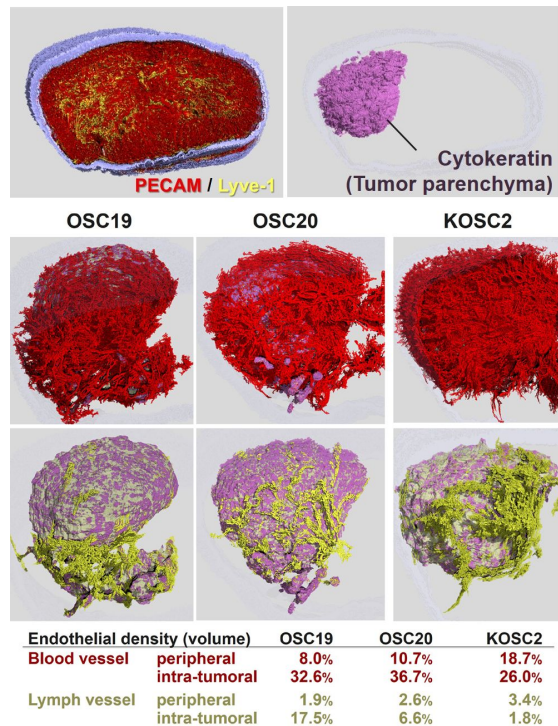


図3 担癌舌組織の3次元構造解析。上図：舌全体横断面観(右は癌胞巣以外を透過表示)。中図：脈管走行。便宜的に腫瘍内外間質にわたり連続する血管・リンパ管のみを表示。下表：癌胞巣内外間質における血管・リンパ管密度(体積)。

脈管走行の再構築では、舌組織全体では腫瘍塊近傍を直視できないほど密集した微細なPECAM陽性血管を再現できた。便宜的に腫瘍内外を貫通する血管のみ表示すると、胞巣周縁を囲むように走行する血管網を捉えることができた。同様にリンパ管内皮の表示では、太いリンパ管が胞巣右下の舌根方向から包み込むように進展する様子や、リンパ管腔の拡張と癌細胞塞栓も捉えられた。腫瘍内外間質での血管・リンパ管内皮の体積密度を算出すると、いずれも周囲より腫瘍内で密度が高まっていた(図3表)。密度計測ではOSC19腫瘍内間質での顕著なリンパ管増生などが捉えられた。体積密度の計測では面積密度よりも高い値となっており、2次元平面でノイズ除去されてしまう微細なシグナルが立体空間では連結性に基づいて脈管と判定されるためと考えられた。

さらに脈管の特徴として、間質の境界表面

を貫通する点(スポット)の計測を試みた。その結果、血管スポットは、胞巣の上下左右に均等に分布しており、単位表面積当たり1万点を超えていた。血管スポット数を集計し、間質表面積 1 mm²あたりの密度を算出すると、概ね 10,000 スポット(OSC20 が 18,259 で最多)を超えたが、H0-1-u-1 はその半量にも満たない4,652 スポットであった。スポット密度の多寡は、充実性で胞巣内間質量が少ないOSC20 と索状に浸潤し胞巣表面積が広いH0-1-u-1 との血管要求度の差異に起因することが想定された。一方、リンパ管の陥入スポット解析では、OSC19 が他の細胞株の2倍のスポット密度を示し、胞巣内での顕著なリンパ管増生をみるOSC19 の特徴と一致した。また、全てのスポット面積を計測し、平均サイズでみると、血管・リンパ管ともに高転移性株と低転移性株の間に約2倍の差があり、高転移性株における腫瘍血管・リンパ管の拡張傾向を反映していると考えられた。

(5) 癌-間質相互作用と遺伝子発現

癌細胞 間質間の相互作用による転移形質獲得の可能性を検証する目的で、移植後急速に腫瘍塊を形成し、共に高転移性を示すものの、リンパ管新生能に顕著な差異を認めたOSC19 と OSC20 を対象として、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を実施した。両細胞株の移植前(in vitro)と移植後形成された腫瘍塊(in vivo)で発現変動した遺伝子群を抽出すると、OSC20 では Cdc42 や MMP ファミリーの遺伝子発現上昇により組織浸潤能を高めているのに対して、OSC19 では脈管新生誘導を含む間質環境の構築に働く多数のシグナル経路が亢進していることが明らかとなった。また、免疫染色による VEGF 発現検証と同様に、遺伝子発現解析においても VEGF ファミリー分子の発現変動はみられなかったが、VEGF のコレセプターであり近年癌幹細胞形質との関連が注目される NRP1 および NRP2 が移植によって発現亢進していることを突き止めた。また近年、癌悪性形質との関連が報告されている OLFM4 および DEFB1 が顕著に発現亢進していることも判明した。

OSC19				OSC20			
Gene symbol	Z-score	fold-change		Gene symbol	Z-score	fold-change	
OLFM4	10.2	1.0E+4		MMP1	10.7	2.7E+2	
DEFB1	7.2	6.6E+2		MMP7	10.0	1.9E+2	
LY6D	6.7	1.7E+2		S100A8	9.0	1.1E+3	
OASL	6.0	1.0E+2		MMP10	8.6	7.4E+2	
S100P	6.0	1.0E+2		KRT15	7.8	1.6E+1	
ANXA1	6.0	8.9E+0		KRT5	7.8	1.3E+2	
IFI2	5.5	6.8E+1		SERP1NB3	7.1	2.4E+2	
KRT6A	5.0	4.8E+1		MMP13	6.6	1.7E+2	
KRT6B	5.0	1.7E+1		GPR68	6.6	1.6E+2	
ODF2L	4.7	1.5E+1		KRT16P2	6.4	5.3E+1	

まとめ

本研究では、口腔癌の浸潤・早期リンパ節転移機構の解明を目指して、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株のヌードマウス舌移植モデルを用いて、癌細胞による脈管新生誘導と脈管侵

襲・リンパ節転移の促進に働く癌細胞 間質間相互作用について検索した。癌微小環境の精査に向けて移植手技および解析手法を規格化することにより、癌細胞・間質要素の2次元・3次元形態計測を実現することができた。癌細胞形質評価では、特に高転移性株の腫瘍内外間質における血管・リンパ管密度の上昇傾向を比較定量することを達成した。今回、脈管間質の構築に関わる癌細胞形質として数種類の発現変動遺伝子を抽出しており、これらの分子機序の解析が今後の課題と考えている。

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2件)

Shirako Y, Taya Y, Sato K, Chiba T, Imai K, Shimazu Y, Aoba T, Soeno Y: Heterogeneous tumor stromal microenvironments of oral squamous cell carcinoma cells in tongue and nodal metastatic lesions in a xenograft mouse model. J Oral Pathol. Med. (査読有), 2015; 44: 656-668, doi: 10.1111/jop.12318.

Kudo T, Shimazu Y, Yagishita H, Izumo T, Soeno Y, Sato K, Taya Y, Aoba T: Three-Dimensional Reconstruction of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma at Invasion Front. Int. J. Dent. (査読有), 2013, vol. 2013: ArticleID482765, doi:10.1155/2013/482765

[学会発表](計9件)

Soeno Y, Shirako Y, Taya Y, Shimazu Y, Sato K: Stromal configuration by human carcinoma transplantation in mouse tongue, AADR ANNUAL MEETING 2016 Program Book 117(No.1406), 2016年3月18日, Los Angeles, CA (USA).

白子要一, 佐藤かおり, 田谷雄二, 青葉孝昭, 島津徳人, 添野雄一: マウス舌移植モデルにおけるヒト口腔扁平上皮癌細胞の浸潤・転移形質と癌微小環境, J.Oral Biosci., 57(Suppl) : 32(No.P1-93), 192(No.01-F1), 2015年9月12日, 朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)。

添野雄一, 白子要一, 島津徳人, 田谷雄二, 佐藤かおり, 柳下寿郎, 青葉孝昭: 癌微小環境と非癌性病変にみられる脈管間質の多次元形態解析, 日本病理学会会誌, 104(1) : 314 (3-F-6), 2015年4月30日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)。

白子要一, 添野雄一, 島津徳人, 田谷雄二,

佐藤かおり, 青葉孝昭: 癌微小環境における脈管新生の3次元形態解析: 腫瘍-宿主境界での脈管チャネルの空間分布, 日本病理学会会誌, 103(1): 273 (3-H-6), 2014年4月26日 ANA クラウンプラザホテル広島 (広島県・広島市).

添野雄一, 白子要一, 島津徳人, 田谷雄二, 佐藤かおり, 青葉孝昭: 扁平上皮癌の同所移植モデルにおける原発-リンパ節転移環境での脈管間質形成の比較, 日本病理学会会誌, 103(1): 273 (3-H-3), 2014年4月26日, ANA クラウンプラザホテル広島 (広島県・広島市).

Soeno Y, Shirako Y, Fujita K, Taya Y, Shimazu Y, Sato K, Chiba T, Imai K, Aoba T: Three-dimensional visualization of tumor-host interface in Xenograft Mouse Model. Program Book 43rd Annual Meeting & Exhibition of the American Association for Dental Research, 73(No.438), 2014年3月20日, Charlotte, NC (USA).

島津徳人, 添野雄一, 白子要一, 藤田和也, 田谷雄二, 中右かよ, 佐藤かおり, 青葉孝昭: 腫瘍微小環境の3次元形態学: Virtual Reality 観察の導入, 日本病理学会会誌, 102(1): 307(1-R5-15), 2013年6月6日, ロイトン札幌 (北海道・札幌市).

白子要一, 添野雄一, 藤田和也, 島津徳人, 田谷雄二, 佐藤かおり, 青葉孝昭: 腫瘍内間質構築と脈管新生誘導: ヒト口腔癌マウス舌移植モデルにおける形態解析, 日本病理学会会誌, 102(1): 307(1-R5-16), 2013年6月6日, ロイトン札幌 (北海道・札幌市).

添野雄一, 島津徳人, 田谷雄二, 中右かよ, 白子要一, 藤田和也, 佐藤かおり, 柳下寿郎, 青葉孝昭: 腫瘍浸潤様式の3次元形態解析: 扁平上皮癌における微小浸潤胞巣の成立機序, 日本病理学会会誌, 102(1): 307(1-R5-14), 2013年6月6日, ロイトン札幌 (北海道・札幌市).

[図書](計2件)

日本歯科大学 病理学講座編 (青葉孝昭 監修 佐藤かおり 編集): 歯学生のための最新・病態病理学入門、株式会社キタ・メディア, 東京, 2014年, ISBN No. 978-4-907832-17-9.

島津徳人 編、青葉孝昭 監修: 今すぐ始める組織立体構築 ImageJ/Fiji の活用プロトコール、日本ビジュアルサイエンス株式会社, 東京, 2013年, ISBN No. 978-4-907832-15-5.

[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
<http://www.ndu.ac.jp/~pathhome/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

添野 雄一 (SOENO, Yuuichi)
日本歯科大学・生命歯学部・准教授
研究者番号: 70350139

(2) 研究分担者

田谷 雄二 (TAYA, Yuji)
日本歯科大学・生命歯学部・准教授
研究者番号: 30197587

佐藤 かおり (SATO, Kaori)
日本歯科大学・生命歯学部・講師
研究者番号: 90287772

島津 徳人 (SHIMAZU, Yoshihito)
麻布大学・生命・環境科学部・准教授
研究者番号: 10297947

青葉 孝昭 (AOBA, Takaaki)
日本歯科大学・生命歯学部・教授
研究者番号: 30028807
(平成27年3月31日まで)

藤田 和也 (FUJITA, Kazuya)
日本歯科大学・生命歯学部・助教
研究者番号: 70549055
(平成26年3月31日まで)