

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580439

研究課題名(和文) 分子標的治療を目指した犬血管肉腫における増殖因子 / 受容体系の分子基盤の解明

研究課題名(英文) Study on molecular basis of growth factor/receptor of canine hemangiosarcoma

研究代表者

酒井 洋樹 (Sakai, Hiroki)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：40283288

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：血管肉腫の病態解析をめざし、7株の犬血管肉腫細胞株を作出した。全ての細胞株はDiI-Ac-LDLの取り込み能、CD31、VEGF-A、bFGF、HGF、IGF-IおよびPDGF-Bの発現がみられた。作出された細胞株では、*in vitro*および*in vivo*において細胞増殖にmTORC2/Akt /4E-BP1経路の恒常的活性化が関与していることが示唆された。犬自然発生血管肉腫でも同様な活性化がみられ、さらに遺伝子変異は見られないが、PDGF受容体の高発現が認められた。mTORやPDGF受容体に治療標的としての有用性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Seven canine hemangiosarcoma cell lines were established for analysis of pathogenesis of hemangiosarcoma. All cell lines showed active intake of DiI-Ac-LDL, and positive for CD31, VEGF-A, bFGF, HGF, IGF-I and PDGF-B mRNA by RT-PCR. Constitutive activation of mTORC2/Akt/4E-BP1 associated with the proliferation of cell lines *in vitro* and *in vivo*, and this activation was confirmed in spontaneous canine hemangiosarcomas. Moreover, the high expression of PDGF receptor beta without genomic mutation of jaxut membrane area was detected in hemangiosarcoma. It is suggested that mTOR and PDGF receptor beta may be considered as one of therapeutic targets.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：血管肉腫 犬 培養細胞株 mTOR PDGFR

1. 研究開始当初の背景

血管肉腫はヒトおよび犬の難治性悪性腫瘍である。ヒトでは発生率は低く、研究が進んでいない rare tumor の一種であるが、犬の発生率はヒトに比べ数十倍高い。ヒトの血管肉腫の研究は症例報告がほとんどであり、犬では病理組織学的な研究報告は散見されるものの、ヒトと同様に実験的手法を用いた研究は多くはない。それゆえに、ヒトで得られた研究成果を犬に応用することも不可能である。これらの原因のひとつには、腫瘍再現モデル、つまり *in vivo* 移植モデルや *in vitro* の培養細胞株が乏しいことが挙げられ、モデルの作製が医学、獣医学あるいは比較腫瘍学的観点からも切望されている。

2. 研究の目的

本研究では、我々が作出したヌードマウス可移植犬血管肉腫から *in vitro* モデルとして利用可能な培養細胞株を樹立し、実験的に血管肉腫の異常増殖の分子メカニズムの解明を目指す。解析する点は以下の2つである。

(1) 増殖因子/受容体阻害剤により、犬血管肉腫の培養細胞株で主となる増殖因子/受容体経路を明らかにする。

(2) 培養細胞株をヌードマウスに移植し、*in vivo* での増殖因子/受容体経路を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 犬血管肉腫細胞株の樹立

肝臓、右心房、脾臓に発生した3例の犬血管肉腫の腫瘍組織をヌードマウスの背部皮下へ移植し作製した可移植犬血管肉腫の組織片から細胞を分散させ、10%牛胎仔血清 (FCS) 含 M199 培地で60代以上継代した後、細胞株を樹立した。また、10%FCS 含 M199 培地に5000個/mlの濃度で細胞を培養し、増殖曲線を作製した。血管内皮細胞の表現型を確認するため、DiI 標識アセチル化低密度タンパク質 (DiI-Ac-LDL) の取り込み能を調べた。また、犬特異的プライマーを用い、CD31, vWF, VEGF-A, Flt-1, Flk-1, bFGF, FGFR-1, HGF, c-Met, IGF-I, IGF-IR, EGF, EGFR, PDGFB, PDGFR α , PDGFR β の mRNA の発現を RT-PCR 法にて調べた。

(2) 樹立腫細胞株の VEGF と bFGF の分泌能
次に培養上清中の VEGF および bFGF の濃度を、犬との交差性が確認されている human VEGF ELISA kit あるいは human bFGF ELISA kit (R&D Systems, MN, USA) を用いて測定した。

(3) 樹立腫細胞株の腫瘍形成能の評価

腫瘍形成能を調べるために、各細胞 10^6 をヌードマウス (4週齢, ♂) の左右背部皮下

に接種した (5匹, 計10カ所/細胞株)。形成された腫瘍組織について、血管内皮マーカーである CD31 および vWF, 増殖マーカーで、マウスとは交差せず犬と反応する抗 Ki-67 抗原 (MIB-1) 抗体を用いた免疫染色を行った。

(4) 樹立腫細胞株に対する増殖因子の影響およびシグナル伝達系の解析

樹立犬血管肉腫細胞株に対する増殖因子の影響を調べ、さらにこの増殖に関与するシグナル伝達経路の解明を目的とし、犬血管肉腫細胞株を用い、細胞株を10%FCS 含 M199 培地で24時間培養後1%FCS 含 M199 培地に交換し、血清飢餓の状態での24時間培養した。その後、recombinant human VEGF-A (rhVEGF-A), rhbFGF, rhHGF, rhIGF-I, rhEGF, rhPDGF-BB を0, 1, 10, 50, 100ng/ml, あるいは10%FCSを加えた。その後、72時間培養し、WST-1法で細胞増殖活性を評価した。

また、血清依存性に活性化するシグナル伝達経路の解析のために、10%FCS 含 M199 培地で細胞株を培養後、1%FCS 含 M199 培地に交換し、血清飢餓の状態での24時間培養した。その後、培地を10%FCS 含 M199 培地、あるいは1%FCS 含 M199 培地に交換し、30分後に総タンパク質を抽出し、ウエスタンブロット法で Erk, Akt, 4E-BP1 および p70S6K のリン酸化の変化を調べた。

(5) 樹立腫細胞株における mTORC2/Akt/4E-BP1 経路の恒常的活性化に対する阻害

犬血管肉腫細胞株では、mTORC2/Akt Ser⁴⁷³/4E-BP1 経路が恒常的に活性化していることが示唆され、治療のターゲットとして有用であると考えられた。そこで、この経路に対する分子標的阻害剤を用いて、細胞増殖抑制効果とこの経路に関わる種々のタンパク質のリン酸化の変化を検討した。

10%FCS 含 M199 培地で24時間培養した細胞株に、PI3K 阻害剤の LY294002 を0, 0.1, 1, 10, 20, 50, 100 μ M, あるいは mTORC1 阻害剤の rapamycin を0, 0.1, 1, 10, 20, 50, 100 nM 加え、48時間後に WST-1法で細胞増殖活性の評価を行った。また、10%FCS 含 M199 培地で24時間培養した細胞に、50 μ M の LY294002 を、あるいは20nM の rapamycin を加え、LY294002 では2時間後、rapamycin は24時間後に総タンパク質を抽出し、ウエスタン・ブロット法で Akt, 4E-BP1, p70S6K のリン酸化の変化を調べた。

(6) *in vivo* での PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化の確認

in vivo での PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化を確認するために、ヌードマウス移植腫瘍および自然発生の犬血管肉腫における

PI3K/Akt/mTOR 経路に関わるリン酸化 Akt Ser⁴⁷³ (p-Akt Ser⁴⁷³) および Thr³⁰⁸, p-4E-BP1 Thr^{37/46} を免疫染色した。

(7) 自然発生血管肉腫における PDGF/PDGF 受容体の発現と PDGF 受容体の遺伝子変異の解析

増殖因子のうち、PDGF/PDGF 受容体の発現に焦点を絞り、犬の自然発生血管肉腫における PDGF と PDGF 受容体の発現を免疫組織化学的に検討した。また、PDGF 受容体は膜貫通部近傍に変異がみられると恒常的な自己リン酸化が起こることが知られているので、同様に犬の自然発生血管肉腫のホルマリン固定パラフィン切片からゲノム DNA を抽出し、PDGF α および β 受容体遺伝子の細胞膜近傍部の変異の有無を PCR-直接塩基配列決定法による解析を行った。

4. 研究成果

(1) 犬血管肉腫細胞株の樹立

肝臓原発血管肉腫 Ju 株から形態的に異なる 3 株 (JuA1, JuB2, JuB4), 右心房原発血管肉腫 Re 株から、2 株 (Re12, Re21), 脾臓原発血管肉腫 Ud 株から、2 株 (Ud2, Ud6) の計 7 株の犬血管肉腫細胞株を作製した (図 1)。全ての細胞株は DiI-Ac-LDL の取り込み能を有し、CD31 の mRNA を発現していたが、vWF の mRNA は発現していなかった。

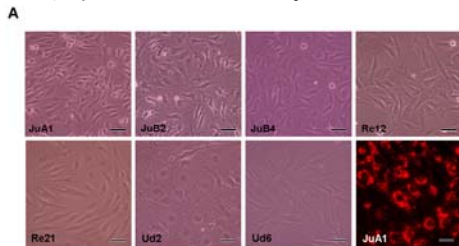


図 1 樹立した細胞株の形態と DiI-Ac-LDL の取り込み (右下)

増殖曲線を作製したところ、Ju 系、Ud 系では速い増殖を示したが、Re 系は増殖が緩徐であった (図 2)。

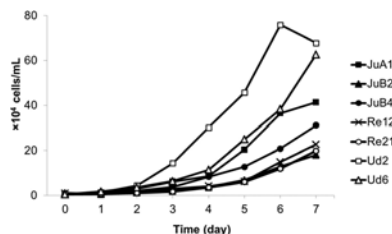


図 2 増殖曲線

増殖因子とその受容体の mRNA の発現は細胞株によって様々であった (図 3)。VEGF-A, bFGF, HGF, IGF-I, PDGF-B は増殖因子と共に受容体の mRNA も発現していたことから、自己分泌/傍分泌機構で働く可能性が示唆された。

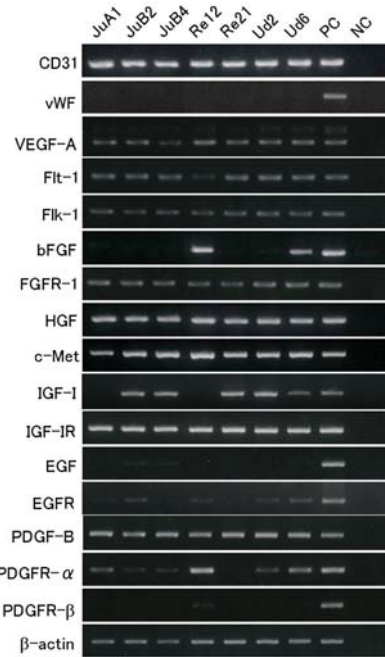


図 3 樹立した細胞株における各種増殖因子、受容体の発現 (PC: 正常犬脾臓 cDNA)

(2) 樹立細胞株の VEGF および bFGF の分泌

Re12 でのみ、培養上清中に VEGF の産生がみられたが、そのほかの細胞、bFGF では ELISA で測定限界以下であった。

(3) 樹立腫細胞株の腫瘍形成能

JuA1 (8/10 カ所), Re21 (9/10) では全て、JuB2 (3/10), JuB4 (2/10) では一部のヌードマウスに腫瘍を形成した。Re12, Ud2 および Ud6 は腫瘍を形成しなかった。形成された腫瘍は、CD31, vWF および MIB-1 抗体に陽性を示した。MIB-1 抗体はマウス組織に反応しないので、形成された腫瘍は犬血管肉腫に由来する組織と考えられた。

(4) 樹立腫細胞株に対する増殖因子の影響およびシグナル伝達系の解析

JuB4 では、IGF-I を除く全ての増殖因子と血清下で、用量依存性に増殖が促進された。JuA1, Re11 および Re21 では血清下で増殖が促進されたが、いずれの増殖因子でも促進されなかった。JuB2, Ud2 および Ud6 では増殖因子と血清のいずれにも増殖促進効果を示さなかった。

これらの株ではシグナル伝達経路の恒常的な活性化が疑われたため、血清添加によるシグナル伝達経路の活性を検索したところ、JuB4, Re12 では血清によって、Erk Thr²⁰²/Tyr²⁰⁴ のリン酸化が増加した。よって、これらの株の血清による増殖促進には、Erk 経路が関与している可能性が示唆された。一方、Akt Ser⁴⁷³ とその下流の eIF4E-binding protein 1 (4E-BP1) の 4E-BP1 Thr^{37/46}, Thr⁷⁰, Ser⁶⁵ は、6 株で S6 kinase (p70S6K) の p70S6K Thr³⁸⁹

は血清飢餓でリン酸化が増加した (図 4)。

2 種類の異なる複合体として存在するリン/スレオニンキナーゼである mTOR は mTOR complex 1 (mTORC1) は主に mTOR, Raptor, GβL 等から構成される。mTORC1 は PI3K, PDK1 を介した Akt Thr³⁰⁸ のリン酸化によって活性化され、下流の 4E-BP1 と p70S6K のリン酸化を介して、標的遺伝子の翻訳調節を行い、細胞増殖に関与している。一方、mTORC2 は mTOR, Rictor, GβL 等から構成され、Akt の上流に位置し、Akt Ser⁴⁷³ を活性化させることが知られているが、mTORC1 に比べ、解明されていない点も多い。

4E-BP1 と p70S6K は共に mTORC1 の下流に共に位置しているが、今回の結果から、犬血管肉腫細胞株では、mTORC2 による Akt Ser⁴⁷³ の活性化は 4E-BP1 を制御し、Akt Thr³⁰⁸ による mTORC1 の活性化は p70S6K を制御するという別の経路である可能性が示唆された。

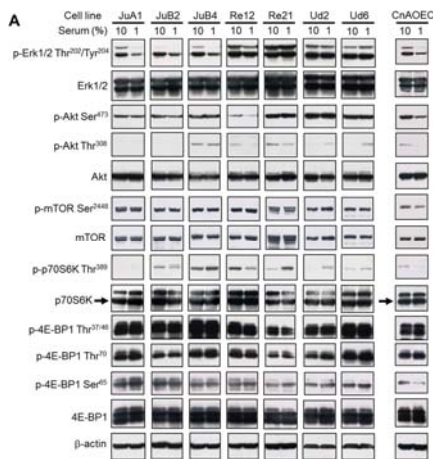


図 4 MAP/Erk and AKT/mTOR 経路に対する血清の影響 ウェスタンブロット法。24 時間の血清飢餓後の 10%あるいは 1% 牛胎仔血清加 M199 培地に 30 分インキュベートした細胞株の総タンパク抽出液を 10 μg 泳動。β アクチンは内部標準たんぱく質。

(5) 樹立腫細胞株における mTORC2/Akt/4E-BP1 経路の恒常的活性化に対する阻害

LY294002 処置後、全ての細胞株で用量依存性に細胞増殖が抑制され、Akt Ser⁴⁷³, 4E-BP1 Thr^{37/36}, Thr⁷⁰, Ser⁶⁵ のリン酸化レベルが低下した。p70S6K Thr³⁸⁹ は 2 株のみでリン酸化が検出されたが、LY294002 によってこのレベルが低下した。rapamycin 処置では、3 株で用量依存性に細胞増殖が抑制され、4E-BP1 Thr^{37/36}, Thr⁷⁰, Ser⁶⁵ のリン酸化が低下した。このうち、2 株は p70S6K Thr³⁸⁹ のリン酸化が検出されない株であったため、p70S6K Thr³⁸⁹ のリン酸化は増殖には必須ではない可能性が示唆された。また、rapamycin で増殖が抑制されない株では、4E-BP1 Thr^{37/46} と Thr⁷⁰ のリン酸化レベルは低下したが、Ser⁶⁵ のリン酸化は変化しなかった。これから、細胞増殖に

もっとも関与しているのは、4E-BP1 Ser⁶⁵ である可能性が示唆された。これらの細胞株では、mTORC1 を介さずに 4E-BP1 Ser⁶⁵ ヘシグナルを伝達している可能性が示唆された。

更に mTORC1 の上流の Akt Ser⁴⁷³ のリン酸化を調べたところ、rapamycin 処置により増殖が抑制された 3 株のうち、2 株でリン酸化レベルが低下していた。ゆえに細胞増殖の抑制には、mTORC1 の阻害だけではなく、上流の Akt Ser⁴⁷³ の阻害が関与している可能性が示唆された。また増殖が抑制されなかった株のうち、1 株では rapamycin 処置によって Akt Ser⁴⁷³ のリン酸化レベルが上昇していた。このため、細胞株によっては、rapamycin の耐性にも Akt Ser⁴⁷³ が関与している可能性が示唆された。同様の結果が rapamycin の長期投与による mTORC2 の阻害や、反対に長期投与による p70S6K のフィードバックを介した、PI3K/Akt 経路の活性化による耐性の獲得が報告されている。以上の結果から、犬血管肉腫細胞株の増殖には、mTORC2/ 4E-BP1 経路が最も関与しており、治療標的としての可能性が示唆された。

(6) *in vivo* での PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化の確認

ヌードマウス移植腫瘍および自然発生犬血管肉腫の免疫組織学的検索では、いずれの細胞株でも p-Akt Ser⁴⁷³ および p-4E-BP1 Thr^{37/46} が強く染色されたが、p-Akt Thr³⁰⁸ の染色は弱かった (図 5)。また自然発生犬血管肉腫においても同様の結果が得られた。以上からヌードマウス移植腫瘍や自然発生犬血管肉腫でも、細胞株と同様な異常が起きていることが示唆された。

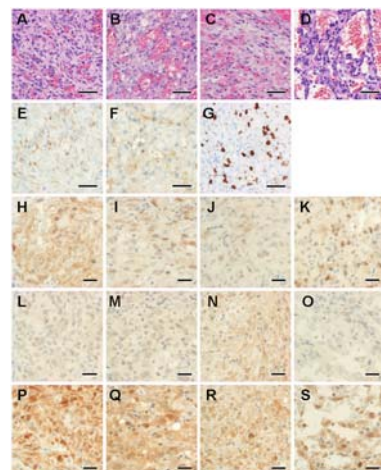


図 5 ヌードマウスに形成された腫瘍の形態と免疫組織化学 A-D: HE 染色. A: JuA1, B: JuB2, C: JuB4, D: Re21 E-S: 免疫染色 E: CD31 (JuA1), F: vWF (Re21), G: Ki-67 (JuB2), H-K: p-Akt Ser⁴⁷³ (H: JuA1, I: JuB2, J: JuB4, K: Re21), L-O: p-Akt Thr³⁰⁸ (L: JuA1, M: JuB2, N: JuB4), N: Re21 は陰性. P-S: p-4E-BP1 Thr^{37/46} (P: JuA1, Q: JuB2, R: JuB4, S: Re21)

(7) 自然発生血管肉腫における PDGF/PDGF 受容体の発現と PDGF 受容体の遺伝子変異の解析

47 例の犬の血管肉腫, 21 例の皮膚血管腫を検索したところ, 血管肉腫における PDGF β 受容体の強陽性率は皮膚血管腫に比べて有意に高かった ($p < 0.01$) (図 6)。

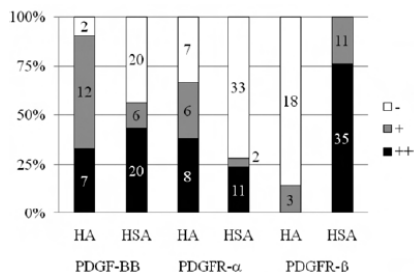


図 6 犬血管肉腫と血管腫の PDGF および PDGF 受容体の発現の比較

また, PDGF 受容体遺伝子の膜近傍部 (α : exon 10, 12, 14, 17, 18 および 19, β : exon 10, 12, 13, 14, 17 および 18) を PCR-直接塩基配列決定法による解析を行った結果, 血管肉腫では PDGF β 受容体で exon 14 および 17 に, 血管腫では PDGF α 受容体で exon 18, PDGF β 受容体で exon 14, 17 においてアミノ酸置換を伴う点突然変異がそれぞれ 1 例づつ認められたが, そのほかにはアミノ酸置換を伴う変異は見られなかった (表 1)。

表 1 血管肉腫および血管腫における PDGF 受容体の変異

Gene	Diagnosis	Breed	Site	Exon	Nucleotide change (codon)	Amino acid change
PDGFR- α	HSA	Golden Retriever	Left foreleg	14	AGA \rightarrow AGG (690)	No change
	HSA	American Cocker Spaniel	Spleen	18	ACG \rightarrow ACA (874)	No change
	HA	Golden Retriever	Vulva	14	AGA \rightarrow AGG (690)	No change
PDGFR- β	HA	German Shepherd dog	Subcutis, hip	18	AGT \rightarrow GGT (876)	Ser \rightarrow Gly
	HSA	Dalmatian	Subcutis, right hindleg	10	CTC \rightarrow CTG (555)	No change
	HSA	Miniature Schnauzer	Spleen	14	TCC \rightarrow TCT (705)	No change
	HSA	Mix	Spleen	14	GAG \rightarrow AAG (682)	Gly \rightarrow Lys
	HSA	Miniature Dachshund	Intra-peritoneal mass	14	TCC \rightarrow TCT (705)	No change
	HSA	Golden Retriever	Left foreleg	17	AGC \rightarrow AAC (862)	Ser \rightarrow Asp
	HA	Papillon	Spleen	14	TCC \rightarrow TCT (705)	No change
	HA	Shiloh Shepherd	Subcutis, tail	14	GGG \rightarrow GAG (723)	Gly \rightarrow Glu
	HA	Mix	Subcutis, right shoulder	17	TTF \rightarrow CTT (845)	Phe \rightarrow Leu
	HA	Mix	Subcutis, right shoulder	17	GAG \rightarrow GAA (836)	No change

以上より, 血管肉腫や血管腫では, PDGF 受容体の膜近傍部のゲノム変異は受容体の活性化にあまり関与しないことが示唆された。

5. 主な発表論文等 (研究代表者に下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- 1) Abou Asa, S., Mori, T., Maruo, K., Khater, A., El-Sawa, k A., Abd El-Aziz, E., Yanai, T., and Sakai, H. Analysis of genomic mutation and immunohistochemistry of platelet-derived growth factor receptors in canine vascular tumours. *Vet. Comp. Oncol.* in press, 2014, 査読有
- 2) 井上 紗季, 酒井 洋樹, 米丸 加余子, 柳井 徳磨. ミニチュア・ダックスフンドの炎症性結直腸ポリープの細胞学的

特徴と多核巨細胞の診断的意義. *日本獣医師会雑誌*, 67, 193-198, 2014, 査読有

- 3) Sakai H., Hajiri, Y., Kobayashi, M., Ohta, G., and Yanai, T. Polypoid eosinophilic ureteritis in a dog. *Aust. Vet. Practitioner*, 43, 527-529, 2013, 査読有
- 4) Noguchi, S., Iwasaki, J., Kumazaki, M., Mori, T., Maruo, K., Saka, i H., Yamada, N., Shimada, K., Naoe, T., Kitade, Y., and Akao, Y. Chemically Modified Synthetic microRNA-205 Inhibits the Growth of Melanoma Cells In Vitro and In Vivo. *Mol. Ther.* 21(6):1204-11, 2013, 査読有
- 5) Kato, Y., Murakami, M., Hoshino, Y., Mori, T., Maruo, K., Hirata, A., Nakagawa, T. L. D. R., Yanai, T., and Sakai, H.: The Class A macrophage scavenger receptor CD204 is a useful immunohistochemical marker of canine histiocytic sarcoma. *J. Comp. Pathol.* 148:188-96, 2013, 査読有
- 6) Murai, A., Abou, A. S., Kodama, A., Sakai, H., Hirata, A., Yanai, T.: Immunohistochemical Analysis of the Akt/mTOR/4E-BP1 signalling pathway in canine haemangiomas and haemangiosarcomas. *J. Comp. Pathol.*, 147: 430-440, 2012, 査読有
- 7) Yamada, N., Mori, T., Murakami, M., Noguchi, S., Sakai, H., Akao, Y., Maruo, K.: Fascin-1 expression in canine cutaneous and oral melanocytic tumours. *Vet. Comp. Oncol.* 10: 303-311, 2012, 査読有
- 8) Murai, A., Asa, S. A., Kodama, A., Hirata, A., Yanai, T., and Sakai, H.: Constitutive phosphorylation of the mTORC2/Akt/4E-BP1 pathway in newly derived canine hemangiosarcoma cell lines. *BMC Vet. Res.*, 8, 128, 2012, 査読有
- 9) Sakai, H., Murakami, M., Mishima, H., Hoshino, Y., Mori, T., Maruo, K. and Yanai, T.: Cytologically atypical anal sac gland carcinoma in a dog. *Vet. Clin. Pathol.* 41, 291-294 2012, 査読有
- 10) Hoshino, Y., Mori, T., Sakai, H., Murakami, M., and Maruo, K.: Palliative radiation therapy in a dog with malignant trichoepithelioma. *Aust. Vet. J.* 90, 210-213. 2012, 査読有

- 11) Abou Asa, S., Murai, A., Murakami, M., Hoshino, Y., Mori, T., Maruo, K., Khater, A., El-sawak, A., Abd el-Aziz, E., Yanai, T., and Sakai, H.: Expression of platelet-derived growth factor and its receptors in spontaneous canine hemangiosarcoma and cutaneous hemangioma. *Histol. Histopathol.* 27, 601-607, 2012, 査読有
- 12) 関根一哉, 星野有希, 森 崇, 酒井洋樹, 野口俊助, 山田名美, 山瀬新悟, 丸尾幸嗣: 犬の鼻腔内に発生した血管肉腫の1例. *日本獣医師会雑誌*, 64, 893-895, 2011, 査読有
- 13) Sakai, H., Yonemaru, K., Takeda, M., Niimi, K., Murakami, M., Hirata, A., and Yanai, T.: Ganglioneuroma in the urinary bladder of a dog. *J. Vet. Med. Sci.*, 73, 801-803, 2011, 査読有
- [学会発表] (計 21 件)
- 1) 酒井 洋樹: 耳の腫瘍 診断と腫瘍特徴の解説. 第 34 回動物臨床医学会年次大会, 大阪, 2013. 11. 15
- 2) 駒澤 敏, 酒井 洋樹, 森 崇, 村上 麻美, 伊藤 祐典, 山崎 美史, 丸尾 幸嗣: 岐阜県におけるイヌの飼育頭数に対する腫瘍の発生比率の分析. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜, 2013. 9. 21
- 3) 村上 麻美, 森 崇, 伊藤 祐典, 酒井 洋樹, 山瀬 新悟, 川部 美史, 丸尾 幸嗣: MRI によりメラノーマと誤診した虹彩血管肉腫の一例. 第 54 回日本獣医画像診断学会, 岐阜, 2013. 9. 20
- 4) 星野 有希, 森 崇, 西谷 由莉, 酒井 洋樹, 奥村 正裕, 丸尾 幸嗣: 分子標的治療を目指した犬膀胱移行上皮癌細胞株の樹立. 第 154 回日本獣医学会学術集会, 盛岡, 2012. 8
- 5) 船戸 里紗, 米丸 加余子, 村上 麻美, 森 崇, 丸尾 幸嗣, 平田 暁大, 柳井 徳磨, 酒井 洋樹: 犬組織球肉腫における Matrix metalloproteinase (MMP) の免疫組織学的検索. 日本獣医学会学術集会講演要旨集第 154 回日本獣医学会学術集会, 盛岡, 2012. 8
- 6) 村井 厚子, Samah Salem, 平田 暁大, 酒井 洋樹, 柳井 徳磨: 血管系腫瘍における Akt/mammalian target of rapamycin (mTOR)/eIF 4E-binding protein 1 (4EBP1) の免疫組織学的解析. 第 153 回日本獣医学会学術集会, 東京, 2012. 03
- 7) 加藤 祐樹, 酒井 洋樹, 平田 暁大, 森 崇, 丸尾 幸嗣, 村上 麻美, 柳井 徳磨: 細胞診標本を用いた CD204 に対する免疫染色による犬組織球肉腫の診断. 第 153 回日本獣医学会学術集会, 東京, 2012. 03
- 8) 酒井 洋樹: 猫の腫瘍. 第 32 回動物臨床医学会年次大会, 大阪, 2011. 11
- 9) 加藤 祐樹, 酒井 洋樹, Nakagawa Tizianne, 森 崇, 星野 有希, 丸尾 幸嗣, 村上 麻美, 柳井 徳磨: 犬の組織球肉腫における Macrophage scavenger receptor 1 (CD204) の発現. 第 152 回日本獣医学会学術集会, 大阪, 2011. 8
- 10) 村井 厚子, 酒井 洋樹, 児玉 篤史, 星野 有希, 森 崇, 丸尾 幸嗣, 柳井 徳磨: 犬血管肉腫細胞株の細胞増殖に対する phosphatidyl-inositol-3 kinase (PI3K)/Akt/mammalian target of rapamycin (mTOR) シグナル伝達経路の関与. 第 152 回日本獣医学会学術集会, 大阪, 2011. 8
- 11) Salem Abou Asa Samah, 酒井 洋樹, 村井 厚子, 村上 麻美, 柳井 徳磨: イヌ血管腫瘍における血小板由来成長因子とその受容体の発現 (Expression of platelet derived growth factor and its receptors in canine vascular tumors). 第 151 回日本獣医学会学術集会, 2011. 3
- [図書] (計 1 件)
- 1) 丸尾幸嗣, 森 崇, 酒井洋樹: インターズー, 犬と猫の臨床腫瘍学, 2013, 265 ページ
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
- 酒井 洋樹 (SAKAI, Hiroki)
岐阜大学・応用生物科学部・准教授
研究者番号: 40283288