

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18390219
 研究課題名（和文）疾患プロテオミクスを用いた肝癌におけるアポトーシス抵抗性の分子基盤の解明
 研究課題名（英文） Analysis of molecular mechanisms underlying apoptosis resistance of hepatocellular carcinoma using proteomics
 研究代表者
 佐々木 裕 (SASAKI YUTAKA)
 熊本大学・大学院医学薬学研究部・教授
 研究者番号：70235282

研究成果の概要：種々の癌治療により細胞内に導かれる酸化ストレスはアポトーシスを誘導するが、癌細胞は元来、アポトーシス抵抗性を特性として備えている。従って、その分子機構を解明することは癌治療成績を向上させるために不可欠である。これまでに、アポトーシス刺激下の遺伝子発現や蛋白質発現・機能の変化を、肝癌細胞株を用いて網羅的に解析し、アポトーシス抵抗性の責任分子を明らかにしてきた。その中で、アポトーシス抵抗性の強い肝癌細胞株において、アポトーシス刺激後に、アポトーシスや細胞内情報伝達の関連遺伝子、転写因子の発現が亢進することを明らかにした。一方、蛋白質機能の制御に必要なリン酸化の解析では、細胞骨格や分子シャペロン関連蛋白質のリン酸化が有意に変動していた。以上の結果を統合した pathway 解析で、アポトーシス刺激により転写や細胞接着に関連する分子群が誘導される事を明らかにした。さらに、HCV 陽性ヒト肝癌組織と非癌部組織から cell lysate を調整し、2D-DIGE にて蛋白質発現ならびに翻訳後修飾の差異を検討した。最終的には LC-MS ショットガン法による質量分析から蛋白質を同定した。その結果、非癌部に比べて癌部で有意にリン酸化が上昇している約 15 個のリン酸化スポットより約 35 個の蛋白質を同定した。その中の多くが、細胞接着、分子シャペロン、細胞内情報伝達、レチノール酸代謝などの機能を有する蛋白質であった。また肝癌細胞株で得られた、アポトーシス抵抗性の候補責任分子群と対比を行ったところ、数種類の蛋白質については一致を認めた。現在、それらの分子について肝癌細胞株を用いて、siRNA、あるいは恒常的活性体を導入し、loss of function や gain of function の手法により、候補責任分子の重要性を検証している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	8,700,000	2,610,000	11,310,000
2007 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2008 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：消化器内科学

キーワード：肝癌、アポトーシス抵抗性、疾患プロテオミクス

1. 研究開始当初の背景

(1) 癌細胞の生物学的特性の一つである「アポトーシス抵抗性」は、「免疫監視機構からの回避」、「抗がん剤に対する薬剤耐性」、「放射線治療抵抗性」などの一翼を担い、さまざまな癌治療法に対する抵抗性の主因となっている。我々はこれ

までに、「アポトーシス抵抗性」の分子基盤を構築する系として、アポトーシス促進系シグナルの減弱と抑制系シグナルの増強、生存シグナルの活性化、さらに抗原提示関連分子の発現低下を報告し、「アポトーシス抵抗性」へのこれら分子基盤の関与は、症例毎に異なっていることも明らかにした。

(2) このような「アポトーシス抵抗性」の多岐にわたる分子基盤を解析した上で、個々の症例において重み付けを行い、それに応じた治療戦略を構築することは、がん治療の個別化に結びつく。そこでまず、「アポトーシス抵抗性」に関わる責任分子を解析同定するためには、遺伝子解析(ゲノム、トランスクリプトーム)と同時に蛋白質発現や翻訳後修飾を得る事が重要である。

(3) かかる状況において、研究代表者が所属する熊本大学では「病態プロテオミクス解析システム」が2005年より本格的に稼動するようになった。本システムは現時点では世界最高感度の質量分析計をはじめとする、最先端の蛋白質解析機器および各種データベースより構成されており、高感度でハイスループット、かつ網羅的解析が行える独自の分析技術、および細胞内分子シグナルネットワーク抽出法が確立されている。熊本大学では疾患プロテオミクスの先駆的研究者である荒木令江博士の共同研究で、疾患プロテオミクス解析を行うことが可能である。

2. 研究の目的

(1) 肝癌における「アポトーシス抵抗性」の分子基盤の責任分子(群)を、プロテオームならびにトランスクリプトーム解析両技術による定量的分子発現差異解析(differential display)を行うことによって同定する。

(2) さらに「アポトーシス抵抗性」の責任分子群の関わる細胞内の特異的なシグナルネットワークの選択的抽出を行うことで、肝癌患者の症例間の共通性と特異性を明らかにし、個々の症例に応じたオーダーメイドの「アポトーシス抵抗性」制御法を構築する

3. 研究の方法

(1) 癌細胞にもともと備わる「アポトーシス抵抗性」を担う責任分子を抽出するために、種々のアポトーシス刺激に対する感受性・耐性(抵抗性)の肝癌細胞株間で比較検討する。また、アポトーシス刺激により反応性に誘導される責任分子群を抽出するために、同一細胞(肝癌細胞、正常肝細胞等)におけるアポトーシス刺激群・非刺激群間で比較検討する。方法はいずれも、分子発現あるいは翻訳後修飾に関して、2次元電気泳動、およびLC-MS ショットガン法によるプロテオーム解析(proteomic differential display)、ならびにDNA アレイによるトランスクリプトーム解析(mRNA differential display)を行う。それらのデータを分子ネットワーク解析にかけることで、「アポトーシス抵

抗性」の候補責任分子群およびそれらの関わる細胞内分子シグナルネットワークを絞り込む。

(2) 次に外科的に切除したヒト肝癌組織とその周辺の非癌部組織とを用い網羅的なテイファルシナル解析を行い、得られた変動分子に関する結果と前述の実験で得られた結果とを比較対比し、責任分子をさらに絞り込む。責任分子はその発現量の変化のみならずリン酸化などの翻訳後修飾の変化をもって関与する場合もあるため、siRNA や恒常的活性体、あるいは種々の酵素阻害剤、活性化剤等を用いて *in vitro* でアポトーシス誘導の有無を確認し、責任分子群を細胞生物学的に同定する。

4. 研究成果

(1) ヒト肝癌細胞株(HepG2 細胞、Huh7 細胞)とヒト肝細胞株(Hc 細胞)を対象に、アポトーシス刺激である過酸化水素(H₂O₂)刺激下に、遺伝子発現、蛋白質発現の網羅的解析を行った。複数のこれら細胞株は、アポトーシス刺激に感受性を示すものと、抵抗性を示すものとが明らかになった。最も抵抗性を呈する HepG2 細胞では、刺激後1時間、3時間で1.5倍以上の発現亢進を認めた遺伝子数は各々約150個、約520個であった。それらの中で、アポトーシス関連では刺激後1時間で8遺伝子、3時間後で14遺伝子、細胞内情報伝達関連では各々19遺伝子、35遺伝子、転写関連では各々14遺伝子、39遺伝子が含まれていた。

(2) 一方、刺激前後で HepG2 細胞の cell lysate を調整して2次元テイファルシナル電気泳動にて蛋白質発現、あるいは翻訳後修飾の一つであるリン酸化の変化を評価した。蛋白質機能の制御に必要なリン酸化の解析では、刺激後1時間でリン酸化スポットは約30個認められ、これらスポットに該当する蛋白質の発現量の変化は40-180%であった。リン酸化が刺激により有意に変動する蛋白質は、細胞骨格や分子シャペロンに関連する蛋白質であった。

(3) さらにトランスクリプトーム解析とプロテオーム解析との結果を統合した Key Molnet による pathway 解析では、分子ネットワーク解析から、酸化ストレス刺激後早期から転写や細胞接着に関連する分子群が誘導されることが示された。アポトーシス抵抗性である HepG2 細胞より得られたこのような情報を元に、アポトーシス感受性肝癌細胞株と比較検討することで、アポトーシス抵抗性を担う責任分子(群)の絞り込みを行っている。

(4) その中で核小体に存在するリン酸化蛋白質で

ある Protein X は、働きとしては細胞増殖の亢進、アポトーシスの抑制などが報告されている。HepG2 細胞、Huh7 細胞、Hc 細胞において、磷酸化は刺激後時間と共にすべての細胞で低下した。とりわけアポトーシス感受性である Huh7 細胞や Hc 細胞では、HepG2 細胞に比べて磷酸化の低下がより顕著であった。また Protein X の細胞内局在は核より細胞質へ移動しており、局在の変化に伴う機能の変化が示唆された。このように、肝癌細胞におけるアポトーシス抵抗性を担う責任分子の1つとその pathway が絞り込まれた。現在、ヒト肝癌組織におけるこれら責任分子の発現と磷酸化を確認すると共に、in vivo で siRNA や阻害剤等を用いて責任分子の重み付けを行っている。

(4) HCV 陽性ヒト肝癌組織と counter-part である非癌部組織から cell lysate を調整し、2 次元ゲル電気泳動にて蛋白質発現ならびに翻訳後修飾の差異を検討した。最終的には LC-MS ショットガン法による質量分析から蛋白質を同定した。その結果、非癌部に比べて癌部で有意に磷酸化が上昇しているスポットに限定した場合、約 15 個の磷酸化スポットより約 35 個の蛋白質を同定した。その中の多くが、細胞接着、分子シャペロン、細胞内情報伝達、レチノール酸代謝などの機能を有する蛋白質であった。それぞれの分子について、磷酸化抗体を用いた 2 次元ウェスタン法に確認した。またこれまでの研究で得られた、アポトーシス抵抗性の候補責任分子群と対比を行ったところ、数種類の蛋白質については一致を認めた。そこでそれらの分子については肝癌細胞株を用いて、siRNA、あるいは恒常的活性体を導入し、loss of function や gain of function の手法により、候補責任分子の重要性を検証している。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 35 件)

- 1) Iwashita, H., Fujii, S., Sasaki, Y., et al. Identification of the major antigenic protein of *Helicobacter cinaedi* and the immunogenicity during infections in humans. **Clinical and Vaccine Immunology** 15: 513-521(2008) 査読有
- 2) Junking M., Wongkham C., Araki N., et al. Decreased expression of galectin-3 associated with metastatic potential of liver fluke-associated cholangiocarcinoma. **Eur J Cancer** 44:619-26 (2008) 査読有

- 3) Patrakitkomjorn S., Kobayashi D., Araki N., et al. Neurofibromatosis Type I tumor suppressor, neurofibromin, regulates the neurite outgrowth of PC12 cells *via* its associating protein, CRMP-2. **J Biol Chem** 283:9399-413 (2008) 査読有
- 4) Sakamoto T., Uezu A., Araki N., et al. Mass spectrometric analysis of microtubule co-sedimented proteins from rat brain. **Genes Cells** 13:295-312(2008) 査読有
- 5) Zhang D., Shimizu T., Araki N., et al. Aurora A overexpression induces cellular senescence in mammary gland hyperplastic tumors developed in p53-deficient mice. **Oncogene** 27:4305-14 (2008) 査読有
- 6) Seki E., Kondo Y., Fujimoto J., et al. Demonstration of cooperative contribution of MET- and EGFR-mediated STAT3 phosphorylation to liver regeneration by exogenous suppressor of cytokine signaling. **J Hepatol** 48: 237- 245(2008) 査読有
- 7) Nakai N., Ishikawa T., Fujimoto J., et al. A mouse model of a human multiple GIST family with KIT-Asp820Tyr mutation generation by a knock-in strategy. **J Pathol** 214: 302-311(2008) 査読有
- 8) Kosaka H., Yoshimoto T., Fujimoto J., et al. Interferon- is a therapeutic molecule for prevention of postoperative adhesion formation. **Nat Med** 14: 437- 441(2008) 査読有
- 9) Kanemura H., Iimuro Y., Fujimoto J., et al. Hepatocyte growth factor gene transfer with naked plasmid DNA ameliorates dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. **Hepatol Res** 38: 930-939(2008) 査読有
- 10) Horiguchi K, Hirano T. & Fujimoto J. Reversal of dog liver cirrhosis by hepatocyte growth factor gene therapy. **J Hep Bil Pancr Surg** (in press) 査読有
- 11) Nishino M., Iimuro Y., Fujimoto J., et al. Hepatocyte growth factor improves early survival after partial hepatectomy in cirrhotic rats by suppressing apoptosis of hepatocytes. **Surgery** (in press) 査読有
- 12) Yokomine, K., Nakatsura, T., Sasaki, Y., et al. Regression of intestinal adenomas by vaccination with heat shock protein 105-pulsed bone marrow-derived

dendritic cells in ApcMin/+ mice.
Cancer Sci 98: 1930-35 (2007) 査読有

13) Sawanyawisuth, K., Wongkham, C., Araki, N., et al. Methionine aminopeptidase 2 over-expressed in cholangiocarcinoma: Potential for drug target. **Acta Oncologica** 46:378-385 (2007) 査読有

14) Uezu A., Horiuchi A., Araki N., et al. SGIP1alpha is an endocytic protein that directly interacts with phospholipids and Eps15. **J Biol Chem.** 82:26481-9(2007) 査読有

15) Tokutomi Y., Araki N., et al. Oxidation of Prx2 and phosphorylation of GRP58 by angiotensin II in human coronary smooth muscle cells identified by 2D-DIGE analysis. **Biochem Biophys Res Commun** 364:822-30(2007) 査読有

16) Yamanaka J., Saito S. & Fujimoto J. Impact of preoperative planning using virtual segmental volumetry on liver resection for hepatocellular carcinoma. **World J Surg** 31: 1249-1255(2007) 査読有

17) Kinoshita K., Iimuro Y., Fujimoto J., et al. Targeted and regulable expression of transgenes in hepatic stellate cells and myofibroblasts in culture and in vivo using an adenoviral Cre/loxP system to antagonize hepatic fibrosis. **Gut** 56: 396-404(2007) 査読有

18) Kinoshita K., Iimuro Y., Fujimoto J., et al. Adenovirus-mediated expression of BMP-7 suppresses the development of liver fibrosis in rats. **Gut** 56: 706-714(2007) 査読有

19) Son G., Iimuro Y., Fujimoto J., et al. Selective inactivation of NF-kappa B in the liver using NF-kappa B decoy suppresses CCl4-induced liver injury and fibrosis. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol** 293: G631-639 (2007) 査読有

20) Hamada T., Sato A., Fujimoto J., et al. Oncostatin M gene therapy attenuates liver damage induced by dimethylnitrosamine in rats. **Am J Pathol** 171: 872- 881(2007) 査読有

21) Asano Y., Iimuro Y., Fujimoto J., et al. Hepatocyte growth factor promotes remodeling of murine liver fibrosis accelerating of bone marrow-derived cells into the liver. **Hepatol Res** 37: 1080-

1094(2007) 査読有

22) Yoshida Y., Hirano T., Fujimoto J., et al. Allogenic bone marrow transplantation for hepatocellular carcinoma: hepatocyte growth factor suppresses graft-vs.-
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 293: G1114-1123(2007) 査読有

23) Yokomine, K., Nakatsura, T., Sasaki, Y., et al. Immunization with heat shock protein 105-pulsed dendritic cells leads to tumor rejection in mice. **Biochem Biophys Res Commun** 343: 269-278 (2006) 査読有

24) Goto, H., Oda, Y., Sasaki, Y., et al. Proportion of *de novo* cancers among colorectal cancers in Japan. **Gastroenterology** 131: 40-46 (2006) 査読有

25) Sasaki, Y. Does oxidative stress participate in the development of hepatocellular carcinoma? **J Gastroenterol** 41: 1135-48(2006) 査読有

26) Komohara Y., Hirahara J., Araki N., et al. AM-3K, an Anti-macrophage Antibody, Recognizes CD163, a Molecule Associated with an Anti-inflammatory Macrophage Phenotype. **J Histochem Cytochem** 54:763-71(2006) 査読有

27) Araki N. Analysis of brain tumor specific signal transduction by proteomic differential display. **J. Electrophoresis** 50: 217-224(2006) 査読有

28) Irie A., Harada K., Araki N., et al. Protein kinase D2 contributes to either IL-2 promoter regulation or induction of cell death upon TCR stimulation depending on its activity in Jurkat cells. **International Immunology** 18: 1737-1747 (2006) 査読有

29) Yasuda J., Eguchi H., Fujimoto J., et al. Reactive oxygen species modify oligosaccharides of glycoproteins in vivo: A study of a spontaneous acute hepatitis model rat (LEC rat). **Biochem Biophys Res Commun** 342: 127-134(2006) 査読有

30) Kuroda N., Yamanaka J., Fujimoto J., et al. Hepatic effect of influxed endothelin-1 from portal vein: in situ portal vein infusion model using dogs. **J Hepatol Pancr Surg** 13: 160-166(2006) 査読有

31) Yamanaka J., Saito S., Fujimoto J., et al. The impact of 3D-CT virtual hepatectomy simulation in living-donor

liver transplantation. **J Hep Bil Pancr Surg** 13:363-369(2006) 査読有

32) Son G., Hirano T., Fujimoto J., et al. Blockage of HGF/c-Met system by gene therapy (adenovirus-mediated NK4 gene) suppresses hepatocellular carcinoma in mice. **J Hepatol** 45: 688-695(2006) 査読有

33) Kuroiwa T., Iwasaki T., Fujimoto J., et al. Hepatocyte growth factor prevents lupus nephritis in a murine lupus model of chronic graft-versus-host disease.

Arthritis Research & Therapy 8: 1-9(2006) 査読有

34) Koh M., Okamoto E., Yamanaka J. & Fujimoto J. Impact of donor age on the growth of young recipient rats after liver transplantation.

Surg Today 36: 457-464(2006) 査読有

35) Fujimoto J. & Yamanaka J: Liver resection and transplantation using a novel 3D hepatectomy simulation system.

Advance in Medical Science 51: 7- 14(2006) 査読有

〔学会発表〕(計 22 件)

1) 佐々木 裕

シンポジウム：非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の病態栄養と栄養管理 NASHにおける酸化ストレス病態形成への関与について- 第12回日本病態栄養学会年次学術集会平成21年1月10日 京都

2) 牧 曜子

当院での小腸検査の現状 第1回日本カプセル内視鏡研究会 平成20年10月1日 東京

3) 永濱裕康

熊本県における肝疾患診療体系の確立 第12回日本肝臓学会大会(ホスター) 平成20年10月1日 東京

4) 向坂彰太郎

シンポジウム3: C型肝炎; PEG-Riba治療のコンセンサス 持続ALT低値のC型肝炎に対するPEG-IFN α -2b/Ribavirin 併用療法の有効性および安全性に関する検討 第50回日本消化器病学会大会 平成20年10月1日 東京

5) 紙屋康之

門脈圧亢進症の臨床像である食道静脈瘤への積極的な治療介入とその効果 第44回日本肝臓学会総会(ホスター) 平成20年6月6日 松山

6) 佐々木 裕

NASH・NAFLD -病態と治療・予防について- 平成20年度日本肝臓学会前期教育

講演会 平成20年6月6日 松山

7) 工藤洋子

当科における肝硬変の成因別実態第44回日本肝臓学会総会(ホスター) 平成20年6月5日 松山

8) 田中基彦

進行肝細胞癌に対する肝動注化学療法の検討 第44回日本肝臓学会総会(ホスター) 平成20年6月5日 松山

9) 永濱裕康

難治性C型肝炎慢性肝炎症例におけるPEG/RBV併用長期投与の有効性 第44回日本肝臓学会総会(ホスター) 平成20年6月5日 松山

10) 松本浩一

肝癌合併食道静脈瘤の治療指針 第75回日本消化器内視鏡学会総会 平成20年5月24日 横浜

11) 田中基彦

パネルディスカッション8: 肝癌再発進展阻止を目指して 肝細胞癌に対する経動脈的治療法の位置付け 第94回日本消化器病学会総会 平成20年5月9日 福岡

12) 横峰和典

SEREX 同定抗原 HSP105 を標的とした癌ワクチンによるマウス大腸癌発癌抑制の試み 第49回日本消化器病学会大会(ホスター) 2007年10月19日 神戸

13) 桜井宏一

機能性胃腸症に対する治療法 RCT を用いたfamotidineとrebamipideとの治療効果比較 第2報: 長期投与の有効性と問題点 第49回日本消化器病学会大会(ホスター) 2007年10月18日 神戸

14) 阿曾沼克弘

シンポジウム: 肝移植後 C型肝炎再発に対する治療戦略 当院におけるC型肝炎に対する肝移植成績の検討 第25回日本肝移植研究会 2007.7.5 東京

15) 星田陽明

酸化ストレス環境における肝癌細胞の遺伝子発現と細胞応答_第14回肝細胞研究会 鹿児島市 2007.6.22

16) 桜井宏一

年齢因子を踏まえた自覚症状と内視鏡的診断の関連性の検討 第73回日本消化器内視鏡学会総会(ホスター) 2007.5.9 東京都

17) 高岡了

当科における進行性難治性肝細胞癌の治療戦略 第93回日本消化器病学会総会(ホスター) 2007.4.21 青森市

18) 桜井宏一

シンポジウム: 内視鏡でみた胃炎・十二指腸炎と腹

部症状の関連 機能性胃腸症と組織学のおよび内視鏡的胃炎との関係 第 48 回日本消化器病学会大会 2006.10.12 札幌市

19) 永濱裕康

ワークショップ: トランスクリプトーム・プロテオーム解析の肝疾患への応用 酸化ストレスによる肝細胞障害の分子機構の解明 第 10 回日本肝臓学会大会 2006.10.12 札幌

20) 松本浩一

食道静脈瘤に対する治療後の再発率と再出血率に関する検討 第 71 回日本消化器内視鏡学会総会 2006.5.15 東京

21) 桜井宏一

シンポジウム: 消化器疾患における酸化ストレスの関与と counterstrategy 機能性胃腸症に対する治療法 - RCT を用いた famotidine と rebamipide との治療効果比較 - 第 92 回日本消化器病学会総会 2006.4.22 北九州

22) 永濱裕康

シンポジウム: 消化器疾患における酸化ストレスの関与と counterstrategy 酸化ストレスによりミトコンドリア障害を介して誘導される肝細胞死の新たな評価法 第 92 回日本消化器病学会総会 2006.4.20 北九州

〔図書〕(計 7 件)

1) 佐々木 裕

「臨床に直結する肝・胆・膵疾患治療のアップデート」跡見 裕、上村直実、白鳥敬子、正木尚彦編、アルコール過剰摂取は C 型慢性肝疾患における肝発癌率を高めるか? pp58-60、文光堂、東京、2007

2) 佐々木裕

「新しい診断と治療の ABC」肝癌 消化器 7 坪内博仁編、発癌機序 pp33-42、最新医学社、東京、2007

3) 佐々木 裕

「別冊 医学のあゆみ 酸化ストレス」- フリーラジカル医学生物学の最前線 - 吉川敏一 編、消化器疾患 NASH と酸化ストレス(分担)、pp294-298、医歯薬出版、東京、2006

4) 佐々木 裕

「別冊 医学のあゆみ 消化器疾患 Ver.3」 - state of arts II. 肝・胆・膵 - 竹井謙之、川崎誠治 編、肝障害とその機序 酸化ストレスと肝疾患(分担) pp76-80、医歯薬出版、東京、2006

5) 荒木令江

「Proteomic Differential 解析による脳腫瘍特異的シグナル分子群の解析」

特集: 蛍光イメージング二次元電気泳動

生物物理化学、電気泳動学会誌 50(3), 217-224, 2006

6) 荒木令江

「プロテオミクスによる病態解析への戦略と現状」

がんとプロテオミクス

藤原研司・石井裕正・佐藤信紘・荒川泰行・井廻道夫編集、自然科学社 pp43-65, 2006

7) 荒木令江

病態プロテオミクスによる神経系腫瘍関連蛋白質群を介した細胞内異常シグナルの検索, 「蛋白質の翻訳後修飾と疾患プロテオミクス」 監修吉川敏一、編集 内藤裕二、内田浩二、診断と治療社、pp101-114, 2006

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 裕(SASAKI YUTAKA)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・教授

研究者番号: 70235282

(2) 研究分担者

荒木令江(ARAKI NORIE)

熊本大学・大学院医学薬学研究部・准教授

研究者番号: 80253722

永濱裕康(NAGAHAMA HIROYASU)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 60381000

藤元治朗(FUJIMOTO JIRO)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号: 90199373

(3) 連携研究者

なし