

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18591607
 研究課題名（和文） 脳腫瘍に対するヒストン脱アセチル化阻害剤と細胞死シグナルによる新規治療法の開発
 研究課題名（英文） Novel therapeutic strategy by combination of histone deacetylase inhibitors and death signal activators for malignant brain tumors
 研究代表者
 塩川 芳昭（SHIOKAWA YOSHIAKI）
 杏林大学・医学部・教授
 研究者番号：20245450

研究成果の概要：

腫瘍細胞に特異的な細胞死を誘導しうるHDAC阻害剤とTRAILによるアポトーシス誘導療法の併用により、相乗的治療効果が得られることが期待される。HDAC阻害剤であるSAHAとTRAIL受容体に特異的なヒトモノクローナル抗体(抗DR5抗体)の併用療法は、ヒトglioma細胞株の多くに相乗的細胞死を誘導し、細胞死抑制因子c-FLIPの関与が示唆された。ヌードマウス担癌動物モデルにおいても本併用療法により相乗的腫瘍増殖抑制効果が認められ、悪性神経膠腫に対する新規治療法としての可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成18年度	1,500,000	0	1,500,000
平成19年度	1,000,000	300,000	1,300,000
平成20年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：histone, glioma, HDAC, apoptosis, inhibitor, FLIP, siRNA, proteasome

1. 研究開始当初の背景

(1) 悪性脳腫瘍、特に悪性神経膠腫（グリオーマ）は近年の画期的な医療の進歩にも拘らず未だ極めて難治の疾患であり、治療の主体となる放射線治療や化学療法への耐性の存在がその原因のひとつと考えられており、新規の治療法の開発が急務となっている。近年、悪性腫瘍の分子生物学的特徴が飛躍的に解明されてくるにつれ、腫瘍の増殖・生存に必要なとされる分子が次第に明らかになり、そのような分子を標的とする新規の癌治療法の開発され始めている。また、細胞に内在するプログラム細胞死（アポトーシス）を腫

瘍細胞に誘導する治療法は、直接的に抗腫瘍効果が期待されることから、癌に対する新しい治療の方向として脚光を浴びてきている。特に細胞表面に存在するdeath receptorを介して細胞死を誘導するdeath factorからのアポトーシス経路は、従来の癌治療への耐性機構をバイパスする有力な抗腫瘍治療法として注目される。TNF familyに属するdeath factorのうち、TRAIL (Apo2L)は腫瘍細胞に選択的にapoptosisを誘導する一方、正常細胞には殆ど影響がないことから、サル等の動物実験の報告の後、新たな癌治療薬として米国で第I相臨床試験が開始され

ている。TRAIL は、細胞表面に発現し細胞内ドメインに death domain (DD) をもつ特異的な受容体 DR4, DR5 と結合し、急速にアポトーシスを誘導する。我々は TRAIL が DNA 傷害型抗癌剤と相乗効果を持ってグリオーマ細胞の殺細胞効果を示すことを報告してきた。

- (2) ヒストンのアセチル化の制御は DNA クロマチン構造の変化を介した遺伝子転写の調節機構として注目されており、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤が様々な癌細胞で増殖抑制、分化誘導、アポトーシス誘導などの効果を持つことが最近確認され、癌治療の有力な新規分子標的剤と考えられている (7, 8)。グリオーマ細胞に対しても抗腫瘍効果がみられることが本年報告された (9)。興味深いことに、HDAC 阻害剤は TRAIL を主とする death receptor を介するアポトーシスを腫瘍細胞に対して増強し、正常細胞に対しては影響を及ぼさないことが 2005 年 Nature Medicine に報告され、また慢性リンパ性白血病細胞では特に DR4 (TRAIL-R1) を介するアポトーシスが選択的に HDAC 阻害剤により誘導されることが示された。

2. 研究の目的

- (1) これまでの我々の研究で、全ての悪性グリオーマ細胞株で TRAIL 受容体 DR5 が発現しており、可溶性 TRAIL 治療により多くのグリオーマ細胞株でアポトーシスが誘導されることが明らかになった。今回、ともに腫瘍細胞に特異的な細胞死を誘導しうる HDAC 阻害剤と TRAIL による death receptor を介するアポトーシス誘導療法を併用することで、現在不治な疾患である悪性グリオーマに対する強力な殺腫瘍細胞効果をもつ相乗的新規分子標的治療の可能性を *in vitro* 及び *in vivo* の担腫瘍マウスモデルを用いて検討し、その細胞死誘導の分子メカニズムの解明を目的として本研究を計画した。
- (2) 尚、HDAC 阻害剤を用いた悪性腫瘍の治療としては、既に HDAC 阻害剤の一つである suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) が進行癌患者を対象とした phase I 臨床試験が施行されており、また上述のように可溶性 TRAIL の phase I 臨床試験も 2004 年より米国で開始されていることから、本併用療法は、悪性腫瘍に対し広く期待

される新規治療法であると考えられる。更に、分子生物学的に相乗効果が期待される相互作用が予想されることから、難治性である悪性グリオーマを対象とした本研究の意義は高いと考えられる。

- (3) 本療法の分子機構の解明は、この治療に抵抗を示す腫瘍細胞に対する耐性の克服に繋がるのみならず、正常細胞における感受性を更に軽減し、副作用の出現を最小限に抑える方法の開発にも貢献することが期待される。その成果は膠芽腫を始めとする難治性の悪性脳腫瘍に対する新たな治療法の開発・実現として社会に果たす貢献度は極めて大きいと考えられる。

3. 研究の方法

- (1) **試薬.** HDAC 阻害剤である SAHA, Trichostatin A, SBHA, はそれぞれ ALEXIS, SIGMA, Calbiochem より購入した。抗 FLAG モノクローナル抗体 (mAb) M2 は Sigma より購入した。Caspase 阻害剤の z-Asp-CH₂-DCB, Proteasome 阻害剤の MG132 はそれぞれ WAKO, コスモバイオより購入した。完全ヒト型抗 DR4, DR5 mAb (B12; E11, H48, KMTR2) はキリンファーマより無償で提供された。可溶性ヒト FLAG-TRAIL (sTRAIL) は過去に報告した通り (Nagane M et al. Cancer Res 60: 847, 2000)。
- (2) **細胞.** 使用したヒト glioma 細胞株及び培養条件は以前に報告した通り (Nagane M et al. Cancer Res 56: 5079, 1996; Nagane M et al. J Neurosurg 106: 407, 2007)。
- (3) **細胞増殖抑制試験.** 治療による細胞傷害度の検証には MTT アッセイを使用した (Nagane M et al. J Neurosurg 106: 407, 2007)。細胞を 96 穴プレートに 1×10^4 個撒き、翌日より 72 時間持続治療を行い、MTT を 4 時間暴露した後、microplate reader (Molecular Devices) を使用して吸光度を計測した。増殖抑制効果は無治療の対照との比で表現した。
- (4) **プラスミド・トランスフェクション.** ヒト c-FLIP_L 及び c-FLIP_S cDNA を含むプラスミド pCR3.V64-Met-Flag-FLIP_L 及び pCR3.V62-Met-Flag-FLIP_S は Dr. Jurg Tschopp (University of Lausanne) より御供与頂いた。空ベクターの pCR3.neo

は pCR3.V62-Met-Flag-FLIP_s から EcoRI 断片を除去し作製した。細胞に Ca リン酸法を用いてベクターをトランスフェクションし、G418 (Gibco/BRL) により薬剤選択後、G418 耐性で高レベルの c-FLIP_L 発現 subclone を分離した。

(5) **Western blotting.** 全細胞蛋白抽出液は RIPA buffer を用いて抽出し、Western blot 解析法は以前に報告した通り (Nagane M et al. Cancer Res 56: 5079, 1996)。

(6) **siRNA 処理.** c-FLIP_L に対する 2 本鎖 siRNA oligonucleotide 混合液 (Dharmacon (siGENOME SMARTpool; Dharmacon RNA Technologies, Lafayette, CO), 無標的対照 siRNA (non-targeting siRNA) (siCtl) (ともに 0.1 μM) を、DharmaFECT を用いて ヒト glioma 細胞に transfection し、24-72 時間後に実験に使用した。

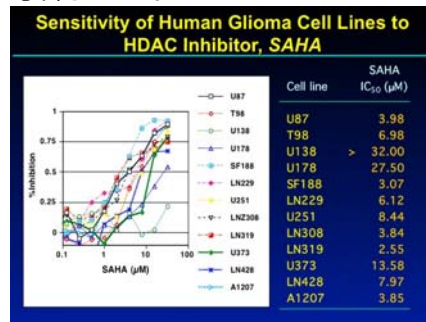
(7) **動物実験.** ヒト glioma 細胞 (2 x 10⁶ 個 / 0.1 ml PBS) を週齢 4-5 週 of the nude mouse (BALB/CA 系, 埼玉実験動物) の皮下に移植した。比か腫瘍が形成された後、SAHA, E11, あるいはその併用を副腔内注射し治療した。腫瘍容積を計測し (Nagane M et al. J Neurosurg 95: 472, 2001), 全身への毒性は体重を測定し検討した。マウスは二酸化炭素吸入法により sacrifice した。本実験法は本大学医学部実験動物委員会により承認されている。

以上の実験から、悪性グリオーマに対する HDAC 阻害剤と TRAIL の併用療法の意義と、臨床試験の可能性を最終的に評価・検証する。

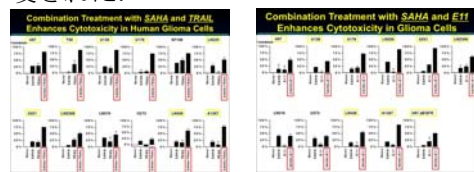
4. 研究成果

(1) **ヒト glioma 細胞の HDAC 阻害剤への感受性.** まず最初に、HDAC 阻害剤である SAHA, Trichostatin A (TSA), SBHA がヒト glioma 細胞に対し細胞傷害効果を持つか否かを検討した。12 種類のヒト glioma 細胞株を連続希釈系列で調整した各 HDAC 阻害剤の存在下で 72 時間培養後、細胞の生存度を MTT アッセイにて計測した。SAHA 及び TSA 治療は容量依存性に細胞傷害性を発揮し、IC₅₀ 値は SAHA で約 3-10 μM, TSA で 0.2-0.5 μM であった。一方、SBHA は、この濃度ではほとんど細胞傷害性が認め

られなかった。従って、HDAC 阻害剤はヒト glioma 細胞に対して細胞傷害活性を有すると考えられたが、阻害剤による相違も明らかとなった。



(2) **HDAC 阻害剤と TRAIL 或は抗 DR5 モノクローナル抗体併用療法による相乗的細胞傷害効果.** 次に HDAC 阻害剤と TRAIL による death signal 活性化による併用治療効果につき検討した。ヒト glioma 細胞株に対し、sublethal な濃度の SAHA, sTRAIL 或は E11 (抗 DR5 mAb) を単独、或は併用で治療し、48 時間後に MTT アッセイにて細胞傷害度を計測した。SAHA + sTRAIL 併用により、9/12 (75%) の細胞株で相乗的殺細胞効果が認められた。また、SAHA + E11 併用によっても、E11 単独への感受性が極めて高い T98G と SF188 を覗いた 10 細胞株のうち 8 株で有意に相乗的効果が認められた。この細胞傷害効果が DR5 を介する death signal 活性化による apoptosis 亢進によるものであることを検証するため、SAHA + E11 併用療法を汎 caspase 阻害剤である z-Asp-CH2-DCB の存在下で施行したところ、ほぼ basal level の細胞傷害度まで抑制され、本併用療法の効果は caspase 活性化により生じることが示唆された。



(3) **HDAC 阻害剤と TRAIL 経路活性化による相乗効果の分子機序.** SAHA + TRAIL 療法により apoptosis が活性化されたことから、SAHA による TRAIL 経路の感受性化効果があることが予想され、次に、apoptosis 経路の各分子の発現レベルに SAHA が影響を及ぼしている可能性を Western blot 法を用いて検討した。SAHA + sTRAIL 或は E11 併用療法で相乗的細胞傷害効果がみられた U87, T98, LN229, U251, LN308 の各

glioma 細胞株を用いて、SAHA の治療の有無により、apoptosis 関連分子などの発現量の変化につき Western blot を行い比較した。まず、SAHA の治療により、各細胞株にて Histone H3 のアセチル化の亢進が検出され、HDAC の阻害効果が認められた。一方、他の HDAC 阻害剤である TSA 治療では、使用した濃度では Histone H3 のアセチル化はほとんど認められなかった。この条件下で、最も上流にあたる TRAIL 受容体の DR5 発現量、Caspase8, 9, 3 の各重要上流・下流 caspase の発現量、DISC に関わる adaptor 分子の FADD の発現量、ミトコンドリアを介する apoptosis に関与する Bcl-2 ファミリー分子の Bcl-2, Bak, Bcl-X_L の発現量、また、p53, p27, p16 などの細胞周期関連分子にも発現量のいずれにも、有意な変化は認められなかった。

一方、DISC に抑制的に作用する細胞内因性 apoptosis 阻害因子である c-FLIP_L の発現は、c-FLIP_L の発現が極めて少量の T98, SF188 以外のほぼ全ての glioma 細胞株で SAHA 治療により発現が減少した。しかし、ヒストンのアセチル化効果に乏しかった TSA 治療では、この濃度では c-FLIP_L の発現に影響はみられなかった。



(4) ヒト glioma 細胞における c-FLIP_L 発現の TRAIL/抗 DR5 抗体治療感受性への関与.

ヒストンのアセチル化をもたらす SAHA 治療により、apoptosis の内因性阻害因子である c-FLIP_L の発現抑制がほぼ全ての glioma 細胞株で認められたことから、SAHA + TRAIL 療法の相乗的細胞傷害効果の一因が c-FLIP_L の発現調節にある可能性が考えられ、その検証のため、以下の実験を行った。

まず、この併用療法で相乗効果が認められる glioma 細胞株の U87MG と LN229 株に対し、FLIPL の siRNA を用いて c-FLIP_L の発現抑制を試みた。siRNA により c-FLIP_L の発現が減少することが Western blot にて確認された。次いで FLIPL に対する siRNA 治療を行うと同時に sTRAIL での治療を行うと、sTRAIL 単独の場合と比較し、U138, U251 を含めた 4 種類のヒト glioma 細胞株での sTRAIL による殺細胞効果は著明に増強した。

次に、c-FLIP_L の発現が僅少である T98 及び LN229 細胞株に c-FLIP_L の発現ベクターを遺伝子導入し、得られた c-FLIP_L 高発現サブクローンにおいて SAHA + E11 併用療法を施行したところ、対照の空ベクターを導入したサブクローンでは親株の T98 と同様の感受性を示したのに対し、c-FLIP_L を高発現するクローンでは著明に細胞傷害性の抑制が認められた。

以上により、SAHA による c-FLIP_L の発現抑制が、SAHA + TRAIL 治療による相乗的殺腫瘍細胞効果の一因となっていることが示唆された。

(5) SAHA による c-FLIP_L 発現抑制の分子機序.

次に SAHA 治療により c-FLIPL の発現が抑制される機序につき検討した。SAHA は HDAC 阻害剤であり、遺伝子の転写を阻害する作用を持つため、SAHA により c-FLIP_L の mRNA 発現が減少している可能性がまず考えられた。そこで、SAHA 治療の有無により、c-FLIP_L mRNA 発現量に違いが生じていないかどうかを、semi-quantitative RT-PCR 法を用いて検証した。今回検討した U87, T98, LN229, LN229 の 4 細胞株の中で、LN229 と LN229 の 2 細胞株において、明らかな SAHA 治療に伴う c-FLIP_L mRNA 発現低下が認められた。一方、他の 2 細胞株では c-FLIP_L mRNA 発現量に有意な差は認められなかった。

次に、FLIP の発現調節は proteasome を介する蛋白分解の促進によることが報告されていることから、SAHA による proteasome 機構の機能亢進が生じ、その結果、c-FLIP_L 発現レベルの低下が惹起される可能性も考えられる。しかし、U87 及び LN229 細胞株では、ともに proteasome 阻害剤である MG132 の存在下で SAHA による c-FLIP_L 発現抑制に変化は認められず、proteasome を介する蛋白分解の亢進に関与する可能性は低いと考えられた。

更に、細胞内転写因子である STAT3 の活性が HDAC 阻害剤により抑制される可能性が報告されていることから、U87, U138, U251, LN229 細胞株を用いて、SAHA 治療による STAT3 のリン酸化状態への影響を Western blot 法にて検討した。その結果、U138 と LN229 では SAHA 治療により STAT3 の活性化型であるコドン 705 の tyrosine のリン酸化が減少することが明らかになった。

以上より、SAHA による c-FLIP_L 発現抑制作用には、SAHA による c-FLIP_L の転写阻害

効果ならびに STAT3 を介した発現制御が関与している可能性が示唆され、今後その詳細を検討することが必要と考えられた。

- (6) SAHA + 抗 DR5 抗体併用療法による抗腫瘍効果. 最後に *in vitro* で明確に認められた HDAC 阻害剤である SAHA と TRAIL 療法の併用による相乗的細胞傷害効果が *in vivo* においても認められるかどうか、ヌードマウスでの担腫瘍モデルを用いて検証した. ヌードマウスの皮下にヒト glioma 細胞株の U87 或は LN308 を移植し、皮下腫瘍を形成させた. その後に、SAHA 単独、E11 単独、SAHA + E11 併用、vehicle 対照の 4 群に分けて腹腔内投与にて治療を行った. 投与した治療容量では、単独治療での治療効果は対照の vehicle 治療とほとんど変わらず、明らかな腫瘍増大抑制効果は認められなかったが、同量の併用治療では、治療後に腫瘍の縮小が認められ、その後も無治療対照群、SAHA 或は E11 単独治療群と比較して明らかに腫瘍増大が遅延する結果が認められた. 従って、*in vivo* においても、本併用療法は抗腫瘍効果を発揮することが示唆された.

結論：

以上の結果より、HDAC 阻害剤はヒト glioma 細胞株に対し腫瘍細胞傷害効果を持ち、特に悪性リンパ腫などに対する臨床試験でも既に使用されている SAHA は、ヒストンのアセチル化を阻害し、腫瘍細胞死を誘導する TRAIL 治療と相乗的に細胞傷害効果が増強することが明らかとなった. その効果は、主として SAHA による細胞内の内因性 apoptosis 阻害因子である c-FLIP_L の発現抑制作用と関連があり、SAHA による c-FLIP_L mRNA 発現抑制効果ならびに STAT3 活性化の阻害作用と関連が認められ、その機序の一因となっている可能性が考えられた. 更に、*in vivo* においても、SAHA と TRAIL 治療の相乗的腫瘍増殖抑制効果が認められたことから、本併用療法は、未だ難治性・致命的である悪性神経膠腫に対する新規治療法として期待される. 今後、更なる検証を重ね、preclinical な動物実験での検証を計り、臨床試験が行われることを期待したい.

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 13 件)

1. Nagane M, Nozue K, Shimizu S, Waha A, Miyazaki H, Kurita H, Homori M, Fujioka Y, Shiokawa Y. Prolonged and severe thrombocytopenia with pancytopenia induced by radiation-combined temozolomide therapy in a patient with newly-diagnosed glioblastoma---analysis of *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase status. J Neuro-Oncol 92: 227-232, 2009. 査読有
2. 永根基雄: MGMT と temozolomide (in Japanese). 脳 21 12 (1): 38-43, 2009. 査読無
3. 永根基雄: 遺伝性脳腫瘍 (神経皮膚症候群含む). In III. 脳・脊髄系の疾患・脳腫瘍, 月刊ナーシング vol 29 (5), 学習研究社, 東京, pp 88-91, 2009. 査読無
4. 小林啓一, 永根基雄: 転移性脳腫瘍. In Clinical Neuroscience Vol 27 (6), 2009. 査読無
5. Kobayashi K, Ohnishi A, Promsuk J, Shimizu S, Kanai Y, Shiokawa Y, Nagane M. Enhanced tumor growth elicited by L-type amino acid transporter 1 in human malignant glioma cells. Neurosurgery 62 (2): 493-504, 2008. 査読有
6. 永根基雄: 悪性グリオーマ治療における薬剤耐性機構の最近の知見---temozolomide 耐性・分子標的薬・脳腫瘍幹細胞---. Jpn J Cancer chemother 35 (6): 918-925, 2008. 査読無
7. Nagane M, Cavenee WK, Shiokawa Y. Synergistic cytotoxicity through the activation of multiple apoptosis pathways in human glioma cells induced by combined treatment with ionizing irradiation and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. J Neurosurg 106: 407-416, 2007. 査読有
8. Nagane M, Kobayashi K, Ohnishi A, Shimizu S, Shiokawa Y. Prognostic significance of *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase protein expression in patients with recurrent glioblastoma treated with temozolomide. Jpn J Clin Oncol 37(12): 897-906, 2007. 査読有
9. 小林啓一, 永根基雄, 塩川芳昭. 初発悪性神経膠腫に対する術後放射線併用 PAV 変法療法. Neuro-Oncology (Tokyo) 17 (1): 33-35, 2007. 査読無
10. 永根基雄: 悪性神経膠腫の化学療法. No Shinkei Geka 35 (5): 433-450, 2007. 査

読無

11. 小林啓一, 永根基雄, 藤井芳樹, 塩川芳昭. 再発悪性神経膠腫に対する Carboplatin/高压酸素併用療法の治療経験—palliation 療法の可能性. 日本臨床高気圧酸素・潜水病学会誌 3: 37-41, 2006. 査読有
12. 永根基雄, 小林啓一, 塩川芳昭. 再発悪性神経膠腫に対する temozolomide 単独療法の治療成績. Neuro-Oncology (Tokyo) 16 (2): 26-29, 2006. 査読無
13. 小林啓一, 永根基雄, 塩川芳昭. 再発中枢神経系リンパ腫に対する second line PAV 療法. Neuro-Oncology (Tokyo) 16 (2): 74-77, 2006. 査読無

[学会発表] (計6件)

1. Motoo Nagane, Saki Shimizu, Eiji Mori, Shiro Kataoka, Yoshiaki Shiokawa. Combined treatment with histone deacetylase inhibitors enhances cytotoxic activity of anti-DR5/TRAIL-R2 monoclonal antibodies in human glioma cells. The 13th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology. Las Vegas, Nevada, U.S.A. 2008. 11. 22
2. 永根基雄, 清水早紀, 森英治, 片岡之郎, 塩川芳昭. ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤併用による TRAIL-R2 モノクローナル抗体誘導 glioma 細胞傷害の相乗的増強効果. 第9回 日本分子脳神経外科学会. 京都. 2008. 8. 30
3. Motoo Nagane, Keiichi Kobayashi, Akiko Ohnishi, Katsuyoshi Kanai, Yoshiaki Shiokawa. Enhanced tumor growth elicited by L-type amino acid transporter 1 in human malignant glioma cells. The 17th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy. Hakodate, Hokkaido, Japan, 2008. 6. 10
4. Motoo Nagane, Saki Shimizu, Eiji Mori, Shiro Kataoka, Yoshiaki Shiokawa. Combined treatment with histone deacetylase inhibitors enhances cytotoxic activity of anti-DR5/TRAIL-R2 monoclonal antibodies in human glioma cells. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 2008, San Diego, CA, 2008. 4. 13
5. 永根基雄¹, 清水早紀¹, 森英治², 片岡之郎², 塩川芳昭: 悪性神経膠腫おける完全ヒト抗 TRAIL 受容体モノクローナル抗体の感

受性規定因子. 第8回 日本分子脳神経外科学会, 兵庫, 2007. 9. 1

6. Nagane M, Kobayashi K, Shimizu S, Mori E, Kataoka S, Shiokawa Y. Predominant antitumor effect by fully human anti-DR5/TRAIL-R2 monoclonal antibodies in human glioma cells. The 100th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Los Angeles, CA, 2007. 4. 16

[図書] (計 3件)

1. 永根基雄: 代表的原発性脳腫瘍-神経膠芽腫, 髄膜腫, 聴神経腫瘍, 下垂体腺腫-. 臨床研修医のための画像医学教室-脳神経領域, 川原信隆, 青木茂樹 (編), 医療科学社, 東京, pp140-149, 2008
2. 永根基雄: 神経膠腫 (グリオーマ). In 脳腫瘍. がん看護 実践シリーズ1. メジカルフレンド社, 東京. pp25-30, 2007
3. 永根基雄: 血管新生. グリオーマ-病態と治療. (田淵和雄 (編), Springer-Verlag, 東京, pp 113-125, 2006

[その他]

6. 研究組織
(1) 研究代表者
塩川 芳昭 (SHIOKAWA YOSHIAKI)
杏林大学・医学部・教授
研究者番号: 20245450

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
永根 基雄 (NAGANE MOTOO)
杏林大学・医学部・准教授
研究者番号: 60327468