

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：32607

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650638

研究課題名(和文)エバネセント波励起蛍光法による低親和性自己抗体検出の試みと肺癌の早期診断への応用

研究課題名(英文) Detection of low affinity anti-tumor associated autoantibodies using evanescent-field fluorescence-assisted protein microarray system for application to the early diagnosis of lung cancer.

研究代表者

鉢村 和男 (Hachimura, Kazuo)

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号：90286378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：エバネセント波励起蛍光法を用いて多種の腫瘍関連自己抗体(TAAb)を同時測定し、臨床的意義を検討した。

乳癌患者において、本法による抗p53抗体陽性率はELISA結果の1.7倍高率となり、本法の優位性を確認した。また、抗CEA、抗HER2抗体など多くの腫瘍関連抗原に対するTAAbも同時に検出された。早期肺癌患者からも多種のTAAbが検出され、グロブリンクラスはIgGおよびIgM型が混在した。IgGおよびIgM型別TAAbの同時検出と平行し、多種のTAAbを同時測定することで診断感度は約70%まで上昇した。癌の早期発見に対し、多種のTAAbを容易に同時検出できる本システムの有効性が期待される。

研究成果の概要(英文)：We had developed a highly sensitive evanescent-field fluorescence-assisted protein microarray system (EN system) to investigate the clinical significance of the anti-tumor associated autoantibody (TAAb) detection in patients with various cancers.

Comparing of the prevalence of serum anti-p53 antibody in patients with breast cancer, EN system was 1.7 times higher than ELISA. TAABs, such as anti-CEA and anti-HER2 not only anti-p53 antibody were detected at the same assay. Many of TAABs had been detected from the patients with early stage lung cancer, the immunoglobulin isotype of TAAB were mixed with IgG and IgM types. The diagnostic sensitivity of lung cancer was increased to about 70% with the simultaneous detection of multiple TAABs. This EN system, multiple TAAB can easily simultaneous detection is expected efficacy for early detection of various cancers.

研究分野：病態検査学

キーワード：腫瘍マーカー 腫瘍関連自己抗体 抗p53抗体 早期肺癌 乳癌 エバネセント波励起蛍光法

1. 研究開始当初の背景

(1) 癌患者における抗体測定の有用性

これまでの腫瘍マーカーは、主に腫瘍関連“抗原”(Tumor Associated Antigen : TAAg)が測定されているが、癌患者では TAAg が増加する前に抗核抗体が増加することが報告された (Br Med J, 4:511, 1971, Clin Cancer Res, 1:417, 1995)。現在では、癌患者は自己免疫疾患にも似た抗体産生亢進状態を呈し、抗核抗体のみならず様々な腫瘍関連自己抗体 (TAAb) を産生していることが報告されている (Ann Oncol, 21:1687, 2010)。

一方、通常の免疫システムがそうであるように、わずかな非自己蛋白では Host は抗体を産生し、抗原性 (癌では変異) の強弱にもよるが、抗体産生能は“持続的”な抗原刺激により一層高められ抗体を量産する。したがって TAAb は、患者が前癌状態や癌初期などで、TAAg が少ない段階であっても測定可能であり、癌の早期発見に繋がる新たな腫瘍マーカーとなる。近年保険適用が認可された血中抗 p53 自己抗体検査は、これまで測定されてきた“抗原”とは異なり、“抗体”を腫瘍マーカーとするその先駆けと考えることができる。

(2) 抗体の多様性と検出上の問題点

我々は、二次元電気泳動法で肺癌組織蛋白を分離後、患者血清中の自己抗体と反応した蛋白を質量分析法で同定し (2DE-MS 法)、肺癌患者において新たな TAAg, TAAb の存在を明らかにしてきた (Lung Cancer, 62:364, 2008)。同定した TAAg と種々の癌患者血清との反応を Dot-Blot (DB) 法で確認してきたが、ELISA 等も含め heterogeneous な方法による抗体の測定系には、タンパク質医薬開発分野では以前から周知の事実であるにも関わらず (J Immunol, 178:7467, 2007)、臨床検査においては全く論議されてこなかった問題点がある。それは、抗体は抗体であるが故に分子構造が一樣ではなく、抗原検出系では一般には問題とならない“親和性の違い”が存在する。患者間・同一患者内で親和性の異なる抗体が混在し、それらをすべて検出できているのかどうかということである。p53 は、組織中の遺伝子変異の程度や蛋白量と ELISA を用いた抗 p53 抗体量とは相関しないとの報告もあり (in vivo, 18:615, 2004)、heterogeneous な方法では B/F 分離 (洗浄) による低親和性抗体の抗原からの離脱に起因する、検出目的抗体の見落としが生じている可能性は否定できない (Immunochemistry, 15:131, 1978)。この疑問は、我々が追及している癌のより早期発見のための産生初期 TAAb の検出には致命的問題点であり、広くは臨床検査全体における ELISA 等による抗体測定系の問題点にまで及ぶであろう。

(3) エバネセント波励起蛍光法 (EN 法) による糖鎖解析技術と低親和性抗体検出への

応用

糖鎖とレクチンの結合力 ($10^3 \sim 10^7 \text{Kd}$) は抗原抗体複合物の結合力 ($10^6 \sim 10^9 \text{Kd}$) と比較しかなり弱い。EN 法による糖鎖解析技術は既に実用化されており ((株) グライコテクニカ, 横浜)、この技術は低親和性 TAAb の検出にも効果的と考えた。

2. 研究の目的

(1) EN 法と既存抗体測定法 (ELISA) との性能比較

糖鎖解析に用いられている EN 法の測定条件を、血清中の TAAb 検出法へ最適化する。そして、現在唯一保険適用となっている抗体の腫瘍マーカーである抗 p53 抗体を EN 法にて測定し、保険認定測定法である ELISA 結果と比較、EN 法の性能を評価・考察する。

(2) EN 法による多種 TAAb 測定とその臨床的意義

抗 p53 抗体のみならず、癌患者では種々の TAAb が産生される。そのため、既知の TAAg および我々が報告した TAAg に対する TAAb を EN 法にて同時測定し、臨床的意義について考察する。

(3) IgG および IgM 型 TAAb の測定とその臨床的意義

抗 p53 抗体は、現在の臨床検査では IgG 型のみしか測定されていないが、一般的抗体産生論では IgG 型より IgM 型のほうが早期に産生される。そこで IgM 型も同時測定し、両者測定の臨床的意義について考察する。

(4) 早期肺癌患者に対する、有効的血清診断マーカーとしての TAAb の検討

本課題の当面の最終目的は、早期肺癌患者の血清診断マーカーを TAAb で模索することである。前述(1)~(3)の結果を基に、有力な早期肺癌マーカーとしての TAAb を考察する。

3. 研究の方法

(1) EN 法による抗 p53 抗体測定とその測定原理

まず EN 法による血中抗 p53 自己抗体測定の最適化を図る。EN 法として用いる測定機器は (株) グライコテクニカ社の GlycoStation Reader 1200 糖鎖プロファイラー (市販品) を流用した。本機は、既にレクチン・マイクロアレイを用いて糖鎖解析関連で稼働中のものであり、基板にレクチンを吸着させて商用化されている。これを免疫学的測定法へ応用した。測定方法の概略は、ガラス基板にレクチンの代わりに産総研で合成した p53 を吸着させ、その後 TAAb (血清検体)、次いで蛍光色素標識抗体を反応させ、蛍光強度 (RFU) により TAAb を間接的に検出した。本システムでは、最大 45 種 (3 重測定時) の TAAg を固相化できる。加えて、蛍光標識物が異なる二次抗体を用いて、IgG 型

および IgM 型 TAAb を同時分別測定した (IgG 型; 抗ヒト IgG-Cy3 抗体, IgM 型; 抗ヒト IgM-Alexa Fluor 647 抗体)。

EN 法の原理は、光は媒体にあるとその入射角度によっては全反射する。屈折率の高い媒体 (ガラス基板) と低い媒体 (反応液相) が接しているとき、全反射しても低い媒体側に 1 波長程度分、光が漏れ出す。この光をエバネセント光 (近接場光) と呼ぶ。光に励起波長のものを使用すれば、蛍光色素はガラス基板付近に存在するもの (基板より 1 波長分の距離内) だけが蛍光を発生する。フリーの標識抗体は、分子運動により基板付近には留まらないため、エバネセント光により励起された蛍光は、TAAb に結合した標識抗体のみが発生していることになる。そのため TAAb に依存した蛍光量のみを測定することができ、B/F 分離 (洗浄) は必要ない。この原理から、低親和性抗体には外的な力が加わることなく、結合したままの状態が保たれる (図 1)。

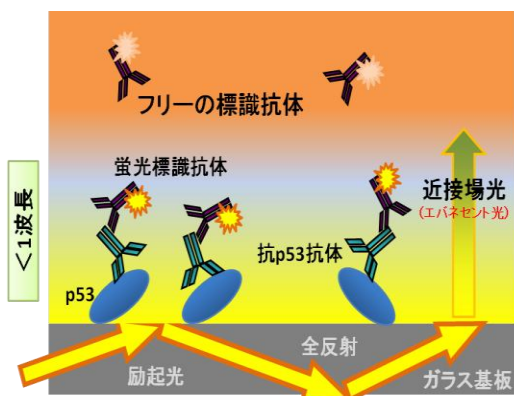


図 1. EN 法の測定原理

(2) 健常者の TAAb と Cut off 値の設定

健常者 94 名 (22~76 歳, 男性 25 名, 女性 69 名) から、Cut off 値を 95 パーセントイル値で設定し、各 TAAb 陽・陰性判定の基準上限値とした。

(3) 乳癌患者における抗 p53 抗体の測定と ELISA との比較

北里大学病院にて、ELISA (MBL 社) による抗 p53 抗体が測定済みの乳癌患者血清を EN 法で測定し、ELISA および EN 法による結果を比較した。必要と思われる症例については、癌組織中の p53 発現を免疫染色にて確認した。

(4) 乳癌および肺癌患者における多種 TAAb の測定と臨床的評価

乳癌および肺癌患者について多種 TAAb を同時測定した。肺癌患者においては、ステージ 1 の早期癌とステージ 4 の進行癌について、IgG 型および IgM 型の免疫グロブリンクラス別検出を含めて TAAb の比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) 洗浄操作の追加による EN 法の結果変化と ELISA との相関

最適化した通常の測定法で得られた、乳癌患者の抗 p53 抗体結果 (洗浄前) と結果測定後、意図的にアレイを 5 回洗浄した後の結果 (洗浄後) の比較を図 2 に示す。検体 No.3, 5, 6 は、洗浄後明らかに RFU が低下した。

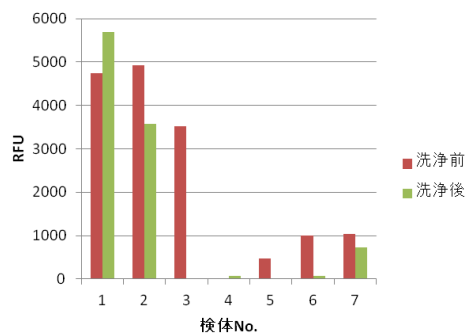


図 2. 洗浄による EN 法の結果変化

EN 法による洗浄前と洗浄後各々の結果と ELISA 結果の相関を図 3 に示す。洗浄前の $R^2=0.5404$ から洗浄後の $R^2=0.9444$ と、洗浄を行うと洗浄操作が必要な ELISA 結果と強く相関することが確認された。洗浄操作の追加で EN 法の結果が低値にシフトした症例は ELISA 結果も低値であり、ELISA 結果が高値な症例は EN 法での洗浄の影響をあまり受けなかった。この結果は、“ELISA では症例によって洗浄操作で抗原から抗体が離脱する→洗浄操作による低親和性抗体乖離による負誤差”という仮説を支持できる結果になり得る。

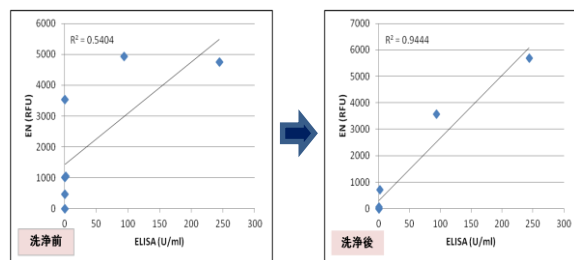


図 3. 洗浄前後の EN 法結果と ELISA の相関

(2) EN 法と ELISA による抗 p53 抗体測定結果の比較

北里大学病院にて抗 p53 抗体測定済みの乳癌患者 64 例について、EN 法で測定したところ、ELISA と EN 法で 9 例の結果不一致例が確認された

(表 1, 図 4)。

この結果から、EN 法の感度は ELISA の約 1.7 倍高値となることが推算され (図 5), EN 法の抗体測定における優位性を確認した。

表 1. 抗 p53 抗体測定における EN 法と ELISA の陽性率比較

		ELISA 法	
		陽性	陰性
EN 法	陽性	10	9
	陰性	0	45

(n=64)

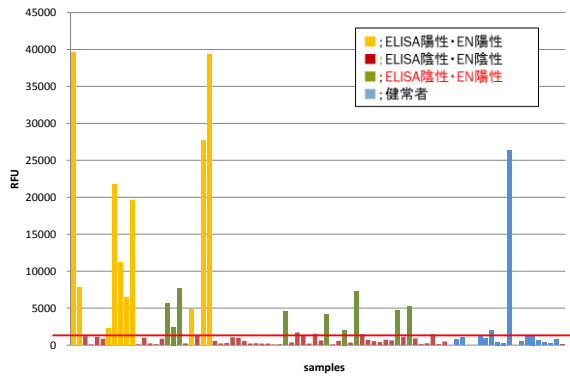


図 4. 乳癌および健常者の EN 法による抗 p53 抗体測定結果と ELISA 結果の比較

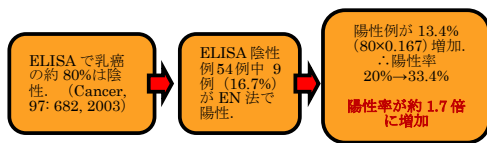


図 5. EN 法による乳癌患者の抗 p53 抗体陽性率の推算

(3) 抗 p53 乖離症例の癌組織中の p53 発現

EN 法と ELISA 結果の乖離症例の癌組織中の p53 発現を免疫染色により確認した。9 例中、検査できた 7 例すべてに p53 の過剰発現が認められ、EN 法結果の正当性が裏付けられた (図 6)。

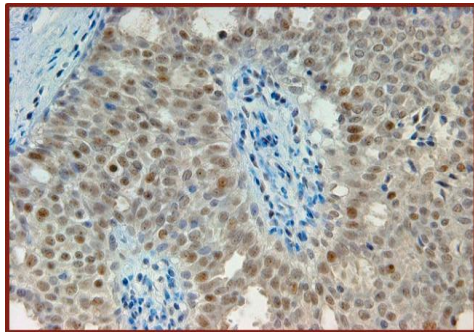


図 6. p53 の過剰発現がみられる結果乖離の一症例

(4) 乳癌患者における多種 TAAb の同時測定

乳癌患者 64 例について抗 p53 抗体のほか、Estrogen Receptor (ER), Progesterone Receptor (PgR), HER2, CEA, CYFRA, CA15-3 の 6 種に対する TAAb を同時に測定した。陽性率は抗 p53 抗体の 29.7% が最も高値で、次いで抗 CA15-3 抗体の 20.3%、抗 PgR 抗体の 17.2% であった。64 例中、7 種の蛋白に対する TAAb がどれかひとつでも陽性であった症例数は 29 例 (45.3%) であり、乳癌患者血清中には、抗 p53 抗体以外の TAAb も多くの症例で産生することが確認できた。これら 7 種の TAAg に対する TAAb を同時検出することで、乳癌に対する診断感度は 45.3%、特異度 (健常者で 7 種の TAAb

がすべて陰性の割合) は 86.4% であった。

(5) 肺癌患者における多種 TAAb の同時測定

ステージ 1 の肺癌患者 28 例について、乳癌患者で測定した 7 種の TAAb のほかに、CA-125, CA19-9, Calreticulin (CALR), Galectin 3 (GAL-3), Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (LGR5), Matrix metalloproteinase-2 (MMP2), MUC5B, NSE, SCC の合計 16 種の TAAg に対する TAAb を同時測定した (表 2)。

表 2. 肺癌患者(ステージ 1)における各種 TAAb 陽性率

患者 No.	Ig	644	661	677	559	716	757	641	753	516	672	685	618	742	763	659	781	557	391	398	388	382	376	460	458	399	302	360	433	陽性率	有意性 (対健常者)	
CA125	G																													17.9	0.015	
CA125	M																													0.0	—	
CA15-3	G																													25.0	< 0.001	
CA15-3	M																													14.3	0.059	
CA19-9	G																													10.7	0.197	
CA19-9	M																													10.7	0.197	
CALR	G																													14.3	0.059	
CALR	M																													0.0	—	
CEA	G																													21.4	0.003	
CEA	M																													21.4	0.003	
CYFRA	G																													10.7	0.197	
CYFRA	M																													0.0	—	
ER	G																													17.9	0.015	
ER	M																													32.1	< 0.001	
GAL-3	G																													21.4	0.003	
GAL-3	M																													3.6	0.872	
HER2	G																													21.4	0.003	
HER2	M																													14.3	0.059	
LGR5	G																													21.4	0.003	
LGR5	M																													10.7	0.197	
MMP2	G																													10.7	0.197	
MMP2	M																													10.7	0.197	
MUC5B	G																													17.9	0.015	
MUC5B	M																													7.1	0.535	
NSE	G																													10.7	0.197	
NSE	M																													3.6	0.872	
p53	G																													14.3	0.059	
p53	M																													7.1	0.535	
PgR	G																													14.3	0.059	
PgR	M																													7.1	0.535	
SCC	G																													10.7	0.197	
SCC	M																													14.3	0.059	
陽性項目数	G	12	12	0	3	1	1	2	9	0	1	7	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	16	8	0	0	1	0	0	
陽性項目数	M	1	1	0	1	1	2	10	0	6	0	2	0	10	0	0	1	0	0	9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

IgG 型および IgM 型も同時に測定した。多くの TAAb がステージ 1 の早期肺癌患者でも産生されていたが、既に IgG 型優位の患者が多く、IgM 型優位の症例は、患者 No.757, 753, 618, 391 と僅か (4/28 症例 14%) であった。最も陽性率が高値だったのは、ER の IgM 型で 32.1%、次いで CA15-3 の IgG 型で 25.0%、CEA の IgG, IgM 型, GAL-3 の IgG 型, HER2 の IgG 型, LGR5 の IgG 型はそれぞれ 21.4% であった。ステージ 1 でも IgG 型が優位であることは、これより前に IgM 型 TAAb が優位な病期があることも推測され、癌の早期発見に IgM 型 TAAb の検出は重要な測定意義を有するかもしれない。個々の TAAb のグロブリンクラス別陽性率を図 7 に示す。ER, SCC を除いて、ほとんどの TAAb で IgG 型のほうが陽性率

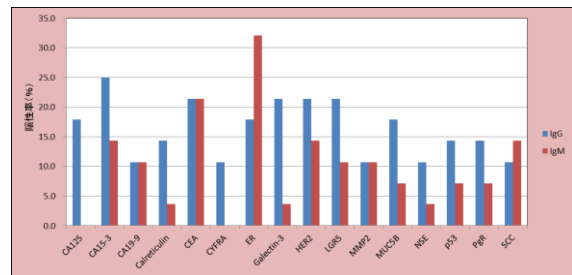


図 7. 肺癌患者(ステージ 1)のグロブリンクラス別 TAAb 陽性率の比較

は高値であった。

(6) 早期肺癌マーカーとしての TAAb

肺癌患者の早期マーカーとして有効な TAAb を今回の結果から検討すると、IgG 型では抗 CA15-3、抗 CEA、抗 GAL-3、抗 HER2、抗 LGR5 抗体などが挙げられ、IgM 型では抗 ER および抗 CEA 抗体が挙げられる (表 3)。

表 3. 肺癌患者の TAAb 陽性率

stage	I 期				IV 期	
	IgG 型		IgM 型		IgG 型	
TAAg	陽性率 (%)	p*	陽性率 (%)	p*	陽性率 (%)	p*
CA125	17.9	0.015	0.0	—	4.0	0.954
CA15-3	25.0	<0.001	14.3	0.059	8.0	0.446
CA19-9	10.7	0.197	10.7	0.197	0.0	—
Calreticulin	14.3	0.059	3.6	0.872	4.0	0.954
CEA	21.4	0.003	21.4	0.003	20.0	0.008
CYFRA	10.7	0.197	0.0	—	4.0	0.954
ER	17.9	0.015	32.1	<0.001	0.0	—
Galectin-3	21.4	0.003	3.6	0.872	12.0	0.143
HER2	21.4	0.003	14.3	0.059	0.0	—
LGR5	21.4	0.003	10.7	0.197	4.0	0.954
MMP2	10.7	0.197	10.7	0.197	8.0	0.446
MUC5B	17.9	0.015	7.1	0.535	16.0	0.037
NSE	10.7	0.197	3.6	0.872	8.0	0.446
p53	14.3	0.059	7.1	0.535	8.0	0.446
PgR	14.3	0.059	7.1	0.535	8.0	0.446
SCC	10.7	0.197	14.3	0.059	8.0	0.446

*カイ二乗検定 (vs 健常者)

(7) ステージ間の TAAb 陽性率の比較

肺癌患者におけるステージ 1 および 4 の TAAb 陽性率を比較したものを図 8 に示す。16 種すべての TAAb でステージ 4 より 1 の方が陽性率は高値であった。この結果は、腫瘍マーカーとしての TAAb 測定の臨床的意義は、これまでのいわゆる腫瘍マーカー (TAAg) のような治療判定や経過観察をモニタリングするのには有効な検査ではなく、早期発見を主たる目的とする腫瘍マーカーと考えることができる。

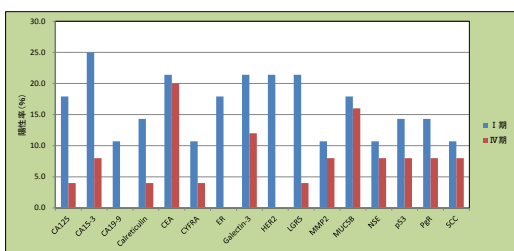


図 8. ステージ 1 と 4 の肺癌患者の TAAb (IgG 型) 陽性率の比較

(8) 多種 TAAb の同時測定による早期肺癌患者に対する感度および特異度

ステージ 1 の早期肺癌患者および健常者を対象に、今回測定した 16 種の TAAb 測定結果から算出した診断感度および特異度は、IgG 型が各々 46.4%, 77.7%, IgM 型が 42.9%, 78.6%, IgG 型と IgM 型を合わせたものでは 67.9%, 73.8% であった。

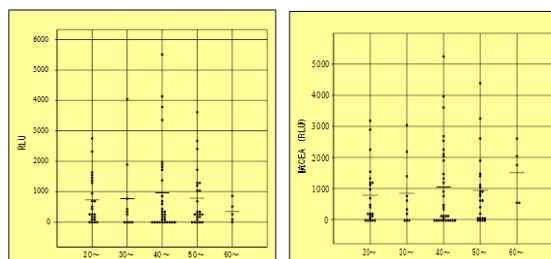
IgG・M 型を同時測定すると、ステージ 1

の早期肺癌患者でも約 70% の診断感度が得られた。

(9) 健常者年代別抗 p53 抗体量の比較

健常者における抗 p53 抗体および抗 CEA 抗体の年代間比較を図 9 に示す。

自己抗体は加齢とともに健常者でも上昇傾向にあるのではと予想したが、結果は年代間で有意差は認められなかった。図には示さないが、他の 14 種の TAAb についても、年代間で有意な差は認められなかった。



抗 p53

抗 CEA

図 9. 健常者における年代別 TAAb の比較

(10) まとめ

低親和性抗体も混在するであろう癌患者血清中の TAAb 検出に、EN 法を応用した。

EN 法による抗 p53 抗体陽性率は、ELISA と比較し約 1.7 倍高値であった。その原因として、ELISA での洗浄による低親和性抗体の抗原からの乖離に起因する負誤差が示唆され、EN 法の抗体検出法としての優位性が確認された。

乳癌および早期を含めた肺癌患者から、抗 p53 抗体のみならず、多くの TAAb が検出された。TAAb 単独では各々の陽性率は低値であるが、同時測定するとステージ 1 の早期肺癌患者でも約 70% の診断感度が得られた。特に IgM 型の TAAb は、前癌状態などを把握する、より早期のマーカー候補として興味深い。

EN 法による本アレイシステムは、グロブリン別測定を含め、同時に多種の TAAb を検出することが可能であり、癌の早期発見に対し有効性が期待できる。今後、更に早期診断に効率的な TAAg の組み合わせを模索し、感度・特異度の改善および臨床検査としての実用化に向けて努めていきたい。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 7 件)

① 鉢村和男, 長塩 亮, 佐藤雄一: 多種腫瘍関連自己抗体の同時測定による癌診断率の改善. ライフサイエンスワールド 2015 (第 12 回アカデミックフォーラム), 国際展示場 (東京都江東区), 2015.5.13-15.

② 鉢村和男, 長塩 亮, 佐藤雄一, 大谷慎一, 狩野有作, 赤星 透: エバネセント波励起蛍光法による既存腫瘍マーカーに対する多種腫瘍関連自己抗体検出の臨床的意義. 第61回日本臨床検査医学会学術集会, 福岡国際会議場(福岡県福岡市), 2014.11.24, [臨床病理 62 (supple): 268, 2014].

③ 佐藤雄一, 長塩 亮, 小林 信, 柳田憲吾, 鉢村和男: 自己抗体が認識する抗原タンパク質の検出法の開発. 第65回日本電気泳動学会総会, 横浜情報文化センター(神奈川県横浜市), 2014.10.25, [生物物理化学 58: 68-70, 2014].

④ 鉢村和男, 佐藤雄一, 長塩 亮: 抗 p53 抗体ならびに腫瘍関連自己抗体の高感度同時測定. イノベーション・ジャパン 2014, 国際展示場(東京都江東区), 2014.9.11-12.

⑤ 長塩 亮: 抗体を基盤としたプロテオミクスによる癌の診断や予後予測マーカーの探索. ライフサイエンスワールド 2014 (第11回アカデミックフォーラム), 国際展示場(東京都江東区), 2014.5.14-16.

⑥ 鉢村和男, 長塩 亮, 佐藤雄一, 大谷慎一, 狩野有作, 赤星 透: エバネセント波励起蛍光法による抗 p53 抗体の検出 - 低親和性抗体の検出による癌のより早期発見に向けて -. 第60回日本臨床検査医学会学術集会, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市) 2013.11.1, [臨床病理 61 (supple): 194].

⑦ 長塩 亮, 鉢村和男, 南 尚, 小林 信, 柳田憲吾, 五島直樹, 川上和孝, 佐藤雄一: 抗体を用いたプロテオミクスによる癌の診断並びに予後予測マーカーの獲得. ライフサイエンスワールド 2013 (第10回アカデミックフォーラム), 国際展示場(東京都江東区) 2013.5.8-10.

[産業財産権]

出願状況(計2件)

①名称: 生体試料中の個別多種及び/又は混合多種の疾患関連自己抗体の検出方法、キット及び検出装置

発明者: 鉢村和男, 佐藤雄一, 長塩 亮,

前田忠計, 狩野有作

権利者: 学校法人 北里研究所

種類: 特許権

番号: 特願 2014-084841

出願年月日: 平成 26 年 4 月 16 日

国内外の別: 国内

②名称: 生体試料中の疾患関連自己抗体の検出方法、キット及び検出装置

発明者: 鉢村和男, 佐藤雄一, 長塩 亮,

前田忠計, 狩野有作, 山田雅雄, 横田京子
権利者: 学校法人 北里研究所, (株) グライコテクニカ

種類: 特許権

番号: 特願 2014-048169

出願年月日: 平成 26 年 3 月 11 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

北里大学・医療衛生学部・臨床検査学研究室

<http://www.kitasato-u.ac.jp/ahs/ml/rinken/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

鉢村 和男 (HACHIMURA, Kazuo)

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号: 90286378

(2)研究分担者

佐藤 雄一 (SATO, Yuichi)

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号: 30178793

長塩 亮 (NAGASHIO, Ryo)

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号: 40618568

狩野 有作 (KANO, Yusaku)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号: 50245388

(3)連携研究者

五島 直樹 (GOSHIMA, Naoki)

独立行政法人 産業技術総合研究所・バイオメディシナル情報研究センター・主任研究員

研究者番号: 70215482

(4)研究協力者

前田 忠計 (MAEDA, Tadakazu)

北里大学・理学部・名誉教授

棟方 伸一 (MUNEKATA, Shinichi)

北里大学病院・臨床検査部・技師長

山田 雅雄 (YAMADA, Masao)

(株) グライコテクニカ・取締役