

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590516

研究課題名(和文)細菌分子によるマトリックス・アンカーリングの機構解明と実用化を目指した前臨床研究

研究課題名(英文)Preclinical study to elucidate molecular mechanism of matrix anchoring using bacterial proteins

研究代表者

松下 治 (MATSUSHITA, Osamu)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：00209537

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：人喰いバクテリアと呼ばれる細菌は、組織のコラーゲンを水解する酵素であるコラゲナーゼを産生する。本酵素の一部であるコラーゲン結合ドメイン(CBD)は、安定な小分子であり、サンドイッチ様構造をとってコラーゲン分子のらせんが緩んだ部分に結合した。細胞増殖を促進するタンパク質である成長因子とCBDを連結し、組織の膠原線維、脱灰骨、コラーゲン基剤に結合させることで、骨新生や血管新生を誘導することができた。

研究成果の概要(英文)：Flesh-eating bacteria produce collagenases, enzymes to degrade tissue collagen fibrils. The enzyme possesses a collagen-binding domain(s). Although its molecular size is small, the domain forms sandwich-like structure to bind to untwisted region of triple-helical collagen molecule. Meanwhile, human growth factor accelerates cell growth. Various growth factors were fused with the domain to anchor them on tissue collagen fibrils, demineralized bone matrix, or collagen sheet/particles. Using these novel materials, osteogenesis or angiogenesis was successfully induced.

研究分野：基礎医学

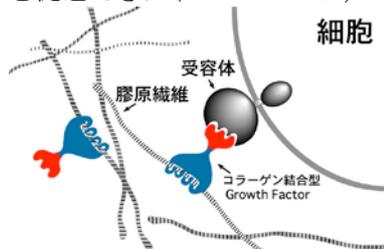
科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学(含真菌学)

キーワード：細菌毒素 コラーゲン結合ドメイン 細胞外マトリックス 膠原線維 アンカーリング 骨新生 再生医療 技術移転

1. 研究開始当初の背景

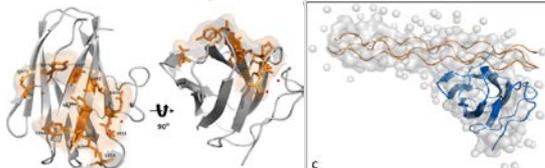
細菌が感染する宿主の組織には、三重らせん構造を持つコラーゲン分子が多数会合した不溶性の膠原繊維が豊富に含まれる。病原性の*Clostridium*属や*Bacillus*属細菌は、コラーゲナーゼを産生して膠原繊維を水解し感染巣を拡大する。本酵素群は三種類のドメインからなり(J. Bacteriol. 176:149, 1994; *ibid.* 176:6489, 1994; *ibid.* 181:923, 1999; *ibid.* 181:2816, 1999; unpublished data)、C末端のコラーゲン結合ドメイン(CBD)はコラーゲンに特異的に結合する(J. Biol. Chem. 273:3643, 1998; *ibid.* 276:8761, 2001)。CBDはβ-サンドイッチ構造をとり、片側のβ-シートで基質に結合する(EMBO J. 22:1743, 2003)。CBDにCa²⁺が結合すると、結合部の構造が変化してタンパク質が安定化し、基質結合能が向上する(FEBS J. 276:3589, 2009)。

CBDの基質結合能を利用して、細胞成長因子等の生理活性物質を細胞外マトリックス(ECM)にアンカーリングし(下図)、持続的に細胞増殖を促進できた(PNAS 95:7018, 1998)。



この知見を臨床応用すべく、人工皮膚の形成、鼓膜再生、血管新生の誘導などの橋渡し研究に着手した。それぞれの分野で再生医療における薬物シーズとして有望と考えられる結果が得られたものの、いずれもpreliminary dataであり、医薬品などの承認に必要な臨床試験に継ぐためには、さらに前臨床研究を実施して基礎データを蓄積する必要があった。

他方、研究開始時までに*Clostridium histolyticum* class Iコラーゲナーゼ(Co1G)の二つのCBDのうちC末側のCo1G CBD2を用いて、海外共同研究者Joshua Sakon博士とともにCBDの構造生物学的検討を行い、立体構造を決定し、基質結合部位を同定した(下左図)。また、本CBDはコラーゲン様ペプチドのC末端に結合すると示唆された(下右図)(J. Biol. Chem. 284:10868, 2009)。



コラーゲン用ペプチドを用いた競合実験より、本CBDは基質認識における配列依存性は低い

と思われた(Anal. Biochem. 394:125, 2009)。

このようにCo1G CBD2の構造活性相関は詳細に解析されてきたものの、前述の薬物シーズには本CBDとは異なる*C. histolyticum* class IIコラーゲナーゼ(Co1H)のCBDを用いてきた。Co1G CBD2とCo1H CBDのアミノ酸配列同一性は約30%と低く、後者の構造活性相関は未だ不明であった。

2. 研究の目的

細菌分子を用いたマトリックス・アンカーリングには、多彩な臨床応用が期待された。そこで、以下の基礎研究と前臨床研究を実施し、研究開始時までに得られていた予備実験の結果を臨床試験につなぐことを当初の目的とした。

(1)マトリックス・アンカーの構造活性相関

アンカーとして利用してきたCo1H CBDおよびPKDドメインの立体構造を決定する。アンカーの構造安定性を生理的条件下で調べ、水溶液中でのアンカーと基質の結合様式を、ミニコラーゲン・ペプチドを用いて明らかにする。

他方、構造解析が進んだCo1G CBD2を用いて、本ドメインが認識する基質の構造的特徴を明らかにする。

(2)マトリックス・アンカーの最適化

マトリックス・アンカーリングの実用化には、最小のアンカーで十分な基質選択性と結合能を実現する必要がある。これまで*C. histolyticum*のclass IIコラーゲナーゼ由来のPKD2とCBDを含む領域をアンカーとして用いてきた。CBDは単体でコラーゲン結合能を示したため、アンカーからPKD2を除去して分子を最小化できないか検討する。

(3)種々のヒト型分子を用いた前臨床研究

①CB-EGF 大腸菌系を用いてヒト型コラーゲン結合性EGFを生産・精製する。

②VEGF-CBD Cos-1細胞を用いてVEGF-A-CBDを生産・精製する。

③CB-CXC 炎症時に血管新生を誘導するヒト型CXCサイトカインのアンカー型分子(CXC-CBD)を作製する。

これらのコラーゲン結合性生理活性物質の効果を、モデル実験により確認する。例えば、血管新生誘導物質による皮膚の生着促進では、VEGF-CBDを真皮下層にアンカーリングしその効果をモデル実験により検証する。

④CB-bFGFとCB-BMP2 コラーゲン結合性線維芽細胞成長因子(CB-bFGF)および同骨形成タンパク質(CB-BMP2)は、骨新生の誘導による治療応用が期待される。これらのヒト型分子を作製し、微細加工により注射可能としたコラーゲン細粒を用いた局所投与法をモデル実験により検討する。

3. 研究の方法

(1)マトリックス・アンカーの構造活性相関

①薬物シーズの作製に用いたアンカーの構造活性相関の解析 *C. histolyticum* class IIコラゲナーゼ (Col1H) のコラーゲン結合ドメイン (CBD) を組換え大腸菌系を用いて生産・精製後、X線結晶学的に立体構造を決定した。また、本ドメインの構造安定性に対するCa²⁺イオンの効果については、蛍光分光光度計および示差走査熱量計を用いて解析した。さらに、小角X線散乱法により水溶液中におけるミニコラーゲン分子との結合様式を解析した。

②基質特異性の解析 *C. histolyticum* class Iコラゲナーゼ (Col1G) のコラーゲン結合ドメイン (CBD2) は、コラーゲン様ペプチドのC末端に結合した。C末端では三重らせん構造が緩んでいることから、CBDはこの構造を好んで結合する可能性がある。そこで、Gly→Ala置換により種々の部位のらせん構造を緩め、かつ末端をスピン標識したコラーゲン様ペプチドを合成した。このスピン標識変異ペプチドを用いて¹⁵N標識 Col1G CBD2 のNMR titration法による解析を行い、各変異ペプチドにおけるCBD結合部位を推定した。さらに、変異ペプチド-Col1G CBD2複合体の構造を小角X線散乱により解析し、水溶液中における両者の結合様式を推定した。

(2)マトリックス・アンカーの最適化

マトリックス・アンカーにはこれまでCol1H由来のPKDドメインとCBDを利用してきた。CBDは単独で膠原線維に結合することから、PKDドメインをアンカー部から除去できる可能性がある。小型の機能性リガンドは、生産性が向上し抗原性も低下することが期待されたため、明確な骨新生誘導能を有するbFGF-PKD-CBD (CB-bFGF) からPKDドメインを除去したbFGF-CBDを組換え大腸菌系を用いて生産・精製した。従来法により *in vitro* のbFGF-CBDのコラーゲン結合活性、細胞増殖促進活性を確認後、高密度コラーゲン膜にbFGF-CBDを結合させた新規複合材料を用いたモデル実験を行って、bFGF-CBDの骨新生誘導能をbFGF-PKD-CBDと比較した。

(3)コラーゲン結合性ヒト型生理活性物質の前臨床研究 コラーゲン結合性ヒト型生理活性物質を生産しつつ、その臨床応用について次のモデル実験を実施した。

①骨欠損モデル CB-bFGFを用いた複合剤の骨欠損治療への臨床応用について検討した。ラットの大腿骨前面に、CB-FGFをアンカーした高密度コラーゲン膜を移植した。また、微細加工により注射可能としたコラーゲン細粒にCB-bFGFを結合し、注射針を用いて骨表面に局所投与した。新生骨量と密度は、マイクロCTを用いて経時的に定量した。さらに、コラ

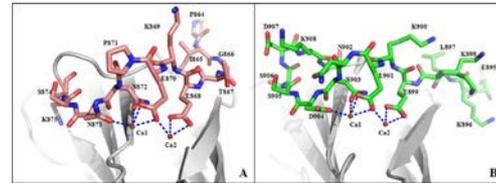
ーゲン細粒とコラーゲン結合性生理活性物質の使用比率を変量し、骨新生の誘導条件の最適化を試みた。

②血管形成モデル Cos-1細胞を用いて VEGF-A-CBDを生産した。*in vitro*のVEGF-A-CBDのコラーゲン結合活性、細胞増殖促進活性を確認後、形成外科モデルとして皮弁を作製し本融合タンパク質の血管形成能を確認した。

4. 研究成果

(1)マトリックス・アンカーの構造活性相関

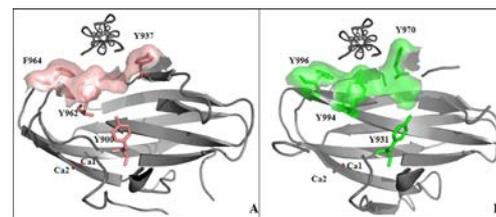
①薬物シーズの作製に用いたアンカーの構造活性相関の解析 *C. histolyticum* class IIコラゲナーゼ (Col1H) のコラーゲン結合ドメイン (CBD) の構造を決定した (分解能2.0 Å)。対照としてclass Iコラゲナーゼ (Col1G) CBD2の構造を決定した (分解能1.4 Å)。両者のアミノ酸配列同一性は30%しかないにも関わらず構造は極めて類似していた (RMSD 1.5 Å)。2つのCa²⁺イオンを結合するアミノ酸残基ではN873残基のみが異なるものの、結合部位の構造はよく保存されていた (下図)。



Ca²⁺イオンの結合様式

A) Col1H CBD, B) Col1G CBD2

Col1H CBDの変性温度はCa²⁺非存在下で70.2°C、存在下では94.1°Cであった。尿素などのタンパク質変性剤を用いた安定性測定でも同様の結果が得られた。したがってCa²⁺は本ドメインの構造安定化に寄与すると考えられる。また、基質結合ポケットでは、ループ構造や側鎖がずれることにより形状がよく保存されていた (下図)。



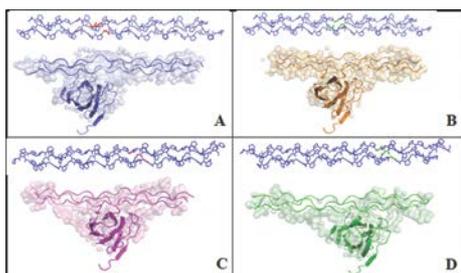
基質結合ポケットの構造

A) Col1H CBD, B) Col1G CBD2

小角X線散乱により本CBDもミニコラーゲンに非対称に結合することが示された。分子が小型で、生理的Ca²⁺濃度で極めて安定な物性を示すことから、両ドメインは薬物送達システムに適すると考えられる (J Bacteriol., 2013)。

②基質特異性の解析 変異コラーゲン様ペプチドを用いたNMR titrationにより、CBDはらせん構造が緩んだ変異部位に選択的に結合することが示唆された。そこでCBD-ペプチ

ド複合体の構造を小角X線散乱により解析したところ、この仮説を支持する下図の結果が得られた(Protein Sci., 2012)。



ミニコラーゲン: CBD複合体の構造

A) [PROXYL-(POG)3POA(POG)6]3: CBD複合体

B) [PROXYL-(POG)4POA(POG)5]3: CBD複合体

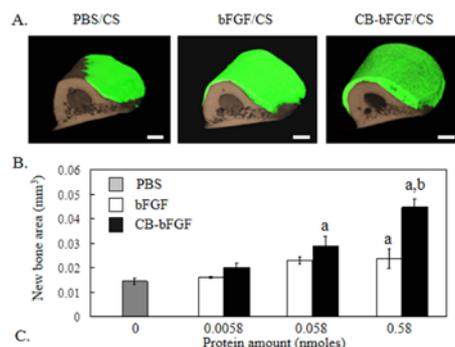
C) [PROXYL-(POG)5POA(POG)4]3: CBD複合体

D) [PROXYL-(POG)6POA(POG)3]3: CBD複合体

以上より、天然のコラーゲン分子への結合においても、CBDはらせんが緩んだ部位に結合することが推察された。コラーゲナーゼによる膠原線維の水解には、コラーゲン分子のらせん構造を緩めた上で各 α 鎖を切断する必要があり、得られた結果には一定の合目的性があると考えられる。今後は天然のコラーゲン分子を用いた結合部位の解析が必要と考えられる。

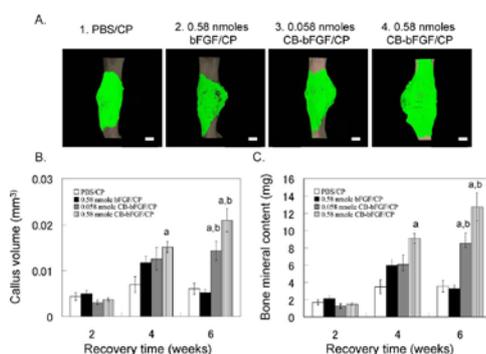
(2) マトリックス・アンカーの最適化 組換え大腸菌系を用いてbFGF-CBDを1.1~1.3 mg/liter culture程度の生産効率で精製した。本融合タンパク質は、*in vitro*でコラーゲン結合活性と細胞増殖促進活性を示したものの、*in vivo*での骨新生誘導能はbFGF-PKD-CBDに劣後した。このことから、本薬物送達システムにおいてはPKDドメインも機能を有すると考えられた。そこで、マトリックス・アンカーとして用いているCol1H由来のPKD2の他PKD1およびCol1G由来のPKDを大量生産し、X線結晶学的解析により立体構造を決定した。

(3) コラーゲン結合性ヒト型生理活性物質の前臨床研究 種々のコラーゲン結合性成長因子を作製して前臨床研究を実施したが、本報告書ではそれらのうち最も有望と考えられるヒト型塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)とCBDの融合タンパク質(CB-bFGF)を用いた骨新生の誘導について主に記載する。本融合タンパク質を高密度コラーゲン膜、または脱灰骨顆粒(DBM)に結合させ、これらの複合剤をモデル動物の骨表面に移植して新生骨量を比較したところ、CB-bFGFでは右上図のようにbFGF単体に比し有意に高い骨新生誘導能を認めた。DBMを基剤として用いた場合でも、同様の結果が得られた(J Biomed Mater Res A., 2013)。



高密度コラーゲン膜をPBS, 種々の濃度のbFGFまたはCB-bFGF溶液に浸漬してラットの大腿骨前面に移植し、2週間後に3次元マイクロCTにより新生骨の体積を測定した。Mean \pm S. E. (n=8)を示す。a, bは、PBS対照群、または等モルのbFGF群に対する有意差(p<0.05)を示す。

上述の複合剤には開放手術による移植が必要となる限界性もある。そこで細粒状に加工したコラーゲン基剤をbFGF-CBD融合タンパク質溶液に浸漬して注射可能な複合剤を作製し、同様の実験を行ったところ、対照群、bFGF群に比し、CB-bFGF群は有意に高い骨新生誘導能を示した(下図、J Biomed Mater Res A., 2013)。



以上の成果についての特許申請を行い、2014年2月17日付で特許査定がなされた。

他方、大腸菌系を用いて発現・精製したPTH-CBDについては、その骨新生誘導能等(Calcif Tissue Int. 2011; J Endocrinol Invest. 2011; Calcif Tissue Int. 2012; J Endocrinol Invest. 2011; Anticancer Drugs. 2014)を確認した。本融合タンパク質に関する特許申請を行い、2013年5月にはUS8,450,273として特許権の設定登録がなされた。また、Cos-1細胞を用いてVEGF-A-CBDを発現し、その血管新生誘導能を形成外科手術における皮弁の生着を用いて確認できた(Plast Reconstr Surg. 2013)。さらに、臓器移植等に応用するため、免疫抑制能を有するガレクチン9のCBDの局所アンカーリングを試みたが、ガレクチン9自身のマトリックス結合能のため、マトリックス・アンカーリングによる効果の増強は認められな

かった (Biochim Biophys Acta. 2014)。CB-BMP2 については、大腸菌系を用いた生産を試みた
が、封入体形成が明らかとなった。今後は昆
虫細胞系を用いた生産を試みる予定である。

本助成事業により、「細菌由来ドメインを用
いた生理活性物質の組織局所へのアンカー
リング」という薬物送達システムの概念を、
精密化と実用化の両面で発展させることが
できた。特に動物実験で再現性が明らかとな
り多彩な投与法が確立したCB-bFGFについ
ては、臨床応用可能な水準に到達しつつある
と考えている。知財供与と技術移転、GMP生
産法の確立など、今後超えるべき課題は多い
が、大腿骨頭再置換術を始め、骨新生誘導が
成功率を大きく改善すると期待される外科
手術も多い。一日も速い実用化を目指して
今後も研究を重ねてゆく所存である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計12件)

- ① Direct cytotoxic effect of galectin-9 localized on collagen matrices on human immune cell lines. Fukata Y, Itoh A, Nonaka Y, Ogawa T, Nakamura T, Matsushita O, Nishi N. Biochim Biophys Acta. 2014; 1840(6):1892-1901. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.01.019. 査読有
- ② Acceleration of bone formation during fracture healing by injectable collagen powder and human basic fibroblast growth factor containing a collagen-binding domain from *Clostridium histolyticum* collagenase. Saito W, Uchida K, Ueno M, Matsushita O, Inoue G, Nishi N, Ogura T, Hattori S, Fujimaki H, Tanaka K, Takaso M. J Biomed Mater Res A. 2013; doi: 10.1002/jbm.a.34974. 査読有
- ③ Treatment and prevention of chemotherapy-induced alopecia with PTH-CBD, a collagen-targeted parathyroid hormone analog, in a non-depilated mouse model. Katikaneni R, Ponnappakkam T, Matsushita O, Sakon J, Gensure R. Anticancer Drugs. 2014; 25(1):30-38. doi: 10.1097/CAD.0b013e3283650bff. 査読有
- ④ Acceleration of periosteal bone formation by human basic fibroblast growth factor containing a collagen-binding domain from *Clostridium histolyticum* collagenase. Uchida K, Matsushita O, Naruse K, Mima T, Nishi N, Hattori S, Ogura T, Inoue G, Tanaka K, Takaso M. J Biomed Mater Res A. 2013; doi: 10.1002/jbm.a.34841. 査読有
- ⑤ Effects of CB-VEGF-A injection in rat flap models for improved survival. Sakamoto K, Hattori M, Kounoike N, Uchinuma E, Akimoto M, Takeda A, Matsushita O, Inoue I, Plast Reconstr Surg. 2013; 131(4): 717-725. doi:

10.1097/PRS.0b013e3283650bff. 査読有

⑥ Structural comparison of ColH and ColG collagen-binding domains from *Clostridium histolyticum*. Bauer R, Wilson JJ, Philominathan ST, Davis D, Matsushita O, Sakon J. J Bacteriol. 2013; 195(2):318-327. doi:

10.1128/JB.00010-12. 査読有

⑦ Bacterial collagen-binding domain targets undertwisted regions of collagen. Philominathan ST, Koide T, Matsushita O, Sakon J. Protein Sci. 2012; 21(10):1554-1565. doi: 10.1002/pro.2145. 査読有

⑧ A single injection of the anabolic bone agent, parathyroid hormone-collagen binding domain (PTH-CBD), results in sustained increases in bone mineral density for up to 12 months in normal female mice. Ponnappakkam T, Katikaneni R, Suda H, Miyata S, Matsushita O, Sakon J, Gensure RC. Calcif Tissue Int. 2012; 91(3):196-203. doi:

10.1007/s00223-012-9626-1. 査読有

⑨ Probing the 3-D structure, dynamics, and stability of bacterial collagenase collagen binding domain (apo- versus holo-) by limited proteolysis MALDI-TOF MS. Sides CR, Liyanage R, Lay JO Jr, Philominathan ST, Matsushita O, Sakon J. J Am Soc Mass Spectrom. 2012; 23(3):505-519. doi: 10.1007/s13361-011-0309-3. 査読有

⑩ Treatment for chemotherapy-induced alopecia in mice using parathyroid hormone agonists and antagonists linked to a collagen binding domain. Katikaneni R, Ponnappakkam T, Suda H, Miyata S, Sakon J, Matsushita O, Gensure RC. Int J Cancer. 2012; 131(5): E813-821. doi: 10.1002/ijc.27379. 査読有

⑪ Prevention of chemotherapy-induced osteoporosis by cyclophosphamide with a long-acting form of parathyroid hormone. Ponnappakkam T, Katikaneni R, Nichols T, Tobin G, Sakon J, Matsushita O, Gensure RC. J Endocrinol Invest. 2011; 34(11):e392-397. doi: 10.3275/7864. 査読有

⑫ Monthly administration of a novel PTH-collagen binding domain fusion protein is anabolic in mice. Ponnappakkam T, Katikaneni R, Miller E, Ponnappakkam A, Hirofumi S, Miyata S, Suva LJ, Sakon J, Matsushita O, Gensure RC. Calcif Tissue Int. 2011; 88(6):511-520. doi: 10.1007/s00223-011-9485-1. 査読有

〔学会発表〕(計5件)

① 松下治、美間健彦、山本由弥子、鈴木智典、横田憲二、Drug delivery based on clostridial collagenase showed therapeutic effects in

orthopedic surgery、第87回日本細菌学会、2014年3月26日～28日、東京都江戸川区船堀

②松下治、美間健彦、山本由弥子、鈴木智典、横田憲二、Structural comparison of collagen-binding domains derived from *Clostridium histolyticum* collagenases、第86回日本細菌学会、2013年3月18日～20日、千葉県千葉市

③松下治、細菌性コラゲナーゼの基質認識と臨床応用、第三回愛媛微生物学ネットワークフォーラム(招待講演)、2012年11月10日、愛媛県松山市

④松下治、美間健彦、鈴木智典、山本由弥子、横田憲治、小出隆規、安達栄治郎、玉井栄治、宮田茂、南純三朗、岡部昭延、ガス壊疽菌群コラゲナーゼの基質認識機構の解明と臨床応用、第65回日本細菌学会中国・四国支部総会、2012年10月20日～21日、徳島県徳島市

⑤Osamu Matsushita, Takehiko Mima, Eiji Adachi, Joshua Sakon, Nozomu Nishi, Takenori Mivashita, Nozomu Mori, Ioe Inoue, Masakazu Hattori, Minekatsu Akimoto, Akira Takeda, Eiju Uchinuma, Bacterial collagen-binding domains - Molecular basics and clinical applications、第85回日本細菌学会総会、2012年3月27日、長崎県長崎市

[図書] (計2件)

①福井次矢, 黒川 清 監修、ハリソン内科学第4版、2013、3、120頁、メディカルサイエンスインターナショナル (分担和訳)

②東 匡伸, 小熊恵二, 堀田 博 編集、シンプル微生物学、2011、436頁、南江堂 (分担執筆)

[産業財産権]

○出願状況 (計3件)

①名称: 成長因子アンカーリング型骨移植材料、成長因子 アンカーリング型骨移植材料の製造方法、成長因子アンカーリング型骨移植材料製造用キット、および骨形成方法

発明者: 内田健太郎、成瀬康治、高相晶士、美間健彦、松下治、他2名

権利者: 国立大学法人 香川大学、学校法人北里研究所

種類: 特許

番号: PCT/JP2012/057829

出願年月日: 2012年3月26日

国内外の別: 外国

②名称: 成長因子アンカーリング型骨移植材料
発明者: 内田健太郎、成瀬康治、高相晶士、美間健彦、松下治、原口高志、西望

権利者: 学校法人 北里研究所、国立大学法人 香川大学

種類: 特許

番号: 特願2011-108650

出願年月日: 2011年5月13日

国内外の別: 国内

③名称: 上皮層含有組織の再生材および再生評価方法

発明者: 宮下武憲、森望、西望、安達栄治郎、松下治、服部雅一、他2名

権利者: 国立大学法人 香川大学、学校法人北里研究所

種類: 特許

番号: PCT/JP2011/060952

出願年月日: 2011年5月12日

国内外の別: 外国

○取得状況 (計1件)

①名称: Fusion protein of collagen-binding domain and parathyroid hormone

発明者: O. Matsushita, R. C. Gensure, and J. Sakon

権利者: The Board of Trustees of the University of Arkansas, Ochsner Clinic Foundation, National University Corporation Kagawa University

種類: 特許

番号: US 8,450,273

取得年月日: 2013年5月28日

国内外の別: 外国

[その他]

ホームページ等

<http://www.okayama-u.ac.jp/user/saikin/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松下 治 (MATSUSHITA, Osamu)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号: 00209537

(2) 研究分担者

安達 栄治郎 (ADACHI, Eijiro)

北里大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号: 30110430

井上 浄 (INOUE, Jo)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号: 00433714

森 望 (MORI, Nozomu)

香川大学・医学部・教授

研究者番号: 90124883

内田 健太郎 (UCHIDA, Kentaro)

北里大学・医学部・助教

研究者番号: 50547578

(3) 連携研究者

美間 健彦 (MIMA, Takehiko)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号: 80596437

宮下 武憲 (MIYASHITA, Takenori)

香川大学・医学部・助教

研究者番号: 60363214