

平成21年 5月 1日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006 ~ 2008

課題番号：18390113

研究課題名 (和文) 神経膠腫で発現するコンドロイチン硫酸 E の機能解析

研究課題名 (英文) Functional analysis of chondroitin sulfate E expressed in glioma

研究代表者

中山 淳 (NAKAYAMA JUN)

信州大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10221459

研究成果の概要：高度に硫酸化されたグリコサミノグリカン鎖であるコンドロイチン硫酸 E (CS-E) と、その生合成に係わる N-アセチルガラクトサミン 4 硫酸 6-O-硫酸転移酵素 (GalNAc4S-6ST) の mRNA はヒト星細胞腫で高頻度に発現し、特に後者は予後不良因子であった。膠芽腫 U251 細胞において GalNAc4S-6ST siRNA の導入により、プレイオトロピンやミッドカインへの走触能が低下した。以上の結果より、CS-E は星細胞腫の浸潤能と係わっていることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2007年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：腫瘍病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：分子病理, 脳腫瘍, 糖鎖遺伝子, グリコサミノグリカン鎖, ヘパリン結合性増殖因子, RNA 干渉, *in situ* hybridization, 免疫組織化学

## 1. 研究開始当初の背景

コンドロイチン硫酸 E (CS-E) は、その基本骨格にグルクロン酸 (GlcA) と N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) からなる二糖の繰り返し構造を有し、更に GalNAc の 4 位と 6 位にそれぞれ硫酸基が結合することで高度に硫酸化されたユニークなグリコサミノグリカン鎖である。CS-E は N-アセチルガラクトサミン 4 硫酸 6-O-硫酸転移酵素 (GalNAc4S-6ST) によってコンドロイチン硫酸 A (CS-A) の構成成分である GalNAc の 6 位に硫酸基が転移されることによって生成される。従来まで CS-E の機能は殆ど不明であったが、最近になって CS-E それ自体の持つ高度な陰性荷電、あるいはミッドカイン (MK) やプレイオトロピン (PTN) 等のヘパリン結合性増殖因子と結合することで様々な生理作用を示すことが判明した。特に神経系で

は神経細胞の軸索突起を伸長する作用のあることが明らかにされた (Sugahara et al, *Curr Opin Struct Biol* **13**, 612-620, 2003)。しかしながら、神経膠腫における CS-E や GalNAc4S-6ST の発現並びにその意義については不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は神経膠腫、特に星細胞腫における CS-E の役割を明らかにすることで、ヒト星細胞腫の病理検体並びに培養細胞を用いて GalNAc4S-6ST の発現意義を解析する。

## 3. 研究の方法

(1) 症例：信州大学医学部附属病院にて外科的切除された 31 症例の星細胞腫 (毛様細胞性星細胞腫 2 例、びまん性星細胞腫 5 例、退形成

性星細胞腫 9 例、膠芽腫 15 例) のホルマリン固定パラフィン包埋組織と凍結保存された星細胞腫組織(びまん性星細胞腫 3 例、膠芽腫 3 例) を解析対象とした。ヒト検体の解析について、信州大学医学部医倫理委員会と遺伝子解析倫理委員会の承認を受けた。

(2) 定量 PCR : 31 症例の星細胞腫ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから作製した未染色切片から total RNA を抽出し、DNase I 処理後に逆転写酵素で cDNA を合成、7300 Real-time PCR system (Applied Biosystems) を用いて GalNAc4S-6ST mRNA の発現を定量的に解析した。定量 PCR 用のプライマーとプローブは Applied Biosystems から購入した (GalNAc4S-6ST Hs00248144\_m1;  $\beta$ 2-ミクログロブリン Hs99999907\_m1)。GalNAc4S-6ST の値は内在性コントロールである  $\beta$ 2-ミクログロブリン の値で補正し、また非腫瘍部正常大脳皮質における GalNAc4S-6ST の値を 1 とすることで、腫瘍組織における相対的な GalNAc4S-6ST mRNA の発現レベルを算出した。

(3) *In situ* hybridization : 5 症例の星細胞腫を対象に GalNAc4S-6ST に特異的なジギシゲニン標識 RNA プローブを作製し (Ito et al, *Acta Histochem Cytochem* **40**, 53-59, 2007)、*in situ* hybridization を行った。

(4) 生化学的分析 : 6 症例の凍結保存された星細胞腫を対象に、Actinase E 処理した後、Chondroitinase ABC 及び Chondroitinase AC-II を用いて二糖に分解し、高速液体クロマトグラフィーにて CS-E を含む各種コンドロイチン硫酸を定量解析した。

(5) 細胞培養と RNA 干渉 : 10% 牛胎児血清を含むダルベッコ改変イーグル培地で培養したヒト膠芽腫細胞 U251 を対象に、GalNAc4S-6ST に対する RNA 干渉を行った。GalNAc4S-6ST siRNA (siRNA ID no. 122847, Ambion) と、対象として用いた Silencer Negative Control number 1 siRNA (Ambion) の遺伝子導入は Nucleofector (Lonza) による電気穿孔法にて行った。

(5) 細胞走触性アッセイ : 24 ウェルのトランスウェルポリカーボネート膜インサート (孔径  $3.0 \mu\text{m}$ ) の底部に Tris-HCl 緩衝液で溶解した PTN、MK、酸性線維芽細胞増殖因子 (FGFa) をそれぞれ  $20 \mu\text{g}$  の濃度で固相化し、対照として Tris-HCl 緩衝液のみを用いた。次に、GalNAc4S-6ST siRNA あるいは Silencer Negative Control number 1 siRNA を遺伝子導入した  $2.0 \times 10^4$  個の U251 細胞を各ウェルで培養し、5 時間後に膜を通過した細胞数をカウントした。

(6) 免疫組織化学 : プロテインチロシンホスファターゼ  $\zeta$  (PTP $\zeta$ /RPTP $\beta$ )、PTN、MK の発現を免疫組織化学的に解析した。抗 PTP $\zeta$  抗体は BD Biosciences (Clone 12, 組織染色) と Santa Cruz (H-300, 細胞染色)、抗 PTN 抗体と抗 MK 抗体は R&D Systems から購入した。

#### 4. 研究成果

(1) ヒト星細胞腫における GalNAc4S-6ST mRNA の発現 : 31 症例のヒト星細胞腫ホルマリン固定パラフィン包埋組織を対象に GalNAc4S-6ST mRNA の発現を定量 PCR 法にて解析した。GalNAc4S-6ST mRNA は 96.7% の症例で検出された。正常大脳皮質に対する相対的な星細胞腫の GalNAc4S-6ST mRNA の発現レベルは  $2.27 \sim 0$  ( $0.23$  ( $0.08 \sim 0.50$ )) (中間値 (25-75%)) であった。退行性星細胞腫に比べて膠芽腫で高い GalNAc4S-6ST の発現傾向があったが有意差は認められなかった。

次に 5 症例のヒト星細胞腫について、GalNAc4S-6ST mRNA の発現部位を *in situ* hybridization 法により解析した。GalNAc4S-6ST mRNA は腫瘍細胞で検出され、そのシグナル強度は定量 PCR で解析した GalNAc4S-6ST mRNA の発現レベルと相関した (図 1)。一方、正常大脳皮質において、GalNAc4S-6ST mRNA は錐体細胞で発現していたが、星細胞には検出できなかった。

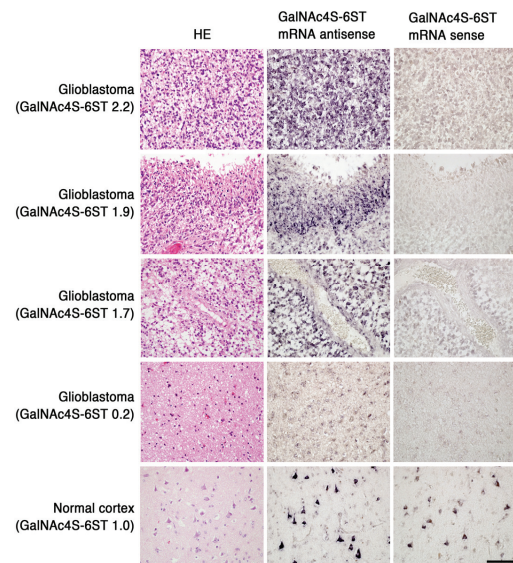


図 1 膠芽腫及び正常大脳皮質における GalNAc4S-6ST mRNA の発現 左端の数値は定量 PCR の値を示す。(bar =  $100 \mu\text{m}$ )

(2) ヒト星細胞腫における CS-E の発現 : 6 症例のヒト星細胞腫凍結組織を対象にコンドロイチン硫酸の組成を生化学的に解析した。CS-E は 6 症例全てに検出され、その発現量は  $0.01 \sim 0.22 \text{ nmol/mg}$  ( $0.087 \pm 0.08$  (平均値

± 標準偏差))であった。また、CS-A、CS-C、CS-D も全ての症例で検出され、その発現量はそれぞれ 1.755 ± 1.949 nmol/mg、0.137 ± 0.093 nmol/mg、0.057 ± 0.070 nmol/mg であった。一方、CS は 6 症例中 5 例に検出され、その発現量は 0.128 ± 0.189 nmol/mg であった。以上の結果より、ヒト星細胞腫において CS-E 並びに各種 CS が産生されていることが明らかになった。

(3) ヒト星細胞腫で発現する GalNAc4S-6ST mRNA の臨床的意義：研究成果(1)に記載した 31 症例のヒト星細胞腫における GalNAc4S-6ST mRNA の発現レベルと 5 年生存率について Kaplan-Meier 法にて解析した。GalNAc4S-6ST mRNA 発現レベルのカットオフ値を 0.1406 と定義すると、それより高値の症例は低値の症例に比べて 5 年生存率が有意に低く、GalNAc4S-6ST は星細胞腫の予後不良因子であることが示された(図 2)。

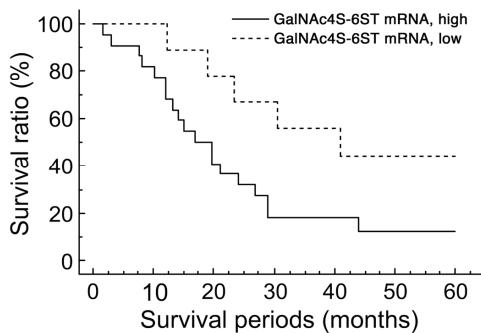


図 2 星細胞腫患者における GalNAc4S-6ST の発現レベルと 5 年生存率

(4) ヒト膠芽腫 U251 細胞における CS-E を介した PTN、MK への走触能の解析：PTN や MK は CS-E と結合することから(Muramatsu T, *J Biochem* **132**, 359-371, 2002)、これらへパリン結合性成長因子に対する膠芽腫細胞の走触性を解析した。まず、*in situ* hybridization 法によりヒト培養膠芽腫 U251 細胞で GalNAc4S-6ST mRNA が発現していることを明らかにした(図 3)。

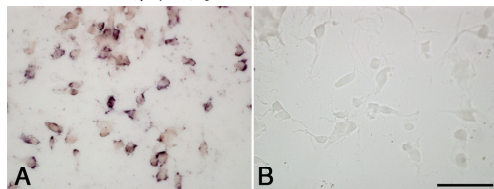


図 3 U251 細胞における GalNAc4S-6ST mRNA の発現 antisense probe(A)、sense probe(B)との反応を示す。(bar = 100 μm)

次に、RNA 干渉法により GalNAc4S-6ST の発現量を低下させた U251 細胞を用いて、PTN、MK、FGFa に対する細胞走触性を解析した。その結

果、Silencer Negative Control number 1 siRNA (Control siRNA) を導入した U251 細胞では溶媒のみの Tris-HCl と比較し、PTN に対する有意な細胞走触性の増加を示した(図 4)。一方、GalNAc4S-6ST mRNA の発現量を低下させた U251 細胞では、Control siRNA を導入した U251 細胞と比べて、PTN と MK に対する細胞走触性が有意に減少した。しかしながら、FGFa ではこの様な変化が見られなかったことから、U251 細胞で発現する CS-E とへパリン結合性増殖因子、特に PTN との結合が腫瘍細胞の浸潤能亢進と密接に関連している可能性が示された。

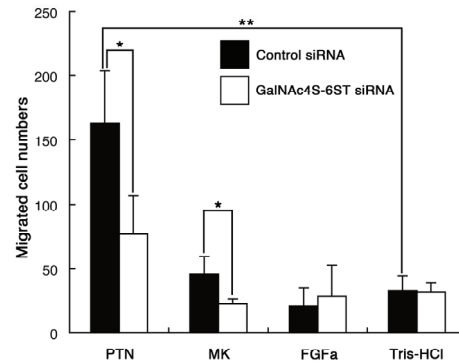


図 4 細胞走触性アッセイ (\* P < 0.05, \*\* P < 0.01)

(5) ヒト星細胞腫における PTPζ、PTN、MK の発現：神経系で発現するコンドロイチン硫酸プロテオグリカンに PTPζ がある(Krueger and Saito, *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 7417-7421, 1992)。最近、Müller らは cDNA アレイを用いた解析で、PTN と PTPζ は正常脳組織と比べて膠芽腫で有意に上昇していることを報告した(*Oncogene* **22**, 6661-6668, 2003)。そこで、今回解析した 31 症例のヒト星細胞腫において、PTPζ 並びに PTN と MK の発現を免疫組織化学的に解析した結果、それぞれ 93.5%、83.8%、67.7%の症例で検出された(図 5)。

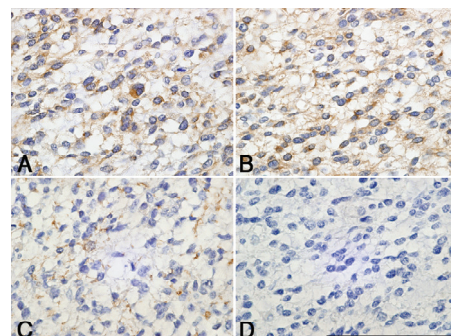


図 5 ヒト膠芽腫における PTPζ、PTN、MK の発現 PTPζ (A)、PTN (B)、MK (C)、二次抗体のみの陰性コントロール (D) を示す。(bar = 100 μm)



PTP $\zeta$ は通常活性化型として存在するが、PTNやMKとの結合を介して二量体化し、不活性型となる。その結果、PTP $\zeta$ の基質蛋白におけるチロシンリン酸化レベルは亢進することが知られている(Kawachi et al, *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 6593-6598, 2001)。抗 PTP $\zeta$ 抗体を用いた免疫細胞化学的な検討から、U251細胞でも PTP $\zeta$ が発現していることが示された(図 6)。

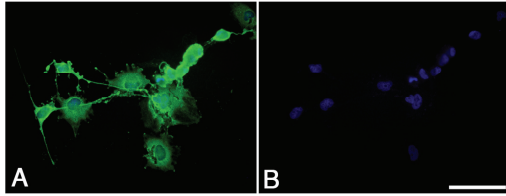


図 6 U251 細胞における PTP $\zeta$  の発現 PTP $\zeta$  (A)、二次抗体のみの陰性コントロール(B)を示す。(bar = 100  $\mu$ m)

今後は、U251 細胞における PTN や MK に対する細胞走触性亢進の分子機構について、PTP $\zeta$  下流のシグナル伝達に焦点を当てながら解析する予定である。

#### 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 32 件)

1. Masumoto J, Yamazaki T, Ohta K, Nakayama J, Agematsu K: Interleukin-1 $\beta$  suppression in Nod2-defect Blau syndrome. *Arthritis Rheum*, in press, 査読有
2. Nagate T, Kawai J, Nakayama J: Therapeutic and preventive effects of methotrexate on zymosan-induced arthritis developed on SKG mice. *J Vet Med Sci*, in press, 査読有
3. Kobayashi M, Lee H, Nakayama J, Fukuda M: Roles of gastric mucin-type O-glycans in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Glycobiology* **19**, 453-461, 2009, 査読有
4. Kobayashi M, Lee H, Nakayama J, Fukuda M: Carbohydrate-dependent defense mechanisms against *Helicobacter pylori* infection. *Curr Drug Metab* **10**, 29-40, 2009, 査読有
5. Hatakeyama S, Sugihara K, Nakayama J, Akama TO, Wong SA, Kawashima H, Zhang J, Smith DF, Ohyama C, Fukuda M, Fukuda MN: Identification of mRNA splicing factor as the endothelial receptor for carbohydrate-dependent lung colonization of cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 3095-3100, 2009, 査読有
6. Ushiki A, Koizumi T, Kobayashi N, Kanda S, Yasuo M, Yamamoto H, Kubo K, Aoyagi D, Nakayama J: Genetic heterogeneity of EGFR mutation in pleomorphic carcinoma of the lung: Response to gefitinib and clinical outcome. *Jpn J Clin Oncol* **39**, 267-270, 2009, 査読有
7. Benoit BN, Kobayashi M, Kawakubo M, Takeoka M, Sano K, Zou J, Itano N, Tsutsui H, Noda T, Fukuda M, Nakayama J, Taniguchi S: Role of ASC in the mouse model of *Helicobacter pylori* infection. *J Histochem Cytochem* **57**, 327-338, 2009, 査読有
8. Kobayashi M, Hoshino H, Masumoto J, Fukushima M, Suzawa K, Kageyama S, Suzuki M, Ohtani H, Fukuda M, Nakayama J: GlcNAc6ST-1-mediated decoration of MAdCAM-1 protein with L-selectin ligand carbohydrates directs disease activity of ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* **15**, 697-706, 2009, 査読有
9. Hirose M, Takeishi Y, Niizeki T, Shimojo H, Nakada T, Kubota I, Nakayama J, Mende U, Yamada M: Diacylglycerol kinase  $\zeta$  inhibits Gq $\alpha$ -induced atrial remodeling in transgenic mice. *Heart Rhythm* **6**, 78-84, 2009, 査読有
10. Fukuda MN, Sugihara K, Nakayama J: Trophinin: what embryo implantation teaches us about human cancer. *Cancer Biol Ther* **7**, 1165-1170, 2008, 査読有
11. Moon IS, Sakagami H, Nakayama J, Suzuki T: Differential distribution of synGAP $\alpha$ 1 and synGAP $\beta$  isoforms in rat neurons. *Brain Res* **1241**, 62-75, 2008, 査読有
12. Saito T, Nishida K, Nakayama J, Akama TO, Fukuda MN, Watanabe K, Quantock AJ, Maeda N, Watanabe H, Tano Y: Sulfation patterns of keratan sulphate in different macular corneal dystrophy immunophenotypes using three different probes. *Br J Ophthalmol* **92**, 1434-1436, 2008, 査読有
13. Lee H, Wang P, Hoshino H, Ito Y,

- Kobayashi M, Nakayama J, Seeberger PH, Fukuda M:  $\alpha$ 1,4GlcNAc-capped mucin-type O-glycan inhibits cholesterol  $\alpha$ -glucosyltransferase from *Helicobacter pylori* and suppresses *H. pylori* growth. *Glycobiology* **18**, 549-558, 2008 査読有
14. Yajima N, Takahashi M, Morimoto H, Shiba Y, Takahashi Y, Masumoto J, Ise H, Sagara J, Nakayama J, Taniguchi S, Ikeda U: Critical role of bone marrow ASC, an inflammasome adaptor molecule, in neointimal formation after vascular injury in mice. *Circulation* **117**, 3079-3087, 2008, 査読有
  15. Komatsu D, Kato M, Nakayama J, Miyagawa S, Kamata T: NADPH oxidase 1 plays a critical mediating role in oncogenic Ras-induced vascular endothelial growth factor expression. *Oncogene* **27**, 4724-4732, 2008, 査読有
  16. Hatakeyama S, Sugihara K, Lee SH, Nadano D, Nakayama J, Ohyama C, Fukuda MN: Enhancement of human sperm motility by trophinin binding peptide. *J Urol* **180**, 767-771, 2008, 査読有
  17. Ikomi F, Kawai Y, Nakayama J, Ogiwara N, Sasaki K, Mizuno R, Ohhashi T: Critical roles of VEGF-C-VEGF receptor 3 in reconnection of the collecting lymph vessels in mice. *Microcirculation* **15**, 591-603, 2008, 査読有
  18. Sugihara K, Kabir-Salmani M, Byrne J, Wolf DP, Lessey B, Iwashita M, Aoki D, Nakayama J, Fukuda MN: Induction of trophinin in human endometrial surface epithelia by CG $\beta$  and IL-1 $\beta$ . *FEBS Lett* **582**, 197-202, 2008, 査読有
  19. Sakai K, Hongo K, Tanaka Y, Nakayama J: Analysis of immunohistochemical expression of p53 and the proliferation marker Ki-67 antigen in skull base chordomas: relationships between their expression and prognosis. *Brain Tumor Pathol* **24**, 57-62, 2007, 査読有
  20. Iijima M, Nakayama J, Nishizawa T, Ishida A, Ishii K, Ota H, Katsuyama T, Saida T: Usefulness of monoclonal antibody HIK1083 specific for gastric O-glycan in differentiating cutaneous metastasis of gastric cancer from primary sweat gland carcinoma. *Am J Dermatopathol* **29**, 452-456, 2007, 査読有
  21. Nagate T, Tamura T, Sato F, Kuroda J, Nakayama J, Shibata N: Tranilast suppresses the disease development of the adjuvant- and streptococcal cell wall-induced arthritis in rats. *J Pharmacol Sci* **105**, 48-56, 2007, 査読有
  22. Kobayashi T, Masumoto J, Tada T, Nomiya T, Hongo K, Nakayama J: Prognostic significance of the immunohistochemical staining of cleaved-caspase-3, an activated-form of caspase-3, in gliomas. *Clin Cancer Res* **13**, 3868-3874, 2007, 査読有
  23. Kasama S, Kawakubo M, Suzuki T, Nishizawa T, Ishida A, Nakayama J: RNA interference-mediated knock-down of transient receptor potential vanilloid 1 prevents forepaw inflammatory hyperalgesia in rat. *Eur J Neurosci* **25**, 2956-2963, 2007, 査読有
  24. Harada O, Suga T, Suzuki T, Nakamoto K, Kobayashi M, Nomiya T, Nadano D, Ohyama C, Fukuda MN, Nakayama J: The role of trophinin, an adhesion molecule unique to human trophoblasts, in progression of colorectal cancer. *Int J Cancer* **121**, 1072-1078, 2007, 査読有
  25. Suzawa K, Kobayashi M, Sakai Y, Hoshino H, Watanabe M, Harada O, Ohtani H, Fukuda M, Nakayama J: Preferential induction of peripheral lymph node addressin on high endothelial venule-like vessels in the active phase of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* **102**, 1499-1509, 2007, 査読有
  26. Ito Y, Watanabe M, Nishizawa T, Omachi T, Kobayashi T, Habuchi O, Nakayama J: The utility of formalin-fixed and paraffin-embedded tissue blocks for quantitative analysis of N-acetylgalactosamine 4-sulfate 6-O-sulfotransferase mRNA expressed by colorectal cancer cells. *Acta Histochem Cytochem* **40**, 53-59, 2007, 査読有
  27. Maruta F, Akita N, Nakayama J, Miyagawa S, Ismail T, Rowlands DC, Kerr DJ, Fisher KD, Seymour LW, Parker AL: Bacteriophage biopanning in human

- tumour biopsies to identify cancer-specific targeting ligands. *J Drug Target* **15**, 311-319, 2007, 査読有
28. Sugihara K, Sugiyama D, Byrne J, Wolf DP, Lowitz KP, Kobayashi Y, Kabir-Salmani M, Nadano D, Aoki D, Nozawa S, Nakayama J, Mustelin T, Ruoslahti E, Yamaguchi N, Fukuda MN: Trophoblast cell activation by trophinin ligation: Possible role in human embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 3799-3804, 2007, 査読有
  29. Kobayashi M, Lee H, Schaffer L, Gilmartin TJ, Head SR, Takaishi S, Wang TC, Nakayama J, Fukuda M: A distinctive set of genes is up-regulated during the inflammation-carcinoma sequence in mouse stomach infected by *Helicobacter felis*. *J Histochem Cytochem* **55**, 263-274, 2007, 査読有
  30. Harada O, Ota H, Katsuyama T, Hidaka E, Ishizaka K, Nakayama J: Esophageal gland duct adenoma: Immunohistochemical comparison with the normal esophageal gland and ultrastructural analysis. *Am J Surg Pathol* **31**, 469-475, 2007, 査読有
  31. Lee H, Kobayashi M, Wang P, Nakayama J, Seeberger PH, Fukuda M: Expression cloning of cholesterol  $\alpha$ -glucosyltransferase, a unique enzyme that can be inhibited by natural antibiotic gastric mucin O-glycans, from *Helicobacter pylori*. *Biochem Biophys Res Commun* **349**, 1235-1241, 2006, 査読有
  32. Hayashida Y, Akama TO, Beecher N, Lewis P, Young RD, Meek KM, Kerr B, Hughes CE, Caterson B, Tanigami A, Nakayama J, Fukuda MN, Tano Y, Nishida K, Quantock AJ: Matrix morphogenesis in cornea is mediated by the modification of keratan sulfate by GlcNAc 6-O sulfotransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 13333-13338, 2006, 査読有

[学会発表] (計5件)

1. 中山 淳: ピロリ菌感染胃粘膜における  $\alpha$ GlcNAc 含有 O-グリカンの役割. 第97回日本病理学会総会, 2008.5.17, 金沢
2. 小林基弘, 福島万奈, 大谷明夫, 中山 淳: Preferential glycosylation of MAdCAM-1

on high endothelial venule-like vessels in ulcerative colitis. 第97回日本病理学会総会, 2008.5.16, 金沢

3. Masumoto J, Kobayashi T, Tada T, Hongo K, Nakayama J: Prognostic significance of immunohistochemical staining of cleaved-caspase 3, an activated-form of caspase-3, in gliomas. 第66回日本癌学会学術総会, 2007.10.5, 横浜
4. Masumoto J, Nakayama J: Application of immunohistochemistry for study of ASC-related molecules in diseases. 第48回日本組織細胞化学会総会, 2007.9.29, 甲府
5. 小林基弘, 大谷明夫, 中山 淳: Preferential induction of PNA<sub>d</sub> on HEV-like vessels in the active phase of ulcerative colitis. 第96回日本病理学会総会, 2007.3.15, 大阪

[図書] (計3件)

1. Nakayama J, Furukawa K: Springer-Verlag, Tokyo, Experimental Glycoscience, 2008, pp50-52
2. Nakayama J: Springer-Verlag, Tokyo, Experimental Glycoscience, 2008, pp227-229
3. Kobayashi M, Fukuda M, Nakayama J: Elsevier, Oxford, Comprehensive Glycoscience, vol. 4, 2007, pp439-451

[その他]

ホームページアドレス

<http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/chair/i-1byori/default.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中山 淳 (NAKAYAMA JUN)

信州大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 10221459

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし