

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (B)
研究期間：2006～2008
課題番号：18390176
研究課題名 (和文) 尿中ジアセチルスペルミンの腫瘍マーカーとしての多能性および汎用性の研究
研究課題名 (英文) Studies on versatility and wide applicability of diacetylspermine in urine as tumor marker.
研究代表者 平松恭子 (HIRAMATSU KYOKO) 財団法人 東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・主任研究員 研究者番号：80181189

研究成果の概要：早期大腸癌に対して高い検出感度を示す新規腫瘍マーカー尿中ジアセチルスペルミンは、大腸癌以外の種々の悪性の疾患に対しても優れた腫瘍マーカーとなる可能性がある。この検査を早期がん検出可能ながん検診項目として開発することを目的として、病院の検査室等で簡便に測定できる自動化測定試薬を開発し、さらに、大腸癌における治療効果、予後予測判定指標、呼吸器癌・膵臓癌の診断指標として優れた特性をもつことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
総計	11,900,000	3,570,000	15,470,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：臨床検査、尿検査、腫瘍マーカー、ポリアミン

1. 研究開始当初の背景

ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) はポリアミンの1種である。ポリアミンは、細胞増殖因子の一つと考えられており、また 1970 年に米国でがん患者の尿中ポリアミン排泄量が増えることが報告されてから、腫瘍マーカーとして注目されるようになった。日本でも、いち早く、実用化のための研究が盛んに行われ、総ポリアミン量測定キットが開発され、1980 年代に腫瘍マーカーとして保険収載された。しかし、偽陽性、偽陰性が多いことが明らかになり、広く使われるようにはならなかった。私たちは、酵素を利用した HPLC

法による一斉分画測定法を開発し、これまで知られていた遊離およびモノアセチル体だけでなく、二つの一級アミノ基の両方がアセチル化された 2 種類の新規ポリアミン成分、ジアセチルスペルミジン (DiAcSpd) およびジアセチルスペルミン (DiAcSpm) を見いだした。この 2 成分を含む全 11 成分に関して、泌尿器領域の癌を対象として詳細に調べたところ、最も微量の成分である DiAcSpm が癌の病態との関連性が高く、腫瘍マーカーとして優れていることが明らかになった。

私たちは次に、DiAcSpm をより簡単に測定するために特異抗体の作成に着手し、高度に

特異的な抗 DiAcSpm 抗体の作製に成功して ELISA 法による測定法を開発することができた。この成功により検体処理能力が大きく向上し、DiAcSpm が前立腺がん、精巣腫瘍、大腸がん、乳がん等の種々のがんに対して有効な汎用腫瘍マーカーであることを明らかにすることができた。特に大腸癌は全症例に対する陽性検出率が 78%と高いだけでなく、ステージごとに陽性検出率を調べると、早期で既存のマーカー（CEA, CA19-9）ではほとんど検出出来ないステージにおいても 60%という高い感度があることが示された。

2. 研究の目的

私たちは、尿中ジアセチルスペルミン（DiAcSpm）検査の臨床的有用性を確立し、がん診療への利用、展開を実現することを目的として研究を進めている。特に DiAcSpm がこれまでは十分に有効なマーカーが知られていなかった種々の悪性疾患（脳腫瘍、膵臓癌など）を含めて各種のがんについて有効なマーカーとして機能すること（DiAcSpm の汎用性）、および検診にも適用可能な早期がん検出診断マーカーとしてだけでなく、治療効果の判定の指標、再発診断のマーカー、また病勢をよく反映する予後予測指標など、多くの点で優れた特徴を備えた腫瘍マーカーであること（DiAcSpm の多能性）を明確に示し、臨床応用への展望を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

駒込病院の各診療科の外来患者および入院患者から、尿検体を継続的に採取し、ジアセチルスペルミン（DiAcSpm）値の測定を行う。DiAcSpm の測定は、当初は、ELISA 法で測定を進めるが金コロイド法が完成した場合には、両者を比較検討して、金コロイド法に切り替える。また早期大腸がんの検出感度がよいので、検診に有効な可能性があることから、検診検体を集め検討する。DiAcSpm の測定には、患者の随時尿を採取し、NaN₃（終濃度 3mM）添加後、-20℃で凍結保存した尿検体を用いた。

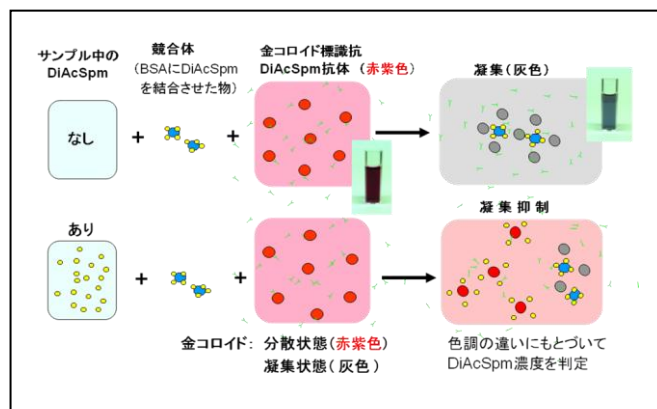
4. 研究成果

(1) 迅速測定法（金コロイド凝集法を用いた自動化試薬）の確立

ELISA 法は、研究室では一般的な方法だが、DiAcSpm 検査を臨床検査へ応用、普及するためには、自動化試薬を開発し、病院の検査室にある自動分析装置で迅速・簡便・正確に測定できる方法の開発が不可欠である。

そのような観点から本研究においては、金コロイド凝集法による DiAcSpm 測定法を開発した。この方法の原理は以下の通りである。金コロイドの表面に抗 DiAcSpm 抗体を吸着さ

せ、ウシ血清アルブミン（BSA）に多数の DiAcSpm 分子を化学修飾によって結合させた BSA-DiAcSpm 複合体を加えると、金コロイド粒子が凝集し、色調が赤紫色から灰色に変化する。この反応液中に検体を添加すると、もし検体中に DiAcSpm があれば、それが抗体に結合し、BSA-DiAcSpm 複合体の結合を妨害するために、結果的に金コロイド粒子の凝集は妨げられ、色調の変化が抑制される。凝集抑制は検体中の DiAcSpm 濃度が高いほど強いので、この色調変化の大きさに基づいて、DiAcSpm 濃度を判定することができる。



この金コロイド凝集法を用いた測定試薬の性能試験の結果は、以下の通りであった。①同時再現性 C.V. 1.1~2.5%②日差再現性 C.V. 1.1~5.3%③希釈直線性：3濃度を5段階希釈し2重測定した結果、原点を通る直線を得た。④添加回収試験：9濃度に、75.1nMを示す検体を9：1で混合した。回収率94~115%であった。⑤最小検出感度は5.4nM ELISA法との相関性：良好な相関を示した。

これらの結果は、この試薬が臨床検査用の試薬として十分な性能を示しており、この試薬を用いることによって一検体当たり、10分で測定可能になった。本方法が確立したことにより、検体処理能力が格段にアップし研究の範囲を広げることが可能になった。

(2) 大腸がん症例についての多面的な検討

予後因子および治療効果の指標としての DiAcSpm の性能の検討

都立駒込病院大腸外科で治療し経過観察を継続している大腸がん患者から、患者の同意を得て経時的に尿検体を採取し、新たに開発した金コロイド凝集法および従来の酵素免疫測定法（ELISA 法）を併用して尿中ジアセチルスペルミン値を測定した。患者の DiAcSpm 値が治療によってどう動くのかを考えるために、患者を治療前の DiAcSpm 値にしたがって、カットオフ値未満の grade 1 から、カットオフ値の 2 倍までの grade 2、3 倍までの grade 3、それ以上の grade 4 の 4 群に分類した。stage が高くなると grade が

高くなる傾向があるものの、DiAcSpm 値は、stage が低くても高い症例があり、逆に stage が高くても grade が低い症例があった。一方 CA19-9 は、stage III および IV の一部の症例のみで上昇し CA19-9 値が高い患者は、ほとんどが短期間で死亡する。このことは、一見 CA19-9 の方が優れたマーカーであることを示しているかに見えるが、このような症例は少数であるだけでなく DiAcSpm も同様に上昇している場合が多く、stage III および IV であっても DiAcSpm が低値にとどまる患者は下に述べるとおり、治療によく反応する傾向が認められた。細胞の分化度と DiAcSpm 値の相関性は、今後の課題である。

手術後 6 ヶ月の時点における DiAcSpm 値によって患者をもう一度同様にグループ分けし、手術前の測定値の分布と比較した。手術後 6 ヶ月の時点では、カットオフ値の 2 倍、3 倍を超える grade 3, 4 グループの割合が手術前より大きく減少し、カットオフ値未満の grade 1 グループが大きく増えていることがわかった。これは、治療有効例でこの間に DiAcSpm 値が下がったことを反映するものであろうと考え、この時点での各グループの患者について、手術後 6 ヶ月以降の生存曲線を作って比較したところ、カットオフ値の 3 倍を超える grade 4 グループの患者の予後は著しく不良であり、一方、全体の約 2/3 を占める grade 1 患者の予後は全体として非常に良好であった。このことは手術後 6 ヶ月の DiAcSpm 値が、治療効果の指標および術後のフォローアップにおける病勢の指標として有用であることを示している。

尿中 DiAcSpm 値と血清 CEA 値および患者の臨床経過とを照合比較しつつ検討を行った結果、多くの症例では再発および病勢の昂進に伴ってジアセチルスベルミンと CEA がともに増加したが、両者が乖離する症例においては、ジアセチルスベルミンが患者の病勢をよりよく反映した動きを示す傾向があることが示唆された。① 治療前の DiAcSpm レベルがカットオフ値の 3 倍を超えている場合は、カットオフ値未満の場合と比較して予後不良の危険が大きい。但し、治療後半年以内に正常化すれば、治療奏効と考えることができ、良好な予後が期待できる。② 治療前レベルがカットオフ値の 3 倍以内であれば、多くの場合、予後は良好と期待してよい。③ 一方、治療によって寛解状態に導かれた患者の場合には、担がん状態であっても、DiAcSpm が正常域にあればがんは活動度が低いと考えてよい。しかし、上昇傾向を見せたときは、再発、転移の可能性が高く、精査の必要があると考えられる。これは、以前、前立腺癌の症例においても確認されており、このような特性を持つ DiAcSpm は、治療効果の指標、術後のフォローアップにおける病勢の指標と

して、きわめて利用価値の高い腫瘍マーカーとなるのではないかと考えられる。

(3) 消化器系悪性疾患の診断マーカーとしての意義

都立駒込病院において治療を受けた膵臓がんの患者についても予備的な検討を開始した。その結果、この領域で現在最も多用されている既存のマーカー、CA19-9 と比較すると、0-IV 期の全症例では、ほぼ同等感度であった。しかし、CA19-9 が 0-III 期の膵臓がんにはほとんど検出能力を示さないのに対して、尿中 DiAcSpm は高い検出感度を示すことが明らかになった。膵臓がんは一般にきわめて予後の悪いがんであり、しかも早期発見が困難ながんであるが、III 期までに発見されれば外科的な切除が可能であり、3 年生存率、5 年生存率とも IV 期で発見されたがんよりも有意に高いことが知られている。膵臓がんに関しては、なお例数を重ねて詳細に検討する必要があるが、これらの結果は、尿中 DiAcSpm が汎用腫瘍マーカーとして、各種のがんの診断指標として優れた臨床的有用性をもつことを示す結果であると考えられる。

(4) 呼吸器外科領域の診断マーカーとしての意義

都立駒込病院および長野県立須坂病院の呼吸器外科において治療を受けた非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者 273 例について尿中ジアセチルスベルミン値を測定した。患者の 2/3 は I 期の肺癌であった。ジアセチルスベルミンの陽性率は腺がんに対しては CEA と同等であったが CYFRA より高く、一方、扁平上皮がんに対しては CYFRA と同等であったが CEA より有意に高かった。肺癌は、年々増加する傾向になり、男性の死亡率 1 位女性でも 2 位を占めている。早期には、無症状で発見されにくく、病期が進んでから発見されるため生存率が非常に低い。原発性肺癌について、既存マーカー CEA、SLX、CYFRA、SCC を組み合わせ使用した場合にも DiAcSpm 単独の陽性検出率の方が高かった。

さらに、尿中 DiAcSpm 値が喫煙習慣の影響を受けるかどうかについても検討したところ、喫煙は健常者の尿中 DiAcSpm レベルには全く影響しないことが明らかになった。今後は、肺癌スクリーニングへの応用の可能性も視野に入れて検討する。

(5) 健常者の尿中ジアセチルスベルミンレベルの検討

腫瘍マーカーとして診断の有効な指標とするためには、健常者の尿中排泄量について詳しく検討し、異常を判別するためのカットオフ値を正しく設定する必要がある。このような観点から、金コロイド凝集法による測定試薬の完成を機に、東京都の職員健康診断受診者の同意・協力を得て、健常者 (男性 954 名、女性 232 名) の尿検体の提供を受け、尿

中ジアセチルスペルミンレベルを測定した。その結果、カットオフ値を健常者平均値+2S.D.に設定する場合、男性については $0.107+0.087=0.194$ ($\mu\text{mol/g}$ クレアチニン)、女性については $0.138+0.098=0.236$ ($\mu\text{mol/g}$ クレアチニン)の値が得られ、健常者のジアセチルスペルミン値には男女の間に有意の差があることが明らかになった。このことは、今後の実用化の過程で留意すべきポイントの一つとして重要な意味をもつと考えられる。40代以上の男性については、年代別による検討を行うことができたが、有意な変化はなかった。まだ予備的なデータであるが、DiAcSpmの排泄量は、各個人に固有のレベルを中心に不規則な変動を示した。個人別日差変動(男性2名、女性7名)は、男性では比較的分動が小さく、排泄量が安定している傾向があった。女性の変動は、男性に比べやや大きい傾向があった。しかし、変動は、性周期との関連性は認められなかった(この測定に対しては血液の混入は影響がない)。

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6件)

- ① 江川直人, 平松恭子 (2番目), 高橋慶一 (8番目), 川喜田正夫 (12番目) ほか8名: 膀がんにおける尿中ジアセチルスペルミン陽性率の検討, 日本分子腫瘍マーカー研究会誌, 査読なし, 33-34(2009)
 - ② 川喜田正夫 (1番目), 平松恭子 (5番目) ほか3名: スポット尿による尿中ジアセチルスペルミン量の測定の妥当性の検討, 日本分子腫瘍マーカー研究会誌, 査読なし, 23, 42-43(2008)
 - ③ 柳谷真理, 平松恭子 (5番目), 高橋慶一 (6番目), 川喜田正夫 (7番目) ほか3名: 金コロイド凝集法を測定原理とする尿中ジアセチルスペルミン試薬の開発, 日本分子腫瘍マーカー研究会誌, 査読なし, 23, 44-45(2008)
 - ④ 川喜田正夫 (1番目), 平松恭子 (2番目), 高橋慶一 (3番目) ほか4名: 尿中腫瘍マーカーN1, N12-ジアセチルスペルミンの特性とその測定, 日本臨床検査自動化学会誌, 招待記事, 査読なし, 33, 141-144(2008)
 - ⑤ 川喜田正夫, 平松恭子: 大腸がん腫瘍マーカーとしてのN1, N12-ジアセチルスペルミン, 検査と技術, 招待記事, 査読なし, 36, 457-459(2008)
 - ⑥ Kawakita, M., Hiramatsu, K.: Diacetylated Derivatives of Spermine and Spermidine as Novel Promising Tumor Markers. J. Biochem., 査読有り, (2006)139, 315-322,
- [学会発表] (計30件)
- ① 川喜田正夫, 腫瘍マーカーとしてのポリアミン: 分析と臨床の二人三脚, 日本ポリアミン研究会 第23回研究発表会, 2009.1.22-23, 大阪
 - ② 平松恭子, 健常者の尿中N1, N12-ジアセチルスペルミンレベルの検討, 日本ポリアミン研究会 第23回研究発表会, 2009.1.22-23, 大阪
 - ③ 坂口幸治, 平松恭子, 川喜田正夫, : 非小細胞肺癌における尿中ジアセチルポリアミン測定の意義. 日本ポリアミン研究会 第22回研究発表会, 2008.1.24-25, 熊本.
 - ④ 鈴木健太, 平松恭子, 川喜田正夫, : スペルミジンN8-アセチル化酵素の測定系の検討. 日本ポリアミン研究会 第22回研究発表会, 2008.1.24-25, 熊本.
 - ⑤ Sakaguchi, K., M. Hiramatsu, Kawakita, M. : N1, N12-Diacetylspermine as a tumor marker for non-small cell lung cancers (NSCLC). 2008 ASCO (American Society of Clinical Oncology) 44th Annual Meeting, 2008.5.30-6.3, Chicago, USA
 - ⑥ 高橋慶一, 平松恭子, 川喜田正夫: 大腸癌術後患者に対する尿中ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) の予後予測能と実用化に向けての検討. 第108回日本外科学会定期学術集会 2008.5.16.長崎
 - ⑦ Takahashi, K., Hiramatsu, K., Kawakita, M., : Urine di-acetylspermine (DiAcSpm) as a new prognostic marker for colorectal cancer. 2008 ASCO (American Society of Clinical Oncology) 44th Annual Meeting, 2008.5.30-6.3, Chicago, USA.
 - ⑧ Sakaguchi, K., Hiramatsu, K., Kawakita, M., : N1, N12-Diacetylspermine as a Tumor Marker for Non-small Cell Lung Cancers. 1st ESMO European lung cancer Conference, 2008.4.23-26, Geneva, Switzerland.

- ⑨ Hiramatsu, K., Kawakita, M., :Urinary N1,N12-diacetylspermine: Clinical significance and high throughput determination. Polyamines. Forty years of mammalian ornithine decarboxylase, 2008. 6. 26-30, , Kuopio, Finland.
- ⑩ Yanagiya, M., Hiramatsu, K., Kawakita, M., : Determination of the urinary N1,N12-diacetylspermine based on colloidal gold aggregation system using monoclonal antibody. (AACC) American Association for Clinical Chemistry, 2008. 7. 27-31, Washington DC, USA.
- ⑪ 江川直人, 平松恭子, 川喜田正夫, :尿中ジアセチルスペルミンの膵癌腫瘍マーカーとしての可能性. 第39回日本膵臓学会大会, 2008, 7. 30-31, 東京.
- ⑫ Takahashi, K., Hiramatsu, K., Kawakita, M., :Urine N1N12-di-acetyl spermine (DiAcSpm) as a novel cancer marker for colorectal cancer. XXII Biennial Congress of the International Society of University Colon & Rectal Surgeons, 2008. 9. 13-17, San Diego, USA.
- ⑬ 江川直人, 平松恭子, 川喜田正夫, :膵がんにおける尿中ジアセチルスペルミン陽性率の検討. 第28回日本分子腫瘍マーカー研究会, 2008. 10. 27. 名古屋.
- ⑭ 坂口幸治, 平松恭子, 川喜田正夫, :原発性肺癌における尿中ジアセチルスペルミン測定の意味. 第49回日本肺癌学会総会, 2008. 11. 13-14. 小倉.
- ⑮ 平松恭子, 高橋慶一, 川口真視, 相羽庸子, 坂口政吉, 玉森佳子, 山口達郎, 柳谷真理, 小坂美恵子, 森武生, 川喜田正夫: 大腸がん患者の経過観察における尿中ジアセチルスペルミン測定の意味. 日本ポリアミン研究会第21回研究発表会, 2007. 1. 25-26, 東京.
- ⑯ 柳谷真理, 小坂美恵子, 榎本昌泰, 平松恭子, 高橋慶一, 川喜田正夫: 金コロイド凝集法を測定原理とする尿中ジアセチルスペルミン測定試薬の開発. 日本ポリアミン研究会第21回研究発表会, 2007. 1. 25-26, 東京.
- ⑰ 高橋慶一, 平松恭子, 山口達郎, 松本寛, 安留道也, 中野大輔, 森武生, 川喜田正夫: 大腸癌術後患者に対する尿中ジアセチルスペルミン測定の意味. 第46回都立病院外科研究会, 2007. 06. 15, 東京.
- ⑱ 高橋慶一, 平松恭子, 山口達郎, 松本寛, 安留道也, 森武生, 川喜田正夫: 大腸癌患者における便潜血陽性率と尿中ジアセチルスペルミン陽性率の比較. 厚生労働省中森班第1回班会議, 2007. 7. 25, 大阪.
- ⑲ Sakaguchi, K., Hiramatsu, K., Kawakita, M., :N1,N12-Diacetylspermine (DiAcSpm) as a Tumor Marker for Non-Small Cell Lung Cancers. 12th World Conference on Lung Cancer 2007. 9. 2. ~9. 6. Korea
- ⑳ Takahashi, K., Hiramatsu, K., Kawakita, M., :Urine di-acetyl spermine (DiAcSpm) as a new prognostic marker for colorectal cancer. 第11回アジア大腸肛門病学会 2007. 9. 20-22, 大阪.
- ㉑ 川喜田正夫, 平松恭子, 高橋慶一, :尿中腫瘍マーカー-N1, N12-ジアセチルスペルミンの特性とその測定. 日本臨床検査自動化学会第39回大会 2007. 9. 26~28, 横浜.
- ㉒ 柳谷真理, 平松恭子, 高橋慶一, 川喜田正夫, :金コロイド凝集法を測定原理とする尿中ジアセチルスペルミン試薬の開発. 第27回日本分子腫瘍マーカー研究会 2007. 10. 2, 東京.
- ㉓ 川喜田正夫, 平松恭子 スポット尿による尿中ジアセチルスペルミン量の測定の妥当性の検討. 第27回日本分子腫瘍マーカー研究会 2007. 10. 2, 東京.
- ㉔ 高橋慶一, 川喜田正夫, 平松恭子: 大腸癌術後患者に対する尿中ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) の予後予測について. 第45回日本癌治療学会総会 2007. 10. 24~26, 京都.
- ㉕ 平松恭子, 川喜田正夫, :大腸がん患者の経過観察における尿中ジアセチルスペルミン測定の意味. 第30回日本分子生物学会年次会・第80回生化学会大会・合同大会 2007. 12. 11~15, 横浜.
- ㉖ Hiramatsu, K., Takahashi, K., Kawaguchi, M., Aiba, Y., Tamamori, Y., Yamaguchi, T., Mori, T., Kawakita, M., : Prognosis of colorectal cancer patients and N1,N12-Diacetylspermine in their urine. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 2006. 6. 18~23 Kyoto, Japan

- ⑳ Hiramatsu, K., Takahashi, K., Kawaguchi, M., Aiba, Y., Sakaguchi, M., Tamamori, Y., Yamaguchi, T., Mori, T., Kawakita, M.: N1,N12-diacetylspermine in the urine of cancer patients. International Conference on the Role of Polyamine and Their Analogs in Cancer and Other Diseases, 2006.9.10 ~ 14 Tivoli (Rome), Italy
- ㉑ 川喜田正夫, 平松恭子, 高橋慶一, 川口真視, 相羽庸子, 玉森佳子, 森 武生: 大腸がんの尿中ジアセチルスペルミン値と患者の予後. 第 26 回日本分子腫瘍マーカー研究会 2006.09.27 横浜
- ㉒ 高橋慶一, 平松恭子, 山口達郎, 松本 寛, 安留道也, 森 武生, 川喜田正夫: 大腸癌術後患者に対する尿中ジアセチルスペルミンの予後予測について. 平成 18 年度厚生労働省中森班第 2 回班会議 2006.11.29 大阪
- ㉓ 坂口幸治, 堀尾裕俊, 平松恭子, 高橋慶一, 山本 学, 川喜田正夫: 非小細胞肺癌における尿中ジアセチルポリアミン測定の意義. 第 47 回日本肺癌学会総会 2006.12.15 京都

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)
名称: 尿中成分の免疫学的測定方法およびそれに用いるための試薬
発明者: 川喜多 正夫, 平松 恭子, 高橋 恵一, 柳谷 真理, 小坂 恵美子
権利者: 財団法人 東京都医学研究機構、高橋 慶一、アルフレッサファーマ株式会社
種類: 特許権
番号: 特願 2006-282278
出願年月日: 平成 18 年 10 月 17 日
国内外の別: PCT

[その他]

ホームページ
<http://www.rinshoken.or.jp/index2.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平松恭子 (HIRAMATSU KYOKO)
財団法人 東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・主任研究員
研究者番号: 80181189

(2) 研究分担者

川喜田 正夫 (KAWAKITA MASAO)
(2006 年度・2007 年度)
工学院大学・工学部・教授
研究者番号: 00012740

(3) 連携研究者

川喜田 正夫 (KAWAKITA MASAO)
(2008 年度)
工学院大学・工学部・教授
研究者番号: 00012740