

機関番号： 32620
 研究種目： 基盤研究（C）
 研究期間： 2008～2011
 課題番号： 20590964
 研究課題名（和文） ネフローゼ発症に関わる糸球体構成細胞間シグナル伝達機構の解明
 研究課題名（英文） Understanding of cross-talk between glomerular cells in health and disease.
 研究代表者
 栗原 秀剛（KURIHARA HIDETAKE）
 順天堂大学・医学部・先任准教授
 研究者番号： 80311976

研究成果の概要（和文）：

腎糸球体は足細胞、内皮細胞およびメサンギウム細胞により構成されており、協調して糸球体濾過を行っている。しかしながら、これら細胞間のシグナル伝達系については不明な点が多い。我々は脱リン酸化能を持つ SHP-2 を膜にリクルートする SIRP- α が足細胞特異的に発現していることを見いだした。そのリガンドである CD47 はメサンギウム細胞に発現しており、メサンギウム細胞が障害を受けた時、CD47 は細胞から遊離して足細胞の SIRP- α に結合することで細胞傷害のシグナルを伝達する役割を担っていることが分かった。

研究成果の概要（英文）：

Renal glomerulus is consisted with endothelial cells, podocytes and mesangial cells. These cells cooperate with each other for glomerular filtration; however, the intercellular signaling molecules between glomerular cells are not fully determined. We demonstrate that SIRP- α , which recruits a broadly distributed tyrosine dephosphorylase SHP-2 to the plasma membrane, is located in podocytes. CD47, a ligand for SIRP- α , is located along the plasma membrane of mesangial cells, but not on podocytes. CD47 binds to the extracellular domain of SIRP- α when mesangial cells are injured. The data suggest that the CD47-SIRP- α interaction may be functionally important in cell-cell communication in the diseased glomerulus.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：足細胞、スリット膜、シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

腎糸球体は毛細血管を構成する糸球体内皮細胞と血管を外から取り巻く糸球体足細胞および毛細血管の間の間質にあるメサン

ギウム細胞からなる。糸球体が複雑な形態を維持し、濾過機能を絶え間なく続けていくためには、これらの細胞が協調して機能することが重要である。このバランスの破綻は蛋白

尿の漏出を引き起こし、ネフローゼへと進展する。

研究代表者らは、これまでに Thy1.1 腎炎モデルを用いて糸球体毛細血管の再構築について詳細に検討し、メサンギウム細胞が糸球体毛細血管網の形成に重要な働きをしていること (Notoya et al. *Kidney Int* 2003, Ichimura et al. *J Histochem Cytochem* 2006) および足細胞とメサンギウム細胞の傷害が相乗的に働いて糸球体硬化を引き起こすことを報告している (Shinosaki et al. *Exp Nephrol* 2002)。また、Thy1.1 抗体を用いてメサンギウム細胞を傷害する Thy1.1 腎炎モデルにおいて蛋白尿がピークとなる時期に一致して足細胞に傷害マーカーと考えられるデスミンの発現上昇が認められることを見いだしている。これらの研究を続ける中で、ネフローゼ発症進展時に糸球体を構成する細胞間に何らかの情報の受け渡しがあるのではないかと考えた。我々は足細胞傷害事に多くのスリット膜蛋白がチロシンリン酸化を受けることを見いだしている。このリン酸化を指標として足細胞とメサンギウム細胞の間でのシグナル伝達分子を明らかにすべく研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では SIRP α -CD47 系が足細胞の形態変化にどのような影響を及ぼすかについて病態モデル動物と新たに開発したラット糸球体構成細胞の不死化培養株を用いて以下の項目について研究を展開する。

- 1) 種々の病態モデルを用いてシグナル伝達系解析システムの構築をする。
- 2) 糸球体構成細胞の不死化培養株を用いて *in vitro* 傷害モデルを作製し、*in vitro* でのシグナル伝達系解析システムを構築する。
- 3) *in vivo* および *in vitro* モデルを用いて細胞間シグナル伝達にかかわる分子群を同定

する。

4) *in vivo* および *in vitro* モデルで得られた所見をもとに細胞間シグナル伝達のメカニズムの解析と種々の薬剤の効果を検討する。以上の研究により、糸球体内で起こる異常が足細胞にどのように伝わるか、さらにそれに関わる分子について理解が進むものと期待している。この研究は糸球体構成細胞間のクロストークという新しい概念を提唱する分子基盤を提供するものであり、そこで得られた成果をもとに、さらに *in vivo* で解析を進めることで蛋白尿発症時に認められる足細胞の形態変化についてもより理解が進み、臨床診断の面でも有益である。

3. 研究の方法

本研究においては、SIRP α の局在について凍結超薄切片による免疫電顕を行い、その詳細な局在を正常とさまざまな病態モデルを用いて解析する。また、SIRP α のリン酸化状態は脱リン酸化酵素の SHP2 との結合に影響を与えることから、SIRP α と SHP2 両者のリン酸化状態と局在の変化を特異的なリン酸化抗体 (リン酸化 SIRP α についてはすでに作成済み、リン酸化 SHP2 は市販のものを購入) でイムノブロット法と免疫組織化学法の両面から解析を行う。

SIRP α のリガンドである CD47 がメサンギウム細胞に発現していることを見いだしている。そこで、メサンギウム細胞を特異的に傷害する Thy1.1 腎炎モデルを用いて、CD47 のメサンギウム細胞での発現の変化をイムノブロット法と免疫組織化学法により解析するとともに、Thy1.1 モデルにおける足細胞 SIRP α のリン酸化の変化についてリン酸化特異抗体で検討する。さらに、傷害されたメサンギウム細胞から遊離した CD47 が足細胞へ到達し情報を伝える可能性があり、メサンギウム細胞傷害を起こした後、経時的

に試料を採取し、免疫電顕法により CD47 の行方をモニターすることが可能かどうか検討する。

免疫沈降法により SIRP α と共沈するスリット膜分子を詳細に検討する。これまでのプレリミナリーな解析からスリット膜分子ネフリンが候補として考えられるため、SIRP α と SHP2 のリン酸化変化がネフリンのリン酸化にどのような影響を及ぼすかについて強制発現細胞系を用いて詳細に検討する。

4. 研究成果

1) 研究代表者らはメサングウム細胞を特異的に認識するモノクローナル抗体 E30 をラットに投与することにより Thy1.1 腎炎が惹起されることを報告している。この実験モデルを用いることにより、メサングウム細胞が補体依存的に傷害された後に SIRP α のリン酸化に変化があるかどうかを免疫沈降法とイムノブロット法により解析した結果、E30 抗体投与後、メサングウム細胞が消失する day1 に著しい SIRP α の脱リン酸化が起こることを見いだした。足細胞膜表面でメサングウム細胞から遊離した CD47 のシグナルを免疫電顕で観察しており、CD47 が SIRP α に結合して脱リン酸化を引き起こしている可能性を強く示唆した。また、CD47 のメサングウム細胞での発現は増殖細胞で低下していることも明らかになった。

2) Thy1.1 腎炎モデルにより傷害されたメサングウム細胞より遊離した CD47 が足細胞底部膜の endocytotic pits に結合することに加え、そこには SIRP α も同時に局在することを免疫電顕により明らかにした。

3) SIRP α -CD47 系が足細胞の形態変化にどのような影響を及ぼすかについて病態モデル動物を用いて解析した。硫酸プロタミン (PS) で腎臓を灌流することでスリット膜領域の分子がチロシンリン酸化を受けること

を見いだしており、このモデルを用いて足細胞に発現する SIRP α のチロシンリン酸化の変化をリン酸化特異抗体 (東大医科研と共同で作成 Y501)を用いて調べた結果、PS灌流により SIRP α のチロシンリン酸化が著しく低下することが分かった。それに反して、スリット膜分子ネフリンは強くチロシンリン酸化が起こる。SIRP α はネフリンと直接結合することが判明したことから、SIRP α の脱リン酸化により SHP2 が膜から遊離することでネフリンのリン酸化を促進している可能性が示唆された。SHP1/2 の阻害剤を用いた実験により、ネフリンのリン酸化は SIRP α が膜にリクルートする SHP1/2 によって制御されていることが明らかとなった。さらに、足細胞傷害を起こす PAN腎症モデルにおいて SIRP α は蛋白尿が認められる時期に一致して脱リン酸化することが分かった。SIRP α の発現量は PAN腎症モデルでは一定であった。

4) SIRP α は脱リン酸化酵素である SHP1/2 を細胞膜にリクルートする働きがある。しかしながら、足細胞において SHP1/2 がどのような局在をしているかは明らかではない。糸球体における SHP1/2 の局在を明らかにし、SIRP α との関係性を詳細に解析した結果、SHP1 は糸球体メサングウムにある一部の細胞に発現していた。一方、SHP2 は糸球体基底膜に沿った局在を示しており、足細胞マーカーを用いた検討により、SHP2 は足細胞に発現していることを確認した。さらに、SHP2 と SIRP α との共局在を調べた結果、両分子の局在は完全に一致していた。また、正常ラットにおいて SHP2 はリン酸化されており、Thy1.1 腎炎モデルを用いてメサングウム細胞傷害を惹起した後、脱リン酸化されることを見いだした。

本研究の内容は国内の学会はもとより、もっとも権威がある米国腎臓学会と米国細胞

生物学会で発表する機会を与えられ、学会で高い評価を得た。また、糸球体における新しいシグナル伝達系を見いだしたとして評価され、米国生理学会誌に論文が掲載された。さらに、SIRP α がスリット膜分子ネフリンと直接結合し、リン酸化調節因子として役割を果たしていることについても論文にまとめ、英文誌に投稿中である。

今後は、この研究をさらに発展させ、SIRP- α -CD47系が濾過機能にどのような役割を担っているかノックアウトマウス等の解析を行う予定である。また、本研究で見いだされた結果を基に新たな創薬のシーズの開発についても企業と連携を図っていく予定である。

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 20 件)

- ① Withanage Kanchanamala, Nakagawa K, Ikeda M, Kurihara H, Kudo T, Yang Z, Sakane A, Sasaki T, Hata Y: Roles of RASSF6 and the Hippo pathway in the sorbitol-induced apoptosis of renal proximal tubular epithelial cells. J Biochem, 査読有, 2012, in press
- ② Kusaba G, Ohsawa I, Ishii M, Inoshita H, Takagi M, Tanifuji C, Takahashi K, Nakamoto J, Yoshida M, Ohi H, Horikoshi S, Kurihara H, Tomino Y: Significance of broad distribution of electron-dense deposits in patients with IgA nephropathy. Med Mol Morphol, 査読有, 45(1), 2012, 29-34
- ③ Matsushita S, Kurihara H, Watanabe M, Okada T, Sakai T, Amano A: Inhibition of connexin43 dephosphorylation is involved in protective effects of diltiazem on cardiac

function during hypoxic injury. Histol Histopathol, 査読有, 26, 2011, 315-322

- ④ Kaufman L, Porla U, Coleman S, Dikiy S, Hata Y, Kurihara H, He JC, D'Agati VD, Klotman PE: Upregulation of the homophilic adhesion molecule sidekick-1 in podocytes contributes to glomerulosclerosis. J Biol Chem, 査読有, 285(33), 2010, 25677-25685
- ⑤ Kurihara H, Harita Y, Ichimura K, Hattori S, Sakai T: SIRP-alpha-CD47 system functions as an intercellular signal in renal glomerulus. Am J Physiol Renal Physiol, 査読有, 299(3), 2010, F517-527
- ⑥ Ichimura K, Kurihara H, Sakai T: Primary cilia disappear in rat podocytes during glomerular development. Cell Tissue Res, 査読有, 341, 2010, 197-209
- ⑦ Furuhashi A, Sueyoshi N, Kurihara H, Sakamoto K, Kamano T, Hino O: Rapid multiple immunocytochemical staining method using microwave irradiation for intraoperative cytology. Acta Cytol, 査読有, 54(3), 2010, 283-90
- ⑧ Ichimura K, Kurihara H, Sakai T: Beta-cytoplasmic actin localization in vertebrate glomerular podocytes. Arch Histol Cytol, 査読有, 72(3), 2009, 165-17
- ⑨ Qin X-S, Tsukaguchi H, Shono A, Yamamoto A, Kurihara H, Doi T: Phosphorylation of nephrin triggers its internalization by raft-mediated endocytosis. J Am Soc Nephrol, 査読有, 20(12), 2009, 2534-2545
- ⑩ Kobayashi T, Notoya M, Shinosaki T, Kurihara H: Cortactin interacts with podocalyxin and mediates morphological change of podocyte through its

phosphorylation. *Nephron Exp Nephrol*, 査読有, 113, 2009, e89-e96

⑪ Takabatake Y, Sugiyama T, Kohara H, Matsusaka T, Kurihara H, Koni PA, Nagasawa Y, Hamano T, Matsui I, Kawada N, Imai E, Nagasawa T, Rakugi H, Isaka Y: The CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 axis is essential for the development of renal vasculature. *J Am Soc Nephrol*, 査読有, 20, 2009, 1714-1723

⑫ Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Tezuka T, Sekine T, Igarashi T, Ohsawa I, Ohta S, Hattori S: Phosphorylation of nephrin triggers Ca²⁺ signaling by recruitment and activation of phospholipase c-gamma1. *J Biol Chem*, 査読有, 284(13), 2009, 8951-8962

⑬ Ichikawa N, Iwabuchi K, Kurihara H, Ishii K, Kobayashi T, Sasaki T, Hattori N, Mizuno Y, Hozumi K, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E: Critical role of ganglioside GM1 clustering in Laminin-1 induced neurite outgrowth signaling in PC12 cell and DRG neuron. *J Cell Sci*, 査読有, 122, 2009, 289-299

⑭ Hirose T, Satoh D, Kurihara H, Kusaka C, Hirose H, Akimoto K, Matsusaka T, Ichikawa I, Noda T, Ohno S: An Essential Role of the Universal Polarity Protein, aPKCλ, on the Maintenance of Podocyte Slit Diaphragms. *PLoS ONE*, 査読有, 4(1), 2009, e4194

⑮ Shibata S, Nagase M, Yoshida S, Kawarazaki W, Kurihara H, Tanaka H, Miyoshi J, Takai Y, Fujita T: Modification of mineralocorticoid receptor function by Rac1 GTPase: implication in proteinuric kidney disease. *Nat Med*, 査読有, 14, 2008,

1370-1376

⑯ Nakajima A, Kurihara H, Yagita H, Okumura K, Nakano H: Mitochondrial extrusion through the cytoplasmic vacuoles during cell death. *J Biol Chem*, 査読有, 283, 2008, 24128-24135

⑰ Kurebayashi N, Nishizawa H, Nakazato Y, Kurihara H, Matsushita S, Daida H, Ogawa Y: Aberrant cell-to-cell coupling in Ca²⁺-overloaded guinea pig ventricular muscles. *Am J Physiol Cell Physiol*, 査読有, 294(6), 2008, C1419-29

⑱ Ichimura K, Stan RV, Kurihara H, Sakai T: Glomerular endothelial cells form diaphragms during development and pathologic conditions. *J Am Soc Nephrol*, 査読有, 19, 2008, 1463-1471

⑲ Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Sekine T, Igarashi T, Hattori S: Tyrosine Phosphorylation of the kidney slit diaphragm component Neph1 and its modulation of intracellular signaling by binding with Grb2. *J Biol Chem*, 査読有, 283(14), 2008, 9177-9186

⑳ Iwabuchi K, Prinetti A, Sonnino S, Mauri L, Kobayashi T, Ishii K, Kaga N, Murayama K, Kurihara H, Nakayama H, Yoshizaki F, Takamori K, Ogawa H, Nagaoka I: Involvement of very long fatty acid-containing lactosylceramide in lactosylceramide-mediated superoxide generation and migration in neutrophils. *Glycoconj J*, 査読有, 25(4), 2008, 357-74

[学会発表] (計 27 件)

1. 脇田春彦、西尾亮太、栗原秀剛、坂井建雄: 糸球体足細胞におけるmyosinIIAの局在とその機能的意義について、ポスター、第117回日本解剖学会総会・全国学術集会(甲府)

(2012年3月28日) 優秀賞 受賞

2. Miura K, Kurihara H, Chikamoto H, Hattori M, Sasaki S, Igarashi T, Sekine T: Nonmuscle myosin heavy chain IIA encoded by MYH9 is localized in the primary processes of podocytes and its expression is significantly decreased in human FSGS. American Society of Nephrology Renal week 2010. (Denver) (2010年11月20日)

3. Nakayama H, Kurihara H, Prinetti A, Sonnino* S, Masuda H, Iwahara* C, Takamori K, Ogawa H, Iwabuchi K: The disruption of LacCer-enriched membrane microdomains-mediated signaling by pathogenic mycobacteria. The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), Chiba, (2010年8月1日)

4. 佐藤大輔、張田 豊、大門主税、栗原秀剛、廣瀬智威、大野茂雄: スリット膜のターンオーバー制御を担う分子機構の解明: aPKC-Par複合体を介したnephrinの細胞膜局在制御、口演 第54回日本腎臓学会学術総会(横浜)(2011年6月17日) 優秀演題賞 受賞

5. Ichimura K, Kurihara H, Sakai T: Expression of primary cilia in rat mesangial cells. 第116回日本解剖学会総会・全国学術集会(横浜)(2011年3月29日)

6. 里史明、船山学、佐藤栄人、斉木臣二、栗原秀剛、服部信孝: 家族制パーキンソン病原因遺伝子; ATP13A2 遺伝子発現抑制は神経細胞死を引き起こす、ポスター 第33回日本分子生物学会年会および第83回日本生化学会大会合同大会(神戸)(2010年12月8日)

7. 栗原秀剛、坂井建雄: 糸球体足細胞におけるスリット膜の分子構築について、口演 第

53回日本腎臓学会学術総会(神戸)(2010年6月17日) 優秀演題賞 受賞

8. 張田豊、松長敦子、鶴見晴子、神田祥一郎、栗原秀剛、関根孝司、五十嵐隆、服部成介: 新規スリット膜構成分子SIRP-alphaはNephrinと結合し、そのリン酸化を負に制御する、口演 第53回日本腎臓学会学術総会(神戸)(2010年6月17日)

9. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄: メサンギウム細胞における一次線毛の存在~連続超薄切片法による検討~、ポスター 第53回日本腎臓学会学術総会(神戸)(2010年6月16日)

10. 三浦健一郎、関根孝司、掘田茂、近本裕子、服部元史、國島伸治、栗原秀剛、佐々木聡、五十嵐隆: 免疫組織染色によるMYH9と蛋白尿発症との関連性についての検討、第53回日本腎臓学会学術総会(神戸)(2010年6月16日)

11. 栗原秀剛: 糸球体足細胞におけるスリット膜構造の成立について、口演 第115回日本解剖学会総会(盛岡)(2010年3月30日)

12. Kurihara H, Ichimura K, Sakai T: SIRP-alpha-CD47 system functions as an emergency signal in renal glomerulus. 49th Annual Meeting of the American Society of Cell Biology (San Diego) (2009年12月6日)

13. Kaufman L, Potla U, Hata Y, Kurihara H, He JC, D'Agati VD, Klotman PE: Upregulation of the Homophilic Adhesion Molecule Sidekick-1 in Podocytes Contributes to Glomerulosclerosis. American Society of Nephrology Renal week 2009. (San Diego) (2009年10月30日)

14. Harita Y, Matsunaga A, Tsurumi H, Kanda S, Sekine T, Igarashi T, Hattori S, Kurihara H: SIRP- α Co-Localizes with Nephrin at the Podocyte Slit Diaphragm,

and Modulates Nephrin Tyrosine Phosphorylation. American Society of Nephrology Renal week 2008. (San Diego) (2009年10月29日)

15. 栗原秀剛 : SIRP- α -CD47系の腎糸球体における発現、第40回日本臨床分子形態学会学術集会(神戸) (2009年9月5日)

16. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄 : 糸球体足細胞における1次線毛の消失、第52回日本腎臓学会学術総会(横浜) (2009年6月4日)

17. 廣瀬智威、佐藤大輔、栗原秀剛、日下智保、廣瀬博子、秋本和憲、松阪泰二、市川家國、伊藤秀一、野田哲生、大野茂雄 : 腎糸球体ポドサイトのスリット膜維持の新しい分子機構: 細胞極性制御系aPKC-PAR系の役割、第52回日本腎臓学会学術総会(横浜) (2009年6月4日)

18. 張田豊、栗原秀剛、関根孝司、五十嵐隆、大澤郁朗、太田成男、服部成介 : Nephrinのチロシンリン酸化はPLC- γ 1を介し細胞内Ca²⁺濃度を上昇させる、第52回日本腎臓学会学術総会(横浜) (2009年6月4日)

19. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄 : 糸球体足細胞における1次線毛の消失、第114回日本解剖学会総会・全国学術集会(岡山) (2009年3月29日)

20. Kurihara H, Harita Y, Ichimura K, Hattori S, Sakai T: SIRP-alpha-CD47 system functions as an emergency signal in renal glomerulus. The 7th International Podocyte Conference (Toronto,) (2008年6月4日)

21. Harita Y, Kurihara H, Sekine T, Igarashi T, Ohsawa I, Ohta S, Hattori S: Recruitment and activation of PLC-gamma by phosphorylation of nephrin: a new insight into a link between slit diaphragm

and calcium signaling. The 7th International Podocyte Conference (Toronto) (2008年6月4日)

22. Hirose T, Sato D, Kurihara H, Akimoto K, Matsusaka T, Ichikawa I, Noda T, Ohno S: The cell polarity protein, aPKC λ , plays a critical role on the maintenance of podocyte slit diaphragm. The 7th International Podocyte Conference (Toronto) (2008年6月4日)

23. 高島義嗣、猪阪善隆、杉山立樹、栗原秀剛、松阪泰二、長澤丘司: ケモカインSDF-1およびその受容体CXCR4の腎血管形成における役割、第51回日本腎臓学会学術総会(福岡) (2008年5月31日)

24. 栗原秀剛、市村浩一郎、坂井建雄 : 足細胞の微絨毛形成に関わる分子群の解析(福岡) 第51回日本腎臓学会学術総会(福岡) (2008年5月30日)

25. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄 : 糸球体足細胞におけるアクチンアイソフォームの局在様式、第51回日本腎臓学会学術総会(福岡) (2008年5月30日)

26. 栗原秀剛、市村浩一郎、坂井建雄 : 糸球体足細胞における微絨毛形成に関わる分子群の解析、第113回日本解剖学会総会・全国学術集会(大分) (2008年3月27日)

27. 市村浩一郎、栗原秀剛、坂井建雄 : 糸球体足細胞におけるアクチンアイソフォームの局在様式、第113回日本解剖学会総会・全国学術集会(大分) ((2008年3月27日)

[図書] (計4件)

①栗原秀剛 : 腎の解剖学的特性-overview、所収: 日本小児腎臓病学会編「小児腎臓病学」、東京、診断と治療社、p3-8、2012、460頁

②栗原秀剛 : 腎糸球体足細胞スリット膜の分子解剖学、所収: 日本臨床分子形態学会編「病気の分子形態学」、東京、学際企画、2011、

p212-214、370 頁

③栗原秀剛：泌尿器系、所収：坂井建雄、川上速人 監訳 「ジュンケイラ組織学」第3版、東京、丸善、pp353-368、2011、498 頁

④Kurihara H: Molecular dissection of slit diaphragm in podocyte, in Cell adhesion molecules in the kidney. Edited by Narita I et al., KOKO-DO, Niigata, 1-12, 2010、48P

〔産業財産権〕

○取得状況（計1件）

名称：体依存性細胞障害を抑制するモノクローナル抗体

発明者：栗原秀剛、篠崎俊宏、小林樹雄

権利者：塩野義製薬（株）

種類：特許

番号：第4176214号

取得年月日：2008年8月29日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗原 秀剛 (KURIHARA HIDETAKE)

順天堂大学・医学部・前任准教授

研究者番号：80311976

(2) 研究分担者

坂井 建雄 (SAKAI TATSUO)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：90114488

市村 浩一郎 (ICHIMURA KOICHIRO)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：10343485