

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月10日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390117

研究課題名(和文) 血清中のアルブミンに結合した疾患関連タンパク質・ペプチド分析法の確立と応用

研究課題名(英文) Establishment and application of the strategies for the discovery of biomarker proteins and peptides including species bound to albumin in serum/plasma

研究代表者

小寺義男 (KODERA YOSHIO)

北里大学・理学部物理学科・准教授

研究者番号：60265733

研究成果の概要(和文)：血清中のアルブミン等のキャリアプロテインに結合したペプチドを効率よく抽出する方法を確立し、血清中の組織由来成分を含む数 ng/mL の微量ペプチドを分析できることを示した。さらに、本抽出法を LC-MS に最適化し、LC-MS を組み合わせて 2 種類の腎細胞癌マーカー候補の探索に成功した。タンパク質を対象とした研究では、従来のアルブミン/IgG 除去法では抽出出来ないタンパク質を含む成分を 3 つに分画する方法を開発した。この方法を用いて腎細胞癌マーカー候補タンパク質の探索を開始し、初歩的なデータの取得に成功した。

研究成果の概要(英文)：We developed a differential solubilization (DS) method to extract low-molecular-weight proteins/peptides containing many peptides bound to carrier proteins such as albumin in serum with good reproducibility and yield. Using the DS method we performed high-quality comparative analyses of more than 1500 peptides from 1 μ L of serum samples. Furthermore, we optimized the DS method to selectively enrich peptides less than 6 kDa. The modified DS method was combined with LC-MS and Two candidate peptides of renal cell carcinoma were discovered.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2011年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2012年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

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：臨床検査医学，血中診断マーカー

1. 研究開始当初の背景

プロテオーム解析の流行に伴い、2000年初頭から国内でも数多くの研究グループが血清中の診断マーカータンパク質の探索を目指して研究を進めてきた。しかし、新たなマーカーシーズを探索することなく撤退したグループも多い。この原因は、血清の分析が他の組織、臓器などに比べて非常に難しく

メーカーの提案する通り一遍の方法では競争力をもてないこと。さらには、マーカー候補を見つけても、真に診断法確立を目指すためには技術開発と臨床医・検査部を含めた密接な共同研究体制が必要である。

研究代表者は理学部物理学科に所属し、北里大学理学部附属疾患プロテオミクスセンターのセンター長ならびに千葉大学医学部

附属病院の検査部を母体とした疾患プロテオミクス研究センターに客員准教授として、臨床医、検査技師の大学院生、Ph.D, 理学部の大学院生(計約 50 名)と研究を進めている。研究内容は、血清を対象とした新たな診断法を獲得することを目指した包括的な技術開発と、それを元にした研究戦略の提案である。既に、独自の血清の前処理方法を含む高精度分析法を確立し、臨床医・検査技師との共同研究の元に、1つは 500 例以上の高精度多検体評価 (MS 利用) を経て、検査薬メーカーにて検査薬作製を開始している [PCT/JP2008/51519]。また、複数のマーカー候補に関しては診断応用に向けた多検体評価を進めている。その中で、現在の解決すべき主な課題は以下の 2 点である。

- (1) 数 100 例の検体を対象とした診断マーカー候補の評価 [多検体評価] の迅速化
- (2) 血清中の未だ詳細分析できていない部分の分析法の確立と応用

(1) に関しては、JST の「先端機器開発プロジェクト」の支援の下、質量分析 (MS) メーカー、検査薬会社とともに、MS による迅速な多検体評価法の開発を進めている。この研究では、現在の診断マーカー確立の問題点 (疾患特異的な翻訳後修飾を受けたマーカー候補、特異抗体の作りにくいペプチド、高感度 ELISA 系の市販されていないマーカー候補の多検体評価が困難であること) を新たな MS 分析法で克服し、有用で臨床応用可能なマーカーを検査薬メーカーに提案すべく進めている。(2) に関しては、アルブミン等のキャリアプロテインに結合して安定化されたタンパク質・ペプチド成分の分析が重要である。

2. 研究の目的

血清アルブミン (以下、アルブミンと記述する) は血清中の総タンパク質の 50% 以上を占める高存在量タンパク質であり、スポンジと称されるほど、様々な成分を結合している。しかし、従来の血清中の診断マーカータンパク質・ペプチドの探索においては、まず始めにアルブミンをはじめとする高存在量タンパク質を除去して、他の微量成分の分析が行われている。したがって、アルブミンに結合した成分はまだ未知である。アルブミンはアポトーシスや細胞の壊死によって生じる膜タンパク質の運搬・排出や、血液あるいは細胞中の各種プロテアーゼによって任意に断片化される過程で生じる疎水性の高いタンパク質・ペプチド断片を結合している可能性は高い。また、こうして結合されたものは比較的安定であるため、多様な進化の過程で、巧みに生体システムの重要な機能として利用されている可能性も高い。さらに、結合によって安定化されているため、診断応用に

適した成分を含んでいる可能性も高い。

本研究では、研究代表者が既に確立した技術シーズをもとに、血清中のアルブミン結合成分を濃縮して詳細に分析する方法を確立し、その中から診断能が高く、かつ、血清中で安定に存在する真に臨床応用可能なマーカータンパク質・ペプチドの獲得を目指す。

3. 研究の方法

- (1) 血清ペプチドを対象とした研究
 - ①アルブミン結合ペプチド分析法の開発
 - ②腎細胞癌マーカーペプチドの探索
- (2) 血清タンパク質を対象とした研究
 - ①アルブミン結合タンパク質分析法の開発
 - ②腎細胞癌マーカーペプチドの探索

4. 研究成果

(1) 血清ペプチドを対象とした研究

①アルブミン結合ペプチド分析法の開発

研究代表者は、以前より生体内のペプチドに興味を持っており、2005 年に組織中のペプチド成分を高効率で再現性よく抽出する方法を確立した。本研究助成では、この方法確立によって得たノウハウをもとに、血清を対象としたペプチド抽出法の開発を行った。方法開発において最も大きな問題点は、タンパク質、特にアルブミン等のキャリアプロテインの除去に伴いペプチド成分が大きく損失する点である。様々な条件検討の結果、キャリアタンパク質に結合したペプチドを比較的効率よく抽出することの出来る独自のペプチド抽出法 Differential Solubilization method (DS 法) を開発し (図 1)、血清 1 μ L を対象に 1,500 種類以上の微量ペプチドの分析に成功した。また、この方法と逆相 HPLC、MALDI-TOF-MS を組み合わせて大腸癌マーカー候補ペプチド探索に応用し、数 ng/mL 以下

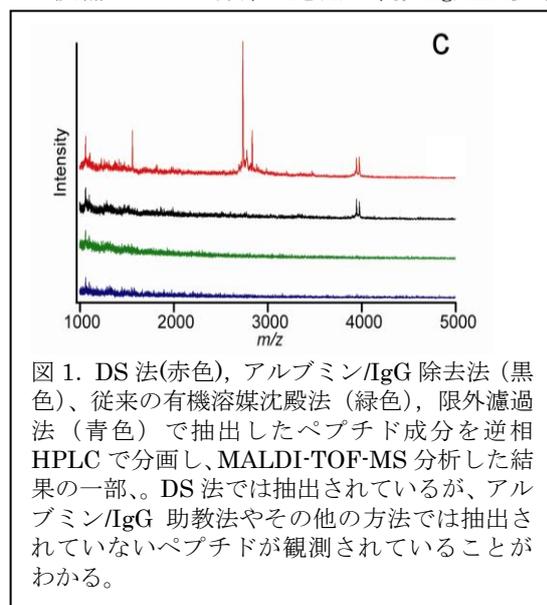


図 1. DS 法(赤色)、アルブミン/IgG 除去法 (黒色)、従来の有機溶媒沈殿法 (緑色)、限外濾過法 (青色) で抽出したペプチド成分を逆相 HPLC で分画し、MALDI-TOF-MS 分析した結果の一部。DS 法では抽出されているが、アルブミン/IgG 助教法やその他の方法では抽出されていないペプチドが観測されていることがわかる。

(インターロイキンなどの濃度に近い) の今までの検出例の無い疾患関連ペプチドの探索に成功した【業績論文⑩】。

しかし、DS法で抽出したペプチドにはアルブミン等に結合している疎水性の高いペプチドを多く含まれている。こうしたペプチドは、DS法の最終段階や、質量分析のためのタンパク質・ペプチド濃縮において使用する凍結乾燥後の再溶解過程において可溶化せず損失されている可能性が高い。また、溶液状態で-80℃保存後の試料の融解過程で沈殿し、損失される可能性が高い。そこで、これらの疎水性の高いペプチドを可溶化し、かつ、HPLCならびにLC-MS分析試料に利用可能な界面活性剤を検討した。その結果、インビトロジェン社から市販されているインビトロソルという界面活性剤が、こうした疎水性ペプチドの安定化、可溶化に優れ、かつ、その後のHPLCやLC-MS分析を妨げないことを実

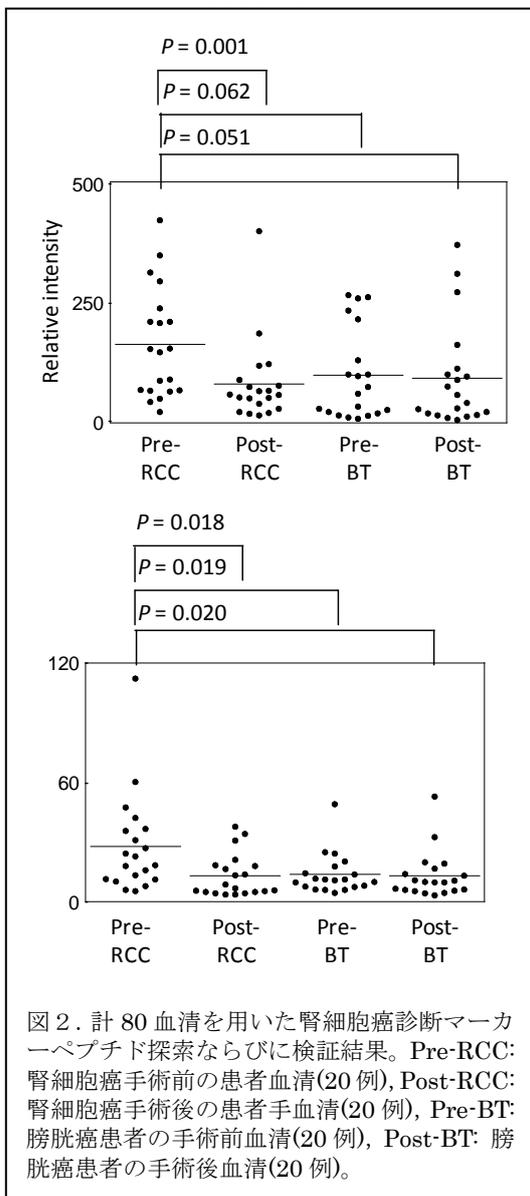


図2. 計80血清を用いた腎細胞癌診断マーカーペプチド探索ならびに検証結果。Pre-RCC: 腎細胞癌手術前の患者血清(20例), Post-RCC: 腎細胞癌手術後の患者血清(20例), Pre-BT: 膀胱癌患者の手術前血清(20例), Post-BT: 膀胱癌患者の手術後血清(20例)。

ータをもとに示した【業績論文①】。また、これとともに、複雑なペプチド混合物をLC-MS分析する際に必要な前処理として頻用されているイオン交換カラムによる分画に代わって、簡便にかつHPLCの溶媒を変化することなく効率よくペプチドを分画するためのサイクリックペプチド分画法を開発した【業績論文⑤】。

②腎細胞癌マーカーペプチドの探索

従来のDS法を基盤とした血清分析は逆相HPLCで分画し、全ての分画物をMALDI-TOF-MSで分析していた。しかし、この方法は多大な労力と時間を要するため、網羅的に分析するためには自動測定による安定稼働が可能な液体クロマトグラフィー質量分析計(LC-MS)で分析することが理想であった。しかし、従来のDS法抽出物にはペプチド成分と共に6kDa以上のタンパク質成分も含まれており、LC-MS分析可能な血清量ごく微量に限定されていた。そこでLC-MS分析用にDS法を最適化し、この最適化DS法とLC-MSを組み合わせた新規高精度比較分析法の開発を行った。新規分析法は再現性良く、血中濃度数ng/mLの微量ペプチド成分を対象に比較分析可能である。さらに、LC-MSにより自動分析が可能となったため、1週間で20サンプルを従来と比べて非常に低労力で分析することが可能となった。新規比較分析法を腎細胞癌の診断マーカー探索に応用し、腎細胞癌患者20名の手術前後、計40血清を分析した。その結果、手術に伴って有意に変化するマーカー候補ペプチド3種類を発見することに成功した。さらに、検証実験の第一歩として、腎細胞癌と同じ泌尿器系の癌である膀胱癌の患者血清を用いて、マーカー候補ペプチドの変動を検証した。検証の結果、発見したマーカー候補2種類はいずれも膀胱癌の手術によっては変化せず、腎細胞癌の手術前後でのみ変動していることが確認された(図2)【業績論文②】。

(2) 血清タンパク質を対象とした研究

①アルブミン結合タンパク質分析法の開発

血清・血漿タンパク質を分画する方法Serum/Plasma Fraction Method (SF法)を開発した。SF法とは、血清・血漿中のタンパク質を3分画するためのハイスループットで再現性の高い新たなタンパク質分画法である。また、SF1、SF2では高濃度タンパク質除去カラムを使用していないため、従来法では損失してしまうアルブミンなどの高濃度タンパク質に結合したタンパク質も取り出すことが可能である。

さらに、SF法と安定同位体標識法を組み合わせた質量分析計による血中タンパク質の

高精度比較分析法を確立し、② その方法を腎細胞癌の診断マーカー探索に応用した。

①に関しては、安定同位標識法としてジメチル化を用いた[7]。ジメチル化反応では、試料に CH_2O と NaBH_3CN を加えることでペプチド中の N 端とリジン側鎖のアミノ基の水素原子 2 つがメチル基に置換される。これにより安定同位体標識試薬を用いない場合、1 箇所のジメチル化で分子量が約 28 (Light 標識 : L 標識) 大きくなる。これに対して、安定同位体標識試薬 ($^{13}\text{CD}_3\text{O}$ と NaBD_3CN) を用いた場合には、分子量が約 36 (Heavy 標識 : H 標識) 大きくなる。一方の試料に L 標識、他方の試料に H 標識を行い、混合して LC-MS 分析することで一つのペプチドを 2 つのペアの MS スペクトルとして観測し、その量比を調べることで、2 種類の試料に含まれるタンパク質・ペプチド量比を比較することができる。2 つの試料を同時に測定できるため、LC-MS の測定間における差やイオン化効率を考慮することなく高精度な比較分析が可能である。

②腎細胞癌マーカータンパク質の探索

腎細胞癌患者 20 名の手術前後の血漿をそれぞれ 4 グループに分けて混合した術前 4 試料 ([1]~[4])、術後 4 試料 ([5]~[8]) に対して、①の方法を応用した。計 8 試料の混合血漿に L 標識、各 8 試料に H 標識を行い、各々 1:1 の濃度で混合して LC-MS 分析した。その結果、手術前後で変動する複数の診断マーカー候補タンパク質の観測に成功した (図 3)。

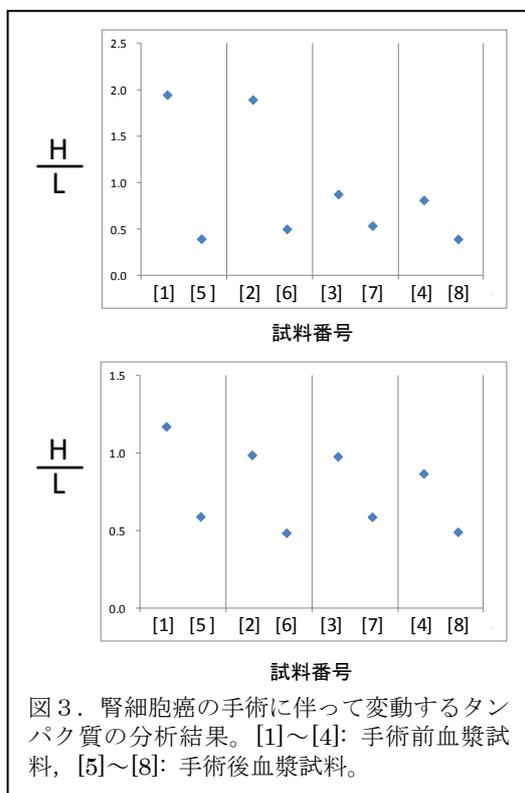


図 3. 腎細胞癌の手術に伴って変動するタンパク質の分析結果。[1]~[4]: 手術前血漿試料, [5]~[8]: 手術後血漿試料。

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 33 件) (内 31 件は査読有)

- ① ▪ Kawashima Y, Takahashi N, Satoh M, Saito T, Kado S, Nomura F, Matsumoto H, Kodera Y. Enhanced recovery of lyophilized peptides in shotgun proteomics by using an LC-ESI-MS compatible surfactant. *Proteomics*. 2013 Mar;13(5):751-5.
- ② ▪ Saito T, Kawashima Y, Minamida M, Matsumoto K, Araki K, Matsui T, Satoh M, Nomura F, Iwamura M, Maeda M, Baba S, Kodera Y. Establishment and application of a high-quality comparative analysis strategy for the discovery and small-scale validation of low-abundance biomarker peptides in serum based on an optimized novel peptide extraction method. *J. Electrophoresis*, 2013;57:1-9, doi: 10.2198/jelectroph.57.1.
- ③ ▪ Tsuchida S, Satoh M, Kawashima Y, Sogawa K, Kado S, Sawai S, Nishimura M, Ogita M, Takeuchi Y, Kobayashi H, Aoki A, Kodera Y, Matsushita K, Izumi Y, Nomura F. Application of quantitative proteomic analysis using tandem mass tags for discovery and identification of novel biomarkers in periodontal disease. *Proteomics*. 2013 May 21. in press.
- ④ ▪ Takada T, Kodera Y, Matsubara M, Kawashima Y, Maeda T, Fujita Y, Shichiri M. Serum monomeric α 2-macroglobulin as a clinical biomarker in diabetes. *Atherosclerosis*. 2013 May;228(1):270-6.
- ⑤ ▪ Kawashima Y, Satoh M, Saito T, Matsui T, Nomura F, Matsumoto H, Kodera Y. Cyclic sample pooling using two-dimensional liquid chromatography system enhances coverage in shotgun proteomics. *Biomed Chromatogr*. 2013 Jun;27(6):691-4.
- ⑥ ▪ Ichimura K, Kawashima Y, Nakamura T, Powell R, Hidoh Y, Terai S, Sakaida I, Kodera Y, Tsuji T, Ma JX, Sakai T, Matsumoto H, Obara T. Medaka fish, *Oryzias latipes*, as a model for human obesity-related glomerulopathy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Feb 22;431(4):712-7.
- ⑦ ▪ Yamamoto T, Nakayama K, Hirano H,

- Tomonaga T, Ishihama Y, Yamada T, Kondo T, Kodera Y, Sato Y, Araki N, Mamitsuka H, Goshima N. Integrated view of the human chromosome X-centric proteome project. *J Proteome Res.* 2013 Jan 4;12(1):58-61.
- ⑧ ▪ Mochizuki A, Kodera Y, Saito T, Satoh M, Sogawa K, Nishimura M, Seimiya M, Kubota M, Nomura F. Preanalytical evaluation of serum 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 measurements using LC-MS/MS. *Clin Chim Acta.* 2013 May;420:114-20.
- ⑨ ▪ Narumi R, Murakami T, Kuga T, Adachi J, Shiromizu T, Muraoka S, Kume H, Kodera Y, Matsumoto M, Nakayama K, Miyamoto Y, Ishitobi M, Inaji H, Kato K, Tomonaga T. A strategy for large-scale phosphoproteomics and SRM-based validation of human breast cancer tissue samples. *J Proteome Res.* 2012 Nov 2;11(11):5311-22.
- ⑩ ▪ Muraoka S, Kume H, Watanabe S, Adachi J, Kuwano M, Sato M, Kawasaki N, Kodera Y, Ishitobi M, Inaji H, Miyamoto Y, Kato K, Tomonaga T. Strategy for SRM-based verification of biomarker candidates discovered by iTRAQ method in limited breast cancer tissue samples. *J Proteome Res.* 2012 Aug 3;11(8):4201-10.
- ⑪ ▪ Tsuchida S, Satoh M, Umemura H, Sogawa K, Kawashima Y, Kado S, Sawai S, Nishimura M, Kodera Y, Matsushita K, Nomura F. Proteomic analysis of gingival crevicular fluid for discovery of novel periodontal disease markers. *Proteomics.* 2012 Jul;12(13):2190-202.
- ⑫ ▪ Motofuji Y, Saito A, Koike M, Kodera Y, Maeda T, Komatsu H. Potential of classification of cancer by multiple discriminant analysis for relationship between cancer and expression of human cellular phosphoprotein. *Biomed Res.* 2012 Apr;33(2):139-43.
- ⑬ ▪ Katada K, Tomonaga T, Satoh M, Matsushita K, Tonoike Y, Kodera Y, Hanazawa T, Nomura F, Okamoto Y. Plectin promotes migration and invasion of cancer cells and is a novel prognostic marker for head and neck squamous cell carcinoma. *J Proteomics.* 2012 Mar 16;75(6):1803-15.
- ⑭ ▪ Minamida S, Iwamura M, Kodera Y, Kawashima Y, Tabata K, Matsumoto K, Fujita T, Satoh T, Maeda T, Baba S. 14-3-3 protein beta/alpha as a urinary biomarker for renal cell carcinoma: proteomic analysis of cyst fluid. *Anal Bioanal Chem.* 2011 Jul;401(1):245-52.
- ⑮ ▪ Noda K, Sogawa K, Kikuchi W, Kiyokawa I, Miura T, Kojima R, Katayama K, Kodera Y, Nomura F. Development of a sandwich ELISA for the 5.9-kDa fibrinogen alpha C chain fragment detected by serum proteome analysis. *Proteomics Clin Appl.* 2011 Apr;5(3-4):141-6.
- ⑯ ▪ Sogawa K, Kodera Y, Noda K, Ishizuka Y, Yamada M, Umemura H, Maruyama K, Tomonaga T, Yokosuka O, Nomura F. The measurement of a fibrinogen α C-chain 5.9 kDa fragment (FIC 5.9) using MALDI-TOF MS and a stable isotope-labeled peptide standard dilution. *Clin Chim Acta.* 2011 May 12;412(11-12):1094-9.
- ⑰ ▪ Minamida S, Iwamura M, Kodera Y, Kawashima Y, Ikeda M, Okusa H, Fujita T, Maeda T, Baba S. Profilin 1 overexpression in renal cell carcinoma. *Int J Urol.* 2011 Jan;18(1):63-71.
- ⑱ ▪ Sogawa K, Kodera Y, Satoh M, Kawashima Y, Umemura H, Maruyama K, Takizawa H, Yokosuka O, Nomura F. Increased serum levels of pigment epithelium-derived factor by excessive alcohol consumption-detection and identification by a three-step serum proteome analysis. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011 Feb;35(2):211-7.
- ⑲ ▪ Umemura H, Kodera Y, Nomura F. Effects of humidity on the dried-droplet sample preparation for MALDI-TOF MS peptide profiling. *Clin Chim Acta.* 2010 Dec 14;411(23-24):2109-11.
- ⑳ ▪ Kawashima Y, Fukutomi T, Tomonaga T, Takahashi H, Nomura F, Maeda T, Kodera Y. High-yield peptide-extraction method for the discovery of subnanomolar biomarkers from small serum samples. *J Proteome Res.* 2010 Apr 5;9(4):1694-705.
- ㉑ ▪ Minami S, Sato Y, Matsumoto T, Kageyama T, Kawashima Y, Kodera Y, Ishii J, Matsumoto K, Nagashio R, Okayasu I. Proteomic study of sera from patients with bladder cancer: usefulness of S100A8 and S100A9

- proteins. Cancer Genomics Proteomics. 2010 Jul-Aug;7(4):181-9.
- 22 ▪ Matsumoto T, Kawashima Y, Nagashio R, Kageyama T, Kodera Y, Jiang SX, Okayasu I, Kameya T, Sato Y. A new possible lung cancer marker: VGF detection from the conditioned medium of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma-derived cells using secretome analysis. Int J Biol Markers. 2009 Oct-Dec;24(4):282-5.

〔学会発表〕(計 48 件)

主な招待講演、シンポジウム発表を以下に記載する。

- ① ▪ 小寺義男, 血中診断マーカーペプチド獲得を目指したペプチドーム解析法の包括的な開発, 第 19 回遺伝子診療学会/シンポジウム(招待講演), 2012 年 7 月 28 日, 千葉
- ② ▪ 小寺義男, 血中診断マーカーペプチド獲得を目指したペプチドーム解析法の包括的な開発, 第 10 回日本プロテオーム学会(JHUP0)年会(シンポジウム), 2012 年 7 月 27 日, 東京
- ③ ▪ 小寺義男, 血中疾患マーカーペプチド獲得を目指した包括的なアプローチ, 東北大学医学部・最先端学術セミナー(招待講演), 2012 年 6 月 15 日, 東北大学医学部
- ④ ▪ 小寺義男, 血中診断マーカーペプチド獲得を目指した包括的なアプローチ, 第 2 回バイオビジネス・スタートアップーバイオマーカー研究と診断への応用ー(招待講演), 2011 年 12 月 20 日, 横浜
- ⑤ ▪ 小寺義男, 血中診断マーカーペプチド開発に向けた様々なアプローチ, 第 224 回液体クロマトグラフィー研究懇談会(招待講演), 2011 年 10 月 25 日, 東京
- ⑥ ▪ 小寺義男, 共同利用における LC-MS 解析, 第 84 回日本生化学会・フォーラム(フォーラム企画、発表), 2011 年 9 月 23 日, 京都
- ⑦ ▪ 小寺義男, 血中診断マーカー獲得を目指した定量的プロテオミクス, 日本プロテオーム学会 2011 大会(シンポジウム), 2011 年 7 月 29 日, 新潟
- ⑧ ▪ 小寺義男, 血清中の診断マーカータンパク質・ペプチドの探索と評価, 第 35 回日本医用マススペクトル学会(シンポジウム), 2010 年 9 月 10 日, 名古屋
- ⑨ ▪ 小寺義男, 血中ペプチドを対象とした各種がんの診断法開発を目指して, 研究発表会「「がん」に立ち向かう神奈川のバイオベンチャーたち」(招待講演), 2010 年 6 月 24 日, 横浜

〔図書〕(計 3 件)

- ① □ 小寺義男, 朝長毅, 臨床プロテオミクスーバイオマーカー探索から個別化医療へー, 第 3 章 臨床試料の取り扱い「2. 血液(血漿)および生体試液」, p64-69, 平成 24 年 5 月 15 日(金原出版株式会社,)
- ② □ 小寺義男, 朝長毅 「血清・血漿バイオマーカー探索のための新しい前処理方法の開発」, 実験医学別冊(創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析), 98-103, 2010

〔産業財産権〕

○取得状況(計 2 件)

名称: METHOD FOR CONCENTRATION OF LOW-MOLECULAR-WEIGHT PROTEINS AND PEPTIDES IN BODY FLUID SAMPLE
 発明者: Kodera Y, Kawashima Y, Maeda T.
 権利者: The Kitasato Institute
 種類: U. S. Patent
 番号: No. 8, 399, 260
 取得年月日: 2013 年 3 月 19 日
 国内外の別: 国外

名称: 体液試料における、低分子量タンパク質及びペプチドの濃縮法
 発明者: 小寺義男, 前田忠計, 川島祐介
 権利者: 学校法人北里研究所
 種類: 特許
 番号: 第 4571228 号
 取得年月日: 2010 年 8 月 20 日
 国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小寺義男 (KODERA YOSHIO)
 北里大学・理学部物理学科・准教授
 研究者番号: 60265733

(2) 研究分担者

佐藤雄一 (SATO YUICHI)
 北里大学・医療衛生学部医療検査学科・教授
 研究者番号: 30178793
 松本和将 (MATSUMOTO KAZUMASA)
 北里大学・医学部泌尿器科・講師
 研究者番号: 70306603
 岩村正嗣 (IWAMURA MASATSUGU)
 北里大学・医学部泌尿器科・教授
 研究者番号: 20176564

(3) 連携研究者

前田忠計 (MAEDA TADAKAZU)
 北里大学・名誉教授
 研究者番号: 90265728