

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：34311

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07979

研究課題名(和文) ムスカリン受容体を介するリンパ球コリン作動系のT細胞分化における生理的役割の解明

研究課題名(英文) Roles of lymphocytic cholinergic system in T cells in regulation of the differentiation of naive T cells via muscarinic acetylcholine receptors

研究代表者

藤井 健志 (FUJII, TAKESHI)

同志社女子大学・薬学部・教授

研究者番号：80255380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Tリンパ球におけるムスカリン性アセチルコリン(ACh)受容体(mAChR)のナープT細胞の分化における役割を検討した。ナープT細胞の活性化はmAChRを介する細胞内情報伝達系に影響を及ぼすことが明らかとなった。しかしながら、7型ニコチン性ACh受容体がナープヘルパーT細胞の分化を調節しているのに対して、mAChRは関与していないことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We investigated roles of muscarinic acetylcholine (ACh) receptor (mAChR) in T lymphocytes in the differentiation of naive T cells. It has been shown that the activation of naive T cells affects the intracellular signaling system mediated by mAChR. However, it was revealed that mAChR is not involved in regulation of the differentiation of naive helper T cells, while 7 type nicotinic ACh receptor regulates that.

研究分野：薬理学

キーワード：Acetylcholine T cell muscarinic receptor naive T cell Ca²⁺

1. 研究開始当初の背景

アセチルコリン (ACh) は一般に神経伝達物質として認知されている。しかしながら、我々は、神経系と同じコリン作動系構成要素 (ACh、ACh 合成酵素、ACh 受容体、ACh 分解酵素、ACh 前駆体コリン取り込み機構および ACh 放出機構) のリンパ球における発現を発見し、リンパ球における非神経性コリン作動系を提唱してきた (論文業績 2,3)。現在では免疫調節因子として種々のサイトカインが知られているが、ACh は ACh 受容体を介してリンパ球に対して機能変化を起こす可能性が 1970 年代には報告されていた。さらに、ACh は T 細胞依存性免疫応答に関与していることが、Maslinski (Brain Rev Immun 3:1-14, 1989) により総説されている。最近では、ヒトにおいても局所作用伝達物質として気道粘膜上皮細胞や羊水浮遊細胞などの様々な非神経性組織における ACh の存在が報告されており、「Non-neuronal cholinergic system: 非神経性コリン作動系」の概念が提唱されるに至った (Wessler et al, Pharmacol Ther 77:59-79, 1998; Grando et al, Life Sci 72:2009-2012, 2003)。

特異的な免疫抑制細胞の存在は、1970 年代に想定されていた。しかしながら、炎症や免疫応答を抑制するサイトカインであるインターロイキン-10 (IL-10) およびトランスフォーミング増殖因子- β を産生する制御性 T 細胞はごく最近になって同定された (Klinker and Lundy, Mol Med 18: 123-137, 2012)。抗原提示により、ナイーブ T 細胞よりヘルパー T 細胞 (活性化) や制御性 T 細胞 (抑制性) サブセットが誘導される。制御性 T 細胞は、感染が終了後、活性化したリンパ球機能を元のレベルに回復させるのに必要な細胞である。

制御性 T 細胞 (Treg) の欠損により、急性・慢性炎症や自己免疫疾患などが惹起されることが知られている。他方、Treg の増大により、感染の長期化やがんの発症リスクの増大などが考えられている (DiLillo et al, Ann N Y Acad Sci 1183: 38-57, 2010; Mauri & Blair, Nat Rev Rheumatol 6:636-43, 2010)。したがってナイーブ T 細胞の分化や活性化のメカニズムを明らかにすることは、学術的にも社会的にも非常に意義がある。

T 細胞には、種々のムスカリン性 ACh 受容体 (mAChR) およびニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) が発現している (Sato et al, Neurosci Lett 266:17-20, 1999)。しかしながら、T 細胞の分化への AChR の関与やその種類については十分に解明されていない。さらに、CD4 陽性 T 細胞は ACh を産生して、放出する能力を有しているが、ナイーブ T 細胞における ACh 産生変化は検討されてこなかった。

AChR のうち、7 型 nAChR は、炎症の抑制に寄与していることが最近明らかにされつつある (Wang et al. Nature 421: 384-388,

2003)。M₁/M₅ mAChR ノックアウト (KO) および 7 型 nAChR-KO マウスを用いた研究から、M₁/M₅ mAChR は抗体産生を促進し、他方 7 型 nAChR は抗体産生を抑制する方向に働いていることが明らかになっている (Fujii et al, J Neuroimmunol 189:69-74, 2007)。さらに、ウクライナ・Dr Skok らは、7 型 nAChR の遮断により、脾臓における炎症の増大を発見している (Lykhmus et al. Immunology Letters 128: 68-73, 2010)。しかしながら、これらの免疫応答に、どのリンパ球サブセットが関与しているのかについては明らかではない。作用薬による nAChR の刺激により、マウスにおける制御性 T 細胞の抑制機能が増大したとの報告がある (Wang et al, J Pharmacol Exp Ther 335:553-561, 2010)。

最近、我々は、新規 7 型 nAChR アロステリックリガンド Secreted mammalian Ly6/urokinase plasminogen-type activator receptor-related protein-1 (SLURP-1) がリンパ球のコリン作動系活性の上昇および分化を促進させることを発表した (Fujii et al. J Neuroimmunol 267:43-49, 2013)。

ACh の免疫系における役割に関する研究として、国内では、安保教授ら (新潟大・医学部) が、副交感神経系 (コリン作動系) と免疫系との間のシグナルクロストークの提唱 (Abo & Kawamura, Ther Apher 6:348-57, 2002) 伊東 (弘前大・医学部) らが、Th1 あるいは Th2 免疫応答調節を介するニコチンの潰瘍性大腸炎およびクローン病に及ぼす影響に関する研究 (Murata et al, Gastroenterology 118:A112, 2000) 伊保 (福井大・医学部) らが、ニコチンの好中球および T 細胞機能の変化に関する研究 (Iho et al, J Leukoc Biol 74:942-951, 2003) を推進している。他方、国外では、Grando (UCDMC 大) ら、Wessler (Mainz 大) らが、局所作用物質として機能する非神経性 ACh の生理的な役割に関する研究 (Grando, Dermatology 201:290-295, 2000; Wessler et al, Pharmacol Ther 77: 59-79, 1998) Tracy (North Shore Long Island Jewish 研) らが、マクロファージ機能における nAChR の役割 (Wang et al, Nature 421:384-388, 2003; Nat Med 10:1216-1221, 2004) に関する研究を行なっている。

我々は世界に先駆けて、T 細胞が産生・遊離した ACh が、自己および周辺の免疫関連細胞上の mAChR および nAChR を刺激して、炎症および免疫反応に影響を及ぼすという独自のアイデアを発表し、またそれを実証してきた。これらの実績により、研究代表者は、「リンパ球における非神経性コリン作動系の発見およびその生理的役割の解析」により第 19 回日本薬理学会学術奨励賞を受賞している。川島博士 (本研究課題では連携研究者として参画) は、The 3rd International Symposium on Non-neuronal Acetylcholine, August 24-26, 2011, Groningen, The

Netherlands の Keynote Lecturer として招待されるなど、研究代表者らの研究の独創性と先見性が国際的に評価されるに至っている。

以上のように、リンパ球における非神経性コリン作動系の発現とその生理的役割は徐々に注目を集めつつあるが、系統的に研究を行っている研究者は、研究代表者らを除き存在しない。この方面の研究は、新たな側面からの免疫系と神経系とのクロストーク機構を考えるものとして、神経学だけでなく免疫学においても有用な知見を提供することが考えられる。我々は、これまでに AChR 作用薬・拮抗薬の免疫系に対する影響を明らかにしてきたことから、ナイーブ T 細胞の分化における mAChR の役割を検討することには何ら困難なことではない。本研究の遂行により、mAChR による免疫反応の制御機構がより詳細に解明されることになる。その結果を踏まえて、mAChR に作用する薬物あるいはリンパ球コリン作動系活性調節薬を、新規の抗炎症薬あるいは免疫調整薬として開発するための理論的根拠を構築できるはずである。他方、mAChR に作用する薬物の使用による様々な問題点の予測や解決策を提供できる可能性もある。

2. 研究の目的

研究代表者が発見したリンパ球における固有のコリン作動系が、T および B リンパ球の機能調節に関与しており、それを介してナイーブ T 細胞の分化の制御に関与していることを証明する。これまでその生理的な役割がほとんど解明されていないリンパ球の mAChR および nAChR をターゲットとして、新しい作用メカニズムをもつ免疫調節薬を開発するための理論的根拠の構築を目的とした。

我々のこれまでの研究成果により、mAChR および nAChR 刺激が免疫グロブリン産生の調節に関与していることが明らかなことから、リンパ球の非神経性コリン作動系が創薬のターゲットとしても重要となる可能性がある。したがって、免疫系における ACh の役割に関する研究は、今後競争が一層激化し、急速に進展するものと考えられる。

最近、我々は、7 型 nAChR がナイーブ T 細胞の各種ヘルパー T 細胞 (Th1, Th2, Th17) および Treg への分化に対して次のように関与していることを明らかにした (学会発表業績 1,5,6,8,9; 論文投稿準備中)。すなわち、

7 型 nAChR は、1) 抗原提示細胞依存的なナイーブ T 細胞の分化に対しては抑制的、2) 直接的なナイーブ T 細胞の活性化による分化に対しては促進的、に関与している可能性を明らかにした。さらに、7 型 nAChR は、抗原提示過程を抑制して分化を抑制していることを最近発見した。

本研究課題では、ナイーブ T 細胞の分化制御メカニズムにおける ACh および mAChR の役割を解明することを目指した。この仮説の証明のために、T 細胞の分化に関与する mAChR

サブタイプおよび ACh 産生変化を検討した。他方、mAChR 作用薬のナイーブ T 細胞分化制御メカニズムに及ぼす影響を詳細に検討した。

本研究により、免疫応答における抑制性反応を担う mAChR を発現する細胞の同定、および ACh の生理的役割を詳細に明らかにすることができる。さらに、免疫応答におけるコリン作動系メカニズムの関与を証明するものであり、制御性 T 細胞の分化促進や機能調節の方法を提唱し、炎症性疾患および自己免疫疾患における新たな治療戦略を提唱することができると考えられる。本研究課題は、従来とは全く異なる視点からの免疫制御機構の解明を目指すものであり、新たな作用機序をもつ免疫調節薬開発のための理論的根拠を提供するはずである。

3. 研究の方法

(1) 実験動物と細胞株

実験動物としてマウス (C57BL/6 系, BALB/c 系, D011.10 系および OT-II 系) を用いた。動物実験については、同志社女子大学実験動物委員会の承認 (No. Y15012, Y15028, Y16002, Y16011, Y16034, Y17001, Y17010, Y17024) および遺伝子組み換え実験安全委員会の承認 (No. 1502002, 1602001) を受け、各種法令・規程を順守して行った。

ヒト T 細胞系白血病細胞株 CCRF-CEM (CEM) 細胞を T 細胞のモデルとして用いた (林原生物化学研究所・研究センター・基礎細胞研究部門より供与を受けた)。

(2) マウス単核白血球 (MNL) の調製:

麻酔下、失血死させた後、胸腺および脾臓を採取して重量を測定した。採取した一部の胸腺および脾臓は ACh 含量および ChAT 活性の測定まで -80 °C にて保存した。

脾臓を培養液中にて金属メッシュ (#200) ですりつぶした後、リンホライト-M (Cedarlane) を用いて MNL を調製した。MNL は、90% 以上のリンパ球 (T および B リンパ球) と単球を含んでいた。

(3) 細胞培養

ヒト細胞株およびマウス MNL の培養は、7% 牛胎仔血清、ペニシリン (100 units/ml)、1 mM L-グルタミン、ストレプトマイシン (100 μg/ml) を含む RPMI1640 培地 (日水製薬) を用いて、培養フラスコ (3110-075、岩城硝子) 中に行った。なお、培養は、すべて 37 °C、5% CO₂ の条件下で行った。細胞数は、血球算定盤を用いてトリパンブルー (GIBCO BRL) 色素排除法により計数した。

マウス MNL の場合、一部の細胞は、抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体の存在下、48 時間培養した。さらに一部は、サブタイプ非選択的 mAChR 作用薬オキシトレモリン-M (Oxo-M) (30-300 μM, Sigma) により刺激した。なお、ナイーブ T 細胞の分化に対する影響を検討する実験では、上記条件下において 5 日間培養した。

CEM 細胞は、T 細胞活性化薬フィトヘマアグルチニン (PHA) により 48 時間培養した。CEM 細胞には、mAChR サブタイプのうち M₁、M₃、M₄ および M₅ サブタイプ、nAChR サブユニットのうち、3、5、6、7、9、10 および 4 サブユニットが発現している。

(4) ACh の測定

細胞浮遊液 (5 × 10⁶ 個) を 4、8 分、300g で遠心した。上清は細胞外への ACh 遊離量の測定に用いた。得られた沈査は 1 μM ジソプロピルフルオロホスフェート (和光) を含むリン酸緩衝液に 1 × 10⁶ 個/ml で再懸濁して細胞内 ACh 量の測定に用いた。ACh は、³H]ACh (specific activity: 2.96 TBq/mmol、GE ヘルスケア) および抗 ACh 抗血清を用いてラジオイムノアッセイ法により測定した。

(5) ChAT 活性の測定

細胞を Triton X-100 を含むリン酸緩衝液中で超音波破碎し、4、30 分、15,000g で遠心した。得られた上清を ChAT 活性の測定に用いた。ChAT 活性は、Fonnum 法 (J. Neurochem. 242:407-409, 1975) により測定した。

(6) 遺伝子発現の解析

各細胞から、セパゾール (ナカライテスク) を用いて抽出した総 RNA より一本鎖 cDNA を合成した。ChAT、インターロイキン-2 (IL-2)、転写調節因子 c-fos、M₃ および M₅ mAChR、4、7 および 2 nAChR サブユニットの各遺伝子 (ヒトおよびマウス) に特異的なプライマーを用いて、リアルタイム PCR 法により遺伝子を増幅した (PCR 条件: 95、30 秒; 56-58、30 秒; 72、30 秒)。発現量の比較のために、内部標準として glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 発現量を解析した (PCR 条件: 95、1 分; 58、1.5 分; 72、1.5 分)。

(7) 細胞内カルシウムイオン濃度 ([Ca²⁺]_i) 変化の測定

Ca²⁺ 感受性蛍光色素 (Fura-2、Fluo-3) および共焦点レーザー顕微鏡を用いて、Oxo-M による蛍光強度の変化を測定して [Ca²⁺]_i に及ぼす作用を観察した。

(8) フローサイトメトリー法

培養後のマウス MNL を、FITC-抗 CD3 抗体、PE-抗 CD25 抗体、APC-抗 IL-4 抗体、APC-抗 IL-17 抗体 APC-抗 IFN-γ 抗体、APC-抗 FoxP3 抗体により染色した。フローサイトメーターにて、ナイーブ T 細胞の Th1、Th2、Th17 および Treg 細胞への分化を検討した。

4. 研究成果

(1) mAChR の細胞内カルシウムシグナルの細胞機能変化のメカニズム

T 細胞における Oxo-M による mAChR 刺激により、[Ca²⁺]_i の上昇およびオシレーションが観察された。これらの変化は Oxo-M 濃度依存的であった。さらに、c-fos 遺伝子の発現上昇が観察された。

上記の反応に対して、比較的 M₃ サブタイプ

に選択的な mAChR 遮断薬 4-DAMP は、比較的 M₁ サブタイプ選択的な遮断薬 pirenzepine より強い遮断作用を示した。

T 細胞における mAChR 刺激による一過性 Ca²⁺シグナル上昇に続くオシレーション反応および転写調節因子 c-fos の遺伝子発現の増強作用は、細胞外 Ca²⁺の除去および Ca²⁺遊離活性型 Ca²⁺チャネル (CRAC) 遮断薬 YM-58483 より抑制された。さらに、イノシトール三リン酸 (IP₃) 受容体遮断薬 2-APB により抑制された。

以上のことから、CRAC および IP₃ 受容体が関与していることが明らかとなった。

また、関与する mAChR サブタイプとして M₃ あるいは M₅ サブタイプであることが判明した。

(2) T 細胞活性化の mAChR 遺伝子発現に及ぼす影響

mAChR 遺伝子発現は、抗 CD3 抗体 + 抗 CD28 抗体、あるいは PHA による T 細胞の活性化により減少した。MAPK 阻害薬 U0126 がこの減少を抑制した。したがって、このメカニズムには MAPK-ERK 経路が関与していることが明らかとなった。

さらに、T 細胞の活性化により mAChR 遺伝子発現が減少する結果、mAChR を介するカルシウムシグナルが減弱することが明らかになった。

(3) ナーブ T 細胞の活性化による ACh 産生の変化

マウスナイーブ T 細胞の活性化により、ACh 産生および遊離の増大が観察された。この時、ACh 合成酵素 ChAT の遺伝子発現およびタンパク質の発現上昇が観察された。すなわち、活性化による合成酵素の増大が ACh 産生の上昇の要因であることが示唆された。

(4) T 細胞分化における ACh の役割

OT-II および DO11.10 マウスの ovalbumin (OVA) 刺激によるナイーブ T 細胞から Th1、Th2、Th17 および Treg 細胞への分化誘導に対して、mAChR 刺激は影響を及ぼさなかった。

7 型ニコチン受容体は Treg 細胞への分化に対して抗原提示細胞依存的には抑制的に、ナイーブヘルパー T 細胞へは直接的には促進的に関与していることから、mAChR と nAChR とでは T 細胞の分化における役割が異なることが判明した。

(5) mAChR のサイトカイン発現における役割

PHA による T 細胞における IL-2 の遺伝子およびタンパク質の増大は、L 型 Ca²⁺チャネル遮断薬 verapamil により抑制されなかったが、CRAC チャネル遮断薬 YM-58483 により抑制された。TNF-α についても同様であった。

T 細胞活性化薬 PHA による T 細胞における IL-2 の遺伝子の増大は、U0126 および NF-κB 阻害薬 BAY11-7082 により抑制された。すなわち、CRAC チャネルの関与に加えて、NF-κB の関与が明らかとなった。

以上(1)~(5)のことから、細胞内情報伝達系には影響を及ぼすものの、mAChRは直接的にナイーブT細胞の分化には関与していないが、分化誘導の初期段階において間接的に関与している可能性が示唆された。

(6) 展望

血液・血管系のコリン作動系の研究はまだ端緒についたばかりである。本研究により、ナイーブT細胞の分化のメカニズムにおける血液・血管系における作動物質としてのAChとの関連がほんのわずかではあるが明らかにすることができた。リンパ球だけでなく、すべての血球細胞にはいずれかのサブタイプのACh受容体が発現している。今後は、免疫疾患の予防、あるいは改善のための薬物治療におけるリンパ球コリン作動系の役割について注目してさらに解析を進める予定である。

5. 主な発表論文

(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. Yuka Saito, Masato Mashimo, Kana Murakami, Akari Nobeyama, Takeshi Fujii. Hippocampal cholinergic neurostimulating peptide suppresses acetylcholine synthesis in T lymphocytes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 印刷中.

2. Takeshi Fujii, Masato Mashimo, Yasuhiro Moriwaki, Hidemi Misawa, Shiro Ono, Kazuhide Horiguchi, Koichiro Kawashima. Expression and Function of the Cholinergic System in Immune Cells. *Frontiers in Immunology*. 8:1085, 2017. doi: 10.3389/fimmu.2017.01085.

3. Takeshi Fujii, Masato Mashimo, Yasuhiro Moriwaki, Hidemi Misawa, Shiro Ono, Kazuhide Horiguchi, Koichiro Kawashima. Physiological functions of the cholinergic system in immune cells. *Journal of Pharmacological Sciences* 134(1):1-21, 2017. doi: 10.1016/j.jpsh.2017.05.002.

4. Masato Mashimo, Satomi Kanatori, Wah Foo Foong, Koichiro Kawashima, Takeshi Fujii. Effects of IJ-337 derived from a sea cucumber on T cell function and lymphocytic cholinergic system. *同志社女子大学学術研究年報* 68: 59-66, 2017.

5. Masato Mashimo, Yukari Iwasaki, Shoko Inoue, Shoko Saito, Koichiro Kawashima, Takeshi Fujii.

Acetylcholine released from T cells regulates intracellular Ca^{2+} , IL-2 secretion and T cell proliferation through nicotinic acetylcholine receptor. *Life Sciences* 172: 13-18, 2016. doi: 10.1016/j.lfs.2016.12.015.

6. Masato Mashimo, Yukako Yurie, Koichiro Kawashima, Takeshi Fujii. CRAC channels are required for $[Ca^{2+}]_i$ oscillations and c-fos gene expression after muscarinic acetylcholine receptor activation in leukemic T cells. *Life Sciences* 161: 45-50, 2016. doi:10.1016/j.lfs.2016.07.014.

[学会発表](計 10 件)

1. 松井悠理子、間下雅士、小森眞紗代、井上笙子、齋藤聖子、奥山洋美、小野史郎、川島紘一郎、藤井健志。

7 ニコチンニコチン性アセチルコリン受容体は、抗原提示細胞の抗原提示過程を阻害しヘルパーT細胞の分化を抑制する。日本薬学会第138年会、2018年3月26日、もてなしドーム(石川県、金沢市)

2. 坂口美咲、間下雅士、田中菜穂子、川島紘一郎、藤井健志。

マウス脾細胞におけるT細胞の活性化がアセチルコリン受容体の発現に及ぼす影響の検討。日本薬学会第138年会、2018年3月26日、もてなしドーム(石川県、金沢市)

3. 斉藤有華、間下雅士、延山明理、村上加奈、藤井健志。

Tリンパ球における海馬由来コリン作動性神経刺激ペプチドの免疫応答の抑制。日本薬学会第138年会、2018年3月26日、もてなしドーム(石川県、金沢市)

4. 岩崎有可里、間下雅士、井上笙子、齋藤聖子、川島紘一郎、藤井健志。

Tリンパ球におけるアセチルコリンのオートクライン作用の生理的役割の解明。第67回日本薬学会近畿支部総会・大会、2017年10月14日、兵庫医療大学(兵庫県、神戸市)

5. 祭田絢子、間下雅士、小森眞紗代、松井悠理子、小野史郎、川島紘一郎、奥山洋美、森脇康博、三澤日出巳、藤井健志。

7 ニコチン性アセチルコリン受容体刺激による制御性T細胞分化促進。第67回日本薬学会近畿支部総会・大会、2017年10月14日、兵庫医療大学(兵庫県、神戸市)

6. 小森眞紗代、間下雅士、松井悠理子、井上笙子、齋藤聖子、小野史郎、川島紘一郎、奥山洋美、藤井健志。

7 ニコチン受容体シグナルは抗原提示細胞の抗原プロセッシング過程を阻害して制御性T細胞分化を抑制する。

第130回日本薬理学会近畿部会、2016年11月19日、京都大学（京都府、京都市）。

7. 齋藤有華、間下雅士、川島紘一郎、藤井健志。

Tリンパ球における海馬由来コリン作動性神経刺激ペプチドの作用。

第66回日本薬学会近畿支部総会・大会、2016年10月15日、大阪薬科大学（大阪府、高槻市）。

8. 齋藤聖子、井上笙子、間下雅士、竹島香織、奥山洋美、小野史郎、川島紘一郎、藤井健志。

制御性T細胞分化における7ニコチン性アセチルコリン受容体の役割。

第129回日本薬理学会近畿部会、2016年6月24日、広島県医師会館（広島県、広島市）。

9. 井上笙子、齋藤聖子、間下雅士、竹島香織、奥山洋美、小野史郎、川島紘一郎、藤井健志。7ニコチン受容体シグナルは抗原提示細胞機能の抑制を介してヘルパーT細胞分化誘導を阻害する。

第129回日本薬理学会近畿部会、2016年6月24日、広島県医師会館（広島県、広島市）。

10. 岩崎有可里、間下雅士、井上笙子、齋藤聖子、川島紘一郎、藤井健志。

Tリンパ球モデル細胞MOLT-3細胞におけるアセチルコリンのオートクラインおよびパラクライン作用による細胞増殖およびIL-2の産生への影響。

第65回日本薬学会近畿支部総会・大会、2015年10月17日、大阪大谷大学（大阪府、富田林市）。

〔その他〕

同志社女子大学 研究者データベース 藤井 健志

http://research-db.dwc.doshisha.ac.jp/rd/html/japanese/researchHtml/2703/2703_Researcher.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤井 健志 (FUJII TAKESHI)

同志社女子大学・薬学部・教授

研究者番号：80255380

(2)研究分担者

間下 雅士 (MASHIMO MASATO)

同志社女子大学・薬学部・助教

研究者番号：30738886

(3)連携研究者

川島 紘一郎 (KAWASHIMA KOICHIRO)

北里大学・薬学部・客員教授

研究者番号：70095008