

令和元年6月3日現在

機関番号：87105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11738

研究課題名(和文) TRPチャンネルを介したがん組織微小環境ストレスによる癌細胞形質への影響の解明

研究課題名(英文) Investigation of the effect of the tissue microenvironment on tumor cells through TRPV4 channel

研究代表者

大関 悟 (Ozeki, Satoru)

独立行政法人国立病院機構九州医療センター(臨床研究センター)・その他部局等・口腔腫瘍・口腔ケアセンター  
— 口腔腫瘍統括長

研究者番号：80117077

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、口腔扁平上皮癌におけるTRPV4の発現と腫瘍形成における機能について明らかにした。

TRPV4は複数の口腔癌細胞株において高発現しており、siRNAを用いてノックダウンするとTRPV4アゴニスト依存的な細胞内カルシウム流入、増殖細胞数、運動能およびAKTの活性化が抑制された。またレンチウイルスを用いたTRPV4の過剰発現にてこれらの抑制効果は回復された。一方、TRPV4のノックダウンはHippoシグナルの標的遺伝子の発現に影響を与えなかった。ゼノグラフトモデルにおいてshRNAを用いてTRPV4をノックダウンした群ではコントロール群と比較して移植片の体積と重量が減少した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、癌細胞周囲の微小環境の変化にตอบสนองして癌細胞の細胞内シグナル伝達が活性化され、腫瘍形成が促進する知見について報告されている。TRPV4チャンネルはCa<sup>2+</sup>の流入に関与するイオンチャンネルファミリーとして同定され、細胞周囲の微小環境(機械ストレスや浸透圧ストレス)を感知すると考えられている。本研究ではTRPV4が口腔扁平上皮癌細胞において高発現し、細胞外周囲の環境を認識し、増殖を制御することを明らかにした。この結果は、TRPV4の活性化を標的とする新たな癌治療の開発に繋がる可能性を示している。

研究成果の概要(英文)：In this study, it was shown that the high expression of transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) and its function in OSCC tumorigenesis in vitro and in vivo. Several OSCC cell lines highly expressed TRPV4 mRNA and protein. Knockdown of TRPV4 with siRNA reduced TRPV4 agonist-dependent Ca<sup>2+</sup> influx, cellular growth, migration capability and AKT activation. Treatments with TRPV4 overexpression rescued these loss-of-function effects with TRPV4 siRNA. In contrast, TRPV4 knockdown did not affect the expression of target genes of Hippo pathway signaling. Xenograft models showed that the volumes and weights of TRPV4 shRNA expressing tumor groups were less than those of control groups. These results suggest that TRPV4 expression is required for tumor formation in vitro and in vivo.

研究分野：口腔外科

キーワード：癌 TRPチャンネル Hippoシグナル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、がん細胞において周囲の微小環境の変化に応答して細胞内シグナル伝達が活性化され、腫瘍形成が促進する知見について報告されている。Transient receptor potential (TRP) チャンネルは  $Ca^{2+}$  の流入に関与するイオンチャンネルファミリーとして同定され、細胞周囲の微小環境(機械ストレスや浸透圧ストレス) を感知すると考えられている。一方、TRP チャンネルは様々ながん細胞に高発現し、その発現は細胞骨格系・増殖・浸潤・転移に影響を与えることが知られているが、詳細なシグナル伝達については明らかでない。また、Hippo シグナルの構成因子である細胞増殖制御因子 YAP/TAZ は細胞形態・細胞骨格の変化に応答して、その核への局在が変化することによりがん細胞の増殖に関与することが知られているが、その上流活性制御メカニズムは不明である。本研究では、TRP チャンネルシグナル伝達と Hippo シグナル伝達のがん細胞において機械刺激を受容し協調的に相互作用するのではないかとこの着想に至った。

### 2. 研究の目的

本研究では、口腔扁平上皮癌細胞において、TRP チャンネルが機械刺激受容体として微小環境に応答することによりシグナル伝達が活性化することによって腫瘍形成に関与するのか、TRP チャンネルシグナル伝達と Hippo シグナル伝達が機械刺激を受容し協調的に相互作用することによってがん形成に影響を与えるのか、について検討することを目的としている。

### 3. 研究の方法

#### (1) 口腔扁平上皮癌細胞株における TRPV4 の発現の検討

6種類の口腔扁平上皮癌細胞株における TRPV4 チャンネルの発現を mRNA およびタンパクレベルにおいて検討した。

#### (2) 口腔扁平上皮癌細胞株における TRPV4 の機能解析

口腔扁平上皮癌細胞株において TRPV4 をノックダウンして、*in vitro* における増殖また遊走に与える影響、および *in vivo* における腫瘍形成に与える影響について検討するためゼノグラフトモデルを用いた。

### 4. 研究成果

#### (1) 口腔扁平上皮癌細胞株における TRPV4 の発現の検討

6種類の口腔扁平上皮癌細胞株における、TRPV4 チャンネルの mRNA およびタンパク発現について検討した。最も高く発現している口腔扁平上皮癌細胞株において、siRNA を用いて TRPV4 をノックダウンしたところ、mRNA およびタンパクレベルにて発現が抑制した。加えて、Fluo-4 AM を用いて細胞内  $Ca^{2+}$  の流入について検討したところ、TRPV4 をノックダウンするとアゴニスト依存的な細胞内  $Ca^{2+}$  の流入が抑制された。

#### (2) 口腔扁平上皮癌細胞株における TRPV4 の機能解析

口腔扁平上皮がん細胞株において TRPV4 をノックダウンしたところ、増殖細胞数(図 1 A)、Ki67 陽性増殖細胞数および運動能が減少した。

レンチウイルスを用いた TRPV4 の過剰発現により で用いた siRNA による TRPV4 チャンネルの発現および表現型(細胞数、Ki67 陽性増殖細胞数および運動能)が回復した。

口腔扁平上皮がん細胞株において TRPV4 をノックダウンしたところ、AKT のリン酸化が抑制された(図 1 B)。一方、YAP/TAZ 下流転写因子 Tead の標的遺伝子の発現はコントロール群と変わらなかった。

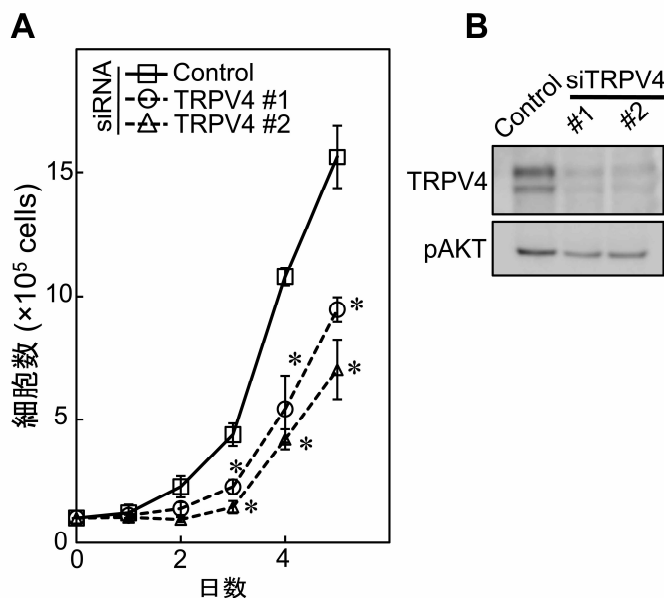


図 1. 口腔扁平上皮癌細胞株における TRPV4 の機能

A. 2 種類の TRPV4 siRNA によるノックダウンは口腔扁平上皮癌細胞株の増殖を抑制する。

B. TRPV4 のノックダウンは AKT の活性化を抑制する。

上記の実験にて用いた siRNA の配列を基に shRNA を設計し、レンチウイルスを用いた感染に

より、恒常的に TRPV4 がノックダウンされた細胞株を樹立した。この細胞株では特異的アゴニスト依存的な細胞内 Ca イオンの流入が抑制された。

shRNA TRPV4 細胞株を浮遊培養、二次元培養（プラスチック培養皿）または三次元培養（マトリゲル）培養したところ、三次元培養条件下のみにて tumor sphere の大きさが減少するとともに Ki67 陽性細胞数が減少した。

shRNA TRPV4 細胞株をヌードマウスに移植した(ゼノグラフトモデル)ところ、移植片の体積と重量が減少した。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 19 件)

1. Fujii S., Nagata K., Matsumoto S., Kohashi K., Kikuchi A., Oda Y., Kiyoshima T., and Wada N. (2019): Wnt/  $\beta$ -catenin signaling, which is activated in odontomas, reduces *Sema3A* expression to regulate odontogenic epithelial cell proliferation and tooth germ development. *Sci Rep* 9: 4257. 査読あり doi: 10.1038/s41598-019-39686-1.
2. Sakamoto M., Moriyama M., Shimizu M., Chinju A., Mochizuki K., Munemura R., Ohya Y., Maehara T., Ogata K., Yamauchi M., Ishiguro N., Matsumura M., Ohya Y., Kiyoshima T., and Nakamura S. (2019): The diagnostic utility of submandibular gland sonography and labial salivary gland biopsy in IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis: Its potential application to the diagnostic criteria. *Mod Rheumatol.* Mar 4:1-6. 査読あり doi: 10.1080/14397595.2019.1576271.
3. Yoshimoto RU., Aijima R., Ohya Y., Yoshizumi J., Kitsuki T., Ohsaki Y., Cao AL., Danjo A., Yamashita Y., Kiyoshima T., and Kido MA. (2019): Impaired Junctions and Invaded Macrophages in Oral Epithelia With Oral Pain. *J Histochem Cytochem.* 67, 245-56. 査読あり doi: 10.1369/0022155418812405.
4. Mikami Y., Fujii S., Kohashi K., Yamada Y., Moriyama M., Kawano S., Nakamura S., Oda Y., Kiyoshima T. (2018): Low-grade myofibroblast sarcoma arising in the tip of the tongue with intravascular invasion: A case report. *Oncol Lett.* 16, 3889-94, 査読あり doi: 10.3892/ol.2018.9115.
5. Maehara T., Mattoo H., Mahajan VS., Murphy SJ., Yuen GJ., Ishiguro N., Ohta M., Moriyama M., Saeki T., Yamamoto H., Yamauchi M., Daccache J., Kiyoshima T., Nakamura S., Stone JH., and Pillai S. (2018): The expansion in lymphoid organs of IL-4+ BATF+ T follicular helper cells is linked to IgG4 class switching in vivo. *Life Sci Alliance.* pii:e20180050 doi: 10.26508/lsa.201800050.
6. Yoshida H., Yoshimura H., Matsuda S., Tyoke T., Kiyoshima T., Kobayashi M., and Sano K. (2018): Effects of peritumoral bevacizumab injection against oral squamous cell carcinoma in a nude mouse xenograft model: A preliminary study. *Oncol Lett.* 15, 8627-34, 査読あり doi: 10.3892/ol.2018.8399.
7. Ishibashi K., Ishii K., Sugiyama G., Kamata YU., Suzuki A., Kumamaru W., Ohya Y., Nakano H., Kiyoshima T., Sumida T., Yamada T., and Mori Y. (2018): Regulation of  $\beta$ -Catenin Phosphorylation by PR55 in Adenoid Cystic Carcinoma. *Cancer Genomics Proteomics.* Jan-Feb,15, 53-60, 査読あり doi: 10.21873/cgp.20064
8. Furukawa S., Oobu K., Moriyama M., Kawano S., Sako S., Hayashida JN., Matsubara R., Ogata KI., Kiyoshima T., and Nakamura S. (2018): Oral Methotrexate-related Lymphoproliferative Disease Presenting with Severe Osteonecrosis of the Jaw: A Case Report and Literature Review. *Intern Med.* 57, 575-81. 査読あり doi: 10.2169/internalmedicine.8946-17.
9. Kaneko N., Kawano S., Yasuda K., Hashiguchi Y., Sakamoto T., Matsubara R., Goto Y., Jinno T., Maruse Y., Morioka M., Hattori T., Tanaka S., Tanaka H., Kiyoshima T., and Nakamura S. (2017): Differential roles of kallikrein-related peptidase 6 in malignant transformation and Np63  $\beta$ -mediated epithelial-mesenchymal transition of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 75, 148-57. 査読あり doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.11.004.
10. Matsuishi YI., Kato H., Masuda K., Yamaza H., Hirofujii Y., Sato H., Wada H., Kiyoshima T., and Nonaka K. (2018): Accelerated dentinogenesis by inhibiting the mitochondrial fission factor, dynamin related protein 1. *Biochem Biophys Res Commun.* 495, 1655-60. 査読あり doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.026.
11. Hashiguchi Y., Kawano S., Goto Y., Yasuda K., Kaneko N., Sakamoto T., Matsubara R., Jinno T., Maruse Y., Tanaka H., Morioka M., Hattori T., Tanaka S., Kiyoshima T., and Nakamura S. (2018): Tumor-suppressive roles of Np63  $\beta$ -miR-205 axis in epithelial-mesenchymal transition of oral squamous cell carcinoma via targeting ZEB1 and ZEB2. *J Cell Physiol.* 233, 6565-77. 査読あり doi: 10.1002/jcp.26267.
12. Sakamoto T., Kawano S., Matsubara R., Goto Y., Jinno T., Maruse Y., Kaneko N., Hashiguchi Y., Hattori T., Tanaka S., Kitamura R., Kiyoshima T., and Nakamura

- S.(2017): Critical roles of Wnt5a-Ror2 signaling in aggressiveness of tongue squamous cell carcinoma and production of matrix metalloproteinase-2 via Np63 -mediated epithelial-mesenchymal transition. *Oral Oncol.* 69, 15-25. 査読あり doi: 10.1016/j.oraloncology.
13. Kubota K., Moriyama M., Furukawa S., Rafiul HASM., Maruse Y., Jinno T., Tanaka A., Ohta M., Ishiguro N., Yamauchi M., Sakamoto M., Maehara T., Hayashida JN., Kawano S., Kiyoshima T., and Nakamura S. (2017): CD163+CD204+ tumor-associated macrophages contribute to T cell regulation via interleukin-10 and PD-L1 production in oral squamous cell carcinoma. *Sci Rep.* 7, 1755 doi: 10.1038/s41598-017-01661-z.
  14. Mikami Y., Fujii S., Nagata N., Wada H., Hasegawa K., Abe M., Yoshimoto RU., Kawano S., Nakamura S., and Kiyoshima T. (2017): GLI-mediated Keratin17 expression promotes tumor cell growth through the anti-apoptotic function in oral squamous cell carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol.* 143, 1382-93. 査読あり doi: 10.1007/s00432-017-2398-2.
  15. Hasegawa K., Wada H., Nagata K., Fujiwara H., Wada N., Someya H., Mikami Y., Sakai H., and Kiyoshima T. (2016): Facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) region gene 1 (FRG1) expression and possible function in mouse tooth germ development. *J Mol Histol.* 47, 375-87. 査読あり doi: 10.1007/s10735-016-9680-5.
  16. Kawano S., Zheng Y., Oobu K., Matsubara R., Goto Y., Chikui T., Yoshitake T., Kiyoshima T., Jinno T., Maruse Y., Mitate E., Kitamura R., Tanaka H., Toyoshima T., Sugiura T., and Nakamura S. (2016): Clinicopathological evaluation of pre-operative chemoradiotherapy with S-1 as a treatment for locally advanced oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett.* 11, 3369-76. 査読あり doi: 10.3892/ol.2016.4411
  17. Yoshihama R., Yamaguchi K., Imajyo I., Mine M., Hiyake N., Akimoto N., Kobayashi Y., Chigita S., Kumamaru W., Kiyoshima T., Mori Y., and Sugiura T. (2016): Expression levels of SOX2, KLF4 and brachyury transcription factors are associated with metastasis and poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett.* 11, 1435-46. 査読あり doi: 10.3892/ol.4047
  18. Ohta M., Moriyama M., Maehara T., Gion Y., Furukawa S., Tanaka A., Hayashida JN., Yamauchi M., Ishiguro N., Mikami Y., Tsuboi H., Iizuka-Koga M., Kawano S., Sato Y., Kiyoshima T., Sumida T., and Nakamura S. (2016): DNA Microarray Analysis of Submandibular Glands in IgG4-Related Disease Indicates a Role for MARCO and Other Innate Immune-Related Proteins. *Medicine (Baltimore).* 95, e2853. 査読あり doi: 10.1097/MD.0000000000002853.
  19. Moriyama M., Ohta M., Furukawa S., Mikami Y., Tanaka A., Maehara T., Yamauchi M., Ishiguro N., Hayashida JN., Kawano S., Ohyama Y., Kiyoshima T., and Nakamura S. (2016): The diagnostic utility of labial salivary gland biopsy in IgG4-related disease. *Mod Rheumatol.* 26, 725-9. 査読あり doi: 10.3109/14397595.2016.1148225.

〔学会発表〕(計 25 件)

1. 藤井慎介, 歯牙腫における Wnt シグナル依存的 Sema3A の発現を介する増殖制御機構の解明, 第 60 回歯科基礎医学会学術大会, 2018.09.
2. 田尻祐大, 藤井慎介, 大関悟, 清島保, ヒト口腔癌における TRPV4 の発現と機能解析, 第 60 回歯科基礎医学会, 2018.09.
3. 三上友理恵, 藤井慎介, 中村誠司, 清島保, 腺扁平上皮癌におけるエピジェネティックな変化は扁平上皮組織を腺組織に転換する, 第 60 回歯科基礎医学会, 2018.09.
4. 長谷川佳那, 藤井慎介, 清島保, 機械感受性イオンチャネル Piezo1 の発現は口腔扁平上皮癌の細胞増殖を制御する, 第 60 回歯科基礎医学会学術大会, 2018.09.
5. 藤井慎介, 永田健吾, 清島保, 和田尚久, 歯牙腫における Wnt/ -catenin シグナルの活性化は軸索伸張制御因子(Sema3A)を介して増殖を制御する, 第 107 回日本病理学会総会, 2018.06.
6. 三上友理恵, 藤井慎介, 清島保, 口腔扁平上皮癌において GLI-KRT17 連関は腫瘍における増殖を抗アポトーシス作用を介して促進する, 第 107 回日本病理学会総会, 2018.06.
7. 三上友理恵, 大部一成, 松原良太, 北村亮二, 清島保, 川野真太郎, 中村 誠司, 後発転移リンパ節に腺扁平上皮癌を認めた舌原発扁平上皮癌の 1 例, 第 36 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会, 2018.01.
8. 藤井慎介, 永田健吾, 清島保, 和田尚久, 歯牙腫における Wnt/ -catenin シグナルの活性化は軸索伸張制御因子を介して増殖を制御する, 第 63 回日本病理学会秋期特別総会, 2017.11.
9. 藤井慎介, 清島保, 松本真司, ヒト肺癌(腺癌および肺扁平上皮癌)における Arl4c の発現は癌形成を促進する, 第 59 回歯科基礎医学会大会, 2017.09.
10. 三上友理恵, 藤井慎介, 永田 健吾, 和田 裕子, 長谷川 佳那, 安部みさき, 吉本怜子, 中村誠司, 清島保, 口腔扁平上皮癌において GLI-KRT17 連関は腫瘍細胞の増殖を促進す

- る, 第 59 回歯科基礎医学会学術大会, 2017.09.
11. Hiroko Wada, Koki Nagano, Yurie Mikami, Misaki Abe, Tomohiro Yamada, Yoshihide Mori and Tamotsu Kiyoshima, A case of Plasmablastic lymphoma arising in oral cavity and extraoral site, 第 28 回日本臨床口腔病理学会, 2017.08.
  12. 藤野翔香, 濱野さゆり, 芹田俊, 友清 淳, 長谷川大学, 吉田晋一郎, 水町博之, 御手洗裕美, 和田尚久, 清島保, 前田英史, 新規象牙質細胞マーカーとしてのチロシン水酸化酵素の可能性, 第 146 回日本歯科保存学会春季学術大会, 2017.06.
  13. 藤井慎介, 松本真司, 清島保, 菊池章, ヒト肺腺癌および肺扁平上皮癌における Ar14c の発現はがん形成を促進する, 第 106 回日本病理学会総会, 2017.04.
  14. 望月敬太, 松村香織, 大部一成, 森山雅文, 新井伸作, 三上友里恵, 清島保, 中村誠司, 顎関節に生じた色素性絨毛結節性滑膜炎の 1 例, 第 71 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会, 2017.04.
  15. Hiroko Wada, Kana Hasegawa, Kengo Nagata, Naohisa Wada, Yurie Mikami, Hidetaka Sakai, Tamotsu Kiyoshima, The expression pattern of the FRG1 in the mouse developing tooth germ., The 95th General Session & Exhibition of the IADR, 2017.03.
  16. 藤井慎介, 松本真司, 清島保, 菊池章, ヒト大腸癌、肺腺癌および肺扁平上皮癌における Ar14c の発現はがん形成を促進する, 第 62 回日本病理学会秋期特別総会, 2016.11.
  17. 藤井慎介, 松本真司, 菊池章, Ar14c expression is involved in tumorigenesis of colorectal cancer, lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016.10.
  18. 久保田恵吾, 森山雅文, 古川祥子, Rafiul Haque A.S.M., 丸瀬靖之, 石黒乃理子, 坂本瑞樹, 川野真太郎, 林田淳之介, 太田美穂, 清島保, 中村誠司, 口腔扁平上皮癌における免疫回避機構と腫瘍随伴性マクロファージとの関連, 第 44 回日本臨床免疫学会総会, 2016.09.
  19. Hiroko Wada, Aki Kinjo, Yurie Mikami, Tuyoshi Sugiura, Tamotsu Kiyoshima, Mandibular tumor, The 27th Annual Meeting of the Japanese Society of Oral Pathology, 2016.08.
  20. 三上友理恵, 永田健吾, 和田裕子, 藤井慎介, 安部みさき, 吉本玲子, 清島保, 中村誠司, 口腔扁平上皮癌において Gli 阻害剤(GANT61)は細胞死を誘導する, 第 58 回歯科基礎医学会学術大会総会, 2016.08.
  21. 吉本玲子, 合島怜央奈, 大崎康吉, 曹愛琳, 張旌旗, 清島保, 城戸瑞穂, TRPV4 チャネルを介した温度変化による口腔上皮細胞調節, 第 58 回歯科基礎医学会学術大会総会, 2016.08.
  22. 合島怜央奈, 吉本玲子, 曹愛琳, 森啓輔, 張旌旗, 大崎 康吉, 壇上敦, 清島保, 城戸瑞穂, ヒト口腔癌細胞株における TRP チャネルの機能解析, 第 58 回歯科基礎医学会学術大会総会, 2016.08.
  23. 三上友理恵, 和田裕子, 永田健吾, 大部一成, 中村誠司, 清島保, A case of adenosquamous carcinoma observed in the metastatic lymph node, but not in the primary lesion., 第 27 回日本臨床口腔病理学会総会・学術大会, 2016.08.
  24. Reiko U. Yoshimoto, Reona Aijima, Yasuyoshi Ohsaki, Zhang J.Q., Cao A.L., Tamotsu Kiyoshima, Kido M.A., Temperature changes effect on intercellular adhesion of oral epithelial cells., The 15th International Symposium on Molecular and Neural Mechanism of Taste and Olfactory Perception., 2016.06.
  25. 久保田恵吾, 森山雅文, 古川祥子, 丸瀬靖之, Rafiul Haque A.S.M., 石黒乃理子, 坂本瑞樹, 川野真太郎, 清島保, 中村誠司, 口腔扁平上皮癌の浸潤・転移における腫瘍随伴性マクロファージの関与, 第 70 回日本口腔科学会学術集会, 2016.04.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年：  
 国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：

取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 口腔病理学研究分野  
[http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/about/field/field4/field4\\_01/](http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/about/field/field4/field4_01/)

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究者分担氏名：清島 保  
ローマ字氏名：(KIYOSHIMA, Tamotsu)  
所属研究機関名：九州大学  
部局名：大学院歯学研究院  
職名：教授  
研究者番号：20264054

研究者分担氏名：藤井 慎介  
ローマ字氏名：(FUJII, Shinsuke)  
所属研究機関名：九州大学  
部局名：大学院歯学研究院  
職名：助教  
研究者番号：60452786

研究者分担氏名：和田 裕子  
ローマ字氏名：(WADA, Hiroko)  
所属研究機関名：九州大学  
部局名：大学院歯学研究院  
職名：助教  
研究者番号：70380706

### (2) 研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。