

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17076013

研究課題名（和文） 微小技術を用いた人工染色体の細胞内移送，発現，分配の解析と操作

研究課題名（英文） Multi-scale manipulation-based analyses and application of the artificial chromosome-like characteristics of the Epstein-Barr virus-based episomal vectors

研究代表者

松田 修 (MAZDA OSAM)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：00271164

研究成果の概要（和文）： 遺伝子導入は、細胞と生体分子の機能を解析、制御する上で必須の基盤技術である。エプスタイン・バール・ウイルスの EBNA1 遺伝子と oriP 配列を用いると、人工染色体様の性質が発揮され、哺乳動物細胞への遺伝子導入効率と発現を著明に向上することが可能である。本研究では、マルチスケール操作により EBNA1/oriP システムの細胞内での局在、相互作用、複製維持等を解析するとともに、遺伝子発現制御と再生医療等への応用を行った。

研究成果の概要（英文）： Gene transfection provides a fundamental technology to analyze, estimate and manipulate cellular and biomolecular functions. The Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 (EBNA1) gene and oriP sequence offer characteristics of an artificial chromosome, drastically improving transduction rate as well as expression level in mammalian cells. Using multiscale manipulation technologies, we analyzed intracellular localization, interaction, replication and maintenance of EBNA1/oriP in living cells, and applied them to regulation of gene expression as well as to regenerative medicine.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-------------|------|-------------|
| 2005年度 | 19,900,000 | 0 | 19,900,000 |
| 2006年度 | 20,200,000 | 0 | 20,200,000 |
| 2007年度 | 20,600,000 | 0 | 20,600,000 |
| 2008年度 | 20,600,000 | 0 | 20,600,000 |
| 2009年度 | 19,700,000 | 0 | 19,700,000 |
| 総計 | 101,000,000 | 0 | 101,000,000 |

研究分野： マルチスケール操作によるシステム細胞工学

科研費の分科・細目： 免疫学、腫瘍免疫学、膠原病・アレルギー学、遺伝・ゲノム動態

キーワード： 幹細胞、細胞情報・動態、遺伝子発現、再生医学、サイトカイン、アレルギー、腫瘍免疫、エピゲノム制御

1. 研究開始当初の背景

遺伝子導入は、細胞を人為的に改変，操作，制御するための最も基盤的な技術であるが、

既存の遺伝子導入技術は実際には非常に効率が悪く，とくに組織細胞に対して自在にかつ高効率に遺伝的操作を加えることのでき

る技術は現存しない。その最大の原因は、導入した遺伝物質の細胞内での安定性、移送、分配が制御できないという点にある。

EBV エピゾーマル・ベクターは宿主細胞内で自律的に増殖・維持されるという人工染色体様の機能を有しており、細胞を人為的に改変、操作、制御する為の基盤的技術となりえるのみならず、再生医療などの細胞治療や遺伝子治療に有効な手段となりえる。しかしながら、標的細胞に対する選択法、高効率な遺伝子操作法、さらに高精度な遺伝子制御法の開発など、実用化するためにはまだ超えなければならない問題があることも事実である。これらの問題を克服する為には、第一に導入遺伝物質の細胞内での移送、安定性、分配など遺伝子発現に関わる素機能の詳細を明らかにする必要がある、さらにその情報を基にした EBV エピゾーマル・ベクターの改良を行う必要があると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、自律的な人工染色体様の機能を有する EBV エピゾーマル・ベクターを用いて細胞内での挙動を微小レベルで究明するとともに、マイクロ・ナノマニピュレーションによる新しい組織の遺伝的改変技術を確立し、ならびにエピゾーマル・ベクターの飛躍的な改良を試みる。EBV エピゾーマル・ベクターの細胞内での移送、保持、分配のメカニズムを微小レベルで解明するとともに、細胞内での遺伝情報の送達、発現、維持の効率がさらに飛躍的に向上した次世代の遺伝子送達技術を開発し、システム細胞工学に資する。またこの系を応用すれば、生体内での種々遺伝子の機能解析を高効率に行えると考えられ、その成果は疾患に対する遺伝子治療や免疫療法等にも応用できるものと期待させる。本研究の成果は、細胞工学的応用のみならず、再生医療などの細胞治療や遺伝子治療に新機軸を打ち立てるものと考えられる。

3. 研究の方法

EBV エピゾーマル・ベクターの構築と構築と改変、細胞内局在の解析と発現解析等は、遺伝子工学的手法に種々の改変を加えて行った。DNA の高次構造変換は京大の吉川教授らの方法にて、on substrate cell lysis 法は京大の吉村博士らの方法で、それぞれ共同研究として行った。Electroporation は、東大の鷲津教授らとの共同研究で行った。またナノゲルへの封入は東京医科歯科大学の秋吉教授らと、また筋細胞の微小収縮力測定は東京農工大学の森島教授らとの共同研究で、それぞれの手法にて行った。幹細胞の培養とキャラクターゼーションは、通常の発生工学的技術で施行した。

4. 研究成果

まず、EBV エピゾーマル・ベクターの各エレメントを別個に有する種々のベクターを構築し、それらを様々な細胞に共導入することにより、種々のエレメントの機能を計測するとともに、遺伝子導入における制約条件を見出す研究を行った。導入には電気穿孔法、カチオニックポリマー等を用い、解析はフローサイトメトリー等にて行なった。その結果、EBV エピゾーマル・ベクターの非常な高効率導入・高発現は、EBNA1 が trans に、DS と FR が cis に働ける条件でのみ得られること、DS と FR はその両者が必要であることが示され、さらに DS と FR の間にも未知の機能領域が存在する可能性が示唆された。高効率導入・高発現にはエピゾーマル・ベクターの核内への移行と転写亢進活性が寄与するが、DNA 複製は関与しないことが分かった。さらに、細胞と導入法、アッセイ法の組み合わせによっては、ほぼ 100%の細胞が導入遺伝子をきわめて強力に発現した。この実験事実は、非ウイルス的遺伝子導入が、実際には条件さえ整えば細胞外から細胞内への DNA 移送を非常に効率よく達成しており、それが遺伝子発現に結びつかないのは核内移送が制約条件になっていることを意味しているが、これは既存の遺伝子導入技術の常識を超える新しい事実である。したがって、遺伝子導入の効率を決定する最大の要因は、細胞内微小画分における DNA の挙動と安定性であるという、研究代表者らの仮説を強く支持する結果であるとともに、従来の遺伝子導入ベクター開発の方法論と計測手法にも一石を投じる知見が得られた。

次に、EBV エピゾーマル・ベクター導入細胞内における EBNA1 たんぱくと oriP の素機能、とくに DNA の核内移動、核内保持、複製の、導入発現効率に対する貢献度を検証するとともに、細胞外から細胞内への DNA 輸送効率を検定した。その結果、遺伝子導入・発現における、EBNA1/oriP 依存性の核内輸送、核内保持の重要性が示された。その一方で細胞外から細胞内への DNA 輸送効率については、EBV エレメントの有無にかかわらず、電気穿孔法やカチオニックリピッドによる方法において、非常に高い効率が達成されており、細胞内の DNA の挙動が遺伝子発現に主要な影響を与える事実が裏付けられた (Kishida et al., J. Biotechnol.)。一方で、蛍光色素でラベルした EBV エピゾーマル・ベクターとカチオニックリピッドを細胞に培養後、細胞内局在を解析する研究を行った。EBNA1 は通常、核内に存在するが、実際にはその多くはクロマチンに結合しており、一部は核マトリックスにアソシエートしていることが分かった。ところがすくなくとも一部の EBNA1 は、核膜、

そして細胞質にも分布していること、実際カチオニックリピッドにて導入した直後の oriP-DNA は、主として細胞質で EBNA1 とインタラクト後、核内に輸送されることが示唆された。この EBNA1 の特異な動態が、EBV エピゾーマル・ベクターのさまざまな機能の発現を發揮する鍵を握るものと考え、EBNA1 と結合する宿主因子の同定によりその分子的基盤の解明につなげた。

EBV エピゾーマル・ベクターの細胞内移行の効率に、DNA の高次構造が与える影響を検証する目的で、A01 班・京大・吉川教授との共同研究で、EBV エピゾーマル・ベクターの高次構造変換を行い、電気穿孔法による細胞内導入を行った。その結果、DNA のコンパクションにより、細胞内への移送と遺伝子発現は明らかに増加した。この知見は、さらなる高効率遺伝子送達技術の開発に繋がるものと思われた。

一方で、EBV エピゾーマル・ベクターの細胞内移送と安定化の解析については、A01 班・京大・吉村博士との共同研究で、on substrate cell lysis 法と共焦点レーザー顕微鏡を組み合わせた解析を行なった。その結果、EBV エピゾーマル・ベクターを HeLaS3 細胞に導入した際、oriP と EBNA1 が、核内のヘテロクロマチン領域に共局在すること、また染色体に対する EBNA1 の結合親和力は、oriP の共存によって高まることなどが認められた。この結果は、EBV エピゾーマル・ベクターが娘細胞へ確実に分配され、宿主細胞内で安定的に維持される為の重要な機構であると考えられた。また、on substrate cell lysis 法と共焦点レーザー顕微鏡を組み合わせた解析を、導入後長期間維持、発現に応用して解析する研究に発展させた。このとき、EBNA1 のプロモーターを種々改変を加えることにより、長期間維持、発現において EBNA1 の発現量は極めて微量でも十分に機能しうることを見出したので、このことは、EBV エピゾーマル・ベクターの再生医療や遺伝子治療への応用の際にも利点となると考えられる。

遺伝子の機能解析とその応用に関しては、EBV エピゾーマル・ベクターによる生体内導入発現技術により、IL-27、IL-28、IL-33 等の機能解析を行なった。また、A01 班・東京医科歯科大・秋吉教授との共同研究で、ナノ DDS にこれらサイトカインを封入し生体内徐放と機能解析を行った。その結果、たとえば IL-27 が NK 細胞を活性化する等、新たな作用が多数見出された。これらは、新しい癌の免疫療法の開発に繋がる可能性がある。

再生医療を目的としたプライマリー細胞の遺伝的改変技術の樹立も試みた。ヒトプライマリー細胞は、とりわけ遺伝子導入が困難で、また遺伝子導入により障害を受けやすいが、EBV エピゾーマル・ベクターを用いた種々

プライマリー細胞への遺伝子導入を、MEMS を応用した手法等にて行った。その結果、ヒト正常二倍体線維芽細胞、ケラチノサイト等のプライマリー細胞への導入について、細胞への毒性が低い遺伝的改変技術の確立につながる結果を得た。

他方、遺伝子発現制御に関しては、A03 班・東京農工大・森島教授との共同研究で、骨格筋における遺伝子発現制御を生体組織アクチュエーターに応用する研究を行い、とくにある種のサイトカインの in vivo 抑制による病態制御を、骨格筋、関節滑膜等を対象臓器として行った。

これらの結果は、生体機能の構築・模写、細胞、臓器の自在な遺伝改変技術の確立、生体分子素機能の解析につながり、システム細胞工学に大きく貢献するものと考えられる。

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 19 件) **すべて査読あり**

- 1 Shin-Ya M, Hirai H, Satoh E, Kishida T, Asada H, Aoki F, Tsukamoto M, Imanishi J, Mazda O. Intracellular interferon triggers Jak/Stat signaling cascade and induces p53-dependent antiviral protection. *Biochem Biophys Res Commun* 329: 1139-1146, 2005.
- 2 Sato YT, Hamada T, Kubo K, Yamada A, Kishida T, Mazda O, Yoshikawa K. Folding transition into a loosely collapsed state in plasmid DNA as revealed by single-molecule observation. *FEBS Lett* 579: 3095-3099, 2005.
- 3 Tsunoda S, Mazda O, Oda Y, Iida Y, Akabame S, Kishida T, Shin-Ya M, Asada H, Gojo S, Imanishi J, Matsubara H, Yoshikawa T. Sonoporation using microbubble BR14 promotes pDNA/siRNA transduction to murine heart. *Biochem Biophys Res Commun* 336: 118-127, 2005.
- 4 Inoue A, Takahashi KA, Mazda O, Terauchi R, Arai Y, Kishida T, Shin-Ya M, Asada H, Morihara T, Tonomura H, Ohashi S, Kajikawa Y, Kawahito Y, Imanishi J, Kawata M, Kubo T. Electrotransfer of small interfering RNA ameliorated arthritis in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 336: 903-908, 2005.

- 5 Nakano H, Kishida T, Asada H, Shin-Ya M, Shinomiya T, Imanishi J, Shimada T, Nakai S, Takeuchi M, Hisa Y and Mazda O. Interleukin-21 triggers both cellular and humoral immune responses leading to therapeutic antitumor effects against head and neck squamous cell carcinoma. *J Gene Med* 8: 90-99, 2006.
- 6 Iida Y, Oda Y, Nakamori S, Tsunoda S, Kishida T, Gojo S, Shin-Ya M, Asada H, Imanishi J, Yoshikawa T, Matsubara H, Mazda O. Transthoracic direct current (DC) shock facilitates intramyocardial transfection of naked plasmid DNA infused via coronary vessels in canines. *Gene Ther* 13: 906-916, 2006.
- 7 Yoo HS, Mazda O, Lee HY, Kim JC, Kwon SM, Lee JE, Kwon IC, Jeong H, Jeong YS, Jeong SY. In vivo gene therapy of type I diabetic mellitus using a cationic emulsion containing an Epstein Barr virus (EBV) based plasmid vector. *J Control Release* 112: 139-144, 2006.
- 8 Nakai N, Kishida T, Shin-Ya M, Imanishi J, Ueda Y, Kishimoto S, Mazda O. Therapeutic RNA interference of malignant melanoma by electrotransfer of small interfering RNA targeting Mitf. *Gene Ther* 14: 357-365, 2007.
- 9 Saito M, Mazda O, Takahashi KA, Arai Y, Kishida T, Shin-Ya M, Inoue A, Tonomura H, Sakao K, Morihara T, Imanishi J, Kawata M, Kubo T. Sonoporation-mediated transduction of pDNA/siRNA into joint synovium in vivo. *J Orthop Res* 25: 1308-1316, 2007.
- 10 Hiromura Y, Kishida T, Nakano H, Hama T, Imanishi J, Hisa Y, Mazda O. IL-21 administration into the nostril alleviates murine allergic rhinitis. *J Immunol* 179: 7157-7165, 2007.
- 11 Kishida T, Hiromura Y, Shin-Ya M, Asada H, Kuriyama H, Sugai M, Shimizu A, Yokota Y, Hama T, Imanishi J, Hisa Y, Mazda O. IL-21 induces inhibitor of differentiation 2 (Id2) and leads to complete abrogation of anaphylaxis in mice. *J Immunol* 179: 8554-8561, 2007.
- 12 Tonomura H, Takahashi KA, Mazda O, Arai Y, Shin-Ya M, Inoue A, Honjo K, Hojo T, Imanishi J, Kubo T. Effects of heat stimulation via microwave applicator on cartilage matrix gene and HSP70 expression in the rabbit knee joint. *J Orthop Res* 26: 34-41, 2008.
- 13 Kishida T, Asada H, Kubo K, Sato Y, Shin-Ya M, Imanishi J, Yoshikawa K, Mazda O. Pleiotropic functions of Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) and oriP differentially contribute to the efficacy of transfection/expression of exogenous gene in mammalian cells. *J Biotechnol* 133: 201-207, 2008.
- 14 Shimizu T, Kishida T, Hasegawa U, Ueda Y, Imanishi J, Yamagishi H, Akiyoshi K, Otsuji E, Mazda O. Nanogel DDS enables sustained release of IL-12 for tumor immunotherapy. *Biochem Biophys Res Commun* 367: 330-335, 2008.
- 15 Inoue A, Takahashi KA, Mazda O, Arai Y, Saito M, Kishida T, Shin-Ya M, Morihara T, Tonomura H, Sakao K, Imanishi J, Kubo T. Comparison of anti-rheumatic effects of local RNAi-based Therapy in collagen induced arthritis rats using various cytokine genes as molecular targets. *Mod Rheumatol* 19: 125-133, 2009.
- 16 Matsui M, Kishida T, Nakano H, Yoshimoto K, Shin-Ya M, Shimada T, Nakai S, Imanishi J, Yoshimoto T, Hisa Y, Mazda O. Interleukin-27 activates natural killer cells and suppresses NK-resistant head and neck squamous cell carcinoma through inducing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Cancer Res* 69: 2523-2530, 2009.
- 17 Hashimoto T, Tachibana Y, Nozaki H, Mazda O, Niidome T, Murakami A, Yamaoka T. Intracellular enzyme-responsive fragmentation of nonviral gene carriers leads to polyplex destabilization and enhanced transgene expression. *Chem Lett* 38: 718-719, 2009.

- 18 Hasegawa U, Sawada SI, Shimizu T, Kishida T, Otsuji E, Mazda O, Akiyoshi K. Raspberry-like assembly of cross-linked nanogels for protein delivery. *J Control Release* 140: 312-317, 2009.
- 19 Nakai N, Kishida T, Hartmann G, Katoh N, Imanishi J, Kishimoto S, Mazda O. Mitf silencing cooperates with IL-12 gene transfer to inhibit melanoma in mice. *Int Immunopharmacol* (in press).
- [学会発表] (計 1 2 件)
- 1 Kishida T, Imanishi J, Mazda O. EBV-based artificial chromosome provides an efficient tool for gene delivery into mammalian cells. *NanoBio Europe* 2005, 2005 Sep 22-24; Muenster, Germany.
- 2 Hiromura Y, Mazda O, Kishida T, Hama T, Hisa Y. Local administration of IL-21 suppresses nasal allergic reaction in a murine model. The 29th Annual Midwinter Research Meeting of the Association for Research in Otolaryngology (ARO). 2006 Feb 5; Baltimore, MD, USA.
- 3 Hiromura Y, Mazda O, Kishida T, Hama T, Hisa Y. Local administration of IL-21 suppresses nasal allergic reaction in a murine model. 1st Joint Meeting of European National Societies of Immunology and 16th European Congress of Immunology. 2006 Sep 7; Paris, France.
- 4 Inoue A, Takahashi KA, Arai Y, Saito M, Tonomura H, Sakao K, Mazda O, Imanishi J, Kubo T. The therapeutic effects of inflammatory cytokine-specific small interfering RNA transduction into joints on rat arthritis. 53rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. 2007 Feb 11-14; San Diego, CA, USA.
- 5 Iwai M, Ishii M, Harada Y, Mori T, Itoh Y, Okanoue T, Kishida T, Mazda O, Imanishi J. Synergistic effect of both TRAIL gene and a low dose of anti-cancer drugs on liver metastasis. 17th Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL), 2007 Mar 29; Kyoto, Japan.
- 6 Matsui M, Kishida T, Asada H, Nakano H, Imanishi J, Mazda O, Hisa Y. IL-27 induced antitumor effects against HNSCC in mice. AAO-HNSF 2007 Annual Meeting & OTO EXPO. 2007 Sep 16-19; Washington DC, USA.
- 7 Li L, Takenaka T, Zinchenko AA, Chen N, Inagaki S, Asada H, Kishida T, Mazda O, Murata S, Yoshikawa K. Cationic silica nanoparticles efficiently transfer into mammalian cells. 2007 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, 2007; Nov 12-13, Nagoya.
- 8 Hiromura Y, Kishida T, Nakano H, Hama T, Mazda O, Hisa Y. IL-21 administration into the nostril alleviates murine allergic rhinitis. The 12th Japan-Korean joint meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2008 Apr 5; Nara.
- 9 Mazda O, Kishida T, Imanishi J. The Epstein-Barr virus-based episomal vectors may provide efficient means of genetic transduction *in vitro* and *in vivo*. 2nd World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cell-2009 (RMSC-2009)/4th China Medical Biotech Forum (CMBF). 2009 Aug 8-10; Dalian, China.
- 10 Kishida T, Imanishi J, Mazda O. A strain of unicellular alga that may provide a novel functional food to decelerate senescence. 3rd FEMS Congress of European Microbiologists. 2009 Jun 28-Jul 2; Gothenberg, Sweden.
- 11 Cui FD, Kishida T, Imanishi J, Hayakawa K, Mazda O. Infectious capability of HSV-1 is drastically reduced by high pressure-based procedures to attenuate virus. 3rd FEMS Congress of European Microbiologists. 2009 Jun 28-Jul 2; Gothenberg, Sweden.
- 12 Mazda O, Kishida T, Asada H, Yoshimura SH, Imanishi J. Multiple functions and subcellular localization of EBV nuclear antigen-1 (EBNA-1) contributes to transfection/

expression efficiencies of EBV episomal vectors in mammalian cells. 3rd FEMS Congress of European Microbiologists. 2009 Jun 28-Jul 2; Gothenberg, Sweden.

[図書] (計9件)

- 1 Mazda O, Kishida T. Functional Nucleotide sequences capable of promoting nonviral genetic transfer. In: Taira K, Kataoka K, Niidome T, editors. Non-viral gene therapy: gene design and delivery. Springer-Verlag Tokyo, Tokyo: 198-210, 2005.
- 2 Kishida T, Shin-Ya M, Imanishi J, Mazda O. Application of EBV-based artificial chromosome to genetic engineering of mammalian cells and tissues. Proceedings of the 2005 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, Eighth Symposium on Micro- and Nano-Mechatronics for Information-Based Society - The 21st Century COE Progr 2005: 124-129, 2005.
- 3 Mazda O, Kishida T, Asada H, Iida Y, Tsunoda S, Oda Y, Shin-Ya M, Yoshikawa T, Matsubara H, Imanishi J. Novel gene transduction procedures *in vivo* using the Epstein-Barr virus-based artificial chromosomes. 2006 IEEE International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science, MHS: 22-27, 2006.
- 4 Liu L, Takenaka T, Zinchenko AA, Chen N, Inagaki S, Asada H, Kishida T, Mazda O, Murata S, Yoshikawa, K. Cationic silica nanoparticles are efficiently transferred into mammalian cells. 2007 International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science, MHS: 281-285, 2007.
- 5 Kishida T, Hiromura Y, Hama T, Imanishi J, Hisa Y, Mazda O. Interleukin-21 as an effective suppressant for IgE-mediated allergic hypersensitivity reactions. 2007 International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science, MHS: 304-309, 2007.
- 6 Mazda O, Kishida T. Electroporation-mediated molecular

therapeutics of cancer using short interfering RNA and EBV-based DNA construct with properties of an artificial chromosome. In: Ochiai T, Shimada H, Tagawa M, editors. Gene Therapy 2007. Medical View, Tokyo: pp34-55, 2007.

- 7 Asada H, Yoshimura SH, Kishida T, Imanishi J, Mazda O. Subcellular localization of EBNA1 and oriP that may support the high rate of exogenous gene transfer achieved using the EBV genetic elements. Proceedings of the 2008 International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science, MHS 2008: 54-59, 2008.
- 8 Mazda O, Kishida T. Molecular therapeutics of cancer by means of electroporation-based transfer of siRNAs and EBV-based expression vectors. Front Biosci 1: 316-331, 2009.
- 9 Mazda O, Kishida T, Matsui M, Nakano H, Yoshimoto K, Shimada T, Nakai S, Imanishi J, Hisa Y. Nonviral gene administration by means of the EBV-based episomal vectors and its application to gene therapy and regenerative medicine. Summarized Report of Symposium on "System Cell Engineering by Multi-scale manipulation" at 20th Anniversary MHS2009 & Micro-Nano Global COE: 21-26, 2009.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 修 (MAZDA OSAM)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号: 00271164

(2) 研究分担者

今西 二郎 (IMANISHI JIRO)

京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号: 40112510

伏木 信次 (FUSHIKI SHINJI)

京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号: 80150572

中屋 隆明 (NAKAYA TAKAAKI)

大阪大学・微生物病研究所・特任准教授
研究者番号: 80271633

(3) 連携研究者 なし