

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04724

研究課題名(和文) 高品質な機能性食品の開発を目指した、物性-動態-活性/安全性の連関解析

研究課題名(英文) The association analysis among the biological effects of food ingredients, their physicochemical properties and kinetics, for the development of functional foods with high quality

研究代表者

長野 一也 (Nagano, Kazuya)

大阪大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：40548301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高品質な機能性食品の開発を目指し、独自の非晶質処方開発したクルクミンをモデルに、「物性-動態-活性/安全性」の多角的連関解析手法の有用性を評価した。その結果、非晶質クルクミンは市販製剤に比較しても、特に肝臓に組織分布量が多いことが明らかとなった。また、非晶質クルクミンは、肝臓中で、PPAR を活性化させ、酸化を亢進させることで、肝臓で合成・貯蔵されるトリグリセリドを低下させる効能を有していることを示した。以上、本研究から、動態に基づいた生体応答解析の重要性が提示でき、今後、本手法を活用することで、高品質な機能性食品が数多く開発されることを期待する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特定保険用食品の市場は、制度設定以来、右肩あがりに拡大してきたものの、エコナ問題による安全性への懸念から、市場が20%まで落ち込み、しばらく横ばい傾向が続くこととなった。このように、日常、口にする食品の安全性への懸念は、大きな社会問題となることが多い。このような観点から、今後さらに機能性食品の活用が増すことが予想される本邦においては、品質の担保が必要不可欠である。そのため、本研究の成果は、クルクミンの生理活性の理解に加え、将来的に、高品質な機能性食品を開発するうえで考慮すべき指針を与えうる点で、社会的意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated the usefulness of the association analysis among the biological effects of food ingredients, their physicochemical properties and kinetics, for the development of functional foods with high quality.

Amorphous curcumin developed by our original formulation as a model showed that the curcumin was highly distributed in various kinds of tissues (especially in the liver), compared to the commercial formulations. In the liver, amorphous curcumin lowered triglycerides by activating PPAR and enhancing -oxidation. In conclusion, this study demonstrates that it is important to analyze biological responses based on the kinetics. In the future, we hope that many functional foods with high quality will be developed by utilizing this approach.

研究分野：薬学

キーワード：機能性食品 品質

## 1. 研究開始当初の背景

近年の健康に対する意識の高まりも相まって、国が個別に有用性を審査・承認する「特定保健用食品（特保）」が世界に先駆けて制度化され、数多くの特保が開発・利用されている。その一方で、特保として承認されるまでには、その審査期間が長く、費用も多額であることを踏まえ、昨年度から新たに、事業者の責任のもとで機能性表示が可能になった「機能性表示食品」の制度が始まった。しかし、本制度のもとで届出られている食品の中には、機能成分が明確でないものや、その分析法が開示されていないものもあり、品質の評価さえできない状況で、たった1年で、見直しの議論が始まっている。さらに承認を必要とする特保でさえ、エコナ問題を契機として、承認後の再審査制度や追試験のあり方について、各方面から指摘されている。今後さらに健康志向が高まることが予測されている現状において、我が国の機能性食品の安全と安心を担保したうえで、有効活用するためには、科学的根拠に基づいた高品質な機能性食品を開発することに加え、品質を高度に確保するための評価手法の確立が求められている。

その点、研究代表者らはこれまでに、医薬品や食品、化粧品の各分野で先端素材として注目されている「ナノマテリアル」の開発支援を目的に、その安全性を「物性-動態-毒性」の3者連関によって評価してきた(ACS Nano, 2016[IF:13], Nat. Nanotechnol, 2016[IF:35]など)。例えば、ナノマテリアルの次世代影響を評価する一環として、70 nmのシリカナノ粒子を妊娠マウスに投与した結果、シリカナノ粒子は胎盤に集積[動態解析]し、胎児発育不全や流産を誘発すること[ハザード同定]が明らかになった。さらに、粒子の表面性状を改変[物性制御]することで、そのハザードが抑制されることを示してきた。このように、単にハザード同定に留まることなく、安全性に懸念のある粒子は、安全なものに仕立てあげる技術基盤を構築し、安全なナノマテリアルの開発支援を推進してきた(Nat. Nanotechnol, 2011[IF:35])。

## 2. 研究の目的

本研究では、上記の手法を機能性食品に応用することで、品質を高度に担保することを提案する。本提案の検証では、多様な活性が報告されながら、水への難溶性が課題のクルクミンに焦点をあて、独自に高溶解性/高吸収性を達成した非晶質クルクミンの開発を通じて、有用性を明らかにし、高品質な機能性食品開発のモデルケースを構築する。

## 3. 研究の方法

### (1) 試薬類

非晶質クルクミンは、クルクミン標品 >98%（長良サイエンス株式会社、Gifu, Japan）とポリビニルピロリドン K30 (PVP)（BASF ジャパン株式会社、Tokyo, Japan）、ポリグリセリン脂肪酸エステル (PGFE)（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社、Osaka, Japan より提供）をクルクミン：PVP：PGFE = 16：49：35 の割合で加熱混練することで作製した。その他に利用した試薬は以下から購入した。β-グルクロニダーゼ溶液 ヘリックスポマチア由来：10 万 U/mL（和光純薬工業株式会社、Osaka, Japan）・イソフルラン生化学用（和光純薬工業株式会社）・アセトニトリル / LC-MS グレード（和光純薬工業株式会社）・メタノール / LC-MS グレード（和光純薬工業株式会社）・酢酸エチル / LC-MS グレード（和光純薬

工業株式会社)、・超純水/ LC-MS グレード (和光純薬工業株式会社)、ギ酸/ LC-MS グレード (和光純薬工業株式会社)・Curcumin  $\beta$ -D-Glucuronide Sodium Salt 1mg (Toronto Research)

## (2) 実験動物

Sprague-Dawley rat (雄性) 及び BALb/c マウス (雄性) は、日本エスエルシー株式会社 (Shizuoka, Japan) より購入し、7 週齢にて実験を開始した。実験の前日には絶食させた。温度 23°C、湿度 55%、12 時間ごとに明暗を繰り返した。また、本研究における動物実験の飼育および実験は大阪大学動物実験規定に準じた。

## (3) 非晶質クルクミンを自由飲水させたマウスの組織分布評価

非晶質クルクミン、市販品のいずれも 0.1%クルクミンとなる様に溶液を作製し、BALb/c マウスに 3 ヶ月摂取させた。その後、脱血/解剖し、心臓、肺、脾臓、生殖器、脳、腎臓、肝臓を回収した。

各臓器を 0.1%ギ酸メタノールで抽出するため、固形がなくなるまでホモジネートした。更に、ホモジネート液を 10,000 x g, 5 分, 4°C で遠心し、回収した上清を窒素乾固させた。乾固したサンプルは、80%メタノール 200  $\mu$ L で再溶解し、10,000 x g, 5 分, 22°C で遠心した後、上清を 0.45  $\mu$ m メンブレンフィルターにてろ過し、LC-MS/MS の測定に用いた。

## (4) 非晶質クルクミンの排泄の評価

非晶質クルクミン、市販品をそれぞれ 100 mg CUR/kg で SD ラットに経口投与し、経時的に (尿 : 0, 1, 2, 4, 9, 12, 24, 36, 48 時間、糞 : 12, 24, 36, 48 時間) 尿と糞を採取した。

尿と糞中のクルクミン量を解析するため、尿試料と、糞重量の 2 倍量の水でホモジネートした試料それぞれに 10  $\mu$ L 酢酸緩衝液 (pH 4)、 $\beta$ -グルクロニダーゼを 25  $\mu$ L 加え、37°C で 1 時間インキュベートした。その後、内部標準として 200 ng/mL curcumin-d<sub>6</sub> 溶液を 50  $\mu$ L を添加した。液液抽出のため、250  $\mu$ L 酢酸エチル/メタノール = 95/5 を加え、ボルテックス後、10,000 x g, 5 分, 4°C で遠心し、酢酸エチル層を回収する作業を 3 回行った。回収した上清を窒素乾固させた。乾固したサンプルは、80%メタノール 200  $\mu$ L で再溶解し、10,000 x g, 5 分, 22°C で遠心した後、上清を 0.45  $\mu$ m メンブレンフィルターにてろ過し、LC-MS/MS の測定に用いた。

クルクミンの未変化体量は、 $\beta$ -グルクロニダーゼ処理しないことで算出し、グルクロン酸抱合体量は、その差分から算出した。

## (5) 液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC-MS/MS) 装置および測定条件

LC-MS/MS は、Waters Acquity UPLC (Waters; Milford, MA) と Waters Quattro Premier XE (Waters) が連結した装置を使用した。

## (6) 非晶質クルクミンを自由飲水させたマウスの生化学検査

3-3. と同様に試料を調製し、6 ヶ月間自由飲水させた。生化学マーカー (アルカリフォスファターゼ、コレステロール、トリグリセリド) の変動は、生化学自動分析装置 (Fuji DRI-CHEM 4000V, Tokyo, Japan) を用いて測定した。

#### (7)HFD 負荷モデルでの非晶質クルクミンのトリグリセリド低下作用と機序の解析

雄性 C57BL/6 マウス (5 週齢) をランダムに 8 匹もしくは 9 匹ずつ 5 つのグループに分けた。Non-treat 群 にはコントロール食 (10 kcal% from lard) (RESERCH DIET, NJ, USA) を与え、水を自由飲水させた。残りの 4 群には高脂肪食 (45 kcal% from lard) (RESERCH DIET, NJ, USA) を与え、それぞれ水、ベザフィブラート (和光純薬, Osaka, Japan)、非晶質クルクミン、市販品 (Meriva, Thorne, SC, USA) を自由飲水させた。ベザフィブラートは 1% カルボキシメチルセルロース (和光純薬, Osaka, Japan) に 0.81 mg/mL となるよう懸濁した。非晶質製剤は 0.5% (w/v) となるよう精製水に溶解させた。市販製剤は、非晶質製剤とクルクミン含有量をそろえ、0.81 mg クルクミン/mL となるよう精製水に溶解させた。解剖時には、心臓から採血後に PBS にて脱血還流を行い、肝臓を回収し、臓器重量を比較した。血漿中コレステロール、トリグリセリド 濃度は、3-6. 同様、生化学自動分析装置を用いて測定した。ACOX1 の発現量の解析では、RNeasy min Plus kit (Qiagen, CA, USA) を用いて、採取した肝臓から total RNA を抽出し、cDNA に逆転写した。得られた cDNA をテンプレートに、GeanAce SYBR® qPCR Mix α Low ROX (NIPPON GENE, Tokyo, Japan) により反応液を調整し、CFX384 (BioRad Laboratories, CS, USA) を用いて、リアルタイム PCR を行った。各反応に用いたプライマーは以下の通りである。

・  $\beta$ -actin

・ ACOX1

Forward: TCTTTCCAGCCTTCCTTCTTG

Forward: TTCGAGGCTTGAAACCACT

Reverse: GCACTGTGTTGGCATAGAGGTC

Reverse: GGGTCCCAATCTCACGGATA

#### 4. 研究成果

##### (1)非晶質クルクミンの体内動態 (ADME) 解析

水溶性が高いクルクミン製剤を開発できたため、3 ヶ月間自由飲水させた後の組織分布を定量比較したところ、既存の市販製剤では、水溶性・吸収性が低かったことと相関し、各種臓器でクルクミンはほとんど検出されなかった。その一方で、現行開発品は、特に肝臓で分布量が多く観察され、高吸収性化体だからこそその有用性が示唆された。また、安全性情報として重要な排泄経路を検証したところ、市販製剤では、これまでの報告同様、糞中で検出され、そのほとんど全てが未変化体であった。その一方で、現行開発品では、糞中で検出されたクルクミンの半数がグルクロン酸抱合体といった代謝産物であった。さらに、現行開発品では、市販製剤とは異なり、少ないながら尿中でも検出された。以上の検討から、市販製剤は、吸収されることなく、そのまま糞中に排泄されるのに対し、現行開発品では、吸収されたクルクミンが代謝を受けて、腸管循環しながら、大部分は糞中で、一部分は尿中に排泄されていることが示された。

以上の分布・排泄解析から、非晶質クルクミンの効能や毒性は肝臓 (胆汁を含む) に起こりやすいことが示唆された。

##### (2)非晶質クルクミンの効能のスクリーニング

効能/安全性を評価する一環として、4-1.と同様に、非晶質クルクミンを半年間自由飲水させて、血中マーカーや体重・臓器重量を測定した。その結果、まず、コントロール群に比較して、体重や肝臓を含めた主要臓器の重量に変化が認められず、大きな障害は認められないことが示唆された。

本条件下で、生化学マーカーの変動を解析したところ、骨形成マーカーであるアルカリフォスファターゼなどには変化は認められず、肝臓で合成・貯蔵されるトリグリセリドの血中量が低下傾向にあった。したがって、本結果から、単に生体応答をスクリーニングするよりは、体内動態解析に基づき、肝臓周辺に着目して解析する方が効果的であることが示唆された。

### (3) 高脂肪食負荷マウスにおける TG 低下作用の解析

非晶質クルクミンの摂取によるトリグリセリド低下作用の詳細を解析するため、高脂肪食負荷マウスを活用し、トリグリセリドを低下させるベザフィブラートや市販製剤と比較した。まず、コントロール群に比較して、ベザフィブラート投与群では、体重やトリグリセリドが有意に減少しており、医薬品の効果が観察される適切な系であることが確認された。本条件下で、市販製剤と非晶質クルクミン投与群のトリグリセリドを比較したところ、市販製剤投与群では、コントロール群と変化が認められなかったのに対し、非晶質クルクミン投与群では、血中トリグリセリド濃度は減少する傾向が観察された。

### (4) 非晶質クルクミン摂取による TG 低下作用のメカニズム解析

4-3.において、非晶質クルクミンは、ベザフィブラートと同様に、コレステロールには影響を与えず、トリグリセリドのみ低下させうることから、非晶質クルクミンの作用点は、ベザフィブラートと同様であることが推察された。そこで、ベザフィブラートの作用点である PPAR $\alpha$ の活性化を評価すべく、マウスでは PPAR $\alpha$ の活性化で、肝細胞が増殖することに着目し、肝重量を比較した。その結果、ベザフィブラート投与群と同様に、非晶質クルクミン投与群においても、肝重量が有意に増加しており、PPAR $\alpha$ を活性化していることが示唆された。

そこで、PPAR $\alpha$ の直接的な活性化の関与を明らかにすべく、テトラサイクリンの有無によって PPAR $\alpha$ の発現が制御され、PPAR $\alpha$ が活性化すると発光するシステム (HepG2-Tet-off-hPPAR $\alpha$ -Luc 細胞) を用いて評価した。その結果、ポジティブコントロールのベザフィブラートと比べて、程度は小さいものの、濃度依存的に発光強度は増加し、PPAR $\alpha$ を直接活性化することが示唆された。

そこで次に、高脂肪食負荷試験を実施したマウスの肝臓から mRNA を抽出し、PPAR $\alpha$ の下流で、 $\beta$ 酸化の律速酵素である ACOX1 の発現量を定量的 RT-PCR により解析した。その結果、非晶質クルクミン投与群では ACOX1 の mRNA が有意に増加することが示された。したがって、非晶質クルクミンは PPAR $\alpha$ の活性化により  $\beta$ 酸化を亢進することで、血中 TG 濃度を減少させていることが示唆された。

### (5) まとめ

本研究では、高品質な機能性食品の開発を目指し、独自の非晶質処方開発したクルクミンをモデルに、「物性-動態-活性/安全性」の多角的連関解析手法の有用性を評価した。その結果、非晶質クルクミンは市販製剤に比較しても、特に肝臓に組織分布量が多いことが明らかとなった。また、非晶質クルクミンは、肝臓中で、PPAR $\alpha$ を活性化させ、 $\beta$ 酸化を亢進させることで、肝臓で合成・貯蔵されるトリグリセリドを低下させる効能を有していることを示した。

以上、本研究から、動態に基づいた生体応答解析の重要性が提示でき、今後、本手法を活用することで、高品質な機能性食品が数多く開発されることを期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 長野一也, 武田真梨子, 黒田博隆, 平井はるな, 前北 光, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 独自の非晶質処方による高溶解性クルクミンの開発と吸収性・活性評価
3. 学会等名 第33回日本DDS学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村倫子, 長野一也, 武田真梨子, 平井はるな, 前北 光, 中尾友洋, 木下圭剛, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田収正, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 高品質な機能性食品の開発を目指した非晶質クルクミンの動態学的評価
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前北 光, 長野一也, 平井はるな, 武田真梨子, 中村倫子, 中尾友洋, 木下圭剛, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田収正, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 各種クルクミン製剤の活性比較による新規非晶質クルクミンの有用性評価
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長野一也, 武田真梨子, 吉田卓也, 平井はるな, 中村倫子, 前北 光, 中尾友洋, 木下圭剛, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田収正, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 規非晶質クルクミンの高水溶性機序の解明を目指した、分子間相互作用の解析
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長野一也, 武田真梨子, 吉田卓也, 平井はるな, 中村倫子, 前北 光, 中尾友洋, 木下圭剛, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 高水溶性非晶質クルクミンの開発と水溶性向上機序の解析
3. 学会等名 第24回日本食品化学学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長野一也, 武田真梨子, 吉田卓也, 平井はるな, 中村倫子, 前北 光, 中尾友洋, 木下圭剛, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 高品質な機能性食品の開発を目指した、非晶質クルクミン製剤の設計と水溶性・吸収性評価
3. 学会等名 第65回日本食品科学工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前北 光, 長野一也, 今川直樹, 平井はるな, 武田真梨子, 中村倫子, 中尾友洋, 木下圭剛, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 橘 敬祐, 土井健史, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 新規非晶質クルクミンによる中性脂肪低下作用とその機構の解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野一也, 武田真梨子, 吉田卓也, 今川直樹, 前北 光, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 独自の非晶質処方による高水溶性クルクミン製剤の開発と有用性評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第34年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野一也, 平井はるな, 前北 光, 今川直樹, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 橘 敬祐, 土井健史, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 FDSを活用した高品質な機能性食品の開発-新規非晶質クルクミンのトリグリセリド低下作用・機序の解析-
3. 学会等名 第25回日本食品化学学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野一也, 前北 光, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 平田收正, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 高品質な機能性食品開発におけるFood Delivery Systemの確立を目指した、非晶質クルクミンの吸収性・効能・安全性の多角的な連関解析
3. 学会等名 第35回日本DDS学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野一也, 平井はるな, 前北 光, 今川直樹, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 橘 敬祐, 土井健史, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 高品質な機能性食品開発のためのFDSの最適化を目指した、新規非晶質クルクミンの中性脂肪低下作用の解析
3. 学会等名 第66回日本食品科学工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野一也, 前北 光, 平井はるな, 今川直樹, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 橘 敬祐, 土井健史, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 Food Delivery Systemを基盤とした新規非晶質クルクミンの脂質代謝改善作用の解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 長野一也, 今川直樹, 前北 光, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 原田和生, 平田收正, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 新規高水溶性非晶質クルクミンの開発と抗酸化作用の解析
3. 学会等名 第26回日本食品化学学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長野一也, 今川直樹, 前北 光, 木下圭剛, 中尾友洋, 坂田 慎, 西野雅之, 平田收正, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央
2. 発表標題 クルクミンの水溶性向上が抗酸化機能に与える影響評価
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 1.Nakao T., Nagano K., Kinoshita K., Sakata M., Nishino M., Tsujino H., Higashisaka K., Tsutsumi Y.
2. 発表標題 Anti-dyslipidaemia effect and its mechanism of amorphous curcumin
3. 学会等名 International Congress on Food Factors (ICoFF) 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長野一也, 東阪和馬, 辻野博文, 平田收正, 堤 康央 : 高品質な機能性食品の開発を目指した、非晶質クルクミンの開発と評価
2. 発表標題 高品質な機能性食品の開発を目指した、非晶質クルクミンの開発と評価
3. 学会等名 日本薬学会第139年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 クルクミン含有製剤	発明者 長野一也、原田和生、東阪和馬、堤康央、中尾友洋	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/008186	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 クルクミン含有製剤、並びにその吸収性又は溶出性の評価方法	発明者 長野一也、東阪和馬、堤康央、木下圭剛	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/008187	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 クルクミン含有製剤、並びにその吸収性又は溶出性の評価方法	発明者 長野一也、吉田卓也、東阪和馬、堤康央、木下圭剛	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-37731	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	堤 康央  (TSUTSUMI Yasuo)		
研究協力者	東阪 和馬  (HIGASHISAKA Kazuma)		
研究協力者	辻野 博文  (TSUJINO Hirofumi)		
研究協力者	鍋師 裕美  (NABESHI Hiromi)		

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	中尾 友洋  (NAKAO Tomohiro)		
研究協力者	木下 圭剛  (KINOSHITA Keigo)		
研究協力者	坂田 慎  (SAKATA Makoto)		
研究協力者	西野 雅之  (NISHINO Masayuki)		
研究協力者	武田 真梨子  (TAKEDA Mariko)		
研究協力者	平井 はるな  (HIRAI Haruna)		
研究協力者	中村 倫子  (NAKAMURA Michiko)		
研究協力者	前北 光  (MAEKITA Hikaru)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	今川 直樹  (IMAKAWA Naoki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関